

RIZOREMEDIÇÃO DE PENTAFLOROFENOL EM UM SOLO ARGILOSO POR *SPHINGOMONAS CHLOROPHENOLICA* ATCC 39723

PENTACHLOROPHENOL RHIZOREMEDIATION IN A LOAMY SOIL BY *SPHINGOMONAS CHLOROPHENOLICA* ATCC 39723

ROSEMERI I. DAMS

Farmacêutica bioquímica pela Universidade Federal de Santa Catarina. Mestre em Ciência dos Alimentos (UFSC) e PhD em Microbiologia Ambiental pela Universidade de Aberdeen, Reino Unido. Professora do Curso de Nutrição da Universidade do Vale do Itajaí- SC

Recebido: 15/02/06 Aceito: 29/10/07

RESUMO

O principal objetivo deste trabalho foi estudar a degradação de PCP por *Sphingomonas chlorophenolica* em solo argiloso na presença e ausência de trigo. As concentrações de PCP foram determinadas através de Análises de Alta Performance de Cromatografia Líquida. Os efeitos tóxicos de PCP foram estudados através do monitoramento do crescimento das plantas. A biodegradação de PCP por *S. chlorophenolica* foi acompanhada por testes de bioluminescência de *Escherichia coli* HB101 pUCD607 e contagens bacterianas no solo e nas raízes. A degradação de PCP ocorreu de forma mais rápida no solo plantado e inoculado quando comparada ao solo sem plantas. Houve um aumento significativo nas populações dos organismos testados nas raízes quando comparadas com as populações presentes no solo. O monitoramento do crescimento da planta mostrou o papel protetor exercido pela *S. chlorophenolica* contra a toxicidade do PCP.

PALAVRAS-CHAVE: Pentaclorofenol, rizoremediação de solos, *Sphingomonas chlorophenolica*, solo.

ABSTRACT

The main objective of this study was study the PCP degradation by *Sphingomonas chlorophenolica* in a loamy soil in the presence and absence of plants (Winter wheat). Measurements of PCP concentrations were carried out in a laboratory basis using High performance liquid chromatography analysis (HPLC). The toxic effect of PCP on plants was studied through the monitoring of the plant growth. The biodegradation of PCP by *S. chlorophenolica* in soil was assessed with a bioluminescence assay of *Escherichia coli* HB101 pUCD607 and bacterial analyses in roots and soil. The planted and inoculated soil showed a faster degradation when compared to the inoculated soil without plants. There was a significative increase in the populations of the organisms tested in the roots when compared to the soil. The monitoring of the plant growth showed a protective role of *S. chlorophenolica* against the toxicity of PCP in the loamy soil.

KEYWORDS: Pentachlorophenol degradation; bioaugmentation, rhizoremediation, *Sphingomonas chlorophenolica*; soil systems.

INTRODUÇÃO

Bioremediação é uma tecnologia alternativa às tecnologias convencionais para a remediação de solos ou águas poluídas. Ela se utiliza da habilidade de biotransformação que microrganismos possuem em remover, degradar ou tornar inócuos os contaminantes orgânicos. Contudo, estes organismos devem estar ativos e competitivos. No sistema solo, fatores físico-químicos e parâmetros biológicos poderão afetar a performance do inóculo. Organismos como *Flavobacterium sp.*, *Arthrobacter*, *Sphingomonas chlorophenolica* RA2 foram investigados pela sua habilidade em degradar solos contaminados por PCP- (Saber & Crawford, 1985; Crawford & Mohn, 1985; Edgehill, 1994; Miethling & Karlson, 1996). *Sphingomonas chlorophenolica* é uma

bactéria Gram negativa e reconhecida como degradadora de PCP (Saber & Crawford, 1985; Crawford & Mohn, 1985; Brown et al, 1986; Steiert & Crawford, 1985; Steiert & Crawford, 1986; Yang et al, 2006). As vias metabólicas de degradação têm sido elucidadas e hidroquinonas têm sido relatadas como os principais produtos metabólicos (Xu et al, 1999; Cai & Xun, 2002; Dai et al, 2003).

A fitoremediação é considerada como uma tecnologia emergente e que usa plantas para remover e degradar compostos poluentes presentes em solos, sedimentos e águas superficiais. Atualmente a fitoremediação é utilizada para o tratamento de muitas classes de contaminantes, como hidrocarbonetos de petróleo, pesticidas, explosivos, metais pesados (McCutcheon e Schnoor, 2003). Enquanto que a rizoremediação

é a quebra de moléculas de compostos orgânicos dentro da zona da rizosfera (solo ao redor das raízes), onde há um aumento da atividade microbiana e da biomassa na interface solo-raiz. As raízes de plantas secretam substâncias como carboidratos, enzimas e amino ácidos que os organismos possam utilizar como substrato. A degradação na rizosfera também pode ocorrer pela transferência adicional de oxigênio do sistema de raízes ao solo causando uma melhora da mineralização dos compostos orgânicos e estimulação da transformação co-metabólica de substâncias químicas. (Anderson et al, 1993). Estudos indicam que a vegetação e comunidades microbianas na rizosfera pode efetivamente tratar solos contaminados por compostos clorinados (Dhanker et al, 1999; Nzengung et al, 1999; Bankston et al, 2002).

Walton e Anderson (1990) têm sugerido que a rizosfera pode facilitar a degradação microbiana de compostos perigosos no solo. Segundo Reilley et al (1996), as raízes de plantas na rizosfera seriam capazes de selecionar comunidades microbianas capazes de dissipar poluentes orgânicos. Além disso, as raízes melhoram as condições de umidificação e adsorção dos poluentes orgânicos aumentando sua biodisponibilidade (Gunther et al 1996).

O objetivo deste estudo é avaliar a degradação de Pentaclorofenol (PCP) em um solo argiloso artificialmente contaminado com PCP utilizando-se da rizoremediação. Pentaclorofenol é um pesticida utilizado industrialmente como preservativo de madeira, além de vários usos na agricultura e outras aplicações industriais. Os efeitos da rizosfera sobre a degradação do PCP foram examinados em solo inoculado com *Sphingomonas chlorophenolica*. *S. chlorophenolica* ATCC39723 foi selecionada por ser reconhecida como degradadora de PCP. A degradação de PCP em um solo não estéril argiloso em presença e ausência de Trigo (*Triticum aestivum*) é apresentada, assim como os efeitos tóxicos de PCP sobre o crescimento da planta. A biodegradação de PCP por *S. chlorophenolica* em solo contaminado foi monitorado através de testes de bioluminescência usando o biosensor *Escherichia coli* HB101 pUCD607. São apresentados os efeitos estimulatórios da rizosfera sobre as populações microbianas.

METODOLOGIA

Degradação de PCP em solo argiloso na presença e ausência de trigo

Solo

Solo (Série Boyndie) foi coletado em Aberdeen (Norte da Escócia), Reino Unido. A Tabela 1 apresenta as características do solo.

O conteúdo de água no solo Boyndie foi ajustado para 35% de sua Capacidade Total de Retenção de Água (CTA) usando-se água destilada. A CTA total (50%) do solo úmido foi determinada através de seu peso seco a 105°C por 24-48 h. Solo foi adicionado de PCP (100 mg kg⁻¹ peso seco) e misturado por 30 min, então adicionado aos potes plásticos contendo

aproximadamente 350 +/- 5 g solo em peso seco. Os tratamentos aplicados ao solo são descritos na Tabela 2.

As sementes de dois dias foram transplantadas aos potes contendo solo umedecido. Durante 21 dias o conteúdo de água foi mantido diariamente a 35% de sua CTA através da irrigação dos potes com água destilada. Cinco réplicas de cada tratamento foram incubadas em uma câmara controlada (Fi-totron PG 660, Sanyo Gallenkamp, Leicester, U.K.) com ciclos diurnos de 12 h a temperatura constante de 18°C e 85% de umidade. A amostragem foi destrutiva.

Condições de crescimento do organismo

Em um *shaker* orbital (200 rpm) células de *S. chlorophenolica* ATCC 39723 cresceram a 25°C em um meio Mineral (MSM) (0.65 g de K₂HPO₄; 0.19 g de KH₂PO₄; 0.10 g de MgSO₄.7H₂O; 0.5 g de NaNO₃; e 4 g l⁻¹ glutamato de sódio (C₅H₈NO₄Na). O pH foi ajustado para 7.3-7.4 antes de autoclavagem, sendo adicionada após esterilização 2 mL l⁻¹ de solução esterilizada por filtração de FeSO₄ s 0,01 M. Quando a cultura bacteriana estava na fase semi-

logarítmica de crescimento (Densidade ótica de 0,5), as células foram induzidas ao metabolismo para PCP pela adição de PCP proveniente de uma solução estoque em uma concentração de 50 mg L⁻¹ (Topp et al, 1988). Crescimento foi monitorado em um Espectrofotômetro (Cecil Instruments Spectrophotometer) a 560 nm. Para monitorar a degradação de PCP na cultura bacteriana, 1 mL do meio de cultura foi centrifugado (6,000 g x 3 min) e a absorbância foi medida a 320 nm. Quando 80% de PCP havia sido degradado, células foram recuperadas por centrifugação (1ml) (6,000 g x 20 min), lavadas uma vez no meio de cultura MSM sem glutamato de sódio e suspensas em MSM sem glutamato. Esta suspensão foi, então usada como inóculo para os experimentos com uma densidade ótica de (O.D.) 0.7.

Sementes de trigo

As sementes de Trigo (*Triticum aestivum*) foram esterilizadas em uma solução de hipoclorito de sódio a 2% (v/v) por 20 minutos, lavadas por 30 min com água esterilizada e incubadas a 25°C para germinação em placas de Petri (15 cm de diâmetro), contendo papel filtro autoclavado

Tabela 1 - Descrição do solo Boyndie (Série Boyndie) de acordo com suas características

Solo Boyndie	
Textura	Argiloso
pH H ₂ O (1:1)	6.6
Carbono orgânico Total C (%)	2.54
N orgânico Total N (%)	0.09
Conteúdo de areia (%)	80
Conteúdo de argila (%)	6.5

Tabela 2 - Tratamentos aplicados ao solo adicionado de PCP (100 mg kg⁻¹ peso seco)

C	Solo sem PCP (controle)
P	Solo com PCP mais planta
I	Solo com PCP mais inóculo
PCP	Solo com PCP
PCP+I	Solo com PCP mais inóculo
PCP+P	Solo com PCP mais planta
PCP+I+P	Solo com PCP mais inóculo com planta

Whatman n.44 (Ratray et al,1995). Após 48 h, as sementes germinadas foram plantadas em potes plásticos contendo aproximadamente 350 +/- 5 g solo em peso seco.

Crescimento da planta

O crescimento da planta foi monitorado através da determinação do peso (g) da planta e do comprimento das raízes (cm). O peso da planta foi determinado através de peso seco em estufa a 80 °C por 24-48h (Hodge et al, 1998). Raízes e folhas foram separadas e o solo aderente foi removido através de lavação. O comprimento das raízes foi determinado estendendo-as em um papel branco e medidas. Cuidados foram tomados no sentido de não danificar raízes (Krisshan, 2000).

Análises microbiológicas

A enumeração de bactérias no solo e nas raízes foi realizada em 3 tipos de meio de cultura:

1. Agar MSM para *S. chlorophenolica* ATCC 39723: (0.65g de K_2HPO_4 ; 0.19g de KH_2PO_4 ; 0.10 g de $MgSO_4 \cdot 7H_2O$; 0.5 g de $NaNO_3$; e 4 g L^{-1} glutamato de sódio ($C_5H_8NO_2Na$). O pH foi ajustado para 7.3-7.4 antes de autoclavagem. Após, foi adicionado 2ml L^{-1} de solução esterilizada por filtração de $FeSO_4$ (0,01 M).

2. Agar MSM seletivo para organismos degradadores/tolerantes a PCP: mesma composição, mas adicionada de 50 mg L^{-1} de PCP.

3. Agar Caldo Trypticase de Soja (TSBA, Oxoid, UK) para organismos heterotróficos.

Cada amostra de solo foi analisada em 5 replicatas. Diluições seriadas foram emplacadas em cada meio de cultura e incubadas a 25°C. Contagens bacterianas foram realizadas entre 24 e 48 h após inoculação.

Análises químicas: extração e determinação de PCP

A extração de PCP foi realizada misturando-se alíquotas de 1 g de solo com 10 mL de metanol em tubos de centrifugação com capacidade para 50 mL e agitados por 1 h em temperatura ambiente em um agitador rotatório. Da solução do solo, alíquotas de 1 mL foram tomadas e centrifugadas (6,000 x g, 30 min). Uma coluna

de Extração de Fase Sólida (Bond Elut C18, 1cc/100mg, Varian, The Netherlands) foi usada para extração, sendo lavada com 10 mL de metanol. O sobrenadante (contendo metanol e PCP) passou através da coluna para remover qualquer partícula de solo e o material foi coletado em frascos âmbar (2 mL) para HPLC. Análises de Alta Performance de Cromatografia Líquida (HPLC) foram realizadas através de um sistema binário de bomba (Spectra system P200, Thermo Separation), e injetor de amostra automático. (AS 3000). Utilizou-se uma coluna Alltech C18 (SUO com comprimento de 250 mm x 4.6 mm (SN: 1456-98) e a detecção foi realizada a 210 nm (Spectrum System UV 1000). A fase móvel foi 70/30 (acetonitrila com solução aquosa de ácido acético a 0.1%/ metanol). As concentrações de PCP foram calculadas na base das medições das áreas dos picos comparando-se com padrões externos de concentrações conhecidas preparadas com metanol. Todos os experimentos foram realizados com 5 replicatas das amostras.

Bioensaio de luminescência de *E.coli* HB101 pUCD607

Teste de toxicidade aguda de PCP no solo foi realizado usando-se um biosensor *lux* (*E.coli* HB101 pUCD607). O biosensor foi ressuspensão de acordo com Paton et al (1997), adicionando-se à solução do solo (2 mL) 2 mL de água e a mistura agitada por 30 min a temperatura ambiente. Alíquotas de 20 μ L da suspensão bacteriana foram adicionadas a 180 μ L da solução solo-teste. A luminescência foi medida em um Luminômetro Automático Anthos Lucy 1 após 15 min de exposição. O bioensaio foi realizado em 5 réplicas e a luminescência foi expressa como porcentagem da luminescência medida nas soluções de solo em relação ao tratamento controle, o qual não recebeu PCP.

Análises estatísticas

Diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos aplicados ao solo foram avaliadas por Análise de Variância (ANOVA) através do Modelo Geral Linear usando o *software* Minitab versão 13.1 para Windows 95. Os níveis de significância são cotados a 95% de confiança ($P \leq 0.05$).

RESULTADOS

Degradação de PCP em solo não estéril argiloso em presença e ausência de Trigo (*Triticum aestivum*)

A Figura 1 mostra os experimentos com degradação de PCP em solo argiloso (Boyndie) na presença e ausência de Trigo (*Triticum aestivum*). A degradação de PCP foi monitorada por 3 semanas. Na presença do inóculo somente (PCP+I), PCP foi degradado em 2 semanas e cerca de 20 mg kg^{-1} em peso seco de PCP permaneceu no solo até o final do experimento. Na presença da planta somente, após 3 semanas de experimento, cerca de 60 mg kg^{-1} em peso seco de PCP permaneceu no solo. Quando o solo foi inoculado com *S.chlorophenolica* em presença da planta, PCP foi degradado rapidamente durante a primeira semana (PCP+I+P), sendo que cerca de 20 mg kg^{-1} em peso seco de PCP permaneceu no solo ao final do experimento. Na presença da planta com inóculo e PCP (PCP+I+P), a degradação de PCP foi significativamente melhor ($P \leq 0.05$) quando comparada com a planta somente (P). Ao final do experimento, cerca de 20 mg kg^{-1} em peso seco de PCP permaneceu no solo na presença do inóculo somente (PCP+I) e na presença do inóculo e planta (PCP+I+P) ($P \geq 0.05$).

Crescimento da planta medido pelo peso e comprimento da raiz

O crescimento da planta no solo argiloso (Boyndie) foi monitorado por 3 semanas de experimento através da medida do seu peso em gramas (g) e comprimento das raízes em centímetros (cm) (Fig.2). As plantas cresceram bem na ausência de PCP (P), com uma média de peso de 0.6 g após 20 dias de experimento. Quando em presença do inóculo (P+I), as plantas atingiram uma média de peso de 0.7 g após 20 dias. Em presença de PCP (PCP+P), a média de peso de 0.3 g foi significativamente menor ($P \leq 0.05$) quando comparada com a presença do inóculo (P+I) e planta somente (P). A média de peso da planta quando em presença de PCP, planta e inóculo (PCP+P+I) foi de cerca de 0.6 g, aproximadamente a mesma observada para a planta (0.6 g) quando na ausência do PCP (P). A

mesma resposta foi observada quando o comprimento das raízes foi medido. O comprimento das raízes na ausência de PCP (P) permaneceu constante, atingindo cerca de 12 cm e cerca de 10 cm quando na presença do inóculo (P+I), após 20 dias de experimento. O comprimento das raízes de cerca de 8 cm foi significativamente maior na presença de PCP, planta e inóculo (PCP+I+P) quando comparado com a presença de PCP somente (PCP+P), cerca de 3 cm ($P \leq 0.05$). Estes resultados sugerem que o inóculo exerceu um papel protetor contra a toxicidade do PCP.

Bioensaio de luminescência de *E.coli* HB 101 pUCD607

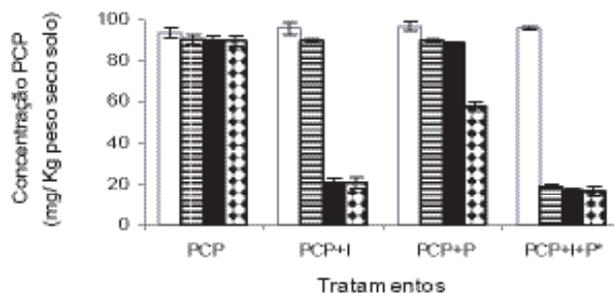
No solo argiloso (Boyndie) após a exposição a PCP por 15 min, a bioluminescência de *E.coli* HB 101 pUCD607 caiu cerca de 20, 25 e 30 % quando na presença do inóculo e planta (PCP+I+P), inóculo somente (PCP+I) e planta somente (PCP+P), respectivamente (Figura3). Após 20 dias a luminescência de *E.coli* HB101 pUCD607 retornou aos valores equivalentes aos do controle, indicando uma redução na toxicidade.

Análises microbianas

A Figura 4 apresenta o Total das Unidades Formadoras de Colônias (ufc/g) de *S. chlorophenolica*, organismos heterotróficos e organismos degradadores/tolerantes a PCP no solo e nas raízes. Após 20 dias, em presença de PCP, inóculo e planta (PCP+I+P), houve um significativo aumento destes organismos nas raízes quando comparados ao solo ($P \leq 0.05$). Quando na presença da planta e PCP (PCP+P) observou-se o mesmo aumento das populações destes organismos nas raízes quando comparas às populações no solo.

DISCUSSÃO

A degradação de PCP no solo argiloso inoculado (Boyndie) e plantado ocorreu em 1 semana contra 2 semanas no solo inoculado, mas não plantado. Ao final do experimento a mesma quantidade de PCP (20 mg kg^{-1}) permaneceu no solo em ambos os tratamentos. A habilidade de *S. chlorophenolica* em degradar PCP no solo foi demonstrada



* Representa estatisticamente diferente ($P \leq 0.05$)

Figura 1 - Degradação de PCP em solo argiloso contendo inicialmente 100 mg kg^{-1} de PCP em diferentes tratamentos após 0 (□), 6 (-), 13 (■) e 20 dias (⊠). Média de 5 replicatas. Barras verticais indicam Erro Padrão da média

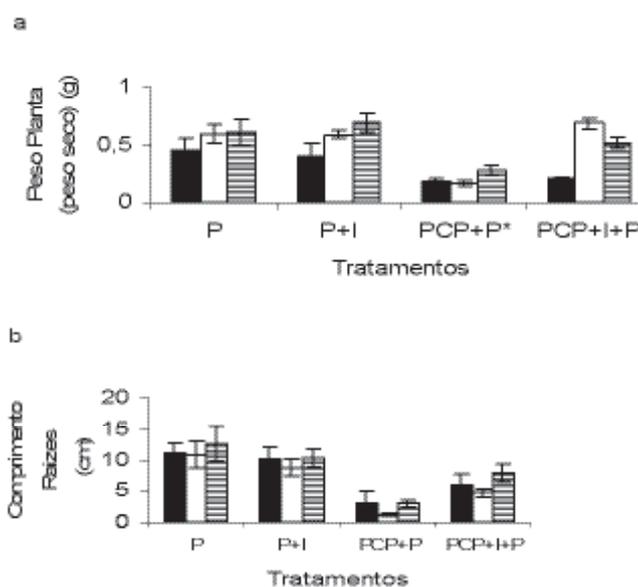


Figura 2 - Crescimento da planta em solo argiloso (Boyndie) contendo inicialmente 100 mg kg^{-1} PCP medido pelo peso da planta (g) (a) e comprimento da raiz (b) sob diferentes tratamentos após 6 (■), 13 (□) e 20 dias (-). Barras verticais indicam Erro padrão da média

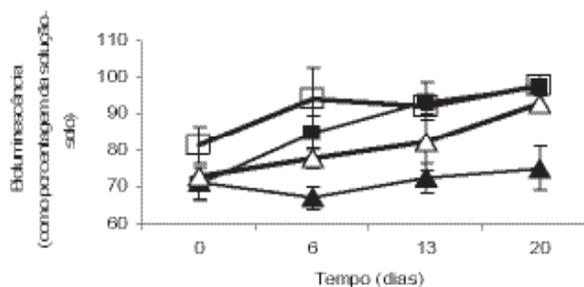


Figura 3 - Bioensaio de bioluminescência de *E.coli* HB101 pUCD607 após exposição a PCP (15 min) relativa a soluções controle de solo, as quais não receberam PCP. PCP mais Inóculo mais Planta □; PCP mais Inóculo ■; PCP mais planta △; PCP ▲; Média de 5 replicatas. Barras verticais indicam Erro padrão da média

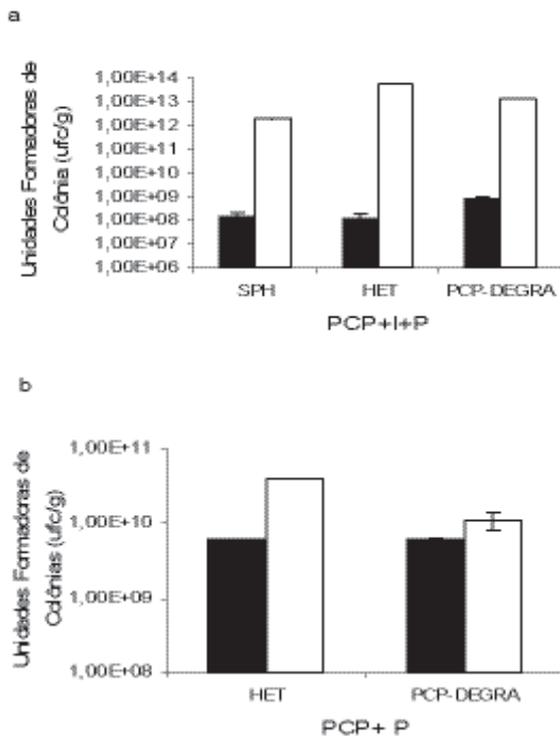


Figura 4 - Total de Unidades Formadoras de Colônia (ufc/g) de *S. chlorophenolica* (SPH), organismos heterotróficos (HET) e organismos degradadores/tolerantes a PCP (PCP-DEGRA) sob diferentes tratamentos: PCP + I + P (a) e PCP + P (b) no solo ■ e nas raízes □

também por Crawford & Mohn (1985) onde ($\leq 100 \text{ mg l}^{-1}$) foi mineralizado dentro de uma semana de aplicação em um solo argiloso. Neste presente estudo, a introdução de *S. chlorophenolica* no solo argiloso plantado significativamente aumentou a degradação de PCP em comparação ao solo não inoculado e sem planta. Estudos realizados recentemente indicam que a zona da rizosfera é mais efetiva na degradação de PCP (He et al, 2005), possivelmente devido a uma interação existente entre os exudatos provenientes das raízes e a comunidade microbiana do solo. São muitos os estudos relatando a rizoremediação de solos contaminados com compostos orgânicos como herbicidas (Anderson et al, 1994), 2,5-dichlorobenzoatos (Crowley et al, 1996), tricloroetileno (Walton & Anderson, 1990), 2,4,5-ácido triclorofenóxi (Boyle & Shann, 1998) e hidrocarbonetos policíclicos aromáticos, como pireno (Liste & Alexander, 2000). Neste estudo, uma melhora da degradação de PCP foi observada no solo argiloso plantado e inoculado. As plantas agiram como um vetor permitindo que o organismo

degradador atingisse seu alvo: PCP. Embora as interações entre bactérias e plantas em solos contaminados não sejam completamente esclarecidas, Walton & Anderson (1990) sugerem que micróbios, solo e raízes evoluíram para um benefício mútuo para muitas espécies de plantas e microbianas.

A presença de PCP teve um efeito significativamente adverso sobre o crescimento do trigo quando medido pelo peso da planta e comprimento das raízes. Neste experimento, PCP foi degradado rapidamente de modo a proteger o crescimento da planta dos efeitos fitotóxicos do PCP. A presença do inóculo protegeu significativamente a planta da toxicidade do PCP. Ao final do experimento o peso da planta, assim como o comprimento das raízes no solo plantado e inoculado foram aproximadamente os mesmos observados no solo não contaminado. Resultados similares foram obtidos por Pfender (1996), onde a inoculação de um solo contaminado com PCP com *Pseudomonas* cepa SR3 mostrou proteger o crescimento de painço (*Panicum miliseum* L.) da fitotoxicidade de PCP. O autor também

observou que a proteção bacteriana exercida foi devido à pequena concentração de PCP nas raízes das plantas tratadas com a bactéria.

A biodegradação de PCP por *S. chlorophenolica* no solo foi monitorada com o bioensaio de luminescência de *Escherichia coli* HB101 pUCD607. No solo argiloso (Boyndie) a toxicidade dos extratos aquosos do solo ao biosensor *lux* diminuiu com o tempo. Ao final do experimento, a luminescência retornou aos valores equivalentes aos do controle à medida que a degradação prosseguia. O biosensor *E. coli* HB101 pUCD607 é um indicador sensível das mudanças na toxicidade em solo. E tem sido usado para monitorar a toxicidade de 2,4-diclorofenol (Beaton et al, 1999; Shaw et al, 1999), no monitoramento da contaminação por clorofenóis durante a biodegradação por *Burkholderia* sp. RASC c2 em solos (Boyd et al, 2001) e monitoramento da eco-toxicidade associada com efluentes de indústrias de papel (Palmer et al, 1998).

A comparação entre as populações de *S. chlorophenolica*, organismos heterotróficos e organismos degradadores/tolerantes a PCP no solo e nas raízes mostrou que estas foram em maior número nas raízes do que no solo, quando em presença de PCP, inóculo e planta (PCP+I+P) e em presença da planta e PCP (PCP +P). Resultados similares foram obtidos por Crowley et al (1996) onde o número das populações de pseudomonas degradadores de 2,5-diclorobenzoato foram em maior número no solo com planta do que no solo não plantado após 14 dias. Siciliano & Greer (2000) também observaram maiores números de organismos heterotróficos em solo plantado com grama e inoculado com *Pseudomonas* sp. cepa14, uma bactéria conhecida como degradadora de TNT (2,4,6-trinitrotolueno. Neste estudo, um significativo aumento na população foi observado nas raízes quando comparou-se com o solo, indicando que raízes exercem um importante papel na estimulação das populações microbianas. O crescimento microbiano na rizosfera é estimulado pelo ganho de substratos orgânicos facilmente assimiláveis pela raiz (Lynch & Whipps, 1990), sendo que no solo estes substratos são limitados pelo carbono. Pesquisadores têm observado que a melhora na degradação do ácido 2,4-diclorofenoxiacético na rizosfera de *Trifolium pretense* foi in-

duzida por um ou mais componentes da rizosfera (Shaw et al, (2004).

Além disso, o efeito da rizosfera tem sido sugerido por alguns pesquisadores como um mecanismo onde um aumento não específico nos números e na atividade microbiana ocorre devido à liberação de nutrientes pela planta (Siciliano & Germina, 1997; Gunther et al, 1996). Esta rizodeposição facilita as complexas vias metabólicas (Crowley et al, (1997) através das atividades dos consórcios microbianos.

Neste presente estudo, tem sido demonstrado que a degradação de PCP é melhorada na rizosfera. A planta atuou como vetor para que o inóculo atingisse o composto alvo: PCP, ocorrendo então um aumento da população bacteriana na rizosfera. Este aumento na população microbiana sugere um efeito estimulatório da rizosfera sobre o crescimento microbiano. Grayston et al, (1998) também observaram um efeito estimulatório no crescimento microbiano, particularmente na população de pseudomonas. Recentes estudos (He et al, 2005) indicam que a zona da rizosfera é a mais efetiva na degradação de PCP, devido à uma possível interação entre os exudatos liberados pelas raízes e a comunidade microbiana presentes no solo. Haby & Crowley (1996) sugerem que esta rizodeposição possa aumentar os números das populações de degradadores de 3-cloro-benzoato através de crescimento co-metabólico ou algum metabolismo relacionado. A sobrevivência e atividade de populações indígenas do solo e inoculados na rizosfera têm sido bem relatadas na literatura. Reynolds et al (1999) observaram elevados números de populações indígenas degradadoras de hidrocarbonetos de petróleo na rizosfera de solo plantado com grama quando comparados com solo não plantado. Enquanto Alvey & Crowley, (1996) também observaram maiores populações bacterianas degradadoras de atrazina em solo plantado com milho quando comparados com solo não plantado.

CONCLUSÕES

A rizoremediação pode ser muito efetiva na redução das concentrações de PCP em solos contaminados. A rizosfera de certas plantas pode ser importante ao facilitar a degradação microbiana de pesticidas no solo. *S. chlorophenolica* teve como principal papel o de pro-

teger as plantas de efeitos fitotóxicos de compostos organoclorados, como o PCP. Há um grande potencial em se utilizar a vegetação com o objetivo de estabilizar e remediar solos superficiais. A rizosfera possui um significativo efeito estimulatório sobre o crescimento microbiano.

AGRADECIMENTOS

A autora gostaria de agradecer ao Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento (CNPq) pelo apoio e suporte financeiro para a realização deste trabalho e ao Departamento de Planta e Solo da Universidade de Aberdeen/Escócia, Reino Unido.

REFERÊNCIAS

- ALVEY, S., CROWLEY, D.E. *Survival and activity of an atrazine-mineralizing bacterial consortium in rhizosphere soil*. Environmental Science and Technology. v. 30, nº 5, p.1596-1603, 1996.
- ANDERSON, T.A., GUTHRIE, E.A., WALTON, B.T. *Bioremediation*. Environmental Science and Technology. v. 27, n. 13, p. 2630-2636, 1993.
- ANDERSON, T.A., KRUGER, E.L., COATS, J.R. *Enhanced degradation of a mixture of three herbicides in the rhizosphere of a herbicide-tolerant plant*. Chemosphere. v. 28, n.8, p.1551-1557, 1994.
- BANKSTON, J., et al. *Degradation of Trichloroethylene in Wetland Microcosms Containing Broad-leaved Cattail and Eastern Cottonwood*. Water Research. v. 36, nº 6, p. 1539-1546, 2002.
- BEATON, Y., et al. *Biosensing 2,4-dichlorophenol toxicity during biodegradation by Burkholderia sp. RASC c2 in soil*. Environ. Science and Technology. v.33, n.22, p. 4086-4091, 1999.
- BROWN, E.J., et al. *Pentachlorophenol degradation: a pure bacterial culture and an epilithic microbial consortium*. Applied and Environmental Microbiology. v.52, n.1,p. 92-97, 1986.
- BOYD, E.M., KILLKAM, K., MEHARD, A.A. *Toxicity of mono-, di- and tri-chlorophenols to lux marked terrestrial bacteria Burkholderia species RASC c2 and Pseudomonas fluorescens*. Chemosphere, v. 43, p.157-166, 2001.
- BOYLE, J.J., SHANN, J.R. *The influence of plant and soil characteristics on mineralisation of 2,4,5 -T in rhizosphere soil*. Journal of Environmental Quality. v. 27, p.704-709, 1998.
- CAI, M., XUN, L. *Organization and regulation of pentachlorophenol-degrading genes in Sphingobium chlorophenolicum ATCC 39723*. Journal of Bacteriology. v. 184, p. 4672-4680, 2002.
- CRAWFORD, R.L., MOHN, W.W. *Microbial removal of pentachlorophenol from soil using a Flavobacterium*. Enzyme and Microbiology Technology. v. 7, p. 617-620, 1985
- CROWLEY, D.E., et al. *Rhizosphere effects on biodegradation of 2,5-dichlorobenzoate by a bioluminescent strain of root-colonizing Pseudomonas fluorescens*. FEMS (Federation of European Microbiological Societies) Microbiology Ecology. v. 20, p. 79-89, 1996.
- CROWLEY, D.E., ALVEY, S., GILBERT, E.S. *Rhizosphere ecology of xenobiotic-degrading microorganisms*. In: *Phytoremediation of soil and water contaminants*. KRUGER, E.L., ANDERSON, T.A., COATS, J.R. (eds). American Chemical Society, Washington, D.C., p. 20-36, 1997.
- DAI, M-H., et al. *A previously unrecognized step in pentachlorophenol degradation in Sphingobium chlorophenolicum is catalyzed by tetrachlorobenzoquinone reductase (PcpD)*. Journal of Bacteriology. v. 185, p. 302-310, 2003
- DHANKER, O., J., et al. *Isolation, Purification and Partial Characterization of Plant Dehalogenase-like Activity from Waterweed (Elodea Canadensis)*. In: *Phytoremediation and innovative strategies for specialized remedial applications*. 5th International Symposium In-Situ and On-Site Bioremediation. Phytoremediation. LEESON, A. e PRESS, A.B. (eds). Columbus, OH. p. 145-150, 1999.
- EDGEHILL, R.U. *Pentachlorophenol removal from slightly acidic mineral salts, commercial sand, and clay soil by recovered Arthrobacter strain ATCC 33790*. Applied Microbiology and Biotechnology. v. 41, p.142-148, 1994.
- GRAYSTON, S.J., et al. *Selective influence of plant species on microbial diversity in the rhizosphere*. Soil Biology and Biochemistry. v. 30, nº 3, p. 369-378, 1998.
- GUNTHER, T. DORNBERGER, U., FRITSCH, W. *Effects of ryegrass on biodegradation of hydrocarbons in soil*. Chemosphere. v. 33, n.2, p. 203-215, 1996.
- HABY, P.A., Crowley, D.E. *Biodegradation of 3-chlorobenzoate as affected by rhizodeposition and selected carbon substrates*. Journal of Environmental Quality. v.25, p. 304-310, 1996.
- HE, Y., et al. *Facilitation of pentachlorophenol degradation in the rhizosphere of ryegrass (Lolium perenne L.)*. Soil Biology and Biochemistry. v. 37, p. 2017-2024, 2005.
- HODGE, A., et al. *Characterisation and microbial utilization of exudate material from the rhizosphere of Lolium perenne grown under CO₂ enrichment*. Soil Biology and Biochemistry. v. 30 (8/9), p.1033-1043, 1998.
- KRISHNAN, G., et al. *Growth and development of smooth bromegrass and tall fescue in TNT-contaminated soil*. Environmental Pollution. v. 107, p. 109-116, 2000.
- LYNCH, J.M., WHIPPS, J.M. *Substrate flow in the rhizosphere*. Plant Soil. v. 129, p. 1-10, 1990.
- LISTE, H., ALEXANDER, M.. *Plant-promoted pyrene degradation in soil*. Chemosphere. V. 40, p. 7-10, 2000.
- MCCUTCHEON, S. and J. SCHNOOR (eds). *Phytoremediation Transformation and Control of Contaminants*. John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey, 2003.
- MIETHLING, R., KARLSON, U. *Accelerated mineralization of pentachlorophenol in soil upon inoculation with Mycobacterium chlorophenolicum PCP1 and Sphingomonas chlorophenolica RA2*.

Applied and Environmental Microbiology. v. 62, nº 12, p. 4361-4366, 1996.

NZENGUNG, V., et al. *Use of Aquatic Plants and Algae for Decontamination of Waters Polluted with Chlorinated Alkanes*. International Journal of Phytoremediation. v.1, n.3, p.203-226, 1999.

PALMER, G., et al. *Use of lux-based biosensors of rapid diagnosis of pollutants in arable soils*. Chemosphere. v. 36, n.12, p. 2683-2697, 1998.

PATON, G.I., et al. *Use of genetically modified microbial biosensors for soil ecotoxicity testing*. In: PANKHURST, C., DOUBLE, B. and GUPTA, V.(eds). Biological Indicators of Soil Health and Sustainable Productivity. London: CAB International, p. 397-418, 1997

PFENDER, W.F. *Bioremediation bacteria to protect plants in pentachlorophenol-contaminated soil*. Journal of Environmental Quality. v. 25, p. 1256-1260, 1996.

RATTRAY, E.A.S., et al. *Characterization of rhizosphere colonization by luminescent Enterobacter cloacae at the population and single-cell levels*. Applied and Environmental Microbiology. v. 61, nº 8, p. 2950-2957, 1995.

REILLEY, K.A., BANKS, M.K., SCHWAB, A.P. *Dissipation of polycyclic aromatic hydrocarbons in the rhizosphere*. Journal of Environmental Quality. v. 25, p. 212-219, 1996

REINOLDS, C.M., et al. *Plant enhancement of indigenous soil micro-organisms: A low cost treatment of contaminated soils*. Polar Record. v. 35, nº 192, p. 33-40, 1999.

SABER, D., CRAWFORD, R.L. *Isolation and characterization of Flavobacterium strains that degrade pentachlorophenol*. Applied and Environmental Microbiology. v.50, n.6, p.1512-1518, 1985.

SHAW, L.J., et al. *Development and characterization of a lux-modified 2,4-dichlorophenol-degrading Burkholderia sp.*RASC. Applied and Environmental Microbiology. v. 1, n.5, p. 393-399, 1999.

SHAW, L.J., BURNS, R. *Enhanced mineralization of [U-14C] 2,4 Dichlorophenoxyacetic acid in soil from the rhizosphere of Trifolium pretense*. Applied and Environmental Microbiology. v. 70, p. 4766-4774, 2004.

SICILIANO, S.D., GERMIDA, J.J. *Bacterial inoculants of forage grasses that enhance degradation of 2-chlorobenzoic acid in soil*. Environmental Toxicology and Chemistry. v. 16, nº 6, p. 1098-1104, 1997.

SICILIANO, S.D., GREER, C.W. *Plant-bacterial combinations to phytoremediate soil contaminated with high concentrations of 2,4,6-trinitrotoluene*. Journal of Environmental Quality. v. 29, p. 311-316, 2000.

STEIERT, J.G., CRAWFORD, R.L. *Microbial degradation of chlorinated phenols*. Trends in Biotechnology. v. 3, p. 300-305, 1985.

STEIERT, J.G., CRAWFORD, R.L. *Catabolism of pentachlorophenol by Flavobacterium sp.* Biochemistry and Biophysiology Research Communications. v.141, p. 825-830, 1986.

TOPPE, E., CRAWFORD, R., HANSON, R. *Influence of readily metabolizable carbon*

on pentachlorophenol metabolism by a pentachlorophenol-degrading Flavobacterium sp. Applied and Environmental Microbiology. v.54, nº10, 2452-2459, 1988.

WALTON, B.T., ANDERSON, T.A. *Microbial degradation of trichloroethylene in the rhizosphere: potential application to biological remediation of waste site*. Applied and Environmental Microbiology. v.56, n.4, p. 1012-1016, 1990.

XU, L., et al. *Evidence that pcpA encodes 2,6-dichlorohydroquinone dioxygenase, the ring cleavage enzyme required for pentachlorophenol degradation in Sphingomonas chlorophenolica strain ATCC 39723*. Biochemistry. v. 38, p. 7659-7669, 1999.

YANG, C-F., LEE, C-M., WANG, C-C. *Isolation and physiological characterization of the pentachlorophenol degrading bacterium Sphingomonas chlorophenolica*. Chemosphere. v.62, p. 709-714, 2006.

Endereço para correspondência:

Rosemare I. Dams
Univali – Universidade do Vale do
Itajaí. 5ª avenida s/nº
Bairro dos Municípios
88330-000 Balneário Camboriú
- SC - Brasil
Tel.: (47) 3261-1234
E-mail: rosemadero@yahoo.co.uk