

## ISOLAMENTO E CARACTERIZAÇÃO FENOTÍPICA DE MICRO-ORGANISMOS ISOLADOS DE SOLO POLUÍDO POR RESÍDUOS SÓLIDOS DO BAIRRO CARRAPICHO MUNICÍPIO DE VÁRZEA GRANDE – MATO GROSSO

Aline Pinheiro Alves Santos  
Dr<sup>a</sup> Selma Baia Batista

### RESUMO

A microbiota do solo tem sido afetada pelos diversos mecanismos de uso do solo, principalmente, a disposição final dos resíduos sólidos. Este estudo teve como objetivo quantificar e analisar fenotipicamente bactérias isoladas de solo contaminado por resíduos sólidos domésticos e industriais, no bairro Carrapicho em Várzea Grande – MT. Obteve-se 88 cepas isoladas de bactérias. A maior contagem em log/UFC/g solo, de fungos e bactérias foram observados no período de seca, contrariamente a dados obtidos por outros estudos, onde essa quantificação de bactérias foi maior no período chuvoso.

**Palavras-chave:** micro-organismos, solo, lixo.

### ABSTRACT

Soil microbial community has been affected by the various mechanisms of soil use, especially the final disposal of solid waste. This study aimed to quantify and analyze phenotypically, bacteria isolated from soil contaminated by industrial and domestic solid waste in the neighborhood Carrapicho in Varzea Grande - MT. The results were 88 strains of bacteria. The highest score in log/CFU/g of soil, of fungi and bacteria were observed in the dry season, which contradicts data obtained by other studies, where the number of bacteria was higher in the rainy season.

**Keywords:** microorganisms, soil, garbage.

### 1. INTRODUÇÃO

O solo é formado pela alteração da rocha-mãe, provocada pela interação de processos de natureza física, química e biológica que levam a degradação dessa rocha (PHILIPPI 2005) Dentre os fatores de formação do solo, o clima é o mais ativo, pois influência na quantidade de água que estará presente num determinado sistema, na temperatura que acelerará ou atenuará os processos (POLETO e MERTEN, 2006).

A definição de solo assume diversas formas, dependendo da especialidade de quem o define, dentro da visão de cada campo de atuação específica.

A Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT) define o solo como um corpo tridimensional que forma a camada superior da crosta terrestre e que apresenta propriedades diferentes da camada da rocha inferior, como resultado das interações entre o clima, o material original, os organismos vivos e o homem. Poleto e Merten (2006) reconhece o solo

como um sistema aberto, que troca energia e matéria com o ambiente, sua composição é trifásica apresentando as fases líquida, gasosa e sólida.

Os especialistas em meio ambiente, preferem o conceito que abrange a definição de litosfera, no qual inclui toda a camada superficial da terra que estiver sujeita a ação do clima, incluindo todos os líquidos, minerais, gases, microrganismos e constituintes orgânicos presentes. Dentro do enfoque ambiental e sanitário, a definição adotada pela Comunidade Europeia afirma que: O solo é o principal suporte para a vida e o bem-estar, constituindo-se em um recurso natural vital e limitado, embora facilmente destrutível (PHILIPPI e POLICIONI, 2005).

Por tradição, o solo tem sido utilizado como receptor de substâncias resultantes das atividades humanas, principalmente para a disposição final de resíduo. A Revolução Industrial introduziu os processos de transformação em grande escala com emprego de tecnologia, foi um marco não apenas na mudança das atividades humanas, como também na ocupação e uso do solo. O modelo de desenvolvimento adotado pela economia moderna, baseado num crescente consumo de bens e serviços, impõe o desenvolvimento contínuo de novos produtos, que demanda um uso intensivo dos recursos e insumos e geração cada vez maior de resíduos das atividades humanas, sejam industriais, agrícolas ou domésticas, provocando a liberação descontrolada de poluentes para o ambiente e sua conseqüente acumulação no solo tem aumentado significativamente a cada dia (PHILIPPI e POLICIONI, 2005).

O solo uma vez contaminado por esses resíduos trará conseqüências ambientais e sanitárias que, conseqüentemente, poderá ocorrer problemas econômico, sociais e políticos que poderão limitar ou até inviabilizar seu uso posterior. Essa contaminação do solo afeta direta e/ou indiretamente os microrganismos que vivem nesse meio, os mesmos são essenciais para armazenamento de água, decomposição de resíduos orgânicos, reciclagem de nutrientes, seqüestro e desintoxicação de substâncias tóxicas (LIMA, 2008), e em alguns casos participam da fotossíntese. Além disso, os lixos orgânicos podem abrigar organismos patogênicos, que não são naturais do solo, podendo alterar a microbiota do ambiente edáfico. Assim a preocupação com a preservação, proteção, controle e recuperação do solo têm sido ampliada nas últimas três décadas, ocasião em que eventos de áreas contaminadas passaram a ser detectados (PHILIPPI e POLICIONI, 2005).

A contaminação dos solos por metais pesado (MP) também é um grave problema ambiental, por causa da sua persistência e alto poder de toxicidade (ANDRADE e SILVEIRA, 2004). Alguns MPs são elementos essenciais para os seres vivos (Fe, Cu, Zn e Mn), enquanto

outros, (Cd, Pb e Hg) não têm funções biológicas conhecidas. Quando em excesso no solo, esses elementos podem exercer efeitos adversos sobre os microrganismos do solo, influenciando no seu crescimento, morfologia e metabolismo, reduzindo a atividade microbiana e a fertilidade do solo (SILVEIRA e FREITAS, 2007), interferindo nas funções do ecossistema, com conseqüências ao meio ambiente e à saúde pública (LIMA, 2008).

Sendo assim, os microrganismos do solo, podem ser utilizado como indicador para medir os impactos sobre o solo (COIMBRA et al., 2009), sendo ainda, capazes de refletir mudanças sutis nas propriedades do solo (JUNIOR et al., 2002).

Em vista disso, faz-se necessário o estudo da microbiota do solo em locais contaminados, podendo ser uma maneira de provar que o lixo e seu subproduto podem causar sérios problemas a população. Nesse sentido, o presente trabalho objetiva quantificar e analisar fenotipicamente bactérias isoladas de solo contaminado por resíduos sólidos domésticos e industriais.

## 2. MATERIAIS E MÉTODOS

A metodologia teve uma sequência sistêmica necessária para o bom andamento da pesquisa, essa sequência está representada na Figura 1.

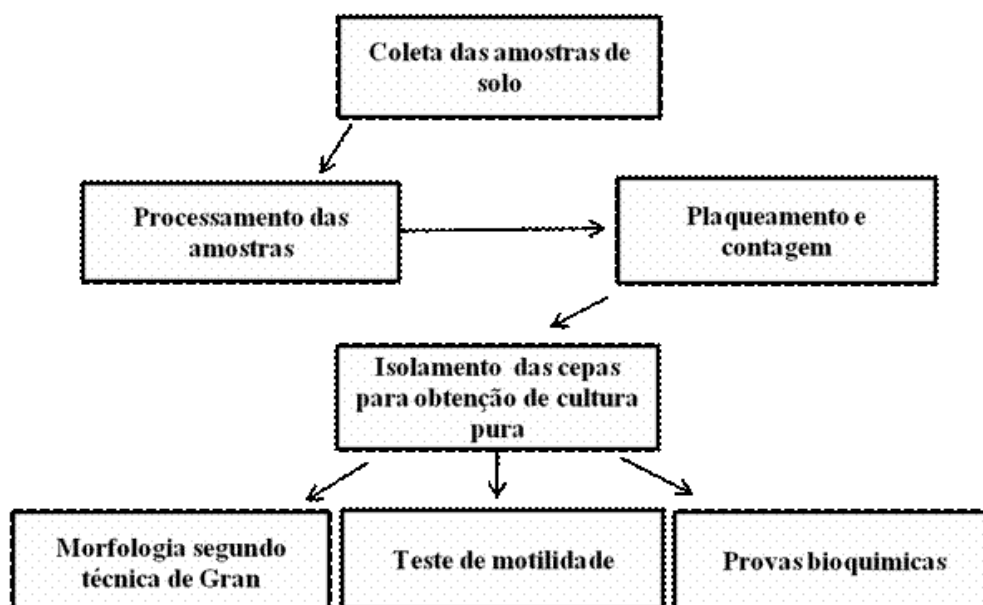


Figura 1: Fluxograma das atividades realizadas.

## 2.1 ÁREA DE ESTUDO

O bairro Carrapicho localiza-se no município de Várzea Grande Estado do Mato Grosso, próximo ao Rio Cuiabá, de acordo com as coordenadas geográficas o local de estudo fica no paralelo 15° 38' de latitude sul e o meridiano 56° 04' de longitude oeste de Greenwich (Figura 2).



Figura 2: Imagem de satélite de 24 de nov de 2006, do bairro Carrapicho onde foi realizado o estudo.

Fonte: <http://maps.google.com.br/maps?hl=ptbr&q=ponte+sergio+mota&um=1&ie=UTF8&sa=N&ta>

Trata-se de uma área de cerrado, onde a vegetação em sua maior parte é composta por gramíneas, arbustos e árvores esparsas (SILVA, 2008). No local foi observado espécie florística de indicação de área degradada como, por exemplo, a *Ricinus communis* L. O solo está bastante exposto, servindo de reservatório de resíduos sólidos, e sofrendo queimada.

Para amostras controle, foi utilizado solo sem indícios de poluição, em um perímetro no UNIVAG – Centro Universitário, no bairro Cristo Rei em Várzea Grande – MT (Figura 3). A área tem cobertura de vegetação, típica de cerrado, destacando gramíneas, arbórea e algumas árvores. Apresenta alguns locais de solo exposto, onde foram coletadas as amostras.



Figura 3: Imagem de satélite do UNIVAG – Centro Universitário,  
Fonte: <http://maps.google.com.br/maps?hl=pt-br&q=univag&um=1&ie=UTF-8&sa=N&tab=w1>

## 2.2 COLETA DAS AMOSTRAS

Foram coletadas oito amostras de solo por campanha em cada um dos pontos amostrados, sendo que, um é o local com solo sem indícios de poluição (controle) denominado SC, e o outro é o lote poluído por lixos domésticos, orgânico e industriais (SL), os pontos amostrais foram aleatório. As campanhas foram realizadas em julho (período seco) e em outubro (início do período chuvoso).

As amostras foram colocadas em sacos plásticos estéreis e transportadas até o laboratório de microbiologia do UNIVAG para o processamento.

## 2.3 PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS

Cinco gramas de cada amostra de solo foram adicionadas em um Erlenmeyer, contendo 45 mL de solução extratora (0,1% pirofosfato de sódio e 0,1% tween 80), com 5

gramas de esferas de vidro (5 mm) e mantidas sob agitação por 20 minutos em temperatura ambiente, obtendo-se uma diluição inicial de  $10^{-1}$ .

A partir da solução inicial de solução de dissociação, foram feitas diluições seriadas ( $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$ ,  $10^{-7}$ ) e inoculados em meios seletivos. As três últimas diluições foram utilizadas para a quantificação de bactérias heterotróficas totais no meio tryptic Soy Agar® (TSA) com 0,1% de ciclohexamida e meio específico para *Pseudomonas* utilizando o meio King B. A quantificação de fungos filamentosos ( $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ) foi realizada em meio Agar de infusão de batata e dextrose® (PDA) e Yeast Melt® (YM) contendo clorafenicol a 0,1%. As placas com cultivo foram incubadas por 96 horas e realizadas contagem a cada 24 horas.

Todos os meios de cultura para quantificação de bactérias foram incubados a temperatura de 30°C. Para a contagem de fungos, as placas inoculadas foram mantidas em temperatura ambiente, pois alguns fungos filamentosos, em meios ricos, crescem muito rapidamente ocupando todo o espaço das placas, impedindo a contagem dos microrganismos formadores de colônias que apresentam um crescimento mais lento. Essa temperatura tende a proporcionar um crescimento mais harmônico entre as colônias.

## **2.4 ISOLAMENTO E CARACTERIZAÇÃO DAS CEPAS BACTERIANAS**

### **2.4.1 ISOLAMENTO**

As culturas puras foram obtidas repicando-se as cepas para ágar nutriente (A.N.) empregando-se a técnica de esgotamento por riscas, incubando-as por 24 horas a 30°C. A confirmação da obtenção de cultura pura foi obtida por meio da análise microscópica.

### **2.4.2 CARACTERIZAÇÃO E IDENTIFICAÇÃO DAS CEPAS**

Foi empregada nas culturas de 24h em A.N., a técnica de Coloração Diferencial de Gram, para análise de suas características morfológicas e visualização microscópica.

### **2.4.3 CARACTERIZAÇÃO FENOTÍPICA**

A investigação das atividades metabólicas das bactérias “in vitro” é chamada de provas bioquímicas e servem para auxiliar o microbiologista a identificar grupos ou espécies de bactérias ou leveduras através da verificação das transformações químicas, que ocorrem num determinado substrato, pela ação das enzimas de um determinado organismo. Como muitas vezes um determinado microrganismo pode possuir um sistema enzimático específico,

que promove a transformação bioquímica específica; as provas bioquímicas podem ser utilizadas na prática para a sua caracterização.

Para realização das provas e testes bioquímicas é necessário utilizar meios de cultivo especiais contendo o substrato a ser analisado e fornecer ao microrganismo as condições nutritivas e ambientais necessárias ao seu desenvolvimento. As provas bioquímicas e testes realizados no presente trabalho baseadas em Mac Faddin (1980), estão listadas abaixo:

#### 1) Prova de Catalase

O peróxido de hidrogênio, composto formado pelas bactérias durante utilização aeróbica dos carboidratos, pode provocar morte celular se não for decomposta. A catalase é uma enzima que decompõe o peróxido de hidrogênio ( $2\text{H}_2\text{O}_2$ ) em gás oxigênio e água (MILLER, 2003 apud BATISTA, 2005).

A prova de catalase foi realizada adicionando-se sobre as colônias 1 (uma) gota de água oxigenada. A reação foi considerada positiva para as colônias que apresentaram emissão de bolhas de ar, onde  $\text{H}_2\text{O}_2$  está sendo desdobrado em bolhas de oxigênio e água.

#### 2) Prova de Fermentação de Carboidratos

Os isolados foram transferidos do meio agar nutriente para placa de Petri contendo meio ágar vermelho de fenol, a mesma foi dividida em 6 (seis), em cada divisão foi colocado papel filtro contendo um tipo de carboidrato a ser investigado (glicose, dextrose, sacarose, maltose, lactose e xylose). As cepas positivas fizeram um alo ao redor do papel filtro embebido com o respectivo carboidrato, num processo de produção de enzima hidrolítica.

#### 3) Prova do Citrato de Simmons

Permite diferenciar organismos com capacidade de usar o citrato como única fonte de carbono. Os isolados foram transferidos do meio Agar Nutriente, para tubos inclinados contendo meio Citrato de Simmons. Após incubação de 24/48 horas foi observado ou não a alteração na cor do meio de verde para azul, sendo essa alteração considerada positivo.

#### 4) Teste de Urease

Os isolados foram transferidos do meio ágar nutriente para tubos inclinados contendo meio ágar e urease. A ocorrência de acidificação do indicador, alterando a cor do meio de pêssego para avermelhado foi considerado positivo, os resultados dá-se após 24-48h de incubação.

#### 5) Teste de Motilidade

Verificar se o microrganismo possui flagelos, que são estruturas responsáveis pela motilidade da célula.

Foi inoculado a cultura em ágar semi-sólido, acrescido de triptona e nacl, feito “picada” e incubar por 48 horas a 30°C. A reação foi considerada positiva se a bactéria cresceu além da linha de picada e negativa se o meio permaneceu límpido ou se houve crescimento só no local do inóculo.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os microrganismos são os principais agentes das atividades bioquímicas que ocorrem no solo. A densidade e a atividade microbiana depende de características químicas, físicas e biológicas do solo, e são influenciados por vários fatores ambientais como, umidade, mineralogia do solo, disponibilidade de nutrientes e de substrato orgânico (SANTOS, 2006). Assim, teoricamente, o aumento na quantidade de matéria orgânica no solo, deverá aumentar a densidade microbiológica do mesmo. A atividade e os componentes microbiológicos podem ser mensuráveis e seus valores caracterizam o potencial biológico do solo (BATISTA, 2005). Os valores de UFCs (Unidade Formadora de Colônia) encontrados no presente trabalho, podem ser visualizados nas Figuras 5 e 6 . A Figura 5 representa a quantificação de isolados bacterianos oriundos das duas amostras SL (Solo lixo) e SC (Solo controle) em períodos de seca e chuvoso, cultivados em meio para heterotróficos totais (TSA) e também em meio específico para *Pseudomonas* (King B).

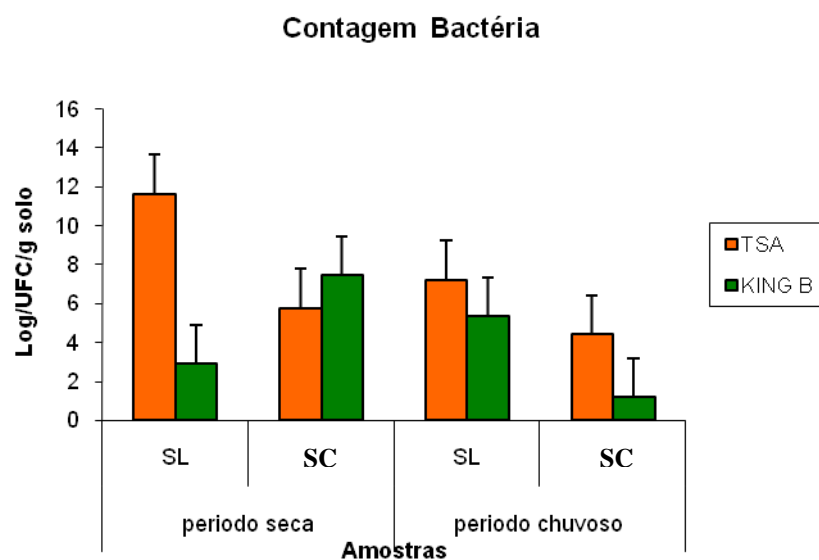


Figura 5- Contagem de isolados bacterianas das duas amostras (SL e SC) nos períodos de seca e chuva.

Como demonstra a figura 5, a quantidade de UFCs, diminuiu no período chuvoso, Silva (2010) afirma que fatores como temperatura e umidade do solo podem influenciar na densidade dos microrganismos, pois são sensíveis as mudanças das condições edáficas, porém, o resultado encontrado neste trabalho confronta com estudo realizado por Silva et al. (2010) e Rodrigues et al. (2010) onde os maiores resultados da população bacteriana foram identificados no período chuvoso.

Na literatura pesquisada por esta autora, não foi encontrado resultado similar ao deste trabalho, sendo assim, sugere-se que este contraste no local de estudo SL, seja em razão de uma queimada realizada após a primeira coleta realizada no período de seca.

Ainda existe a possibilidade, de essa queda na população bacteriana ser devido a probabilidade da presença de metais pesados no solo, embora não tenha sido feita a análise físico-química do mesmo, foi verificado a presença de destrossos de construções civis e indícios de resíduos industriais, podendo ser indicativo de metais pesados no solo. Melloni et al (2001) afirma que os metais pesados podem afetar a morfologia, crescimento e metabolismo dos micro-organismos, e reduzir, assim, a quantidade e atividade da biomassa microbiana.

Na figura 6, observa-se que a quantidade de UFCs de fungos, salvo uma exceção (SC), diminuiu no período chuvoso, resultado similar ao encontrado por Silva et al (2010) e Rodrigues et al. (2010) onde a população de fungos foi consideravelmente maior no período seco. Os mesmos autores afirmam que é possível a influência do processo de lixiviação, no qual há uma retirada parcial nos componentes do solo, os quais podem interferir na atividade fúngica.

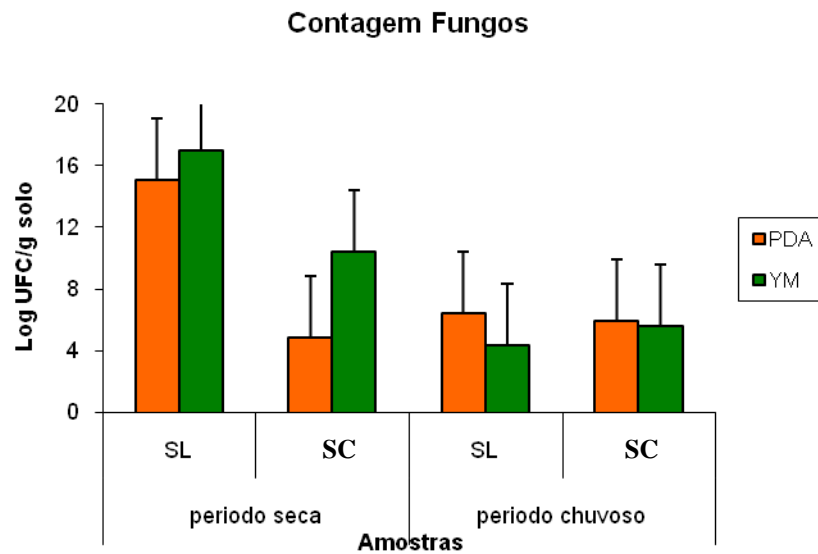


Figura 6- Contagem de fungos isolados das duas amostras (SL e SC) nos períodos de seca e chuva.

Outra possibilidade para uma maior quantificação dos fungos no período de seca pode ser devido as características da parede celular desses micro-organismos, pois possuem uma parede celular rígida que os protege contra choque osmótico e os permite suportar altas taxas de temperatura e longos períodos de seca (DALLACORT et al., 2009); também levando em consideração que, no período chuvoso, ocorre a esporulação dos fungos, uma vez que a contagem de esporos não foi realizada, tendo em vista que este não era o objetivo do trabalho, pode ter contribuído para o resultado alcançado.

### 3.1 DIVERSIDADE FENOTÍPICA DE ISOLADOS BACTERIANOS

Foram isoladas 88 estirpes bacterianas das duas coletas de solo, sendo 46 da área SL e 42 da área SC a partir dos crescimentos em superfície das placas de Agar TSA e King B. Foi realizada a caracterização morfológica das culturas isoladas através da técnica de coloração de Gram. Baseado nas características tinto morfológicas, as estirpes foram divididas em grupos, sendo o maior percentual da amostra SL constituído de Cocos Gram positivos seguidos de Bacilos Gram Positivos e um menor percentual de Gram negativos (bacilos), na mostra SC, predominou bacilos Gram positivos seguindo de cocos Gram positivos, e minoria Gram negativos (bacilos e cocos), conforme observa-se na Figura 7.

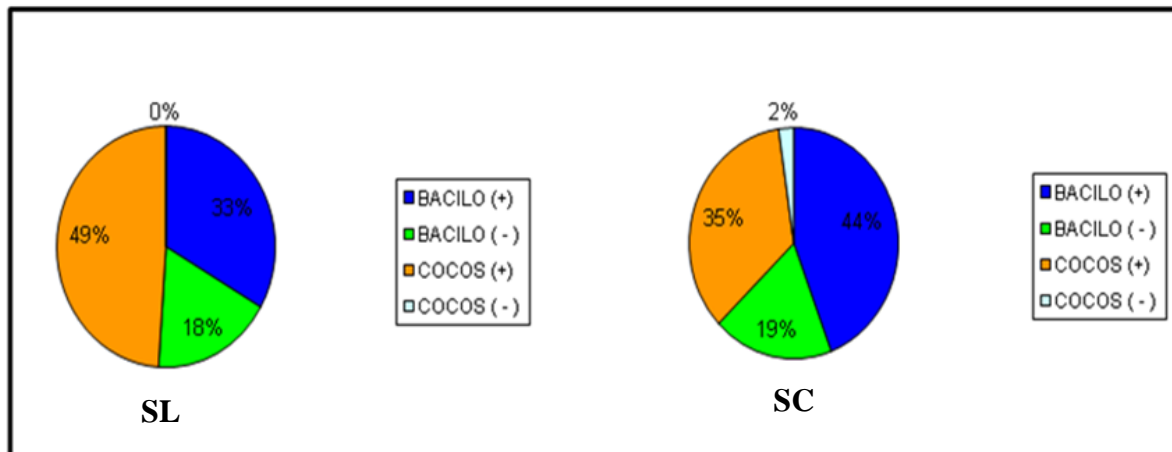


Figura 7: Caracterização morfológica e tintorial de Gram das amostras de solo SL e SC respectivamente.

As provas bioquímicas realizadas possibilitou a identificação das 88 estirpes isoladas a nível de família, a chave de identificação foi feita utilizando testes das características bioquímicas utilizando e seguindo a chave de identificação descritas no manual Mac Faddin (1980) que possibilitou identificar 9 famílias conhecidos e um grupo que não foi possível classificar usando as chaves citadas (Tabela 1). Entre essas famílias identificados, 6 são comuns às duas áreas, no entanto, as famílias *Propionibacteriaceae* e *Bacteroidaceae* somente foram encontradas na área SC, enquanto a família *Veillonellaceae* foi isolada da amostra originária da área SL.

Tabela 1 – Famílias bacterianas isolados das amostras SL e SC.

Gram Positivo		Gram Negativo		Total isolado identificado	
Bastonetes	Cocos	Bastonetes	Cocos	SL	SC
<i>Bacillaceae</i>				16	15
<i>Propionibacteriaceae</i>					3
<i>Actinomycetaceae</i>				1	1
	<i>Micrococcaceae</i>			13	6
	<i>Streptococcaceae</i>			2	1
		<i>Pseudomonaceae</i>		2	2
		<i>Bacteroidaceae</i>			2
		<i>Enterobacteriaceae</i>		2	3
			<i>Veillonellaceae</i>	1	
Total de isolados identificados				37	33
Total de isolados não identificado				9	9
<b>Total de isolados</b>				<b>46</b>	<b>42</b>

Devido a falta de chave de identificação, para micro-organismos ambientais (solo), não foi possível chegar a uma identificação mais específica, tais como gênero e espécie, usando a metodologia descrita, por isso as provas bioquímicos realizados só possibilitaram a identificação dos isolados a nível de família.

Das 9 famílias identificadas, a família *Bacillaceae* foi a que ocorreu em maior quantidade. Gomes (2009) afirma que, essa família é composta de espécies ambientais, cujo habitat principal é o solo, onde possuem um papel importante no ciclo do carbono e do azoto.

Os Actinomicetos, pertencentes a família *Actinomycetaceae* ou *Propionibacteriaceae*, também tem o solo como seu principal hábitat, desempenham um papel crucial na decomposição de compostos orgânicos e podem degradar moléculas complexas, incluindo resíduos agrícolas e urbanos, muitas espécies são termofílicas com temperatura ótima em torno de 55°C (OLIVEIRA, 2003), o que pode justificar, sua quantidade resumida no presente trabalho, visto que, as bactérias foram incubadas a 30°C.

As famílias *Micrococcaceae*, *Streptococcaceae* e *Pseudomonaceae*, podem apresentar algumas espécies patogênicas para o ser humano, porém, não se pode afirmar que, os isolados do presente estudo apresentaram essa característica, uma vez que seria necessária a identificação de gênero ou espécie para essa afirmação. Quanto a família *Enterobacteriaceae*, são pertencentes a flora normal de intestino de animais, mas também podem ser encontradas em diversos habitats como solo e água, podendo ainda apresentar patogenicidade para a espécie humana.

O gênero *Veillonella* da família *Veillonellaceae* é patogênico de importância médica, podendo parasitar a boca, o trato intestinal e respiratório do homem e outros animais, embora essa família tenha sido identificada na amostra do solo controle.

#### 4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Neste estudo a quantificação de fungos e bactérias foi similar, apresentado maior quantidade de UFCs no período de seca, confrontando com resultados de estudos anteriores, quanto a esse ultimo grupo (bactérias).

O solo contaminado com resíduos sólidos, apresentou maior quantidade de fungos e bactérias do que o solo controle, porém, não foi encontrado nenhum estudo na literatura com esses mesmos parâmetros para uma comparação de dados, assim, fica evidenciada, a necessidade de mais pesquisas nesta área, para uma melhor compreensão desses fatores.

Das 88 cepas isoladas foi possível identificar 9 (nove) famílias, através da chave de identificação utilizada. A família que mais ocorreu foi a Bacillaceae, confirmando o que traz a literatura afirma, que essa família tem o solo como habitat principal. A família que teve menos ocorrência foi a Veillonellaceae, cocos negativo, podendo ser patogênica para a espécie humana, embora tenha sido isolada da amostra de solo controle.

## 5. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- ANDRADE, S. A. L. SILVEIRA, A. P. D. **Biomassa e atividade microbianas de solo sob influencia de chumbo e da rizosfera da soja micorrizada.** Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília. V. 39, n. 12, 2004. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100-204X2004001200005&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100-204X2004001200005&script=sci_arttext). Acesso em: out, 2010.
- BATISTA, F. M. **Caracterização bacteriana de sedimentos de trechos urbanos do rio Cuiabá, Cuiabá, Mato Grosso – Mato Grosso, Brasil, 2005.** f. 50. Monografia (Conclusão de Curso em licenciatura em Ciências Biológicas) – Instituto de Biociências, Universidade Federal do Mato Grosso, Mato Grosso, 2005.
- BELEI, R. A. TAVARES, M. S. PAIVA, N. S. **Lixo e serviços de saúde: uma revisão.** Disponível em <http://www.macroclean.com.br/artigo2.php>. Acesso em 27 out 2010.
- BROCK, T. MADIGAM, M. T. MARTINKO, J. M. PARKER, J. *Biology of Microorganisms.* 8º ed. Prentice Hall. Ney Jersey. 1997.
- COIMBRA, J.L.M. DENARDIN, R. B. N. GATIBONI, L.C. WILDNER, L.P. **Modificações na fauna edáfica durante a decomposição da palhada de centeio e aveia preta, em sistema plantio direto.** *Biotemas.*, Lages. v. 22, n. 2, p. 45-53, 2009.
- DALLACORT, R. CARVALHO, I. F. GARCIA, W. M. SILVA, F. P. **Sazonalidade de *Cladosporium* sp. (fungo anemófilo) na cidade de Tangará da Serra – MT em função dos fatores ambientais no período de um ano.** Universidade do Estado do Mato Grosso, 2º jornada científica da UNEMAT, Barra do Bugres – MT, 2009. Disponível em: [http://www2.unemat.br/prppg/jornada2009/resumos\\_conic/Expandido\\_00214.pdf](http://www2.unemat.br/prppg/jornada2009/resumos_conic/Expandido_00214.pdf). Acesso em: nov, 2010.
- FLOHR, L. BRENTANO, D. M. CARVALHO-PINTO C. R. S. MACHADO, V.G. MATIAS, W.G. **Classificação de resíduos sólidos industriais com base em testes ecotoxicológicos utilizando *Daphnia magna*: uma alternativa.** *Biotemas.* Santa Catarina. v. 18, n. 2, p. 7-18, 2005. Disponível em: <http://www.biotemas.ufsc.br/volumes/pdf/volume182/p7a18.pdf>. Acesso em: out, 2010.
- GOMES, M. J. P. Gênero *Bacillus* spp. **Disciplina de microbiologia clínica veterinária – FAVET-UFRGS.** Rio Grande do Sul, 2009. Disponível em: <http://www.ufrgs.br/labacvet/pdf/bacillus200902.pdf>. Acesso em: nov, 2010.
- HARGREAVES, P. I.; **Impacto do estresse hídrico sobre a comunidade microbiana e suas atividades enzimáticas em solo de floresta amazônica oriental – Pará, Brasil, 2005.** f. 47. Monografia (Conclusão de Curso em Microbiologia e Imunologia) – Instituto de Microbiologia Prof. Paulo de Góes, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro. 2005.
- IST – INSTITUTO SUPERIOR TÉCNICO; **Isolamento e enumeração de microrganismos cultiváveis presentes numa amostra de solo.** 2005, disponível em: <http://www.e-escola.pt/topico.asp?id=276>. Acesso out, 2010.

- JUNIOR, F. B. R. MENDES, I. C. TEIXEIRA, K. R. S. REIS, V. M. **Uso de ferramentas moleculares em estudos da diversidade de microrganismos do solo.** Embrapa – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, 2002.
- LIMA, A. L de; **Uso de EDTA e de feijão-de-porco micorrizado em solo contaminado por metais pesados e boro – Campinas, Brasil, 2008** f. 80. Dissertação (Conclusão de mestrado em Agricultura Tropical e Subtropical Área de Concentração em Gestão de Recursos Agroambientais) – Instituto agrônomo curso de pós – graduação em agricultura tropical e subtropical. Campinas, São Paulo, 2008. Disponível em: <http://www.iac.sp.gov.br/PosIAC/pdf/pb1211306.pdf>. Acesso em: out, 2010.
- MAC FADDIN, J.F. *Biochemical tests for identification of medical bacteria.* 2.ed. London: Williams & Wilkins, 1980.
- MELLONI, R. SILVA, F. A. M. MOREIRA, F. M. S. NETO, A. E. F. **Pó de forno de aciaria elétrica na microbiota do solo e no crescimento de soja.** Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília. v. 36, n. 12, p. 1547-1554, 2001.
- MANFIO P. G. **Avaliação do estado atual do conhecimento sobre diversidade microbiana no Brasil.** Projeto Estratégia Nacional de Diversidade Biológica. Ministério do Meio Ambiente. Secretaria de Biodiversidade e Florestas. Diretoria de conservação da Biodiversidade. Campinas, SP, 2003
- MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e bioquímica do solo.** 2º Ed. Lavras: ufla, 2006.
- NASS, D. P. **O conceito de poluição.** Disponível em: [http://cdcc.usp.br/ciencia/artigos/art\\_13/poluicao.html](http://cdcc.usp.br/ciencia/artigos/art_13/poluicao.html). Acesso em: nov, 2010.
- OLIVEIRA, M. F. **Identificação e caracterização de actinomicetos isolados de processo de compostagem.** Porto Alegre, 2003. f. 125. Dissertação (Conclusão de mestrado em Microbiologia Agrícola e do Ambiente) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Agronomia Programa de Pós graduação Microbiologia Agrícola do Ambiente. Porto Alegre, Rio Grande do Sul, 2003. Disponível em: <http://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/7760/000555761.pdf?sequence=1>. Acesso em Nov, 2010.
- PHILIPPI JR. A. et al. **Educação ambiental e sustentabilidade, Barueri: Manole, 2005.**
- PELCZAR JR., M. J, CHAN, E. C. S, KRIEG, N. R. **Microbiologia conceitos e aplicações.** 2º Ed. São Paulo: makron Books, 1996.
- POLETO, C. MERTEN. G. H. **Qualidade dos sedimentos, Porto Alegre: ABRH, 2006.**
- PRIMAVESI, A. **Manejo ecológico do solo, São Paulo: Nobel, 1999.**
- RODRIGUES, Francisco Luiz et al *Lixo: De onde vem? para onde vai?* 2: ed. São Paulo: Moderna, 2003.
- RODRIGUES, H. B. RUIVO, M. L. LÔLA, A. C. MELLO, I. F. MOURA, Q. L. VIANA, R. S. **Variabilidade quantitativa de populações microbiana observada em solo de floresta tropical úmida, associada às condições microclimáticas.** Disponível em: [http://www.cbmet2010.com/anais/artigos/76\\_91999.pdf](http://www.cbmet2010.com/anais/artigos/76_91999.pdf). Acesso em: nov, 2010.
- SANTOS, L. C. **Efeito do Cobre na População de bactérias e fungos do solo, associação ectomicorrízica e no desenvolvimento de mudas de eucalipto e canafístula – RS, Brasil, 2006.** f. 88. Dissertação (em Ciência do Solo, Área de Concentração em Biodinâmica e Manejo do Solo), Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, Rio Grande do Sul, 2006. Disponível em: <http://w3.ufsm.br/ppgcs/disserta%20E7%F5es%20e%20teses/Disserta%20E7%E3o%20Final%20Lilian%20Santos%20pdf.pdf>. Acesso em: set, 2010.
- SILVA, N. **Característica do Cerrado,** São Paulo: 15. fev. 2008. Disponível em <http://pt.shvoong.com/exact-sciences/agronomy-agriculture/1765522-cerrado/>. Acesso em: mai. 2010.

SILVA, R. B. MOURA, Q. RODRIGUES, H. BARRETO, P. NUNES, H. RODRIGUES, R. SANTOS, S. RUIVO, M. L. **Estudo das colônias de fungos e bactérias em solos de floresta tropical associada a variação das chuvas na região.** Disponível em: [http://www.cbmet2010.com/anais/artigos/457\\_52866.pdf](http://www.cbmet2010.com/anais/artigos/457_52866.pdf). Acesso em: nov, 2010.

SILVEIRA, A. P. D. FREITAS, S. S. **Microbiota do solo e qualidade ambiental: texto para estudo.** Campinas: Instituto Agronômico, 2007.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B.R.; CASE, C.L. **Microbiologia.** 6ª ed. Porto Alegre: Ed. Artmed, 2000.

ZILLI, J. E. RUMJANEK, N. G.; XAVIER, G. R.; COUTINHO, H. L. C.; NEVES, M. C. P. **Diversidade microbiana como indicador de qualidade do solo.** Cadernos de Ciência & Tecnologia, Brasília, v.20, n.3, p.391-411, 2003.