

Ministério
da Agricultura
e de Abastecimento

Degradação de Atrazina por Fungos Filamentosos

Itamar Soares de Melo
Célia M. M. de Souza Silva
Elisabeth Francisconi Fay
Regina Rosim Monteiro
Antonio C. Rosamiglia



REPÚBLICA FEDERATIVA DO BRASIL

Presidente: Fernando Henrique Cardoso

Ministro da Agricultura e do Abastecimento: Marcus Vinicius Pratini de Moraes

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Embrapa

Presidente: Alberto Duque Portugal

Diretores: Dante Daniel Giacomelli Scolari

José Roberto Rodrigues Peres

Elza Angela Battaglia Brito da Cunha

Embrapa Meio Ambiente

Chefe Geral: Bernardo van Raij

Chefe Adjunto de Pesquisa e Desenvolvimento: Deise M. Fontana Capalbo

Chefe Adjunto Administrativo: Vander Roberto Bisinoto



*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Meio Ambiente
Ministério da Agricultura e do Abastecimento*

Degradação de Atrazina por Fungos Filamentosos

Itamar Soares de Melo, Célia Maria M. de Souza Silva,
Elisabeth Francisconi Fay, Regina Rosim Monteiro.

Antonio César Rosamiglia

Jaguariúna, SP
1999

EMBRAPA MEIO AMBIENTE. Boletim de Pesquisa, 5

Exemplares desta publicação podem ser solicitados à:

Embrapa Meio Ambiente

Rodovia SP-340 - km 127,5 - Bairro Tanquinho Velho

Caixa Postal 69 13820-000 - Jaguariúna, SP

Fone: (0__19) 867-8700 Fax: (0__19) 867-8740

e-mail:edis@cnpma.embrapa.br

Comitê de Publicações: Aldemir Chaim, Célia M. M. de S. Silva, Franco Lucchini, Julio F. de Queiroz, Magda A. de Lima e Maria Cristina Tordin

Revisão: Denise Moraes de Oliveira

Produção Gráfica: Regina L. Siewert Rodrigues, Franco Ferreira de Moraes e Denise Moraes de Oliveira

Normatização: Maria Amélia de Toledo Leme

Tiragem: 500 exemplares

MELO, I.S.; SILVA, C.M.M.S.; FAY, E.F.; MONTEIRO, R.R. ROSAMIGLIA, A. C. **Degradação de atrazina por fungos filamentosos.** Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 1999. 24p. (Embrapa Meio Ambiente. Boletim de Pesquisa, 5).

CDD 632.954

©EMBRAPA MEIO AMBIENTE, 1999

SUMÁRIO

Resumo.....	05
Abstract.....	07
Introdução.....	09
Materiais e métodos.....	11
Resultados e Discussão.....	15
Conclusões.....	21
Referências Bibliográficas.....	23

Degradação de Atrazina por Fungos Filamentosos

Itamar Soares de Melo¹
Célia M. M. de Souza Silva²
Elisabeth Francisconi Fay³
Regina Rosim Monteiro⁴
Antonio C. Rosamiglia⁵

RESUMO

Atrazina é um dos herbicidas mais utilizados no mundo, apresentando relativa persistência em zonas saturadas e insaturadas. A principal via de dissipação de atrazina inclui a biodegradação. Solos coletados no município de Guaíra, SP, provenientes de áreas de mata, e solos sob cultivo intensivo, sob irrigação, com histórico de aplicação de atrazina, foram suplementados e incubados com o herbicida nas seguintes concentrações: $70 \mu\text{g g}^{-1}$, $350 \mu\text{g g}^{-1}$ e $700 \mu\text{g g}^{-1}$. Após diluição em série, procedeu-se ao plaqueamento em meio de cultura (meio de Martin), também suplementado com o herbicida ($700 \mu\text{g g}^{-1}$). Os fungos selecionados nesta fase foram cultivados em meio líquido de batata-dextrose (50%) suplementado com $700 \mu\text{g mL}^{-1}$ de atrazina. As culturas

¹ Engenheiro Agrônomo, Ph.D., Embrapa Meio Ambiente, Caixa postal 69, CEP 13.820-000 Jaguariúna, SP.

² Bióloga, Ph.D., Embrapa Meio Ambiente.

³ Farmacêutica Bioquímica, Embrapa Meio Ambiente.

⁴ Bióloga, Ph.D, USP/CENA, Av. Centenário 303, CEP 13.416-000, Piracicaba, SP.

⁵ Engenheiro Agrônomo, Bolsita CNPq., Embrapa Meio Ambiente.

foram incubadas a 28°C, sob agitação (150rpm), por um período de 21 dias. A determinação quantitativa dos resíduos de herbicida do meio de cultura foi feita por cromatografia gasosa após extração e purificação das amostras. Verificou-se que muito embora os fungos fossem capazes de crescer na presença do pesticida, somente algumas espécies foram capazes de degradar o composto. Os gêneros *Penicillium* sp., *Eupenicillium* sp. e *Dermatiacium* sp. foram identificados como responsáveis pela degradação de atrazina, com crescimento abundante de biomassa. *P. crustacium* degradou mais de 90% do produto, enquanto que *Penicillium* sp, linhagem FG-7, degradou apenas 27%.

Termos de Indexação: herbicida, atrazina, microrganismos, *Penicillium*.

ABSTRACT

Atrazine is one of the most widely used herbicide in the world, and is considered to be relatively recalcitrant in subsurface saturated and insaturated zones. The major pathways of dissipation include the biodegradation. The aim of this research was characterize a group of fungi degrading atrazine. Two types of soil (natural forest and a soil with previous history of long-term application of the herbicide) collected in north of São Paulo State, in Guaíra, were supplemented with atrazine (70, 350 and 700 $\mu\text{g g}^{-1}$) and incubated at 28°C for 21 days. Fungi were isolated in culture medium containing atrazine, through of the serial dilution in Martin medium supplemented with the herbicide. The isolates were grown in liquid medium supplemented with atrazine in order to evaluate the capacity of degradation of each strain. nine strains belonging to the genus *Penicillium*, *Eupenicillium* and *Dermatiacium* grew faster, producing high amount of biomass using atrazine as substrate. The quantitative determination of the residues was carried out by CG after extraction and purification of the samples with ethyl acetate. All nine strains degraded atrazine with *P. crustacium* degrading more than 90%.

Index terms: herbicide, atrazine, microorganisms, *Penicillium*.

INTRODUÇÃO

Atrazina (6-cloro-N-etil-N¹-(1-metiletil)-1,3,5-triazina-2,4-diamina) é um membro importante da família dos herbicidas s-triazinas, usado para controlar ervas daninhas de folhas largas. É considerada moderadamente persistente nos solos, e registros sobre sua meia-vida reportam que esta varia de 4 a 47 semanas (Mandelbaum et al., 1993b). Segundo Monteiro et al. (1995) a meia-vida da atrazina no horizonte A de um solo podzólico vermelho-amarelo foi de 13 a 26 semanas e nos horizontes AB e B, de 26 semanas (persistência alta), demonstrando uma baixa taxa de degradação.

O uso intensivo de atrazina e sua relativa persistência associada à sua mobilidade tornam-na um poluente potencial de águas subterrâneas e superficiais. Estudos realizados no Estados Unidos (1991) demonstraram que esse herbicida freqüentemente excede 3 partes por bilhão (ppb), limite permitido pela Agência de Proteção Ambiental-EPA daquele país. Segundo Nyer (1993), um único poço amostrado nos Estados Unidos apresentou 3000ppb de atrazina e também altíssimas concentrações de alachlor, butilato e metalachlor. Devido ao alto grau de contaminação em todo o mundo por herbicidas s-triazinas, alguns laboratórios têm dedicado-se a estudos sobre o seu destino e biodegradação. A quantificação da degradação desses compostos no ambiente é importante para melhor entender os processos envolvidos em seu destino e sua avaliação ecotoxicológica, no sentido de propor práticas de manejo que evitem seus efeitos indesejáveis.

O processo de mineralização de um pesticida significa sua completa degradação a moléculas inorgânicas como CO₂, CO, H₂O, NH₃, H₂S, Cl⁻ e outras, sendo essa a única maneira de eliminar um composto xenobiótico do ambiente.

O metabolismo microbiano de pesticidas tem sido estudado intensivamente devido à sua influência na eficácia e no destino desses compostos no ambiente (Bollag & Liu, 1990). Os microrganismos utilizam, portanto, certos pesticidas como fonte de carbono e várias espécies de bactérias têm sido descritas como capazes de degradar parcialmente a atrazina, através da hidroxilação ou N-dealquilação. Muitas dessas espécies são capazes de mineralizar a atrazina através da clivagem do anel (Mandelbaum et al., 1993a; Mandelbaum et al., 1995; Rodosevich et al., 1995; Alvey & Crowley, 1996).

Todavia, há poucos relatos de estudos sobre culturas puras, capazes de metabolizar atrazina. Espécies de *Nocardia* e *Pseudomonas*, isoladas em solos contaminados com atrazina, utilizam a cadeia lateral da molécula como única fonte de carbono e energia. Mandelbaum et al. (1995) reportam bactérias do gênero *Pseudomonas*, capazes de mineralizar atrazina, utilizando-a como fonte de nitrogênio, tendo o citrato de sódio como fonte de carbono.

Vários são os mecanismos pelos quais a adaptação de comunidades microbianas do solo produzem populações que são capazes de acelerar a degradação de um pesticida (Alexander, 1994). A adaptação se refere à mudanças na comunidade microbiana que, por sua vez, incrementa a taxa de transformação de um dado composto como resultado de uma exposição prévia ao mesmo composto. Assim, áreas tratadas por dois ou mais anos consecutivos, com o mesmo pesticida ou substâncias análogas, podem apresentar uma biodegradação acelerada.

Este trabalho teve como objetivo verificar o potencial dos fungos filamentosos para degradar o herbicida atrazina.

MATERIAIS E MÉTODOS

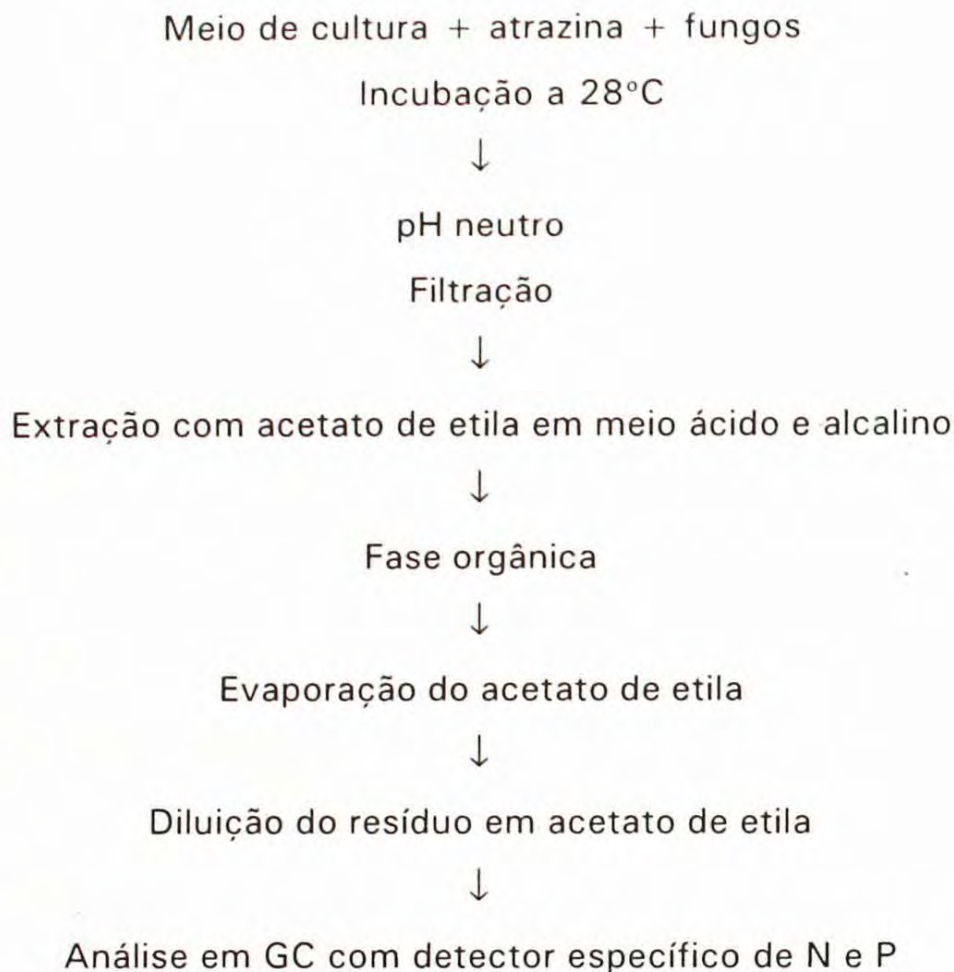
Isolamento: Solos amostrados em áreas de mata e de agricultura irrigada, com histórico de aplicações de atrazina em fazendas do município de Guaira, SP, foram suplementados em laboratório, com atrazina nas seguintes concentrações: $70\mu\text{g g}^{-1}$, $350\mu\text{g g}^{-1}$ e $700\mu\text{g g}^{-1}$ do ingrediente ativo. Esses solos e os solos controle (sem atrazina) foram reumedecidos à capacidade de campo e incubados a 25°C , por trinta dias. Após este período, procedeu-se ao isolamento em meio de cultura (meio de Martin suplementado com atrazina), por meio do método de diluição em série.

Os fungos selecionados *in vitro* foram multiplicados em meio líquido BD (batata-dextrose 50%) suplementado com $700\mu\text{g mL}^{-1}$ de atrazina. As culturas foram incubadas a 28°C , sob agitação (150rpm), por um período de 21 dias.

Os fungos que apresentaram maior potencial em degradar atrazina foram identificados taxonomicamente pela Fundação Tropical de Pesquisa e Tecnologia "André Tosello".

Avaliação da degradação de atrazina: Todos os fungos resistentes à atrazina foram avaliados quanto à utilização do produto como fonte de carbono, após 21 dias de cultivo. A determinação quantitativa dos resíduos de atrazina no meio de cultura foi conduzida por cromatografia gasosa, após extração e purificação das amostras. As etapas desse processo seguiram o método descrito a seguir:

Método de extração e purificação de atrazina:



Para validação do método analítico foram estabelecidas porcentagens de recuperação dos resíduos de atrazina. Estes foram determinados em Erlenmeyers, contendo meio de cultura batata-dextrose (BD-50%) suplementado com atrazina. As culturas foram incubadas nas mesmas condições do experimento anterior, sendo a determinação quantitativa realizada como descrito anteriormente.

Estimativa da biomassa: A avaliação da biomassa fúngica ocorreu sob as mesmas condições do experimento de degradabilidade. As linhagens de *Penicillium* (FG-3, FG-8 e FG-12) cresceram em Erlenmeyers, contendo

100mL de meio de cultura BD (50%), suplementado, ou não, com atrazina (500 μ g mL⁻¹). Após uma semana, a massa micelial formada foi filtrada e seca em estufa a 55°C, até atingir peso constante. Também foram avaliados outros três fungos: um *Eupenicillium crustacium*, que degradou mais de 60% de atrazina; e outras duas linhagens de *Trichoderma* sp, isolados também de solos de mata de reserva de fazendas com histórico de uso de atrazina, na região de Guaíra. Neste caso, as linhagens foram inoculadas em meio mineral, contendo somente glicose ou glicose mais atrazina.

Caracterização citológica e bioquímica dos fungos degradadores: As linhagens pertencentes aos gêneros *Penicillium* e *Eupenicillium*, identificadas como responsáveis pela degradação de atrazina, foram submetidas à caracterização citológica e bioquímica.

Para caracterização citológica, as linhagens selecionadas de *Penicillium* sp (FG-3, FG-8 e FG-12) foram cultivadas em meio batata-dextrose-ágar (BDA) por uma semana, a 28°C, para a produção de conídios. A metodologia empregada para a coloração de núcleos foi a descrita por Tanaka (1979). Foram avaliados o número de núcleos por conídio e o tamanho dos conídios.

A caracterização bioquímica ocorreu através da análise eletroforética em gel de poliacrilamida, para o padrão de proteínas totais. As linhagens foram cultivadas em frascos Erlenmeyers, contendo meio líquido mineral de Czapek suplementado com atrazina (100 μ g mL⁻¹). O controle constou do crescimento de fungos no mesmo meio sem o herbicida. Ambos os tratamentos foram incubados durante quinze dias e, após este período, o micélio foi recuperado por filtração a vácuo, para então ser liofilizado à temperatura de -45°C e à pressão de 8x10⁻¹ kPa. As amostras foram preparadas de acordo com a metodologia descrita por Paccola-

Meireles et al. (1988). O gel de acrilamida foi confeccionado a 10%. O ajuste inicial dos parâmetros foi de 419 volts, 167mA e 70 watts, e o final de 419 volts, 71,4 mA e 30 watts. A temperatura durante a corrida foi mantida entre 3 e 8°C, na água de refrigeração do sistema.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Isolamento: Os fungos resistentes à atrazina, isolados nas amostras de solo suplementados, ou não, com o herbicida, encontram-se listados na Tabela 1. Somente os fungos que apresentaram esporulação abundante em meios com altas concentrações de atrazina (700 e 7000 mg mL⁻¹), esporulação esta similar à encontrada em meio contendo glicose, foram considerados para avaliar seus potenciais em utilizar o herbicida como fonte de carbono.

Avaliação da degradação de atrazina: Verificou-se que apesar dos fungos produzirem uma razoável biomassa em meio de cultura suplementado com atrazina, somente os filamentosos foram capazes de degradar o herbicida. Os gêneros *Penicillium* sp e *Eupenicillium* sp foram identificados como responsáveis por uma taxa de degradação que variou de 27% (*Penicillium* sp linhagem FG-7) a 92% (*P. crustacium*) (Tabela 2). O fungo filamentoso *Dermatiacium* sp degradou 56,3% do herbicida. Verificou-se que os fungos que apresentaram maior potencial em degradar atrazina foram isolados de solos de mata não tratados previamente com o herbicida. É possível que essas linhagens fúngicas possuam uma resistência genética intrínseca a essa molécula e que utilizem o composto como fonte de carbono e energia. Seria interessante estudar a bateria de enzimas produzidas por esses fungos e envolvidas na degradação de atrazina. Três enzimas hidrolíticas estão envolvidas nesta degradação: a primeira catalisa a degradação hidrolítica, produzindo hidroxiatrazina; a segunda catalisa a deaminação da hidroxiatrazina, produzindo N-isopropilamelida; e, finalmente, uma terceira enzima (isopropilaminohidrolase) transforma N-isopropilamelide em ácido cianúrico e isopropilamina.

TABELA 1: Relação de fungos filamentosos resistentes a atrazina, isolados de solos de mata e de solos agrícolas, tratados ou não com o herbicida.

FUNGOS (isolados)	TRATAMENTO/ ORIGEM	IDENTIFICAÇÃO
FG-1	solo de mata (não tratado)	<i>Eupenicillium crustacium</i> *
FG-2	solo de mata (não tratado)	n.i.**
FG-3	solo de mata (não tratado)	<i>Penicillium crustacium</i> *
FG-4	solo de mata (tratado com 70 $\mu\text{g g}^{-1}$)	n.i.
FG-5	solo de mata (tratado com 70 $\mu\text{g g}^{-1}$)	n.i.
FG-6	solo de mata (tratado com 70 $\mu\text{g g}^{-1}$)	n.i.
FG-7	solo de mata (tratado com 350 $\mu\text{g g}^{-1}$)	n.i.
FG-8	solo de mata (tratado com 350 $\mu\text{g g}^{-1}$)	<i>Penicillium simplicissimum</i> *
FG-9	solo de mata (tratado com 350 $\mu\text{g g}^{-1}$)	<i>Eupenicillium crustacium</i> *
FG-10	solo de mata (tratado com 700 $\mu\text{g g}^{-1}$)	n.i.
FG-11	solo de mata (tratado com 700 $\mu\text{g g}^{-1}$)	n.i.
FG-12	solo de mata (tratado com 700 $\mu\text{g g}^{-1}$)	<i>Penicillium sp</i> *
FG-13	solo de plantio (não tratado)	n.i.
FG-14	solo de plantio (não tratado)	n.i.
FG-15	solo de plantio (não tratado)	n.i.
FG-16	solo de plantio (tratado com 70 $\mu\text{g g}^{-1}$)	n.i.
FG-17	solo de plantio (tratado com 70 $\mu\text{g g}^{-1}$)	<i>Dermatiacium sp</i> *
FG-18	solo de plantio (tratado com 70 $\mu\text{g g}^{-1}$)	n.i.
FG-19	solo de plantio (tratado com 350 $\mu\text{g g}^{-1}$)	n.i.
FG-20	solo de plantio (tratado com 350 $\mu\text{g g}^{-1}$)	n.i.
FG-21	solo de plantio (tratado com 350 $\mu\text{g g}^{-1}$)	n.i.
FG-22	solo de plantio (tratado com 700 $\mu\text{g g}^{-1}$)	n.i.
FG-23	solo de plantio (tratado com 700 $\mu\text{g g}^{-1}$)	n.i.
FG-25	solo natural de mata	<i>Trichoderma spp.</i>
FG-26	solo natural de mata	<i>Trichoderma spp.</i>
FG-27	solo natural de mata	<i>Trichoderma spp.</i>
FG-28	solo natural (sem tratamento)	<i>Eupenicillium crustacium</i>
FG-29	solo natural de mata	<i>Trichoderma spp.</i>
FG-30	solo natural de mata	<i>Trichoderma spp.</i>
FG-31	solo natural de mata	n.i.
FG-32	solo natural de mata	n.i.
FG-33	solo natural de mata	n.i.

* Fungos identificados pela Fundação de Pesquisa e Tecnologia "André Tosello", Campinas, SP

** n.i. = fungos não identificados.

TABELA 2: Degradação de atrazina por fungos filamentosos

Fungos	Degradação de atrazina (%)
Controle	0,00
FG-7	26,8
FG-4	29,5
FG-9 (<i>E. crustacium</i>)	49,2
FG-12 (<i>Penicillium</i> sp.)	56,3
FG-17 (<i>Dermatiacium</i> sp.)	56,3
FG-28 (<i>E. crustacium</i>)	61,8
FG-8 (<i>P. simplicissimum</i>)	71,6
FG-1 (<i>E. crustacium</i>)	74,9
FG-3 (<i>P. crustacium</i>)	92,3

Estudos realizados por Kaufman & Blake (1970) demonstraram fungos capazes de degradar atrazina por N-dealquilação, evidenciando o despreendimento de $^{14}\text{CO}_2$ de atrazina, ^{14}C -etil ou ^{14}C -isopropil. Já Levanon (1993) concluiu que a mineralização da cadeia lateral alquil-amino da atrazina ocorreu principalmente devido à atividade fúngica, porém a clivagem do anel só foi possível com a cultura mista de fungos e bactérias. Segundo o autor, o metabolismo fúngico cliva a cadeia lateral da atrazina e abre caminho para a degradação bacteriana do anel.

Mandelbaum et al. (1995) citam uma linhagem de *Pseudomonas* sp. capaz de degradar atrazina em altas concentrações ($> 1000 \mu\text{g mL}^{-1}$), utilizando o herbicida como única fonte de nitrogênio, com metabolização muito maior do que a necessária para a sua assimilação de N. Neste caso, 80% de carbono do anel s-triazina foram transformados em CO_2 .

As culturas fúngicas de *Eupenicillium* sp. e *Penicillium* sp., descritas nesse trabalho, exibem alta taxa de transformação biológica de atrazina em meio de cultura contendo altas concentrações da molécula ($3.500 \mu\text{g mL}^{-1}$). Entretanto, ainda são necessários estudos para estabelecer o papel dessas linhagens fúngicas na mineralização de atrazina, uma vez

que, na maioria dos casos, cita-se somente a N-dealquilação da cadeia lateral, mas o completo metabolismo do anel s-triazina não é demonstrado.

Estimativa da biomassa: Os dados referentes à produção de biomassa das linhagens fúngicas crescidas em meio de cultura suplementado, ou não, com atrazina encontram-se nas Tabelas 3 e 4. Observa-se que o herbicida teve maior efeito sobre a linhagem FG-12, na qual houve maior inibição do crescimento fúngico na presença do pesticida. Com relação à linhagem FG-8 e FG-3 verificou-se que os fungos cresceram bem tanto no meio sem atrazina, como no meio com atrazina. Justamente essas linhagens, foram aquelas que utilizaram o composto como fonte de alimento. Em meio mineral contendo atrazina e glicose, tanto as linhagens de *Trichoderma* (FG-33 e FG-30) como a linhagem FG-28 de *E. crustacium* cresceram tão bem quanto no meio sem atrazina (Tabela 4). Verificou-se, também, o crescimento desses fungos em meio mineral, contendo somente atrazina como fonte de nitrogênio.

TABELA 3: Biomassa de três linhagens de *Penicillium* sp. crescidos em meio de cultura BD (50%) suplementado ou não com atrazina (500 mg mL⁻¹). Média de quatro repetições.

Fungos	Matéria seca (g) 100mL ⁻¹ de meio	
	Sem atrazina	Com atrazina
FG-3 (<i>P. crustacium</i>)	0,0555	0,0563
FG-8 (<i>P. simplicissimum</i>)	0,0552	0,0513
FG-12 (<i>Penicillium</i> spp.)	0,0593	0,0478

TABELA 4: Biomassa (mg 100 mL⁻¹) de três linhagens fúngicas crescidas em meio mineral (Czapeck) contendo atrazina (1 e 10 µg mL⁻¹). Avaliações feitas aos 7 e 14 dias após inoculação.

Linhagens fúngicas	7 dias			14 dias		
	0 µg mL ⁻¹	1 µg mL ⁻¹	10 µg mL ⁻¹	0 µg mL ⁻¹	1 µg mL ⁻¹	10 µg mL ⁻¹
FG-33 (<i>Trichoderma</i> sp)	0,1496	0,1437	0,1333	0,1702	0,1709	0,1293
FG-30 (<i>Trichoderma</i> sp)	0,1296	0,1347	0,1477	0,1317	0,1326	0,1490
FG-28 (<i>Eupenicillium crustacium</i>)	0,1657	0,1757	0,1795	0,1402	0,1477	0,1394

A linhagem FG-3 (*P. crustacium*), que em todos os experimentos demonstrou alta capacidade de degradar atrazina, está sendo testada em estudos de mineralização no solo, utilizando-se atrazina radiomarcada. Para tanto, estudos da formulação (tipo de granulado) do fungo estão sendo realizados. Já foi desenvolvida uma formulação à base de alginato de cálcio, caulin (carregador) e esporos do fungo. Avaliações preliminares demonstraram uma viabilidade de 100% do fungo por um período de três meses, em condições de armazenamento do produto, à temperatura ambiente.

Caracterização citológica e bioquímica: As linhagens de *Penicillium* sp. (FG-3, FG-8 e FG-12) caracterizadas citologicamente apresentaram apenas um núcleo por conídio. Estes, por sua vez, exibiram um comprimento médio de 3,74 x 1,95 μm (FG-8), 2,53 x 2,30 μm (FG-12) e 2,89 μm (FG-3). Conídios uninucleados facilitam os trabalhos de genética e o melhoramento de uma linhagem fúngica.

A análise do padrão proteico das linhagens selecionadas, incubadas com ($100\mu\text{g mL}^{-1}$) e sem atrazina, apresentou variação para o padrão de bandas. Todas as linhagens de *Penicillium* sp. que cresceram na presença de atrazina apresentaram um padrão de bandas proteicas diferente do observado quando as mesmas linhagens cresceram na ausência do herbicida. Na presença de atrazina observou-se a expressão de bandas intensas extras com Rfs diferentes, indicando a provável indução de enzimas pelo herbicida.

CONCLUSÕES

1. Fungos filamentosos pertencentes a diversos gêneros, entre os quais *Eupenicillium*, *Penicillium* e *Trichoderma*, isolados tanto de solos agrícolas, como de solos de mata são capazes de crescer em altas concentrações de atrazina, metabolizando esse herbicida.
2. Linhagens de *Penicillium*, quando crescidas em meio de cultura contendo atrazina, expressaram proteínas extras e diferentes daquelas identificadas quando as linhagens cresceram em meio sem atrazina.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVEY, S.; CROWLEY, D.E. Survival and activity of an atrazine-mineralizing bacterial consortium in rizosphere soil. *Environmental Science & Technology*, v.30, p.1596-1603, 1996.
- KAUFMAN, D.D.; BLAKE, J. Degradation of atrazine by soil fungi. *Soil Biology & Biochemistry*, v.2, p.73-80, 1970.
- LEVANON, D. Roles of fungi and bacteria in the mineralization of the pesticides atrazine, alachlor, malathion and carbofuran in soil. *Soil Biology & Biochemistry*, v.25, n.8, p.1097-1105, 1993.
- MANDELBAUM, R.T.; WALCKET, L.P.; ALLAN, D.L. Isolation and characterization of a *Pseudomonas* sp that mineralizes the s-triazine herbicide triazine. *Applied and Environmental Microbiology*, v.61, p.1451-1457, 1995.
- MANDELBAUM, R.T.; WALCKET, L.P.; ALLAN, D.L. Mineralization of the s-triazine by stable bacterial mixed cultures. *Applied and Environmental Microbiology* v.59, p.1695-1701, 1993a.
- MANDELBAUM, R.T.; WALCKET, L.P.; ALLAN, D.L. Rapid hydrolysis of atrazine hidroxyatrazine by soil bacteria. *Environmental Science & Technology*, v.27, p.1943-1946, 1993b.
- MONTEIRO, R.T.R.; DELGADO, D.; QUEIROZ, B.P.V. Degradação de ¹⁴C-atrazina nos horizontes A, AB e B de um solo Podzólico Vermelho-Amarelo Abrupto. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, 25., 1995, Viçosa, MG. Resumos expandidos. Viçosa: SBCS, 1995. v.4, p.2407-2409.
- NYER, E.K. Treatment of herbicides in groundwater. In: NYER, E.K., ed. *Practical techniques for groundwater and soil remediation*. Boca Raton: CRC Press, 1993. p.123-131.
- PACCOLA- MEIRELES, L.D.; VALARINI, M.J.; AZEVEDO, J.L.; ALFENAS, A.C. *Manual de técnicas eletroforéticas em microrganismos*. Piracicaba: FEALQ, 1988. 54p.

RADOSEVICH, M.; TRAINA, S.J.; YUE-LI, H.; TUOVINEN, O.H. Degradaation and mineralization of atrazine by a soil bacterial isolate. *Applied and Environmental Microbiology*, v.61, n.1, p.297-302, 1995.

TANAKA, T.; MURATA, N.; KATO, H. Behavior of nucleic and chromossomes during ascus development in matting between rice-strain or weeping lovegrass-strain and ragi-strain of *Pyricularia*. *Annals of the Phytopathological Society of Japan, Tokyo*, v.45, p.182-191, 1979.

U.S. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. Maximum contaminant levels (subpart B of 141, Nat. primary drinking water reg.). In: *U.S. Code of Federal Regulations. Title 40, Parts 100-149. Washington, D.C.: U.S. Government Printing Office, 1990. p.599-563.*

