



# ENEPEX

ENCONTRO DE ENSINO,  
PESQUISA E EXTENSÃO

8° ENEPE UFGD • 5° EPEX UEMS

## **ESTUDO DO POTENCIAL DE DEGRADAÇÃO DA ATRAZINA POR BACTÉRIAS BIOPROSPECTADAS DE LAVOURAS DE CANA-DE-AÇÚCAR**

**Alisson Alves da Silva<sup>1</sup>; Gleyce Hellen de Almeida de Souza<sup>1</sup>; Maricy Raquel Lindenbah Bonfá<sup>2</sup>**

UFGD-FCBA, C. Postal 533, 79804-970 Dourados-MS, E-mail: alisson\_bto@hotmail.com

<sup>1</sup>Voluntário de Produtividade em Pesquisa do CNPq. <sup>2</sup>Orientadora PIVIC/UFGD/CNPq

### **RESUMO**

Com o aumento no consumo de alimentos no mundo existe a necessidade de aumento no número de locais para o cultivo e produção em grande escala destes alimentos. No caso do Estado de Mato Grosso do Sul ocorre uma grande expansão canavieira, devido ao seu potencial de recursos naturais e o apoio ao setor produtivo. Além da necessidade de aumento destas áreas agrícolas, as mesmas precisam de uma produção eficiente, livre do ataque de insetos praga e ervas daninhas que danifiquem a plantação diminuindo a produção final. Neste sentido existe a necessidade da utilização de herbicidas para evitar o crescimento de ervas daninhas, estes herbicidas por sua vez são altamente poluentes ao meio ambiente, contaminando solos e efluentes. Este trabalho teve por objetivo a bioprospecção, isolamento de bactérias com potencial de crescimento em atrazina, um herbicida utilizado em lavoura de cana-de-açúcar. Foram coletadas amostras de solo de duas fazendas do Estado de Mato Grosso do Sul com histórico de uso deste herbicida. As amostras de solo coletadas foram enriquecidas com o herbicida atrazina e o crescimento verificado em placas de petri contendo no meio de cultivo utilizado apenas atrazina como fonte de carbono e outro meio contendo atrazina + extrato de levedura, além de outros componentes em ambos os meios. A partir destas amostras foram isoladas dezoito bactérias com capacidade de degradação do herbicida atrazina, apenas onze apresentaram crescimento significativo, com as quais realizou-se testes bioquímicos de identificação e curvas de crescimento com quatro isolados que melhor apresentaram crescimento nas placas de Petri e mensurou-se este crescimento através do aumento da absorbância a 600nm. A partir dos resultados obtidos verificou-se que a

bioprospecção de bactérias em lavouras com histórico de utilização do herbicida atrazina permitem o isolamento de micro-organismos com grande potencial de metabolização deste xenobiótico.

**Palavras-chave:** Contaminação, meio ambiente, herbicida.

## INTRODUÇÃO

Atualmente, existe uma grande demanda por alimentos no Brasil e no mundo, surgindo assim extensas áreas agrícolas para suportar esta demanda, nessas áreas agrícolas podem surgir pragas, ervas daninhas, micro-organismos que danificam as plantações e causam prejuízos para seus produtores. Para controlar essas pragas os produtores utilizam-se de pesticidas, que por um lado são capazes de controlar as pragas, mas por outro causam prejuízos ao ambiente. Existem 600 ingredientes ativos, utilizados na formulação de pesticidas, registrados para uso na agricultura (Richardson, 1998).

Com esta expansão observada nos últimos anos tem-se notado também um aumento no uso dos agrotóxicos que são os compostos mais amplamente encontrados em corpos hídricos superficiais e subterrâneos no mundo todo. São em sua maioria moléculas xenobióticas, ou seja, que não se encontra naturalmente no meio ambiente, incluem uma variedade de moléculas com diferentes características que resultam em distintos graus de recalcitrância (persistência ambiental) e mobilidade, além de potencial tóxico, carcinogênico, mutagênico e teratogênico, podendo ainda provocar efeitos endócrinos a diversos organismos não alvos, inclusive ao Homem (Armas, 2006).

No caso específico do Estado de Mato Grosso do Sul tem ocorrido uma grande expansão canavieira, devido ao seu potencial de recursos naturais e a infraestrutura moderna voltada para o apoio ao setor produtivo, que alavancam investimentos nas atividades agroindustriais e de expansão do intercâmbio comercial (Guimarães et al., 2010). Porém, pesquisas sugerem uma perda na diversidade biológica, causando inclusive o aparecimento de pragas agrícolas devido tanto à prática do sistema de monoculturas quanto ao uso dos pesticidas (Cycón e Seget-Piotrowska, 2009).

Neste contexto, um dos herbicidas bastante utilizado em lavouras de cana-de-açúcar é a atrazina (2-cloro-4-etilamino-6-isopropilamino-s-triazina) faz parte da família das triazinas, intensamente utilizadas no Brasil e no mundo, sendo frequentemente detectado como o principal poluente orgânico de águas subterrâneas e superficiais em vários países (Dörfler et al., 1997).

Devido à semelhança de muitas substâncias xenobióticas com compostos naturalmente presentes nos ambientes, estas moléculas podem ser biodegradadas. A atividade microbiana é o fator preponderante na determinação da velocidade e extensão de degradação dos pesticidas no solo (Silva, 2001). As condições do ambiente que favorecem o desenvolvimento microbiano no solo são as mesmas que favorecem a degradação de pesticidas: temperatura, umidade e aeração. Os micro-organismos do solo, principalmente bactérias e fungos, têm sido relatados como os principais degradadores de pesticidas (Monteiro, 2001).

A maioria dos agrotóxicos é transformada predominantemente por processos biológicos através de enzimas existentes em animais, plantas e micro-organismos (Semple e Fermor, 1995). As transformações bióticas dos agrotóxicos geralmente resultam na degradação da estrutura molecular em formas mais simples (Cheng, 1990).

Os micro-organismos exibem duas estratégias ecológicas para a assimilação do substrato ou metabolismo: mineralização e cometabolismo. Na primeira, o substrato absorvido é quebrado em pequenas moléculas, as quais são posteriormente metabolizadas em rotas que geram energia. Nesse caso, a biomassa microbiana aumenta às expensas do substrato e a concentração deste diminui consideravelmente com a expansão da população microbiana. A mineralização significa que a molécula é degradada completamente formando moléculas inorgânicas de ocorrência universal como:  $\text{CO}_2$ ,  $\text{CO}$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{NH}_3$ ,  $\text{H}_2\text{S}$ ,  $\text{HCl}$ . Ao contrário da mineralização, no cometabolismo não há geração de energia. Os pesticidas são transformados pelas rotas metabólicas que contém enzimas com alta especificidade de substrato. O resultado é um metabólito que poderá ser degradado posteriormente ou poderá ligar-se à matriz orgânica (Monteiro, 2001).

Desta forma, estudos de diversidade de micro-organismos com potencial para degradar pesticidas são de grande importância. Atualmente, os estudos de diversidade

microbiana têm sido realizados baseados tanto em técnicas dependentes, quanto independentes de cultivo (Wetler-Tonini *et al.*, 2011). Porém, para que seja possível a aplicação direta destes micro-organismos em projetos de biorremediação *in situ* ou *ex situ* é de suma importância que os mesmos sejam capazes de crescer em meios sintéticos e que, além disso, sejam de fácil propagação em condições de laboratório. O presente trabalho teve como objetivo avaliar a diversidade de micro-organismos cultiváveis com potencial de degradação do pesticida atrazina.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### **I. Coleta de amostras**

Foram realizadas coletas de solo em duas fazendas localizadas no Município de Rio Brillhante-MS, Fazenda Celeiro e Fazenda Vacaria, ambas com plantações de cana-de-açúcar e histórico de aplicação de defensivos agrícolas como herbicidas e inseticidas. Foram coletadas 4 amostras em cada fazenda aleatoriamente, com profundidade máxima de 10 cm. As amostras foram então levadas ao laboratório e armazenadas a 10°C.

### **II. Enriquecimento das amostras**

Após a coleta de solo, as amostras foram homogeneizadas e 2,5 g de cada amostra foram pesados totalizando 10 g de cada fazenda. As amostras foram então diluídas em 90 mL de meio líquido mínimo de sais (MSN) as seguintes concentrações em g.l<sup>-1</sup>: Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (2,4); KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (2,0); NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> (0,1); MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O (0,01); CaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O (0,01). O pH foi ajustado a 6,5 e o meio esterilizado por autoclavagem a 121°C por 20 minutos (Radehaus & Schimidt,1992). A este meio foi enriquecido com 0,1% do herbicida atrazina diluído em água e filtrado em membrana 0,22 µm. Os frascos Erlenmeyer foram incubados a 30°C, 100 rpm por 4 dias.

### **III. Isolamento de micro-organismos**

Após este período 200 µL do solo enriquecido foram inoculados por espalhamento com auxílio de uma alça de Drigauski em placas de Petri contendo 0,1% de atrazina como única fonte de carbono em meio MSM e em outras placas 0,1% de atrazina + 0,1% de extrato de levedura também em meio MSM. As placas foram incubadas a 30°C até que colônias fossem visualizadas. O Erlenmeyer contendo o meio

enriquecido da fazenda Celeiro foi inoculado em seis placas, três com o extrato de levedura e três sem a presença de extrato de levedura. O mesmo foi feito para as amostras da fazenda Vacaria.

Após o crescimento visível das colônias, as mesmas foram então repicadas e inoculadas por esgotamento, e o procedimento foi repetido até o isolamento de placas com colônias puras, sempre respeitando a composição do meio de cultivo inicial, ou seja, com ou sem presença de extrato de levedura. Das placas de Petri da fazenda Vacaria sem extrato de levedura foram isoladas três colônias que receberam a identificação nas novas placas de Petri de V1, V2, V3, e das placas de Petri da fazenda Celeiro sem extrato foram isoladas outras três colônias e identificadas como C1, C2, C3. Das placas de Petri com extrato de levedura foram isolados da fazenda Celeiro quatro colônias sendo identificadas nas novas placas de C4, C5, C6, C7 e da fazenda Vacaria apenas uma colônia foi isolada recebendo a identificação de V4.

Crescidas as colônias em estufa a 30°C, observou-se as mesmas para conferência de crescimento e diversidade de micro-organismos degradadores. Nas placas de Petri que cresceram colônias com aparente morfologia diferenciada, todas foram escolhidas para isolamento. Todas as placas apresentaram colônias de bactérias.

#### **IV. Identificação bioquímica pré-eliminar dos isolados**

A partir destas placas realizou-se testes de identificação dos isolados. Como coloração de Gram, teste de catalase e de oxidase. Conforme descrito abaixo:

##### **Coloração de gram**

A análise da morfologia dos isolados foi realizada por microscopia óptica simples, utilizando coloração de Gram. Foi realizado a técnica de coloração de Gram com as colônias bacterianas isoladas. Seguindo o procedimento descrito pelo Ministério da Saúde (1997). Fez-se um esfregaço com uma amostra da colônia bacteriana. Cobriu-se o esfregaço com cristal violeta e deixou agir por aproximadamente 1 minuto, e fez-se a lavagem em um filete de água corrente. Cobriu-se a lâmina com lugol e deixou-se agir por aproximadamente 1 minuto, fez-se a lavagem em um filete de água corrente. Cobriu-se a lâmina com o álcool etílico (99,5° GL), descorando-a, até que não desprenda mais corante, e faz-se a lavagem em um filete de água corrente. Cobriu-se a lâmina com safranina e deixa-se agir por aproximadamente 30 segundos e faz-se a

lavagem com um filete de água corrente. Deixou-se secar ao ar livre, e colocou-se uma gota de óleo de imersão sobre o esfregaço; e a leitura da lâmina se deu em microscópio óptico em objetiva de imersão (100 X), sendo considerada Gram-positivas as colônias que apresentarem coloração roxa, e Gram-negativas as colônias que apresentarem coloração vermelha.

### **Catalase**

Inicialmente colocou-se uma gota de peróxido de hidrogênio (água oxigenada) 3% sobre uma lâmina em um tubo, e com auxílio de uma alça de platina, agregou-se a colônia em estudo na gota de peróxido de hidrogênio. Sendo considerado resultado positivo a presença imediata de bolhas (a produção de efervescência indica a conversão do H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> em água e oxigênio gasoso), e resultado negativo pela ausência de bolhas ou efervescência.

### **Oxidase**

Para a realização do teste utilizou-se as fitas para determinação de oxidase PROBAC DO BRASIL®, e seguiu-se as especificações do fabricante. Este teste foi realizado apenas com bactérias Gram-negativas. Então, utilizou-se uma fita e com auxílio de uma alça de platina fez-se um esfregaço da bactéria a ser identificada na fita. Fez-se a leitura após alguns segundos, sendo considerada oxidase positiva o esfregaço bacteriano na fita que apresentou coloração rosa e oxidase negativa o esfregaço bacteriano que não apresentou alteração de cor.

## **V. Teste de crescimento dos isolados no pesticida**

Foram realizadas curvas de crescimento em triplicata utilizando-se as concentrações médias de aplicação dos pesticidas como única fonte de carbono. Sempre respeitando a composição do meio de cultivo inicial, ou seja, com ou sem presença de extrato de levedura. As curvas de crescimento foram construídas em 60 mL de meio MSM líquido em Erlenmeyer de 250 mL, mantido em Shaker a 150 rpm em uma temperatura de 35°C, através da medida da densidade óptica em espectrofotômetro a 600 nm. Em cabine biológica foram retiradas amostras em horários estabelecidos para medição da densidade óptica, iniciando-se do tempo zero, até que os cultivos entrem em fase de morte celular. Para este teste foram escolhidas duas cepas que cresceram na presença de extrato de levedura + herbicida e duas cepas que cresceram utilizando como

única fonte de carbono apenas o herbicida. As cepas escolhidas para este teste foram P3.C3.1.R1 (YE), P5.C5.1.R1(YE), P1.C1.1.R1, P6.C6.1.R2.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Isolamento de bactérias

Foram isoladas nove linhagens que apresentaram crescimento significativo em extrato de levedura e nove que cresceram em presença do herbicida como única fonte de carbono e energia, totalizando dezoito isolados, aparentemente com morfologia diferente. Realizou-se o repique das dezoito colônias em duplicata. As cepas receberam a nomenclatura apresentada na tabela 1, de acordo com a fazenda de origem Celeiro (C), Vacaria (V), placa de Petri de origem (p), colônia (c) e repetição (r), presença ou ausência de extrato de levedura (YE). E a numeração de acordo com a quantidade de placas e colônias.

Tabela 1. Nomenclatura dos isolados

<b>Com Extrato de Levedura</b>	<b>Nomenclatura Rep 01</b>	<b>Nomenclatura Rep 02</b>
C7	P1.C1.1.R1	P1.C1.1.R2
	P1.C1.2.R1	P1.C1.2.R2
C6	P2.C2.1.R1	P2.C2.1.R2
C4	P3.C3.1.R1	P3.C3.1.R2
V5	P4.C4.1.R1	P4.C4.1.R2
C5	P5.C5.1.R1	P5.C5.1.R2
V4	P6.C6.1.R1	P6.C6.1.R2
	P6.C6.2.R1	P6.C6.2.R2
	P6.C6.3.R1	P6.C6.3.R2
<b>Sem extrato de levedura</b>	<b>Nomenclatura Rep 01</b>	<b>Nomenclatura Rep 02</b>
V1	P1.C1.1.R1	P1.C1.1.R2
C3	P2.C2.1.R1	P2.C2.1.R2
	P2.C2.2.R1	P2.C2.2.R2
V2	P3.C3.1.R1	P3.C3.1.R2
	P3.C3.2.R1	P3.C3.2.R2
V3	P4.C4.1.R1	P4.C4.1.R2
	P4.C4.2.R1	P4.C4.2.R2
C2	P5.C5.1.R1	P5.C5.1.R2
C1	P6.C6.1.R1	P6.C6.1.R2

## Identificação bioquímica pré-eliminar dos isolados

O teste de catalase foi feito apenas em bactérias Gram positivas e o de oxidase nas Gram negativas. E para visualização da forma das bactérias foi utilizado o microscópio com objetiva de aumento de 100x. Das dezoito cepas isoladas apenas onze com crescimento significativo foram viáveis para a realização dos testes. As duplicatas selecionadas para os testes foram: P1.C1.1.R1; P1.C1.1.R1(YE); P2.C2.1.R1(YE); P3.C3.1.R1(YE); P4.C4.1.R2(YE); P4.C4.1.R1(YE); P5.C5.1.R1(YE); P6.C6.1.R2; P6.C6.1.R2(YE); P6.C6.2.R1(YE); P6.C6.3.R1(YE).

Com os resultados obtidos pelos testes de identificação bioquímica na tabela 2 podemos observar que a maioria das cepas isoladas das duas fazendas são Gram positivas, sendo apenas três bactérias Gram negativa. Em relação à forma foram isolados tanto bastonetes quanto esferas.

Tabela 2. Resultado identificação

Placas	Gram	Catalase	Oxidase	Forma
P1.C1.1-R1	(v) (-)		(-)	bastonetes
P6.C6.1.R2	(c) (-)		(+)	bastonetes
P6.C6.3.R1 YE	(v) (+)	(+)		bastonetes
P6.C6.1-R2 YE	(v) (+)	(+)		esferas
P6.C6.2.R1 YE	(v) (+)	(+)		esferas
P1.C1.1.R1YE	(c) (+)	(+)		bastonetes
P2.C2.1.R1 YE	(c) (+)	(+)		esferas
P4.C4.1.R1 YE	(v) (+)	(+)		bastonetes
				Bastonetes
P5.C5.1.R1 YE	(c) (-)		(+)	filamentosos
P4.C4.1.R2 YE	(v) (+)	(+)		bastonetes
P3.C3.1.R1 YE	(c) (+)	(+)		bastonetes

\*(c) = Fazenda Celeiro (v) = Fazenda Vacaria

## Crescimento dos isolados em atrazina

A curva de crescimento padrão de bactérias é composta por quatro fases de crescimento distintas: fase de arranque, fase exponencial de crescimento, fase estacionária e fase de declínio. A partir do momento no qual um micro-organismo é inoculado em um meio de cultura estéril, geralmente o crescimento não se inicia de imediato. Esta fase, conhecida como fase *lag* ou de arranque, ocorre pela necessidade

das células se adaptarem ao novo meio, até que possam dar início ao seu desenvolvimento (Brock; Brock, 1978). Já na fase logarítmica ou de crescimento exponencial, o número de células bacterianas aumenta em progressão geométrica na medida em que o tempo cresce em progressão aritmética. Na fase estacionária ou de equilíbrio, a contagem de micro-organismos viáveis permanece constante em seu valor máximo, já que o número de bactérias neoformadas é compensado pelo daquelas que começam a morrer. E, por último, segue a fase de declínio ou morte das bactérias (Bier, 1977; Tortora, 2005).

Para os testes de crescimento a primeira curva gerada foi para a cepa P3.C3.1.R1 (YE), utilizou-se os horários da tabela 3 para retirada da amostra e medição da densidade óptica. Vários estudos realizados utilizaram a densidade óptica para monitoramento do crescimento de bactérias (Santos et al. 2013; Sumares, 2012; Campos, 2009; Tortora, 2005).

Tabela 3. Medição da absorbância a 600 nm da amostra

<b>Tempo (horas)</b>	<b>Absorbância</b>
0	0,253
12	0,331
20	0,36
36	0,182

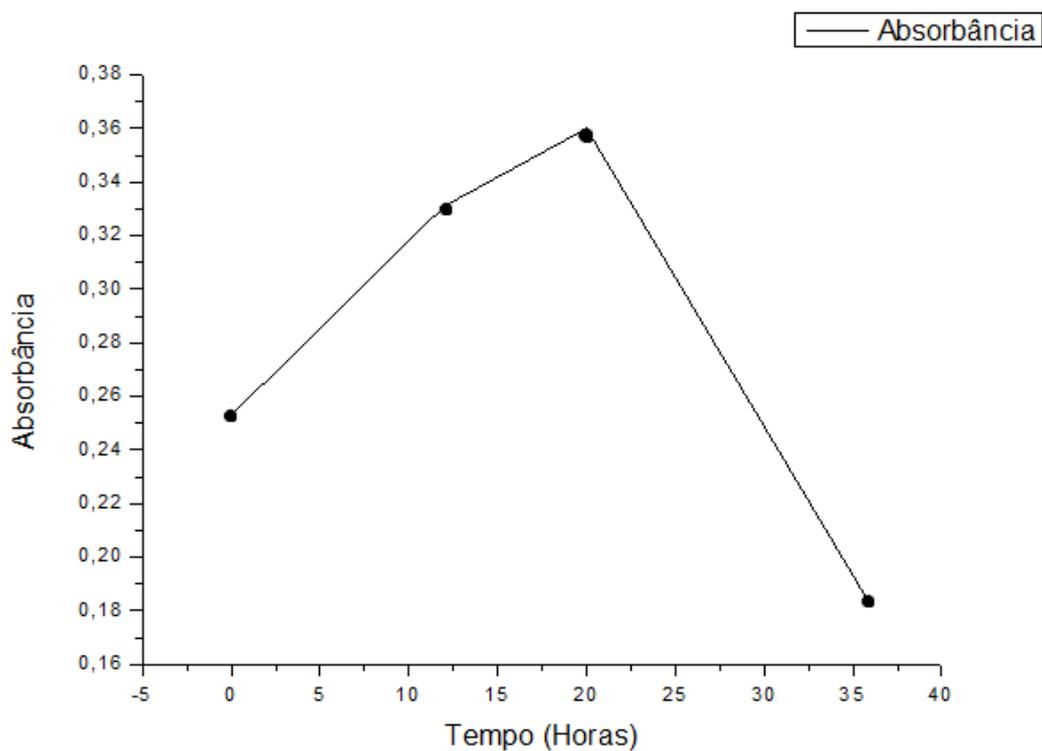


Figura 1. Curva de crescimento da cepa P3.C3.1.R1 (YE).

A cepa P3.C3.1.R1 (YE) apresentou seu pico máximo de crescimento em vinte horas de incubação no shaker, na terceira retirada de amostra e fase de declínio a partir de então.

Para a cepa P5.C5.1.R1(YE) o tempo utilizados para retirada da amostra e medição da densidade óptica, tabela 4.

Tabela 4. Medição da absorbância a 600 nm da amostra

<b>Tempo (horas)</b>	<b>Absorbância</b>
0	0,264
5	0,497
24	0,269
29	0,267

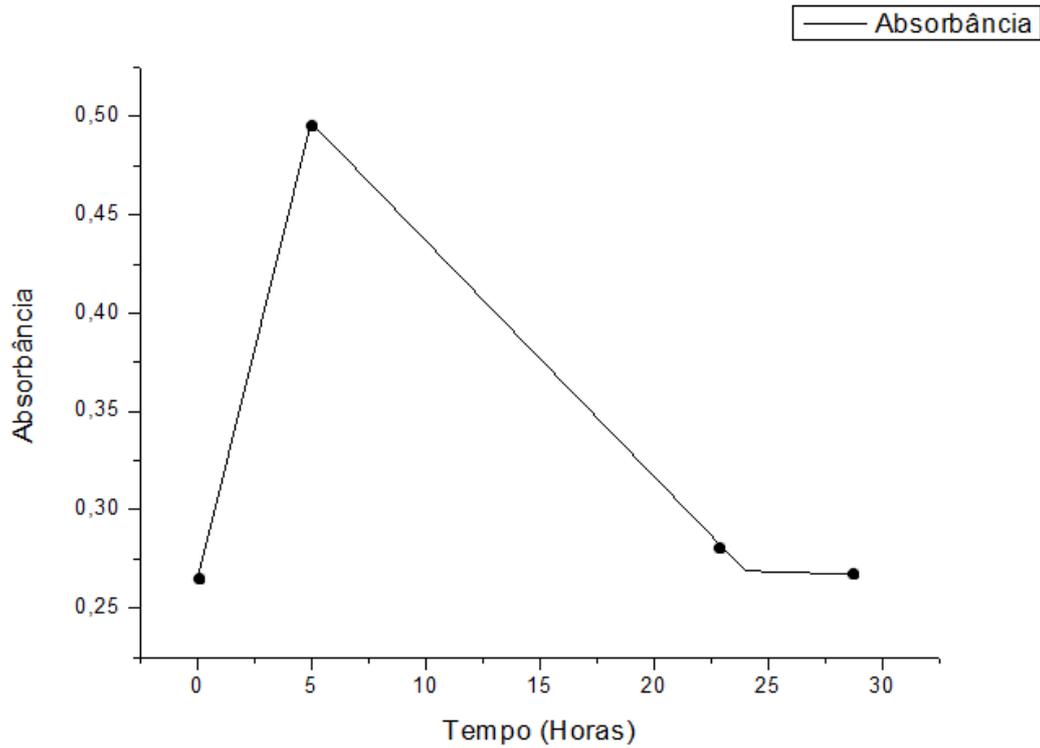


Figura 2. Curva de crescimento da cepa P5.C5.1.R1(YE).

A cepa P5.C5.1.R1(YE) teve seu pico máximo de crescimento em cinco horas de incubação, na segunda retirada de amostra e fase de declínio depois de cinco horas de incubação. Apresentando uma taxa máxima de crescimento em menor tempo que a cepa P3.C3.1.R1 (YE).

Para a cepa P1.C1.1.R1, o tempo para retirada da amostra e medição da densidade óptica, tabela 5.

Tabela 5. Medição da absorbância a 600 nm da amostra

<b>Tempo (horas)</b>	<b>Absorbância</b>
0	0,269
5	0,383
24	0,277
29	0,223

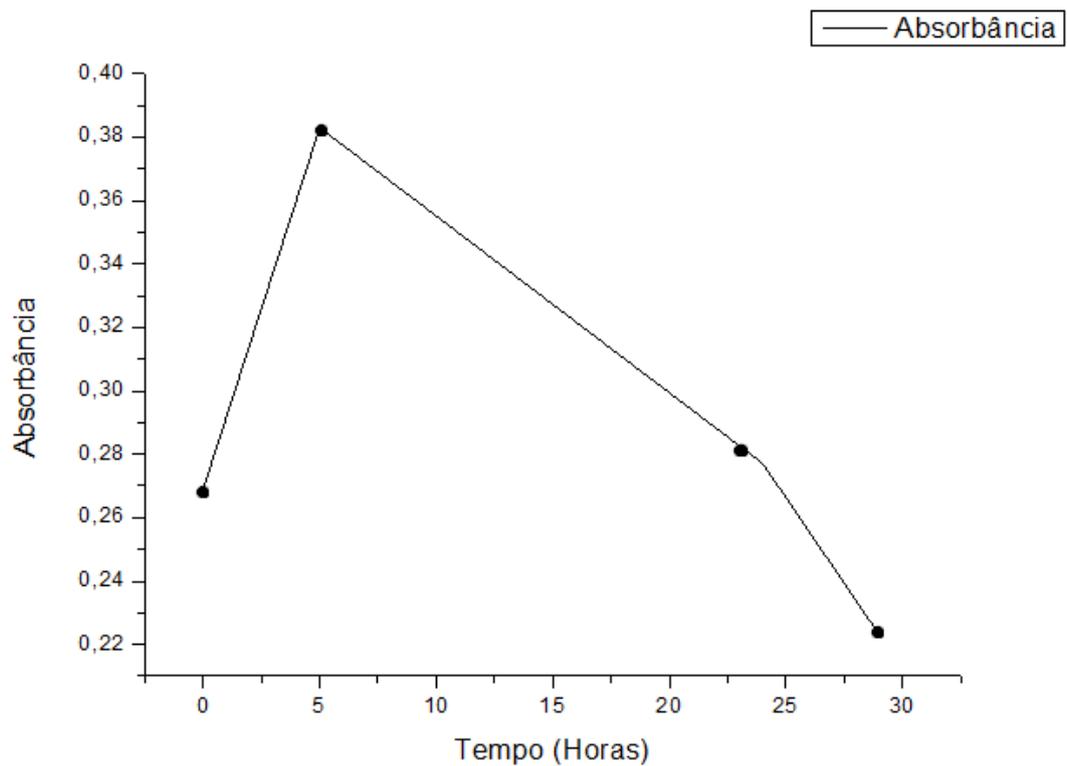


Figura 3. Curva de crescimento da cepa P1.C1.1.R1.

A cepa P1.C1.1.R1 teve seu pico máximo de crescimento em cinco horas de incubação, também na segunda retirada de amostra e com tempo menor para atingir a taxa máxima de crescimento e atingindo a fase de declínio após cinco horas de incubação.

Para a cepa P6.C6.1.R2, o tempo utilizado para retirada da amostra e medição da densidade óptica estão na tabela 6.

Tabela 6. Medição da absorbância a 600 nm da amostra

<b>Tempo (horas)</b>	<b>Absorbância</b>
0	0,301
5	0,393
24	0,263
29	0,258

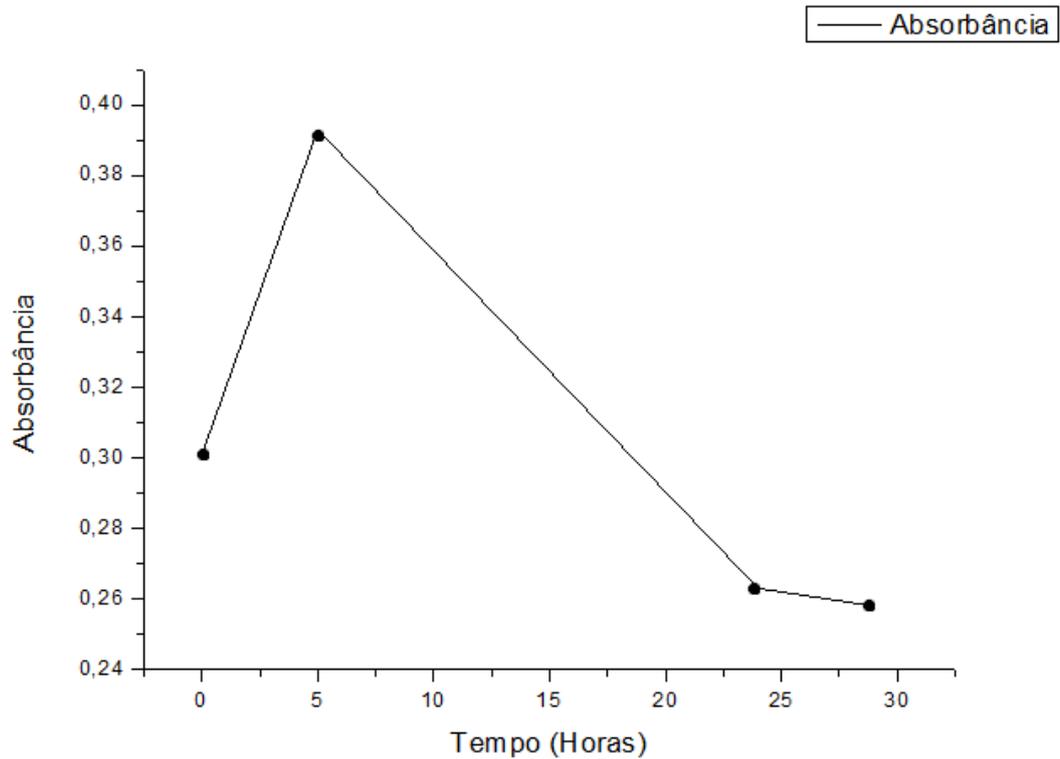


Figura 4. Curva de crescimento da cepa P6.C6.1.R2.

A cepa P6.C6.1.R2 também apresentou seu pico máximo de crescimento em cinco horas de incubação no shaker, na segunda retirada de amostra. Demonstrando que estas três últimas cepas atingem a fase de morte celular mais rapidamente que a cepa P3.C3.1.R1 (YE), melhor adaptada ao crescimento na presença do herbicida atrazina.

A toxicidade potencial da atrazina tem motivado pesquisas direcionadas para a sua biorremediação. Esta técnica tem sido considerada a metodologia de escolha para a recuperação de áreas comprometidas devido ao potencial de metabolização dos microorganismos, custo relativamente baixo e reduzido impacto ambiental (RALEBITSO, et al., 2002).

## CONCLUSÃO

Com os resultados obtidos podemos concluir que os objetivos do projeto foram alcançados e observou-se que em ambas as fazendas, Vacaria e Celeiro onde foram coletadas as amostras de solo para bioprospecção de bactérias degradadoras de pesticidas, existem nestes ambientes isolados com este potencial. Pode-se verificar que a atrazina representou uma fonte de alimento para os micro-organismos presentes no meio. Autores relatam que os micro-organismos obtêm nutrientes e energia pela completa mineralização da atrazina a dióxido de carbono e água, incluindo diversas bactérias como espécies de *Nocardia* (Topp et al., 2000), *Pseudomonas* (Yanze-Kontchou e Gschwind, 1994) e agrobactérias (Struthers et al., 1998). O Nitrogênio resultante do metabolismo da atrazina serve como fonte de nitrogênio para bactérias de solo (Dutta e Singh, 2013). Foram isolados um total de dezoito bactérias, porém apenas onze apresentaram crescimento significativo para realização dos testes. Na fazenda Vacaria teve o maior número de bactérias que melhor cresceram na presença do herbicida atrazina, sendo seis das onze selecionadas. E cinco da fazenda Celeiro. As cepas escolhidas para os testes de crescimento foram três da fazenda Celeiro e um da fazenda Vacaria. A cepa que apresentou melhor adaptação ao crescimento na presença do herbicida atrazina foi a cepa P3.C3.1.R1 (YE) que atingiu seu pico máximo de crescimento na terceira retirada de amostra com vinte horas de incubação no shaker, enquanto que as outras três atingiram o pico máximo de crescimento em apenas cinco horas de incubação.

## REFERÊNCIAS

- ARMAS, E. D. Biogeodinâmica de herbicidas utilizados em cana-de-açúcar *Saccharum spp* na sub-bacia do rio Corumbataí. Tese de doutorado apresentada a ESALQ/USP, 186 p, 2006.
- BIER, O. Bacteriologia e microbiologia. 18.ed. São Paulo: Melhoramentos, 1977. 1056p.
- BROCK, T.D.; BROCK, K.M. Basic microbiology with applications. 2.ed. Englewood Cliffs: Prentice Hall, 1978. 608p.
- CAMPOS, M. M. C. Estudo da remoção e toxicidade dos pesticidas atrazina e oxifluorfem pela cianobactéria *Microcystis novacekii* em condições de cultivo.

Dissertação (Pós- Graduação em Ciências Farmacêuticas) Belo Horizonte, MG – UFMG, 93p. 2009.

CHENG, H.H. Pesticides in the soil environment: process, impacts and modeling. Madison: Soil Science Society of America, p. 1-5, 1990.

CYCÓN, M., SEGET-PIOTROWSKA, Z. Changes in bacterial diversity and community structure following pesticides addition to soil estimated by cultivation technique. *Ecotoxicology*. v.18, p. 632-42, 2009.

DÖRFLER, U.; FEICHT, E.A. & SCHEUNERT, I. S-Triazine residues in groundwater. *Chemosphere*, 35:99-106, 1997.

DUTTA, A.; SINGH, N. Degradation of atrazine in mineral salts medium and soil using enrichment culture. *Journal of Environmental Science and Health, Part B: Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes*, 48:860-868. 2013.

GUIMARÃES, L.T; TURETTA, A.P.D.; COUTINHO, H.L.C. Uma proposta para avaliar a sustentabilidade da expansão do cultivo da cana-de-açúcar no Estado do Mato Grosso do Sul. *Sociedade & Natureza*. v. 22 (2), p.313-327, 2010.

MONTEIRO, R. T. R. Biodegradação de pesticidas em solos brasileiros. In: MELO, I. S. et al. Biodegradação. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, p. 1-28, 2001.

RALEBITSO, T. K.; SENIOR, K.; VANVERSEVELD, H. W. Microbial aspects of atrazine degradation in natural environments. *Biodegradation*, Dordrecht, v. 13, n. 1, p. 11-19, jan. 2002.

RADEHAUS, P.M; SCHMIDT, S.K. Characterization of a novel *Pseudomonas* sp. that mineralizes high concentrations of pentachlorofenol. *Applied and Environmental Microbiology*, v.58, p.2879–2885, 1992.

RICHARDSON, M. Pesticide – friend or foe? *Water Sci. Technol.*, V. 37, n. 8, p. 19-25, 1998.

SANTOS, C. G. G; MUNIZ, M. J. S; BARBOSA, J. G; SOUZA, A. J; SILVA, J. A. T; BADJI, C. A; SOBRAL, J. K. Influência do pesticida orthene sobre o crescimento de bactérias diazotróficas do gênero *Burkholderia*. Xiii jornada de ensino, pesquisa e extensão (jepex, ufrpe), Recife, 2013.

SEMPLE, K.; FERMOR, T. The bioremediation of xenobiotic contamination by composts and associated microflora. In: International congress on the science and cultivation of edible fungi, 14., 1995, Oxford: Oxford University Press, p. 917-924, 1995.

SILVA, C. M. M. S. O fenômeno da biodegradação acelerada de pesticidas. In: MELO, I. S. et al. Biodegradação. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, p. 15- 28, 2001.

SUMARES, J. A. P. Influência da temperatura sobre fisiologia e crescimento de *Xanthomonas citri* subsp. *Citri*. Dissertação (Pós-Graduação em Biociências e Biotecnologia Aplicadas à Farmácia da Faculdade de Ciências Farmacêuticas) Araraquara, SP – UNESP, 92p. 2012.

STRUTHERS, J.K.; JAYACHANDRAN, K.; MOORMAN, T.B.. Biodegradation of atrazine by *Agrobacterium radiobacter* J14a and use of this strain in bioremediation of contaminated soil. *Applied and Environmental Microbiology* v.64, p. 3368–3375, 1998.

TOPP, E., MULBRY, W.M.; ZHU, H.; NOUR, S.M.; CUPPELS, D. Characterization of s-triazine herbicide metabolism by a *Nocardioides* sp. isolated from agricultural soils. *Applied and Environmental Microbiology*. v.66, p.3134–3141, 2000.

TORTORA, G.J.; FUNKE, B.R.; CASE, C.L. *Microbiologia*. 8.ed. Porto Alegre: Editora Artmed, 2005. 894p.

WETLER-TONINI, R. M. C.; REZENDE, C. E.; GRATIVOL, A. D. Biodegradação Bacteriana de Petróleo e seus Derivados *Rev. Virtual Quim.*, v. 3 (2), p.78-87, 2011.

YANZE-KONTCHOU, C. AND GSCHWIND, N. Mineralization of the herbicide atrazine as a carbon source by a *Pseudomonas* strain. *Applied and Environmental Microbiology*. v.60, p. 4297–4302, 1994.