

NOTAS CIENTÍFICAS

Degradação do paclobutrazol em solos tropicais⁽¹⁾

Célia Maria Maganhotto de Souza Silva⁽²⁾, Elisabeth Francisconi Fay⁽²⁾
e Rosana Faria Vieira⁽²⁾

Resumo – O objetivo deste trabalho foi avaliar a degradabilidade do regulador de crescimento vegetal paclobutrazol em solo. Os solos foram coletados em regiões representativas de plantios comerciais de manga para exportação, em Petrolina, PE e em Lins, SP. Culturas bacterianas mistas, isoladas destas amostras de solo foram avaliadas quanto à sua capacidade degradativa em meio de cultura líquido suplementado com paclobutrazol. A determinação dos resíduos do regulador de crescimento, realizada a partir do 15º dia de incubação e quantificada por meio de cromatografia líquida de alta eficiência demonstrou que o paclobutrazol é lentamente degradado e apresenta meia-vida de 95 dias.

Termos para indexação: regulador de crescimento vegetal, meia-vida, bactérias, microrganismos.

Paclobutrazol degradation in tropical soils

Abstract – The objective of this work was to evaluate the degradability of paclobutrazol in soil. Soil samples were collected in orchards of two main mango production regions for exportation, at Petrolina, PE and Lins, SP, Brazil. Blended bacteria cultures, isolated from the soil samples, were assessed in liquid culture medium enriched with paclobutrazol, to verify its degradative capability. Quantification of growth regulator residues by high performance liquid chromatography was performed 15 days after application of the compound, and showed that the paclobutrazol is slowly degraded and presents half-life of 95 days.

Index terms: plant growth regulator, half-life, bacteria, microorganisms.

De todos os compostos que atingem o solo, os xenobióticos merecem atenção especial, pois seu desaparecimento, persistência ou transformação indicam sua eficácia como produto e seu perigo potencial para a microbiota e a qualidade do ambiente (Fay et al., 1997). Entre os xenobióticos estão os reguladores de crescimento, utilizados em sistemas agrícolas no controle do crescimento vegetativo, aumentando a capacidade reprodutiva da planta (Jacobs & Berg, 2000).

Entre estes compostos, o paclobutrazol [(2RS,3RS)-1-(4-chlorophenyl)-4,4-dimethyl-2-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)pentan-3-ol], cujo modo de ação é a inibi-

⁽¹⁾ Aceito para publicação em 19 de agosto de 2003.

⁽²⁾ Embrapa-Centro Nacional de Pesquisa de Monitoramento e Avaliação de Impacto Ambiental, Caixa Postal 69, CEP 13820-000 Jaguariúna, SP. E-mail: celia@cnpma.embrapa.br, bethfay@cnpma.embrapa.br, rosana@cnpma.embrapa.br

ção da síntese da giberelina, é utilizado na cultura da manga no controle do crescimento, redução da poda e manipulação do cultivo para expansão da produção.

O objetivo deste trabalho foi avaliar a degradação do paclobutrazol em amostras de solos de duas regiões representativas de plantios comerciais de manga para exportação.

Amostras de solos com histórico da aplicação do paclobutrazol provenientes de plantios comerciais de manga, em Petrolina, PE (Distrito de Irrigação Nilo Coelho) e solos sem histórico de aplicação provenientes de áreas adjacentes às de cultivo com manga, de Petrolina, PE e Lins, SP, foram utilizadas como inóculo para seleção de microrganismos degradadores. Os solos, de textura franco-arenosa, apresentavam $9,3 \text{ g dm}^{-3}$ e $12,1 \text{ g dm}^{-3}$ de matéria orgânica. Cinco subamostras foram retiradas ao acaso e homogeneizadas para constituírem uma amostra composta de cada solo. Destas amostras compostas foram retiradas 10 g de solo seco para serem adicionadas a frascos contendo 100 mL de meio de cultura: K_2HPO_4 $0,8 \text{ g L}^{-1}$; KH_2PO_4 $0,2 \text{ g L}^{-1}$; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ $0,2 \text{ g L}^{-1}$; CaSO_4 $0,1 \text{ g L}^{-1}$; $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ $2,5 \text{ g L}^{-1}$; $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ $0,001 \text{ g L}^{-1}$; 0,5% de extrato de levedura; suplementado com $8 \mu\text{g mL}^{-1}$ de paclobutrazol. Os frascos foram incubados à 30°C sob agitação constante (180 rpm). Após três dias do crescimento da biomassa microbiana, foi realizada a repicagem para selecionar as linhagens degradadoras, sendo esse processo repetido por três vezes. Posteriormente, as culturas mistas selecionadas foram avaliadas quanto à capacidade degradativa. Para isso, foram utilizados o meio de cultura e as condições de incubação descritas. A dissipação do regulador de crescimento foi avaliada após 7, 15, 30, 60 e 90 dias de incubação.

A comunidade microbiana com maior potencial degradador foi novamente incubada nas condições descritas, sendo realizadas avaliações quantitativas dos resíduos de paclobutrazol aos 15, 30, 60, 90 e 120 dias de incubação, as quais foram utilizadas para o cálculo da meia-vida. A determinação quantitativa destes resíduos foi realizada por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) após filtração das amostras em filtros com malha $0,22 \mu\text{m}$. As condições cromatográficas consistiram de fase móvel metanol:água (70:30), fluxo de $0,7 \text{ mL min}^{-1}$, detector de absorvância operando a 220 nm e coluna C_{18} . Sob estas condições, o tempo de retenção do paclobutrazol foi de aproximadamente seis minutos. A recuperação da molécula do meio de cultura após os dias predeterminados foi de 95%. Os cálculos para a quantificação dos resíduos foram baseados em curvas de calibração obtidas para soluções padrões de paclobutrazol em concentrações conhecidas.

Simultaneamente aos estudos de degradação foi avaliada a cinética de crescimento bacteriano, que foi acompanhada por espectrofotometria, nas primeiras 120 horas.

O paclobutrazol foi usado como fonte de carbono e energia em condições aeróbias e mesofílicas e, entre os microrganismos enriquecidos em meio de cultura, não foi detectada a presença de fungos. Em virtude do baixo número de actinomicetos, estes não foram considerados importantes. Portanto, o consórcio resultante foi composto de bactérias, as quais foram isoladas, purificadas e agrupadas por RAPD (Random Amplified Polimorphic DNA). A identificação

de alguns isolados por seqüenciamento parcial do gene 16SrDNA revelou a predominância de bactérias pertencentes aos gêneros *Stenotrophomonas*, *Bacillus* e *Brevibacillus*. Este último estava presente no solo de Lins (Spessoto et al., 2003). Embora as populações tenham apresentado grande polimorfismo dentro dos grupos, poucos foram os gêneros predominantes.

Uma vez que já é conhecido o efeito inibitório do regulador de crescimento sobre o crescimento fúngico (Deas & Clifford, 1984; Jacobs & Berg, 2000), já era esperado que esses microrganismos não fossem beneficiados pela utilização do composto, resultado também observado por Jackson et al. (1996). O paclobutrazol é estruturalmente similar aos fungicidas do grupo triazol.

Entre as culturas mistas avaliadas, observou-se que todas apresentaram tendência a uma inibição parcial no crescimento na presença do regulador de crescimento, sem efeitos estatisticamente significativos (Figura 1). As culturas mais afetadas foram coletadas nas amostras de solos de Lins, SP e nos solos de Petrolina, PE, com histórico de aplicação de paclobutrazol. As culturas obtidas em solos sem histórico de aplicação foram menos afetadas. Em todas as amostras de solos estudadas a inibição inicial foi superada em cerca de 24 horas, indicando a presença de um período de adaptação dos microrganismos ao produto. Após este período de adaptação, a velocidade do metabolismo do composto ainda foi lenta (Figura 1). Jackson et al. (1996) também obser-

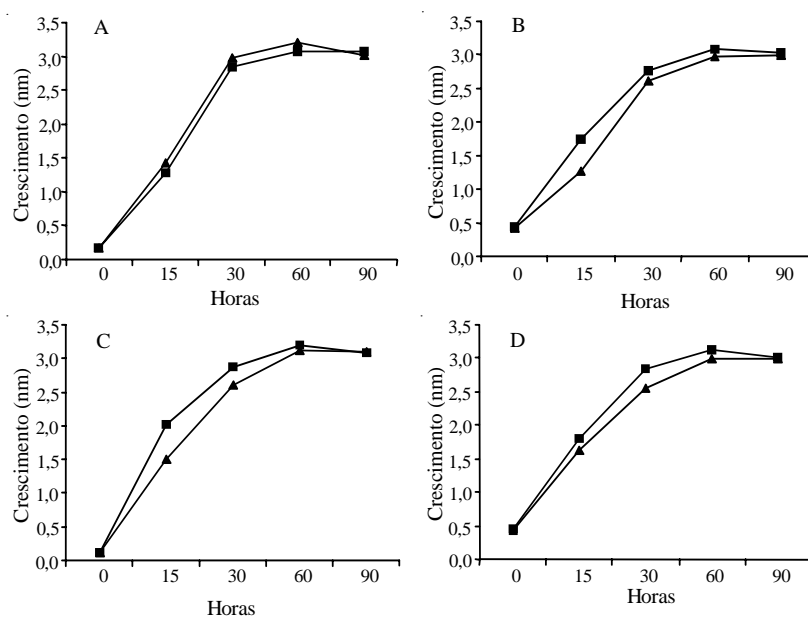


Figura 1. Crescimento bacteriano em meio de cultura suplementado (▲) ou não (■) com paclobutrazol, utilizando como inóculo microrganismos isolados de solo sem histórico de aplicação de paclobutrazol, coletado à profundidade de 20-40 cm, em Petrolina, PE (A); solo sem histórico de aplicação de paclobutrazol, coletado à profundidade de 0-20 cm, em Petrolina, PE (B); solo com histórico de aplicação de paclobutrazol, coletado à profundidade de 20-40 cm, em Petrolina, PE (C); solo sem histórico de aplicação de paclobutrazol, coletado no Município de Lins, SP (D).

varam que a taxa de crescimento de todos os isolados bacterianos foi lenta na presença do paclbutrazol, e todas as curvas de crescimento foram diáxicas. Segundo os mesmos autores, a possível causa desse tipo de crescimento é a transferência na utilização de um nutriente para outro.

Verificou-se resposta diferenciada quanto à degradabilidade do paclbutrazol nas diferentes amostras de solos estudadas. Solos que receberam aplicação, em campo, do regulador de crescimento em anos anteriores apresentaram efeito biológico superior aos demais na transformação do composto. O solo C apresentou maior capacidade degradativa (42%) quando coletado na profundidade de 20-40 cm (Figura 1). Este fato pode ser explicado pela própria aplicação do composto, isto é, ele é aplicado à profundidade de 15 cm, portanto, microrganismos situados próximos a esta profundidade devem estar mais adaptados ao composto orgânico, utilizando-o como fonte de carbono e energia para o seu crescimento. Além disso, é nesta camada do solo que se encontra a grande maioria dos microrganismos. Por outro lado, o solo proveniente de Lins, SP, apresentou porcentagem de desaparecimento do produto similar àquela apresentada por solos com histórico de aplicação, sugerindo que, neste solo, há populações com maior potencial degradativo, mesmo que estas não tenham tido contato anterior com o produto.

No cálculo da meia-vida do paclbutrazol (Figura 2), considerando os solos do nordeste brasileiro, onde este produto vem sendo aplicado há alguns anos, foi utilizada a comunidade microbiana do solo C que apresentou maior

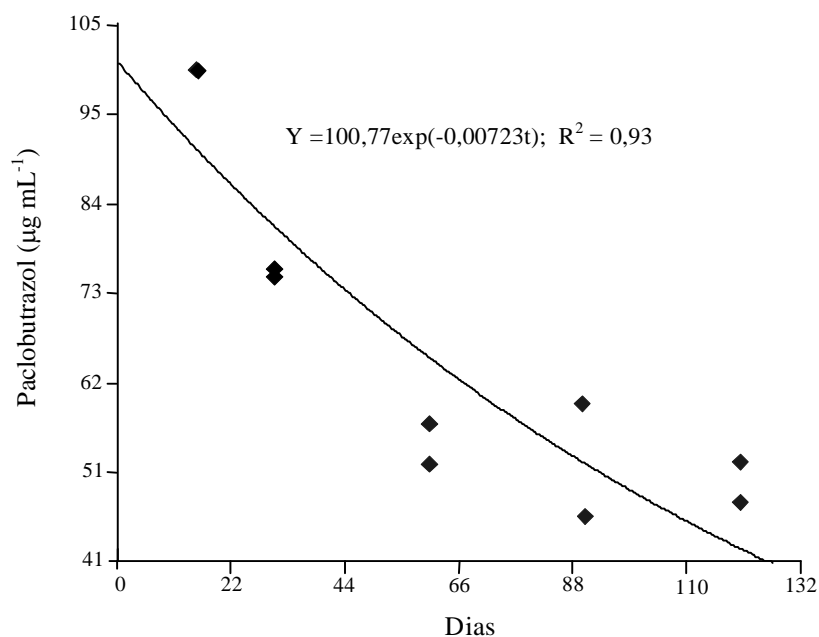


Figura 2. Curva de degradação de paclbutrazol pelo consórcio de bactérias isoladas de amostras de solos com histórico de aplicação do regulador de crescimento, coletadas à profundidade de 20-40 cm, no Município de Petrolina, PE.

potencial degradador. O regulador de crescimento foi lentamente degradado, chegando a 54,87% de dissipação aos 60 dias de incubação. Posteriormente, esta taxa de dissipação manteve-se praticamente estabilizada, alcançando 50,21% de degradação aos 120 dias. A meia-vida do regulador de crescimento, calculada em relação ao meio de cultura, supondo uma cinética de primeira ordem, foi de 95 dias, estimada pela equação $C(t) = 100,77\exp(-0,00723t)$, onde C: concentração, t: tempo; exp: exponencial, obtida por ajuste não-linear dos dados experimentais ($R^2 = 0,93$). Relatos sobre a degradação do regulador de crescimento vegetal informam que a sua persistência no ambiente está relacionada ao tipo de solo e às condições climáticas (Chand & Lembi, 1994; Jackson et al., 1996).

Referências

- CHAND, T.; LEMBI, C. A. Dissipation of gibberelin synthesis inhibitors in small-scale aquatic systems. **Journal of Aquatic Plant Management**, Washington, v. 32, p. 15-20, 1994.
- DEAS, A. H. B.; CLIFFORD, D. R. Reductive and oxidative metabolism of triazolymethanes by two basidiomycete fungi. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, New York, v. 22, p. 276-284, 1984.
- FAY, E. F.; SILVA, C. M. M. de S.; MELO, I. S. de. Degradação abiótica de xenobióticos. In: MELO, I. S.; AZEVEDO, J. L. (Ed.). **Microbiologia Ambiental**. Jaguariúna: Embrapa-CNPMA, 1997. p. 125-140.
- JACKSON, M. J.; LINE, M. A.; HASAN, O. Microbial degradation of a recalcitrant plant growth retardant-paclobutrazol (PP333). **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 28, n. 9, p. 1265-1267, 1996.
- JACOBS, K. A.; BERG, L. C. Inhibition of fungal pathogens of woody plants by the plant growth regulator paclobutrazol. **Pest Management Science**, Oxford, v. 56, p. 407-412, 2000.
- SPESSOTO, A. M.; SILVA, C. M. M. de S.; ARAÚJO, W. L.; OLIVEIRA, C. S. Análise do polimorfismo de bactérias degradadoras de paclobutrazol. In: SILVA, C. M. M. de S.; FAY, E. F. (Ed.) **Impacto ambiental do regulador de crescimento vegetal paclobutrazol**. Jaguariúna: Embrapa-CNPMA, 2003. p. 71-79.