

**QUANTIFICAÇÃO E ISOLAMENTO DE ACTINOBACTÉRIAS DO SOLO
ADICIONADO COM VINHAÇA**
*QUANTIFICATION AND ISOLATION OF ACTINOBACTERIA FROM SOIL ADDED
WITH VINASSE*

Selma Baia Batista ¹
SILVA, S. E. ²

RESUMO

O solo é um habitat naturalmente diversificado, com comunidades biológicas altamente complexas, nas quais se encontram diferentes formas de microrganismos, tanto eucariotos como procariotos, que interagem em um ambiente dinâmico e em estado de equilíbrio. O crescimento e desenvolvimento desses organismos dependem da interação de diversos fatores, que incluem a disponibilidade de substratos orgânicos; fatores ambientais (temperatura, umidade e aeração). A vinhaça é um subproduto com elevado valor de matéria orgânica e elevada flora microbiológica e apresenta alta demanda bioquímica de oxigênio, porém, quando descartada em corpos d'água, torna-se um forte poluente. Assim sendo, este trabalho teve por objetivo quantificar e isolar bactérias com características de actinobactéria proveniente do solo com diferentes sistemas de manejo em solo arenoso e argiloso. Para a quantificação de microrganismos totais e actinobactérias uma fração do solo foi pré tratada, e posteriormente feita o processamento das amostras utilizando a técnica de 'spread plate' em meio de cultura de Tripytic Soy Agar (TSA) para bactérias heterotróficas totais (BHT) e meio de cultura Glicerol Caseína para actinobactérias, com adição de ciclohexamida. A contagem de microrganismos foi feita em 24, 48 e 72 horas, em seguida, foi feito o reisolamento das bactérias, e análises morfotintorial de Gram, a fim de se obter culturas puras, para melhor identificação das actinobacterias realizou-se testes bioquímicos. A maior quantificação de BHT foi verificada no solo arenoso sem vinhaça, enquanto que no solo arenoso com vinhaça houve um melhor crescimento para as actinobacterias. A análise morfotintorial de Gram, permitiram verificar que, os bastonetes Gram positivos são preponderantes no solo argiloso. Os testes bioquímicos e fisiológicos mostram prevalência de *Actinomicetes* sp. no argiloso com vinhaça, já a família actinomycetaceae foi mais prevalente no solo argiloso sem vinhaça, e todos tiveram uma demanda de bactérias com descrição incerta, predominante no solo argiloso com vinhaça. Conclui-se que o solo tem características próprias que propicia o surgimento de bactérias, sendo que o manejo com a vinhaça, devido ao seu teor de matéria orgânica facilita a proliferação das mesmas, assim como proporcionar o crescimento de grupos específicos como as actinobacterias.

Palavras chaves: Actinobactérias, microbiota do solo, vinhaça, cana-de-açúcar

¹ Docente do Centro Universitário de Várzea Grande- Univag

² Bióloga pelo Centro Universitário de Várzea Grande.

INTRODUÇÃO

O manejo, a conservação e a recuperação dos recursos naturais constituem preocupação que, atualmente, mobiliza o mundo inteiro, um desses recursos é o solo, uma vez que, esse é crucial para sobrevivência dos organismos, pois fornece suporte, água, e uma variedade de elementos essenciais para o crescimento (PAVINATO; ROSOLEM 2008).

O solo é um habitat naturalmente diversificado, com comunidades biológicas altamente complexas, nas quais se encontram diferentes formas de microrganismos, tanto eucariotos como procariotos, que interagem em um ambiente dinâmico e em estado de equilíbrio (CARRER FILHO, 2002).

As características e qualidades de um solo são determinadas, em grande parte, pelos organismos nele presentes. Essa interferência pode ser clara em processos como a decomposição ou regulação das populações microbianas, ou mais sutis, como no caso da textura e estrutura, ou capacidade de retenção de água (MARTINS; SANTANA, 2013).

Uma grande parcela das mais variadas espécies desses microrganismos é utilizada na estabilização de poluentes resultantes das atividades agrícolas ou industriais que serve, também, como fonte de material genético para pesquisas em diversas áreas da ciência. O complexo, solo microrganismos é de grande importância devido aos serviços que presta à agricultura, à gestão de resíduos, à água, à indústria e ao ambiente como um todo (LEPSCH, 2002).

Alem disso, outra função importante exercida pelos microrganismos no solo é a associação simbiótica com plantas e com outros microrganismos, esta reduz os custos com a adubação nitrogenada e fosfatada, além das implicações benéficas em termos ecológicos dela resultantes (DE-POLLI et al., 1988).

A cana-de-açúcar destaca-se, entre as plantas cultivadas, na produção de recursos energéticos de uso alimentar humano (açúcar, melado, garapa, etc.) e animal (volumoso para ração, matéria fresca, etc.) além de ser uma alternativa à escassez de combustíveis derivados do petróleo. Favorecida pela crise do petróleo, a cana-de-açúcar vem sendo utilizada na produção de álcool combustível, denominado de combustível renovável, substituindo em parte os derivados de petróleo. Do processo de produção do

álcool, resulta a vinhaça, um dos resíduos mais importantes das destilarias (PIRES; FERREIRA, 2008).

A vinhaça produzida a partir de mosto do melaço apresenta concentrações superiores de nutrientes; de mosto misto, concentrações intermediárias e concentrações inferiores (JÚNIOR et al., 2005).

Segundo Nogueira et al. (2007), apud Bataglia et al. (1986), quando a vinhaça é adicionada ao solo, seu potencial poluidor é reduzido, em conseqüências das interações bióticas e abióticas com o solo. Alguns estudos observaram um aumento na atividade microbiana nas camadas do solo devido aplicação da vinhaça.

Assim, a aplicação de diversos manejos no solo pode resultar em modificações qualitativas e quantitativas na constituição dele, isso pode significar diferentes disponibilidades de substratos que, em última instância vão determinar, favorecendo ou inibindo, o estabelecimento dos diferentes grupos microbianos (CARDOSO, 1992).

Os microrganismos participam da formação do solo, decompondo restos de animais e vegetais num processo que resultará na formação de substâncias húmicas que, em conjunto com outros materiais da decomposição, promoverão a agregação das partículas primárias e formarão os agregados do solo (LEPSCH, 2002). São importantes também na ciclagem dos nutrientes contidos na matéria orgânica do solo, mineralizando-os à formas disponíveis às plantas como conseqüência de seu metabolismo.

Entre esses microrganismos estão os actinomicetos que são bactérias Gram positivas com crescimento filamentoso, habitualmente encontrados, em diversos ambientes, incluindo, água, ar, material em compostagem, e outros, sendo o solo o seu reservatório mais comum (CARVALHO et al., 2011).

Estudos ecológicos das populações de actinomicetos são de extrema importância, visto que esses microrganismos formam esporos e conídios, permitindo a sua sobrevivência em condições adversas (LEPSCH, 2002).

É importante destacar que os Actinomicetos ou Actinobactérias, segundo Lacaz (2002), são bactérias Gram-positivas com alto teor de G+C (guanina + citosina). Possuem aspectos morfológicos e de ciclo celular diferenciados dos demais organismos Gram-positivos. Podem ser aeróbios, microaerófilos ou anaeróbios.

Dentro desse contexto, o presente estudo objetiva abordar assuntos relacionados aos microrganismos do solo com e sem adição de vinhaça a fim de analisar o efeito da mesma na comunidade de actinobactéria. Pois, provavelmente a vinhaça poderá produzir efeitos positivos sobre esta comunidade.

MATERIAL E MÉTODOS

Área de estudo

As amostras foram coletadas na Usina Pantanal de Açúcar e Álcool, localizada no município de Jaciara, no sudeste do estado de Mato Grosso com coordenadas latitude sul "15° 55' 31,33" e longitude oeste "55° 13' 38,84", estando a uma altitude de 367 metros (Figura 1).

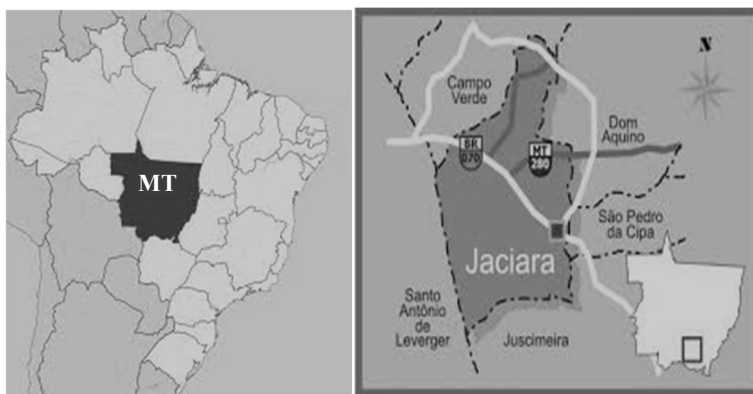


Figura 1 - Localização da Usina Pantanal de Açúcar e Álcool, no Município de Jaciara - MT
Fonte: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE).

Pré-tratamento das amostras

As coletas foram realizadas nos períodos de seca e de chuva. Foram coletadas amostras de solo arenoso e argiloso com e sem adição de vinhaça, nas profundidades de 0-10 cm.

Posteriormente a coleta, o solo foi acondicionado em sacos esterilizados impermeáveis, identificados e transportados sob-refrigeração para o Laboratório de Ecologia, Taxonomia Aquática e Simbiontes-LATEMAS/ UFMT, sendo preservados e estocados em “freezer” à 4°C até o processamento.

De cada amostra, foi utilizada aproximadamente 100g de solo, e adicionada a 1,0 g de caseína, a fim de favorecer o crescimento de actinobactéria. As amostras permaneceram em repouso por sete (7) dias.

Processamento das amostras Quantificação de microrganismo

Para a quantificação de microrganismos totais, foi retirada uma fração do solo pré-tratado (5 g), e colocado em um Erlenmeyer com 45 mL de solução extratora a 0,85% contendo 0,5 g de pérolas de vidro. Este permaneceu sob agitação em mesa orbital a 220 rpm por 30 minutos em temperatura ambiente.

Em seguida retirou-se uma alíquota de 1 mL dessa solução para iniciar as diluições necessárias para o processamento das amostras.

Após a homogeneização, a solução-amostra foi diluída em tubos de ensaio contendo 9 mL de solução salina (0,85% NaCl) estéril até 10^{-6} . Inoculou-se 0,1 mL das diluições 10^{-4} a 10^{-6} , em triplicata, utilizando a técnica de *'spread plate'* em meio de cultura de Tryptic Soy Agar (TSA) para bactérias heterotróficas totais (BHT) e meio de cultura Glicerol Caseína para actinobactérias, com adição de ciclohexamida.

As placas foram incubadas em estufa de cultura a 35°C, pois segundo a literatura indicam que podem alcançar maiores quantidades nessa temperatura, devido a grande capacidade de crescimento, ocupando todo o espaço das placas, dessa forma mantendo um crescimento harmonioso entre as colônias (BATISTA, 2007).

Quantificação de BHT e Actinomicetos

As contagens de microrganismos foram feitas em 24, 48 e 72 horas, após o plaqueamento. Trata-se de uma medida que é obtida por meio de microscopia ou estimada por métodos diretos, ou seja, quando as unidades formadoras de colônias (UFC's), existentes na amostra possibilita formar colônias.

É importante ressaltar que, segundo Tortora et al. (2005), geralmente os microrganismos são obtidos em condições naturais e colocados em condições artificiais, de modo que há uma seleção dos mesmos seja pelo meio de cultura ou seja pelas condições ambientais do cultivo.

Todas as contagens dos microrganismos foram expressas em Log de UFC g⁻¹ de solo, utilizando o cálculo de unidade formadora de colônias, que pode quantificar a comunidade microbiana do solo.

Isolamento de Bactérias

A partir das colônias crescidas em meio TSA, foram feitos reisolamentos para a obtenção de culturas puras, obtidas por técnica de esgotamento por estrias compostas, em meio de cultura em Agar Nutriente (A.N), incubando por 24/48 horas, à 35°C.

Análise morfo-tintorial, segundo técnica de Gram

A coloração de Gram possibilita a visualização e classificação das bactérias em dois grupos: Gram positivo e Gram negativo. Dessa forma, para todas as cepas isoladas, foram realizadas as análises, observando a formação de grupos de coloração distinta e a verificação da forma e arranjos bacteriano, assim como a pureza dos isolados (BIER, 1990).

Testes Bioquímicos e Fisiológicos

Foram realizados testes bioquímicos e fisiológicos, com as estirpes de actinobactérias isoladas do solo, sendo eles: catalase, citrato, nitrato, oxidação e fermentação (NEDER, 1992; KONEMAN et al., 1999).

Ao associar os resultados obtidos através da coloração e cultivos, é utilizado amplamente as provas bioquímicas a fim de auxiliar a identificação das bactérias, por meio das características bioquímicas distintas que os microrganismos apresentam como as vias metabólicas para a obtenção de energia (fermentação, respiração), e ainda por possuírem enzimas específicas utilizadas no processo de metabolização dos diferentes substratos contidos nos meios de cultura (VERMELHO, 2006).

Assim, foram realizadas provas bioquímicas para todas as cepas isoladas, que serviram como prova definitiva na identificação das bactérias isoladas, sendo que muitas vezes as análises morfotintoriais não são suficientes para a identificação bacteriana.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As figuras a seguir representam a quantificação dos microrganismos, ou seja, Bactérias Heterótróficos Totais e Actinobactérias do solo selecionado para o estudo,

bem como a análise morfo tintotial de Gram com a finalidade de identificar os dois grandes grupos de bactérias Gram positivo e negativo e seus arranjos.

Dessa forma, à partir dos resultados demonstrados foi possível compreender melhor os efeitos relacionados a essa microbiota frente aos diferentes tipos de manejo do solo com e sem vinhaça.

Quantificação de Bactérias Heterótróficos Totais no solo

Pode-se observar na figura 2 que houve crescimento de BHT em todas as amostras, sendo que a área arenosa sem vinhaça obteve maior quantificação, com ordem de magnitude de $1,2 \times 10^{-6}$, UFC/g/solo seco, seguida do solo arenoso com e sem vinhaça e argiloso também adicionado de vinhaça, os três sistemas obteve $0,6 \times 10^{-6}$ UFC/g/solo seco de ordem de magnitude frente as outras amostras.

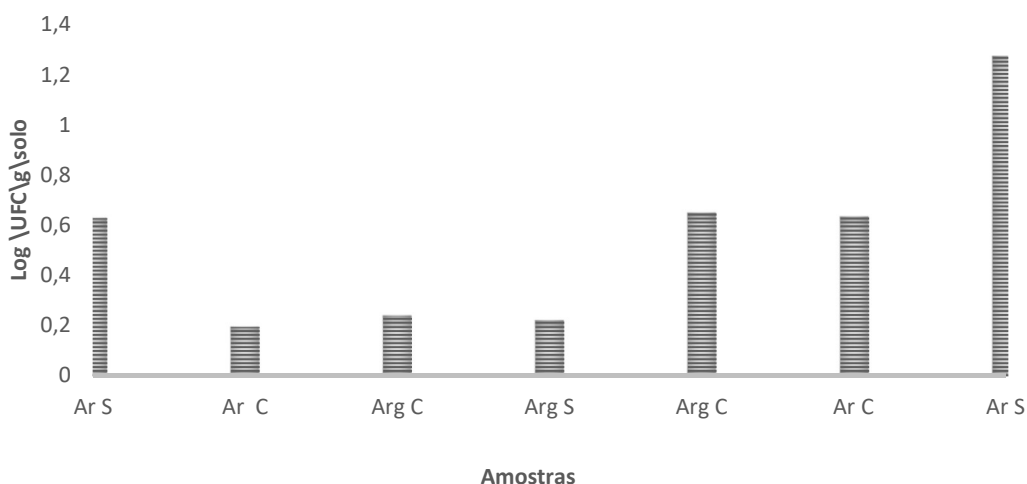


Figura 2 - Representa a contagem das Bactérias Heterotróficas Totais (UFC/g/solo) no solo das áreas selecionadas neste estudo em períodos de seca e chuva. ArS: solo arenoso sem vinhaça; ArC: solo arenoso com vinhaça; ArgC: solo argiloso com vinhaça; ArgS: solo argiloso sem vinhaça.

A classe textural do solo arenosa, provavelmente pode ter desagregado a microbiota das partículas do solo, favorecendo o crescimento no meio de cultura. Estudo realizado por Ribeiro (2012) observou que o solo em geral devido suas características física, química e biológica diferem nas atividades metabólicas dos microrganismos naturais afetados por sua estrutura, composição, característica, que proporciona a multiplicação dos microrganismos.

Cardozo; Araujo (2011) referem que a vinhaça pode ser utilizada como meio de cultura para a produção de esporos de bactérias e acrescentam que contém concentrações consideráveis de material orgânico e inorgânico solúveis disponíveis ao crescimento bacteriano.

Estudo realizado por Santos et al. (2009), os resultados apontaram que a adição da vinhaça causou um decréscimo significativo, porém ela aumentou a partir dos 60 dias. Esses dados corroboram com os resultados desse trabalho onde o maior crescimento bacteriano foi observado nas amostras sem vinhaça apesar de ter realizado as contagens apenas em 72 horas.

Quantificação das actinobactérias do solo

Observa-se que não houve diferença na quantificação de actinobactérias nos solos argiloso e arenoso com e sem adição de vinhaça, (figura 3).

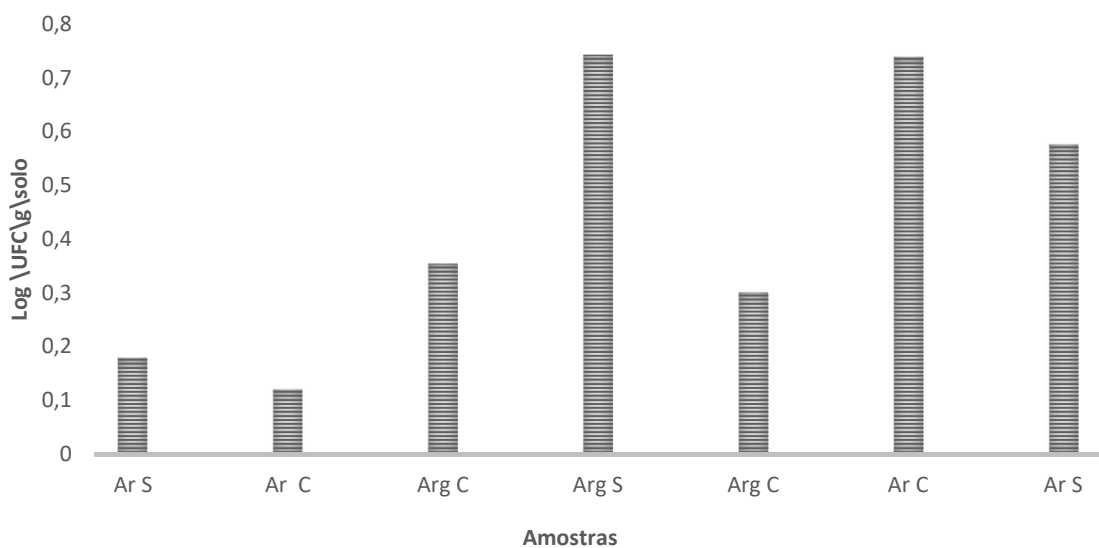


Figura 1. Representa a contagem de Actinobactérias (UFC/g/solo) no solo das áreas selecionadas para este estudo em períodos de seca e chuva. ArS: solo arenoso sem vinhaça; ArC: solo arenoso com vinhaça; ArgC: solo argiloso com vinhaça; ArgS: solo argiloso sem vinhaça.

Provavelmente a vinhaça deve ter ajustado o pH do solo (Palu, 2013) o que favoreceu o crescimento em solo arenoso. Enquanto que o solo argiloso é mais propício

ao crescimento de actinobacterias devido a suas características filamentososa que agrega melhor as partículas de argila.

Esse fato pode ter favorecido as actinobacterias na mesma amostra de solo arenoso sem adicionamento de vinhaça. Isso explica que independente da textura do solo pode apresentar crescimento ou não dos microrganismos.

É importante frisar que como as amostras foram coletadas em período de chuva e de seca, esse fator influenciou nos resultados.

Estudos mostram que em cada estação parece ocorrer uma comunidade microbiana dominante acompanhada de outras pouco abundantes que, muitas vezes, estão abaixo do nível de detecção dos métodos atuais de avaliação, cujas variações podem estar diretamente ligadas à regimes hídricos e ao clima da região, bem como, à estrutura, ao manejo do solo, ao teor e à qualidade de resíduos vegetais aportados, pois, segundo Santos; Camargo (1999), as condições ambientais podem estimular ou inibir o desenvolvimento e atividade de microrganismo do solo.

Análise Morfotintorial de Gram

A análise morfo tintorial de Gram foi feita a fim de separar os dois grandes grupos bacterianos (Gram positivo e negativo), na figura 4 observa-se as percentagens das estirpes isoladas de todas as coletas e tratamento.

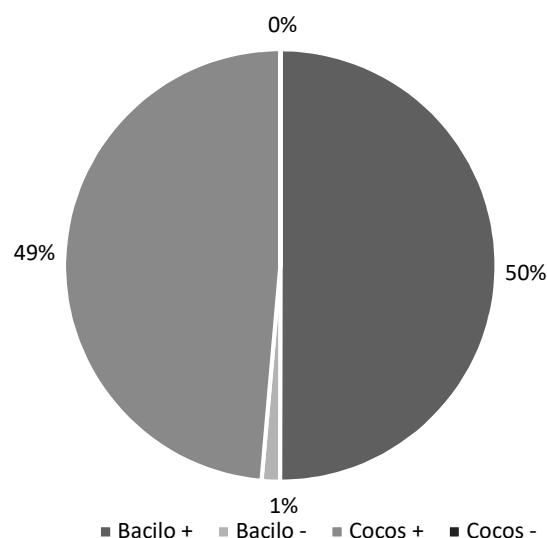


Figura 4 - Percentagens de grupos bacterianos das coletas realizadas em todas as amostras

Observa-se que a maior porcentagem encontrada foi bastonete positivo. Esse resultados corrobora com a literatura de Moreira; Siqueira (2006), que descreve os microrganismos do gênero *Bacillus* como sendo predominantes do solo, uma vez que encontra-se em maior quantidade (Os mesmos apresentaram na sua grande maioria esporos).

Os esporos são considerados estruturas de defesa e resistencia que se formam nos microrganismo, isso ocorre quando o solo passa por algum tipo de estresse, como a incorporação da vinhaça.

Ressalta-se que foi visualizados nas lâminas microscópicas alguns arranjos de bactérias como diplococos, streptococos, diplobastonetes, sarcina.

Testes Bioquímicos e Fisiológicos

Das 47 bactérias isoladas dos diferentes sistemas de manejo, foi possível identificar através dos testes bioquímicos que: 6 são *Actinomyces sp*, 1 *Bividobacterium*, 14 pertencem a família Actinomycetaceae, e 26 não foi possível identificar. (Tabela 1).

Área de Tratamento	<i>Actinomicetes sp</i>	<i>Bividobacterium</i>	Actinomycetaceae	Não definidos
ARG CV	3		5	10
ARG SV	0			1
ARE SV	1		1	7
ARE CV	2	1	8	8
TOTAL	6	1	14	26

Tabela 1. Representa o resultado dos testes bioquímicos e fisiológicos das áreas de tratamento argilosa com vinhaça e argilosa sem vinhaça; arenosa com vinhaça e arenosa sem vinhaça.

A adição da vinhaça pode ter influenciado no crescimento das actinobactérias, pois verifica-se através dos testes bioquímicos que tanto o solo argiloso e o Arenoso com vinhaça houve maior identificação, com 8 e 12 isolados pertencentes ao grupo estudado respectivamente. Os testes bioquímicos realizados não permitiram a identificação em nível de gênero, mas foi possível chegar á família. E os não identificados deve ser porque as provas bioquímicas descritas na literatura são mais

específicas para análises clínicas que para amostras ambientais. Assim sendo faz-se necessário, a realização de testes mais robustos como os moleculares para melhor identificação dos isolados.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Esse estudo possibilitou a compreensão de que a sustentabilidade dos solos está relacionada com o manejo, bem como seu adequado funcionamento e da quantidade de nutrientes disponíveis.

Os resultados da análise demonstram que as Bactérias Heterotróficas Totais, obtiveram maior crescimento em todas as amostras, sendo que o aumento dessas BHT's no solo arenoso sem vinhaça prevaleceu, tal fato pode ter ocorrido devido a sua textura que facilita desagregação das partículas do solo.

Em relação a análise morfotintorial de Gram, foi possível observar que a microbiota do solo possui características positivas em ambas morfologias, com maior predominância dos bacilos positivos, sendo visualizados alguns arranjos de bactérias como Diplococos, Streptococos, Diplobastonetes e Sarcina. Além disso, a maioria dos bastonetes apresentaram esporos, provavelmente devido a adição da vinhaça.

A vinhaça, também favorece o ajuste do pH do solo tanto arenoso como argiloso, possibilitando o crescimento das actinobactérias. Assim como suas características filamentosas, descrita na literatura que afirma que o solo argiloso é mais favorável ao crescimento dos actinomicetes, pois estes fixam melhor nas partículas de argila.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

BATISTA, S. B. **Avaliação da diversidade microbiana do solo da floresta amazônica-Brasil submetida a um evento de estresse hídrico.** Tese (Doutorado em Microbiologia) Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2007.

CARDOSO, E. J. B. N. et al. Ecologia microbiana do solo. Microbiologia do solo. Sociedade Brasileira de Ciência do Solo. Campinas, p. 33-39, 1992. 360 p. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php>. Acesso em: 24 maio 2014.

CARDOZO, R. B. and ARAUJO, F. F. de. Multiplicação de *Bacillus subtilis* em vinhaça e viabilidade no controle da meloidiosose, em cana-de-açúcar. **Revista**

Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental [online]. Campina Grande, PB, UAEA/UFCG, 2011, vol. 15, n.12, pp. 1283-1288. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/S1415-43662011001200010>. Acesso em: 24 maio 2014.

CARRER FILHO, R. **Actinomicetos como agentes de biocontrole de doenças e como promotores de crescimento do tomateiro**. 2002. 78 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2002. Disponível em: <http://alexandria.cpd.ufv.br:8000/teses/fitopatologia/2002/174081f.pdf>. Acesso em: 24 maio 2014.

CARVALHO, T. S.; et al. Avaliação da atividade antimicrobiana de actinomicetos endofíticos contra bactérias Gram-negativas resistentes a beta-lactâmicos. Centro de Ciências Agrárias e Ambientais-Universidade Federal do Maranhão, **Revista Trópica – Ciências Agrárias e Biológicas**, Porto Alegre, v. 6, n. 3, p. 154, 2011. Disponível em: <http://www.lume.ufrgs.br/handle/10183/70121>. Acesso em: 24 maio 2014.

DE-POLLI, H. et al. **A biologia do solo na agricultura**. Seropédica: EMBRAPA, UAPNPBS, 1988. 48 p. Disponível em: <http://www.bdpa.cnptia.embrapa.br/busca?b=ad&biblioteca>. Acesso em: 24 maio 2014.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – **IBGE**. Disponível em: www.cidades.ibge.gov.br/painel/historico.php?lang...%7Cjaciara. Acesso em: 24 maio 2014.

JÚNIOR, C. H. A.; et al. Uso agrícola de resíduos orgânicos potencialmente poluentes: propriedades químicas do solo e produção vegetal. **Tópicos Especiais em Ciência do Solo**, Viçosa, v. 4, p. 391-470, 2005. Disponível em: www.malavolta.com.br/pdf/893.pdf. Acesso em: 24 de Maio 2014.

LACAZ, C. S.; PORTO, E. ; MARTINS, J. E. C.; HEINS-VACCARI, E. M.; MELO N. T. **Tratado de Micologia Médica**. 9. ed. São Paulo: Sarvier Editora de Livros Médicos, 2002.

LEPSCH, I. F. **Formação e conservação dos solos**. São Paulo: Oficina de Textos, 2002. 178 p.

KONEMAN, E. W. et al. **Diagnóstico Microbiológico**. 5. ed. Rio de Janeiro: Medsi, 2001. 1465 p.

MARTINS, N. F. M.; SANTANA, D. H.; Uma síntese crítica sobre aspectos dos estudos dos solos. **Revista Brasileira de Gestão Ambiental**, Pombal, v. 7, n. 2, p. 01-09, abr./jun. 2013. Disponível em: www.gvaa.org.br. Acesso em: 24 de Maio 2014.

MOREIRA, F. M. S; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. 2. ed. Lavras: Editora UFLA, 2006.

NEDER, R. N. **Microbiologia: manual de laboratório**. São Paulo: Ed. Nobel, 1992.

NOGUEIRA, T. A. R. et al., Nutrientes em cana-de-açúcar de 5º corte cultivada em solo tratado com lodo de esgoto e vinhaça por quatro anos consecutivos. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, Universidade Estadual da Paraíba, Paraíba, v. 7, n. 2, 2007. Disponível em: <http://www.redalyc.org/pdf/500/50007202.pdf>. Acesso em: 24 maio 2014.

PALÚ, A. A. A. **Quantificação da microbiota do solo em diferentes sistemas de manejo com uso de vinhaça e queima em cana-de-açúcar, na Bacia Tenente Amaral- Jaciara-MT**. 67 f. 2013. Dissertação (Mestrado em Recursos Hídricos) – Faculdade de Arquitetura, Engenharia e Tecnologia-FAET, Universidade Federal de Mato Grosso, Cuiabá.

PAVINATO, P. S.; ROSOLEM, C. A. Disponibilidade de nutrientes no solo: decomposição e liberação de compostos orgânicos de resíduos vegetais. *Rev. Bras. Ciênc. Solo*. v. 32, n. 3, pp. 2008, Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-06832008000300001>. Acesso em: 24 maio 2014.

PIRES, R. A. P.; FERREIRA, O. M. Utilização da vinhaça na bio-fertirrigação da cultura da cana-de-açúcar: Estudo de caso Universidade Católica de Goiás - Goiânia, dez 2008. Disponível em: <http://www.pucgoias.edu.br/ucg/prope/cpgss/ArquivosUpload/36/file>. Acesso em: 24 de Maio 2014.

RIBEIRO, G. C. H. S. Qualidade biológica de solos de cerrado em áreas degradadas e sob diferentes manejos de cana-de-açúcar. Universidade Católica de Brasília. 2012. Disponível em: http://www.btdt.ucb.br/tede/tde_busca/arquivo.php?codArquivo=1612. Acesso em: 24 de Maio 2014.

SANTOS, G. A.; CAMARGO, F. A. O. **Fundamentos da matéria orgânica do solo: ecossistemas tropicais e subtropicais**. 1. ed. Porto Alegre: Genesis Edições, 1999.

SANTOS, T. M. C. et al. **Efeito da fertirrigação com vinhaça nos microrganismos do solo**. *Caatinga* (Mossoró, Brasil), v. 22, n. 1, p. 155-160, janeiro/março de 2009. Disponível em: www.ufersa.edu.br/caatinga. <http://periodicos.ufersa.edu.br/revistas/index.php/sistema/article>. Acesso em: 24 de Maio 2014.

TORTORA, G.J. et al. **Microbiologia**. 8ª. ed. Porto Alegre, Artmed, 2005. 894 p.

VERMELHO, A. B; COELHO, R. R. R; PEREIRA, A. F. **Práticas de microbiologia**. Editora Guanabara Koogan, 2006.