

*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária*

*Centro Nacional de Pesquisa de Monitoramento e Avaliação de Impacto Ambiental*

*Ministério da Agricultura e do Abastecimento*

# MICROBIOLOGIA AMBIENTAL

## MANUAL DE LABORATÓRIO

CÉLIA MARIA MAGANHOTTO DE SOUZA SILVA

MILTON RICARDO DE ABREU ROQUE

ITAMAR SOARES DE MELO

Exemplares dessa publicação podem ser solicitados à:

**Embrapa Meio Ambiente**

Rodovia SP 340 - km 127,5 - Tanquinho Velho  
Caixa Postal 69 13820-000, Jaguariúna, SP  
Fone: (19) 3867-8750 Fax: (19) 3867-8740  
*sac@cnpma.embrapa.br*  
*www.cnpma.embrapa.br*

**Fundação de Estudos e Pesquisas em Agronomia, Medicina, Veterinária e Zootecnia - FUNEP**

Via de acesso Professor Paulo Donato Castellane, s/n  
Bairro Rural 14884-900 - Jaboticabal, SP  
Fone: (16) 323-1322 Fax: (16) 323-2852  
*livraria@funep.com.br*  
*www.funep.com.br*

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

**Coordenação Editorial**

Maria Cristina Tordin / Regina Lúcia Siewert Rodrigues

**Revisão / Normatização bibliográfica**

Denise Moraes de Oliveira / Maria Amélia de Toledo Leme

**Diagramação e editoração**

Franco Ferreira de Moraes

**Projeto gráfico**

Franco Ferreira de Moraes

**Foto da capa**

Itamar Soares de Melo

**Tratamento das ilustrações**

Franco Ferreira de Moraes

**1ª edição**

1ª impressão (2000): 400 exemplares

Todos os direitos reservados.

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação do Copyright<sup>©</sup> (Lei nº. 9610).

CIP. Brasil. Catalogação-na-publicação  
Embrapa Meio Ambiente

---

SILVA, C.M.M.S.; ROQUE, M.R.A., MELO, I.S., ed.  
**Microbiologia Ambiental:** manual de laboratório.  
Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2000. 98p.  
(Embrapa Meio Ambiente. Documentos, 19).

CDD - 576

# SUMÁRIO

PREFÁCIO .....	3
1. ISOLAMENTO DE BACTÉRIAS QUE APRESENTAM DEGRADAÇÃO ACELERADA DE PESTICIDAS .....	7
2. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE DE ENZIMAS INTRACELULARES .....	13
3. AVALIAÇÃO DA DEGRADAÇÃO MICROBIOLÓGICA DE DIURON .....	21
4. BIODEGRADABILIDADE EM SOLOS .....	33
5. MICOTOXICOSES AMBIENTAIS .....	39
6. AVALIAÇÃO DO EFEITO CITOTÓXICO DE AGROQUÍMICOS .....	55
7. FILTRAÇÃO DE MICRORGANISMOS: OBSTRUÇÃO DE MEMBRANAS E IMPLICAÇÕES SOBRE A VIABILIDADE DAS CÉLULAS .....	67
8. BIODEGRADAÇÃO DE PCBS .....	71

9. ESTIMATIVA DA ATIVIDADE ENZIMÁTICA DA DESIDROGENASE .....	79
10. SELEÇÃO DE MICRORGANISMOS PRODUTORES DE SURFACTANTES E AVALIAÇÃO DA BASE FISIOLÓGICA DA PRODUÇÃO .....	83
11. AVALIAÇÃO DE BIOFILMES POR EPIFLUORESCÊNCIA.....	89
12. GENES ENVOLVIDOS NA BIOSÍNTESE DE ANTIBIÓTICOS/TOXINAS PEPTÍDICAS EM CIANOBACTÉRIAS .....	93

# INTRODUÇÃO

A rápida degradação dos pesticidas no solo, por populações de microrganismos adaptados, tem interferido no controle de pragas. Os pesticidas devem permanecer ativos por tempo suficiente para fornecer controle fitossanitário satisfatório. Contudo, tem-se verificado que, com o uso repetido de alguns pesticidas, a degradação por microrganismos do solo torna-se mais rápida. Exemplos de alguns desses pesticidas suscetíveis à degradação acelerada são: 2,4-D, carbofuran, herbicidas carbamotioatos, iprodione, benomil, vinclozolin, metalaxil, butilato e isofenfos.

Mesmo aplicações continuadas de pesticidas análogos, com moléculas estruturalmente similares, podem induzir a degradação acelerada de outros compostos. A capacidade das populações microbianas, que apresentam degradação acelerada relativa a um composto, degradarem um composto similar, tem sido chamada de adaptação cruzada. Mais



informações sobre biodegradação acelerada podem ser encontradas em Racke & Coats (1990) e Melo & Azevedo (1997).

Existem dois tipos de degradação microbiana de pesticidas no solo. No primeiro tipo, os microrganismos freqüentemente metabolizam o pesticida como fonte de carbono e energia e esse tipo de degradação é chamada de catabolismo. Exemplos de pesticidas que são degradados por catabolismo incluem 2,4-D, PCP, dalapon, propanil e tiobencarb.

No segundo tipo de degradação, os microrganismos necessitam de outras fontes de carbono para degradar o pesticida. Esse tipo de degradação é conhecida como metabolismo incidental ou cometabolismo.