

Modificação da densidade da microflora em um solo tratado com vinhaça

Dorothy Carmen Pinatti Casarini (1)
Rodrigo César de Araújo Cunha (2)
Bruno Maset Filho (3)

Resumo

Os efeitos da aplicação de vinhaça sobre as populações microbianas do solo foram estudados em canteiro experimental de plantação de cana-de-açúcar, em latossolo vermelho-amarelo, textura média, na Usina Costa-Pinto — Piracicaba-SP. Aumentos substanciais e temporários foram observados nas populações de bactérias e fungos, enquanto as de actinomicetos foram inibidas no período inicial. Conhecendo-se parcialmente a composição da vinhaça, com predominância de açúcares simples, e suspeitando-se da existência de outros compostos orgânicos mais complexos, analisou-se o comportamento dos microorganismos celulolíticos, que poderão ser utilizados como indicador biológico para examinar o efeito de fatores que agem de uma maneira contudente. Microorganismos nitrificantes em suas duas etapas foram inibidos na fase final da decomposição do resíduo. As bruscas transformações microbiológicas decorrentes da adição da vinhaça ao solo não ocasionaram, como se esperava, uma elevação significativa de pH.

Introdução

Integrando ao universo da poluição de ecossistemas, surgiu na década de 80 a preocupação científica em relação à poluição de solos. Esta poluição que se origina na disposição indiscriminada de resíduos industriais e domésticos tem sido utilizada como uma alternativa paliativa para a preservação dos recursos hídricos. Antes, porém, de adotá-la, maiores preocupações necessitam serem tomadas no sentido de respeitar limites de segurança, além dos quais o próprio solo poderá ser irreversivelmente danificado. Tendo o solo superado sua capacidade de absorção e de degra-

dação de resíduos, passarão estes a poluir não apenas as águas superficiais mas, também, as águas subterrâneas.

A utilização do solo como alternativa de disposição de resíduos não se limita à perspectiva de sua contribuição na preservação de águas, mas também uma alternativa econômica e tecnológica, objetivando a recuperação de fertilizantes contidos nesses resíduos para o seu aproveitamento na produção agrícola, além de se constituir uma tecnologia de baixo custo para disposição final de resíduos.

Com a instalação do Pró-álcool, como alternativa nacional para o problema energético, instalou-se no Brasil na década de 70 a utilização extensiva da monocultura da cana-de-açúcar, associando-se a ela a proibição de disposição da vinhaça em rios com a Portaria Ministerial de 1978⁽¹⁾, que resultou na disposição ostensiva de grandes volumes de vinhaça na forma de fertirrigação.

O impacto da fertirrigação com vinhaça tem sido estudado desde algum tempo, sempre em relação à produtividade da cana-de-açúcar, como também modificações físicas de compactação e balanço hídrico. O presente trabalho tem seu enfoque principal nas transformações bioquímicas analisando o papel fundamental da microflora na decomposição do resíduo e na fertilidade do solo.

Os vários grupos de microorganismos do solo não vivem independentes uns dos outros, mas formam um sistema onde interagem fatores bióticos e abióticos. Inter-relações como: solo - microorganismo; microorganismo - microorganismo; microorganismo - planta; existem no solo tornando complexa qualquer proposta de estudo referente à parte destas associações. Fatores ambientais e naturais como temperatura, umidade e pH, característicos de determinado ecossistema, determinam a densidade da microflora no solo^(2,3). A inter-relação destes fatores determina uma distribuição sazonal típica de microorganismo⁽⁴⁾, a qual pode ser alterada pela ação do homem no ecossistema através da

introdução de substâncias exógenas como, por exemplo, a vinhaça.

Embora em relação a outros efeitos e modificações provocados nos solos irrigados por vinhaça, vários estudos tenham sido desenvolvidos, as transformações bioquímicas ainda são desconhecidas, tendo alguns trabalhos na literatura resultados quantitativos sobre as modificações na microflora^(5,6,7,8,9).

Material e métodos

O ensaio foi desenvolvido em uma área sob o cultivo de cana-de-açúcar localizada na Usina Costa Pinto — Piracicaba (SP), em um Latossolo Vermelho-Amarelo, textura média.

A dimensão da área de experimentação foi de 6,13 ha contendo a vegetação na fase de produção, que já havia sofrido quatro cortes anuais.

A vinhaça, de mosto de melaço, aplicada no dia 14 de novembro de 1984, através de canhão de aspersão, foi aplicada em uma só vez na taxa de 780 m³/ha, recebendo a precipitação pluviométrica no decorrer do período de experimentação de três meses.

As amostras foram coletadas com trado cilíndrico, devidamente preparado, em quatro pontos diferentes compondo as repetições. As amostras, acondicionadas em sacos plásticos, eram transferidas para o laboratório onde foram efetuadas as seguintes análises. Análises químicas: pH em água e cloreto de cálcio, carbono orgânico, nitrogênio total, fósforo, bases trocáveis (cálcio, magnésio, sódio, potássio), acidez trocável (alumínio, hidrogênio), metais (Cu, Zn, Fe e manganês) e enxofre. Análises microbiológicas: bactérias totais, fungos, actinomicetos, celulolíticos aeróbicos, celulolíticos anaeróbicos, nitrificadores (nitrossomonas e nitrobacter).

As análises microbiológicas foram desenvolvidas na Divisão de Microbiologia da Cetesb - São Paulo, determinando-se a densidade de microorganismos do solo pela técnica de diluição em placas para fungos, bactérias e actinomicetos e em tubos,

(1) Bióloga - M. S. - Departamento de Hidráulica e Saneamento - EESC-USP - São Carlos - Bolsista do CNPq.

(2) Engenheiro Agrônomo - Diretoria de Pesquisa - Cetesb

(3) Ecólogo - Diretoria de Pesquisa - Cetesb

utilizando-se o método do número mais provável (NMP), para os demais microorganismos.

A umidade do solo foi medida através de tensiômetros localizados na área experimental a profundidade de 20 cm. Determinou-se a curva característica do solo a partir da qual, com as leituras dos tensiômetros e o cálculo dos potenciais matriciais, foram obtidos os valores de umidade volumétrica.

Resultados

Caracterização da vinhaça utilizada no experimento

Utilizou-se uma vinhaça de mosto de melão proveniente da Usina Costa Pinto — Piracicaba-SP, cuja composição média encontra-se na tabela 1. Trata-se de uma vinhaça rica em matéria orgânica, principalmente açúcares em solução e nutrientes como N, P e K e os cátions Ca^{++} e Mg^{++} , cujos valores podem variar, de uma vinhaça para outra, devido a fatores como: natureza e composição da matéria-prima, sistema de fermentação, aditivos utilizados, tipos de aparelhos utilizados, raça de levedura, qualidade da água, sistema de trabalho.

Solo utilizado no experimento

O solo da área experimental, trata-se de um Latossolo Vermelho-Amarelo, textura média. Encontram-se na tabela 2 dados de análise química do solo, umidade e pH, efetuado em amostras antes da aplicação (Tempo 0), e durante o período de fermentação após a aplicação.

Densidade de microorganismos no solo

A tabela 3 apresenta a média de quatro repetições, do número de bactérias, fungos e actinomicetos em 1 g de solo seco, e do número mais provável (NMP) de celulolíticos aeróbicos, celulolíticos anaeróbicos, nitrossomonas e nitrobacter em 1 g de solo seco. A variável número de microorganismo e NMP sofreu transformação matemática logarítmica para adequação à análise estatística.

As figuras 1, 2, 3 apresentam, respectivamente, em gráfico de perfil, a variação do logaritmo do número de bactérias, fungos e actinomicetos por grama de peso seco do solo, antes da aplicação da vinhaça (tempo zero) e durante todo o período de experimentação.

As figuras 4, 5, 6 e 7 apresentam a variação do logaritmo do NMP de

Tabela 1 — Composição química da vinhaça de mosto de melão

pH	Cl	C	N	PO_4^{-3}	SO_4^{-2}	K	Na	Ca	Mg	Mn	Cl^-	Zn	Fe
	$\mu s/cm$	orgânico	total					mg/l					
4,23	6450	4630	160	29,15	607,50	1980	21,25	285	124,85	5,62	515	1,52	34,50

Tabela 2 — Análise química do solo irrigado com vinhaça (780 m³/ha)

Tempo após irr. (dias)	Umidade volum. $cm^3 H_2O/cm^3$ solo	pH		C	N
		H ₂ O	CaCl ₂		
0	0,298	5,0	4,2	1,16	0,10
15	0,284	4,8	4,2	0,79	0,10
45	0,259	5,0	4,3	0,50	0,10
60	0,256	5,1	4,2	1,60	0,10
90	0,238	5,2	4,3	1,74	0,10

Tabela 2 — Continuação

Tempo após irr. (dias)	PO_4^{-3}	K^+	Ca^{+2}	Mg^{+2}	Al^{+3}	H^+	Na^+	Cu	Zn	Fe	Mn	S
	m eq/100 g						ppm					
0	0,36	0,12	1,11	0,16	0,85	6,26	0,01	1,30	1,11	48,71	6,06	9,43
15	0,28	0,18	0,92	0,23	0,88	0,48	0,03	1,21	1,06	58,64	5,95	12,49
45	0,31	0,42	0,99	0,29	0,75	0,35	0,03	1,18	1,10	53,47	10,25	17,12
60	0,34	0,48	0,94	0,40	0,80	0,40	0,02	1,04	0,36	51,04	8,12	17,06
90	0,42	0,27	0,94	0,32	0,81	0,40	0,01	0,96	0,79	59,58	7,06	12,64

celulolíticos aeróbicos, celulolíticos anaeróbicos, nitrossomonas e nitrobacter, respectivamente.

Discussão

Pouco se conhece a respeito dos efeitos crônicos sobre os microorganismos do solo expostos repetidamente a taxas de resíduos por longos períodos de tempo. Assim, a persistência de alguns produtos químicos no solo sugere a possibilidade de alterações no metabolismo microbiano¹¹.

A maioria dos estudos sobre efeitos de produtos químicos orgânicos nos microorganismos do solo analisa as variações do número, tipo e atividade microbiana em relação à fertilidade do solo. Neste estudo existe uma preocupação global em interpretar a disposição da vinhaça no solo, considerando-se seus efeitos positivos na produtividade de cana a curto prazo, como também seu efeito a longo prazo em agroecossistemas, interpretando as transformações microbianas para o manejo adequado, na proteção da qualidade do solo e da água.

As variações sazonais das densidades microbianas e da atividade biológica do solo são reflexo dos efeitos

combinados de numerosos fatores do ambiente, dentre eles: pH, umidade, temperatura e teores de substratos energéticos. A umidade do solo é uma das principais causas do desequilíbrio transitório que ocorre na microflora. Como o experimento foi desenvolvido durante o período chuvoso de novembro/84 - fevereiro/85, observou-se que os efeitos na densidade da microflora devem ter sido estimulados pela composição química da vinhaça desde que a umidade foi mantida relativamente elevada (próxima da capacidade de campo e solo).

Como pode-se observar na tabela 2, entre as variações verificadas na composição química destacam-se o pH, a relação C/N e o teor de potássio.

Um resíduo rico em matéria orgânica adicionado ao solo acarreta inicialmente uma diminuição no pH, devido a presença de bactérias acidófilas. A seguir, com a liberação de radicais de amônia inicia-se a elevação do pH¹². Não obtivemos como esperado e já amplamente discutido na literatura^{13,14,15} aumentos no pH do solo após a primeira semana de aplicação da vinhaça.

A relação C/N determina a taxa de decomposição de um sistema¹². De acordo com a composição química

citada na literatura¹⁷, a vinhaça de mosto de melação apresenta uma relação C/N próxima de 22. Isto significa que a vinhaça possui altas concentrações de carbono quando comparada com seu teor de nitrogênio. Como se observa na tabela 2 a relação C/N do solo foi diminuída até 45 dias após a aplicação da vinhaça, provavelmente devido ao "bloom" da microflora de decompositores ocorrido neste período. Após 45 dias a relação C/N aumenta, provavelmente em consequência de mecanismos de remoção de nitrogênio, provavelmente à denitrificação¹⁸.

Dentre os cátions, K⁺, Ca⁺⁺ e Mg⁺⁺ são os principais cátions encontrados saturando o complexo sorativo do solo, ao lado de íons responsáveis pela acidez do mesmo. O teor de potássio é importante, pois, além de ser um nutriente para as plantas, está relacionado com as atividades fisiológicas e enzimáticas dos microorganismos, intervindo na semipermeabilidade das membranas. No solo, o potássio é encontrado na forma mineral e orgânica e a sua solubilização, realizada pelos microorganismos, resulta na produção de ácidos orgânicos e minerais. Com a introdução da vinhaça ocorreu um aumento significativo em potássio. Isto é importante, pois o potássio em altas concentrações atua deslocando para a solução do solo parte dos íons Ca⁺⁺ e Mg⁺⁺ adsorvidos, tornando-os mais susceptíveis à lixiviação, além de afetar as funções da microflora ativa do solo.

Como pode-se observar pela figura 1, o número de bactérias encontrado no solo variou significativamente em relação a testemunha, tendo o seu número aumentado menos intensamente nos primeiros 15 dias, quando a predominância foi de fungos, a partir do qual as bactérias dominam com um pico aos 45 dias após a irrigação. Em estudos microscópicos "in situ", Alexander¹², notou que a adição de açúcares simples afeta principalmente a proliferação de bactérias, enquanto o amido beneficia os actinomicetos e a celulose estimula o desenvolvimento de fungos. Isto pode, em parte, explicar a estimulação da microflora bacteriana heterotrófica que estaria predominando, inicialmente, devido à natureza coloidal da matéria orgânica da vinhaça, constituir-se principalmente de açúcares em sua maioria pentoses^{13, 20}.

Analisando-se todas as figuras de densidade de microflora observa-se que as transformações foram mais significativas na linha de cana-de-açúcar, que na entrelinha. Pode-se concluir que, embora na entrelinha a atividade microbiana seja afetada pela adição de vinhaça, na linha o efeito é muito

Tabela 3 — Número de bactérias, fungos e actinomicetos/g de solo seco (variável transformada $y = \log x$); e o NMP (número mais provável) de celulolíticos aeróbios, celulolíticos anaeróbios, nitrificantes (nitrossomonas e nitrobacter)/g de solo seco

Microorganismos *	Tempo após irrigação (dias)	TRATAMENTO			
		Vinhaça (m ³ /ha)		Testemunha	
		Linha	Entrelinha	Linha	Entrelinha
Bactéria log nº de col./g peso so seco	0	6,89	6,85	6,89	6,85
	15	7,10	7,11	7,00	7,10
	45	7,70	7,27	7,16	7,05
	60	6,57	6,63	6,60	7,03
	90	6,97	7,05	6,71	6,90
Fungos log nº de col./g peso so seco	0	4,92	4,75	4,92	4,75
	15	5,75	5,64	5,65	4,89
	45	5,30	5,60	5,16	5,07
	60	5,20	4,92	5,48	5,15
	90	5,42	5,25	5,17	5,04
Actinomicetos log nº de col./g peso so seco	0	5,58	4,66	5,58	4,66
	15	5,59	5,57	5,21	5,01
	45	5,17	5,41	5,40	5,17
	60	4,72	4,66	5,53	5,60
	90	5,59	5,21	5,39	5,23
Celulolíticos aeróbios log NMP/g peso se co	0	4,12	3,57	4,12	3,57
	15	4,41	5,86	4,70	4,03
	45	6,18	5,89	5,06	5,14
Celulolíticos anaeróbios log NMP/g peso se co	0	4,70	4,19	4,13	3,47
	60	5,03	5,49	5,51	5,47
	90	5,03	5,49	5,51	5,47
Celulolíticos anaeróbios log NMP/g peso se co	0	3,84	2,42	3,84	2,42
	15	5,80	6,36	5,20	4,31
	45	5,89	5,45	3,89	4,43
	60	4,65	4,33	4,39	4,61
	90	7,45	7,06	7,02	7,37
Nitrossomonas log NMP/g peso se co	0	2,49	2,48	2,49	2,48
	15	3,30	3,16	3,10	2,52
	45	3,42	3,26	3,47	2,65
	60	2,96	2,52	3,57	2,79
	90	3,18	3,68	2,83	3,05
Nitrobacter log NMP/g peso se co	0	2,52	2,82	2,52	2,82
	15	3,83	3,87	4,80	3,72
	45	4,50	3,74	3,66	3,18
	60	2,47	2,41	2,83	2,41
	90	3,25	3,47	2,85	3,26

* Média de 4 repetições

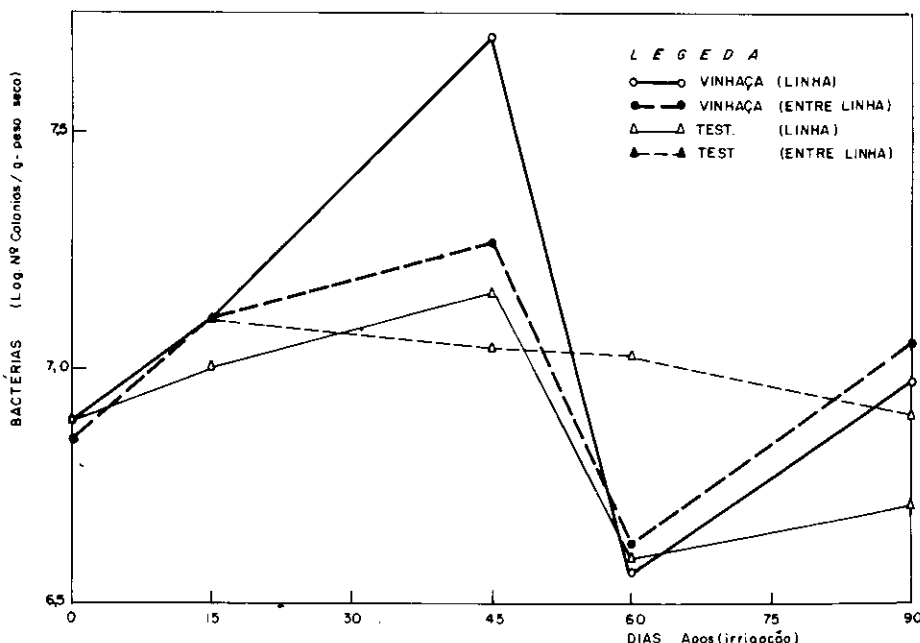


Figura 1 — Médias do número de bactérias/g de solo seco em área com aplicação de vinhaça (na linha e entrelinha) e sem aplicação de vinhaça = testemunha (linha e entrelinha)

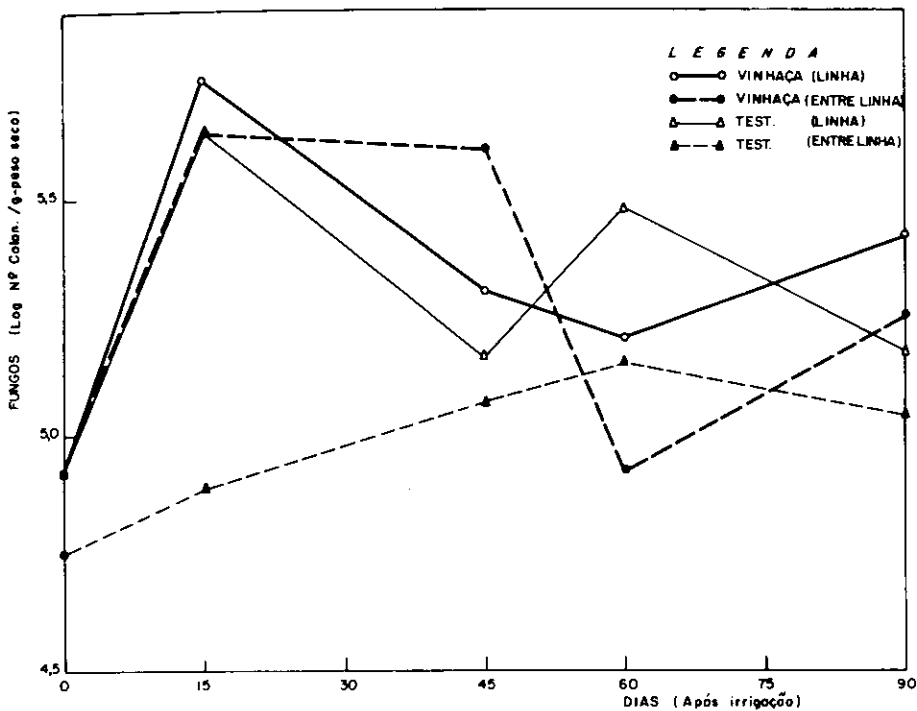


Figura 2 — Médias do número de fungos/g de solo seco em áreas com aplicação de vinhaça (na linha e na entrelinha) e sem aplicação de vinhaça — testemunha (na linha e na entrelinha)

significativo, o que comprova a influência da rizosfera na microflora do solo.

Para os fungos o efeito da vinhaça, quando compara-se o tratamento com a testemunha, na linha (figura 2), o aumento não foi acentuado. Isto ocorre, pois para este solo, que possui sob condições normais um pH (H₂O) aproximadamente 5, já é ácido com uma microflora predominante de fungos, não trazendo a vinhaça uma mudança inicial ao ecossistema. Quando, porém, as condições são alteradas com a decomposição inicial do resíduo, a microflora bacteriana passa a dominar o que inibe a proliferação do fungo até 60 dias após a incubação.

Para actinomicetos, os fatores ecológicos que afetam seu crescimento são principalmente o "status" da matéria orgânica e pH. Como se pode observar pela figura 3, a população de actinomicetos foi drasticamente inibida pela adição de vinhaça comparando-se o tratamento com a testemunha na linha. Segundo Williams²¹, este grupo de microorganismos não prolifera em pH abaixo de 6,0, sendo que as populações ficam limitadas a microhabitat onde o pH se eleva devido a produtos finais produzidos por outro microorganismo adjacente. Com relação à adição de matéria orgânica, o início da decomposição é dominado por fungos e actinomicetos. Para a decomposição da vinhaça, observa-se que as taxas mais elevadas de crescimento e versatilidade bioquímica dos fungos e bactérias, dominam no início da decomposição, enquanto os actinomicetos só vão aparecer no final do período quando com-

postos de mais fácil decomposição estão disponíveis e o nível de competição é menos intenso.

Na agricultura, várias tentativas têm sido feitas no sentido de usar a intensidade de decomposição da celulose como indicador da atividade biológica, do conteúdo de nutrientes utilizáveis e

da produtividade do solo²². Objetivando selecionar um indicador biológico, o comportamento dos celulolíticos foram observados em relação à disposição da vinhaça.

A proliferação dos organismos celulolíticos, em solos irrigados com vinhaça, foi acentuada quando comparada com a testemunha. Segundo Alexander¹², muitos microorganismos possuem baixo crescimento em substratos contendo celulose pura. Se a população pode se desenvolver até um tamanho maior, utilizando uma fonte de carbono mais facilmente assimilável, a flora poderá se adaptar então à celulose à medida que o suprimento da primeira fonte passe a se esgotar. Isto pode ser explicado pela presença da vinhaça que, contendo açúcares de fácil oxidação, estimula o crescimento inicial da microflora celulolítica, adaptando-as à celulose, e quando os açúcares simples começam a se extinguir esta microflora já elevada passa a hidrolisar a celulose.

Nas figuras 4 e 5 observa-se que os microorganismos celulolíticos aeróbios foram inibidos no início, devido condições anaeróbias favorecidas pelo alto teor de umidade provocada pela vinhaça. Neste período prevaleceram bactérias celulolíticas anaeróbias com pico em 15 dias após a irrigação. Por esta mesma razão os celulolíticos aeróbios passam a aumentar após os 15

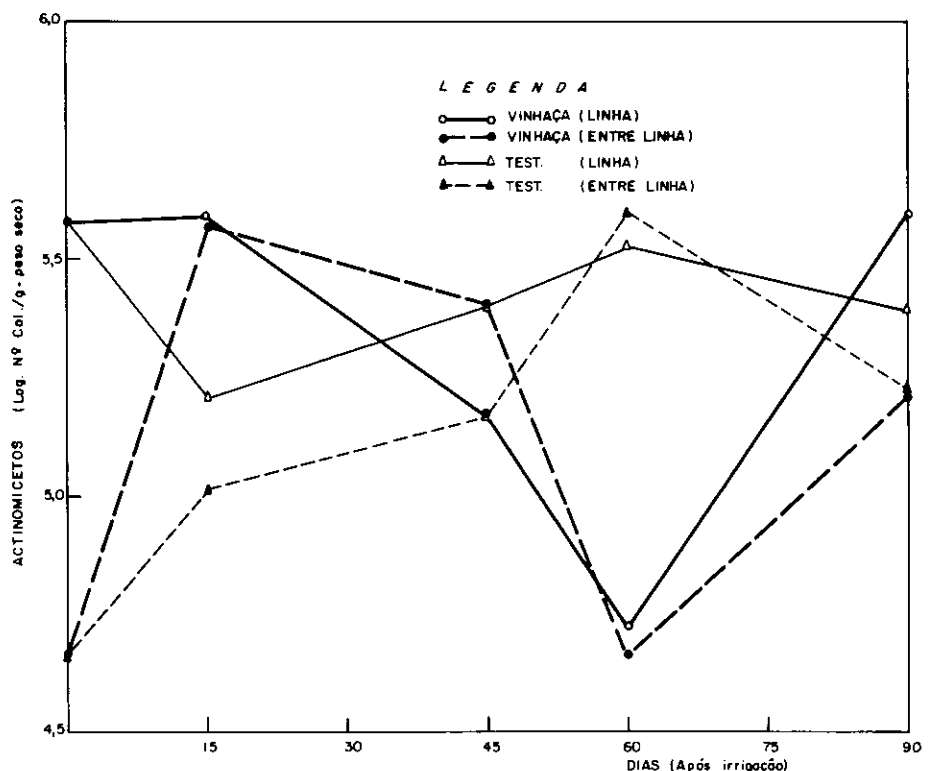


Figura 3 — Médias do número de actinomicetos/g de solo seco em áreas com aplicação de vinhaça (na linha e na entrelinha) e sem aplicação de vinhaça = testemunha (na linha e na entrelinha)

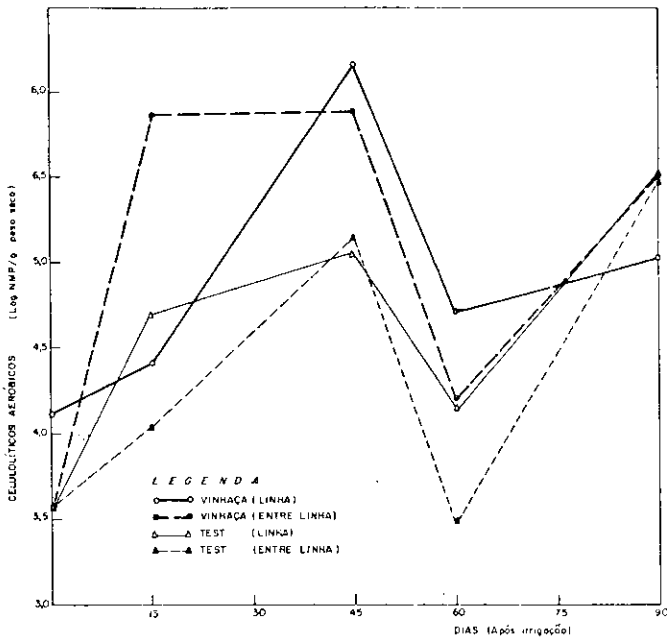


Figura 4 — Médias do NMP de celulíticos aeróbios/g de solo seco, em áreas com aplicação de vinhaça (na linha e na entrelinha), e sem aplicação de vinhaça = testemunha (na linha e na entrelinha)

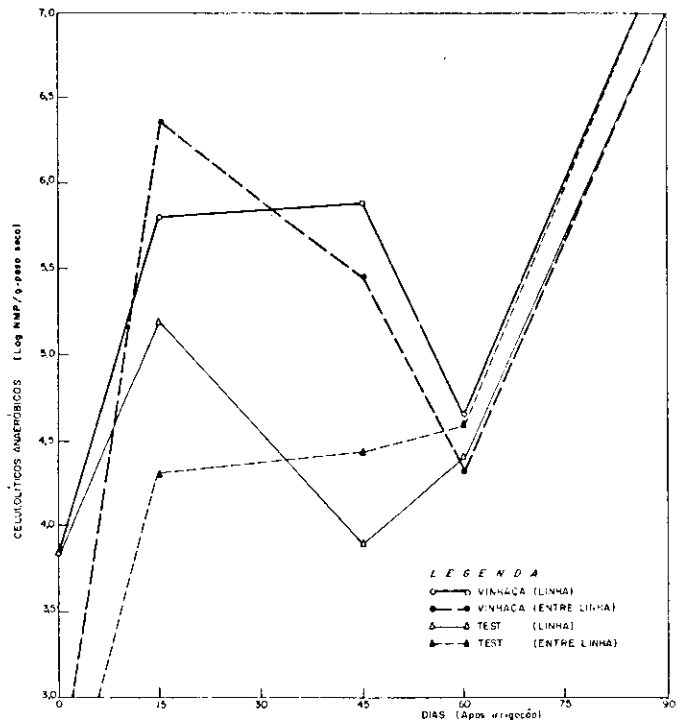


Figura 5 — Médias do NMP de celulíticos anaeróbios/g de solo seco, em áreas com aplicação de vinhaça (na linha e na entrelinha), e sem aplicação de vinhaça = testemunha (na linha e na entrelinha)

dias de irrigação quando o índice de aeração do solo é melhorado.

Para efetuar-se o acompanhamento da fase de nitrificação da decomposição da vinhaça no solo, determinou-se a densidade da microflora responsável pela oxidação de N-amoniacal — $N-NO_2$ (nitrossomonas) e bactérias responsáveis pela oxidação de $N-NO_2$ — NO_3^- (nitrobacter). O acompanhamento da densidade destes microorganismos, quando relacionados com teor de amônia e nitrato no solo, poderá ser utilizado como indicador da quantidade de nitrato que poderá estar infiltrando nas camadas mais profundas do solo e da água subterrânea. Como se observa na figura 6, a densidade de nitrificantes nitrossomonas, em solos tratados com vinhaça, não se alterou no início da decomposição, tendo sido inibida no período de 45-75 dias após a irrigação. Isto deve ter ocorrido como consequência da utilização do $N-NH_3$ pela microflora bacteriana heterotrófica que promove a decomposição inicial do resíduo. A figura 7 demonstra que a densidade de microorganismos nitrificantes nitrobacter acompanha o desenvolvimento das nitrossomonas, sendo um pouco mais elevada, o que nos leva a suspeitar que estes microorganismos poderiam estar utilizando-se de nitritos em solução na vinhaça, ou disponível no próprio solo. A dinâmica de compostos nitrogenados em solos é extremamente complexa, e a falta de dados químicos de toda a série de nitrogênio no solo estudado transfere nossas conclusões para fases mais

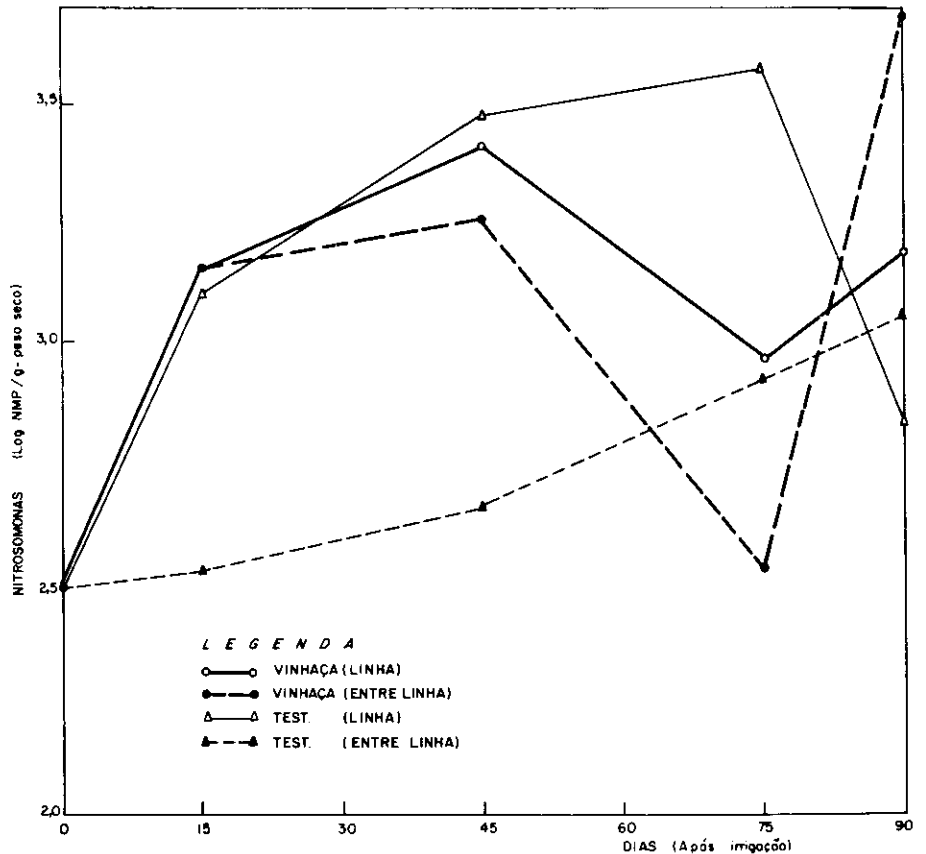


Figura 6 — Médias do NMP de nitrificantes nitrossomonas/g de solo seco, em áreas com aplicação de vinhaça (na linha e na entrelinha), e sem aplicação de vinhaça = testemunha (na linha e na entrelinha)

avanzadas do desenvolvimento do projeto.

Conclusão

Este trabalho constitui a fase inicial de um projeto instalado com a duração

prevista de três anos. Este conjunto de dados é, portanto, preliminar, o que conduz a suposições e conclusões parciais.

As transformações microbianas em solos irrigados com vinhaça são, sem dúvida, rápidas e significativas, ocor-

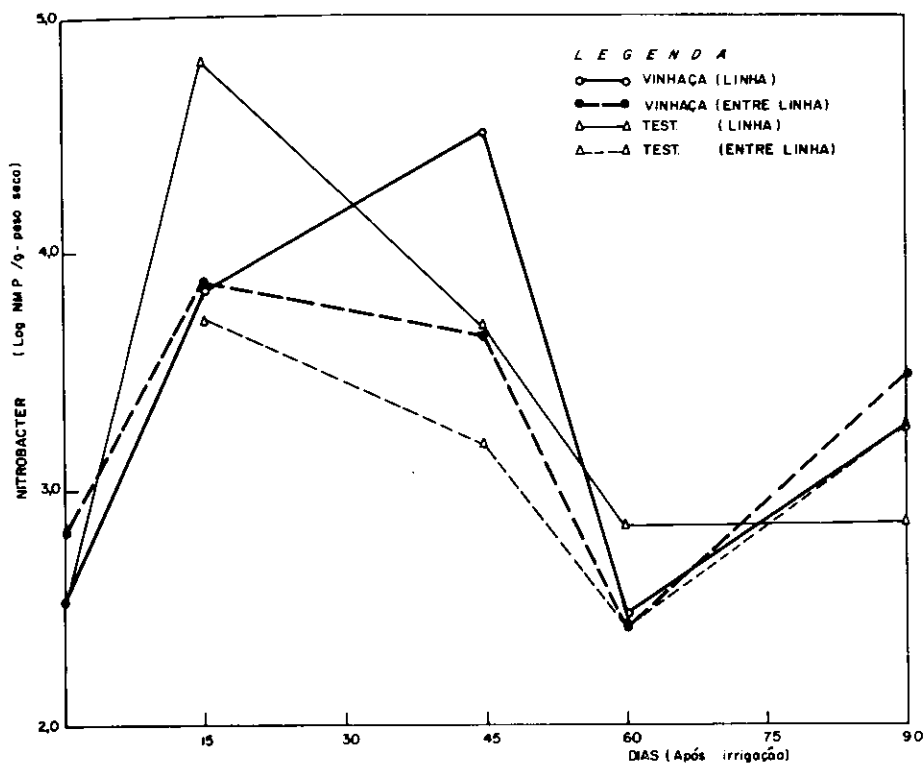


Figura 7 — Médias do NMP de nitrificantes nitrobacter/g de solo seco, em áreas com aplicação de vinhaça (na linha e na entrelinha), e sem aplicação de vinhaça = testemunha (na linha e na entrelinha)

rendo inicialmente uma fase carbonácea com a oxidação da matéria orgânica em solução. Provavelmente os aumentos de densidade microbiana ocorridos após 60 dias da aplicação do resíduo, sejam da microflora autóctona do solo que deverá se estabilizar, ou da microflora autotrófica que nesta fase estaria se utilizando dos produtos finais da fase inicial carbonácea da decomposição do resíduo.

Em relação a bactérias nitrificantes, maiores observações precisam ser realizadas e dados da concentração de N-amoniacal, N-NO₂ e N-NO₃ para o solo precisam ser obtidos.

O processo de disposição de vinhaça no solo ocorre ostensivamente de maio-dezembro, que constitui o período de safra agrícola da cana-de-açúcar. Embora o início desse período seja período de estiagem, o final da safra ocorre durante as chuvas de verão. As transformações microbianas em solos levam a formação de produtos intermediários que poderão ser lixiviados para camadas mais profundas do solo. Maiores informações deverão ser obtidas, neste projeto, no sentido de interpretar os efeitos positivos na fertilidade do solo obtidos com a adição da vinhaça como também possíveis consequências adversas à qualidade do ecossistema.

Referências bibliográficas

- 1 — Proibido Lançamento de Vinhoto nos Rios. Portaria/GM/n.º 323 de 29/11/1978. Eng. San. 17 (4): 467-489. 1978.
- 2 — Laudelouth, H.; Lambert, R. & Pham, M. L. Variation saisonnière de la population microbienne du Sol. Rev. Écol. Biol. Sol, 15 (2): 147-152. 1978.
- 3 — Laudelout, H. & Lambert, R. Variation saisonnière de la population microbienne du sol. II. Influence sur la minéralisation de l'azote du sol. Sol. Écol. Biol. Sol, 19 (1): 1-15. 1982.
- 4 — Rahno, P.; Aksel, M. & Rüs, H. Seasonal dynamics of the number of soil microorganisms. Pedobiologia, 18 (8): 279-288. 1978.
- 5 — Camargo, R. de — "O Desenvolvimento da Flora Microbiana nos Solos Tratados com Vinhaça. Piracicaba, Instituto Zinotécnico, 44 p. Boletim 9. 1954.
- 6 — Caldas, H. E. — Os fenômenos microbiológicos nos solos tratados com calda de Destilaria. Recife, Instituto Agrônomo do Nordeste, 101 p. Boletim Técnico 10, 1960.
- 7 — Lima, T. L. — Efeitos da Aplicação de Vinhaça sobre a Microflora do Solo. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Rio de Janeiro. 103 p. 1980.
- 8 — Neves, M. C. P.; Lima, T. L.; Dobreiner, J. Efeito da Vinhaça sobre a Microflora do Solo. R. bras. Ci. Solo. 7: 131-136, 1983.
- 9 — Amaral Sobrinho, N. M. B. Efeito da Vinhaça em mistura com nitrato da dinâmica do nitrogênio em solo ácido. Tese de mestrado. Seropédica, R. J. Univ. Fed. Rural do Rio de Janeiro. 95 p. 1983.
- 10 — Pochon, J.; Tardieux, P. Techniques D'Analyse En Microbiologie du Sol. Editions de La Tourelle. Saint-Mandé, 108 p. 1982.
- 11 — Wilson, G.B.; Parr, J. F.; Taylor, J. M. & Sikora, L. J. Land treatment of industrial wastes: principles and practices. Bio Cycle, 23 (1): 37-42. 1982.
- 12 — Alexander, M. Introduction to Soil Microbiology. ed. 2. New York, John Wiley & Sons, 467 p. 1977.
- 13 — Valsecchi, O. & Gomes, F. P. Solos incorporados de vinhaça e seu teor de bases. Anais da ESALQ — Piracicaba, SP., 11: 135-158, 1954.
- 14 — Glória, N. A. da & Magro, J. A. Utilização agrícola de resíduos da usina de açúcar e destilarias na Usina da Pedra — IV Seminário Copersucar da Agro e Indústria Açucareira. — Águas de Lindóia, SP, Anais. p. 163-180. 1976.
- 15 — Silva, G. M. A. de Aplicação de Vinhaça como fertilizante de solo para cana-de-açúcar. Monografia apresentada na ESALQ - Piracicaba - SP, Mimeografadas. 31 p. 1979.
- 16 — Santos, G. A.; Rossiello, R. O. P.; Fernandes, M. S. & O'Grady, P. C. O. Efeitos da vinhaça sobre o pH do solo, a germinação e o acúmulo de potássio em milho. Pesq. Agropecuária Brasileira, 16 (4): 489-493. 1981.
- 17 — Rodelia, A. A.; Parazzi, C. Cardoso, A. C. P. Composição da Vinhaça. Brasil Açucareiro, 1: 25-33. 1981.
- 18 — Nunes, M. R.; Velloso, A. C. X.; Leal, J. R. Efeito da Vinhaça nos cátions trocáveis e outros elementos químicos do solo. Pes. Agrop. Bras., 16 (2): 171-176. 1981.
- 19 — Sobral, A. F.; Cordeiro, D. A. & Santos, M. A. C. dos Efeitos da aplicação da vinhaça em sacarias de cana-de-açúcar. Brasil Açucareiro, 98 (5): 52-58. 1981.
- 20 — Rasovsky, E. M. Alcool - Destilarias. Brasília, MIC-IAA, Col. Canaveira n.º 13. 1973.
- 21 — Williams, S.T.; Mayfield, C.I. Soil. Biol. Biochem. 3: 197-208 Apud. Alexander, M. 1977. Introduction to Soil Microbiology ed. 2. New York, John Wiley & Sons. 467 p. 1971.
- 22 — Toledo, L.; Linhares, L. F. de Atividade Celulolítica em Alguns Solos Brasileiros. Tese de Mestrado. Univ. Fed. do Rio de Janeiro. 57 p. 1971.