MINERALIZACIÓN DE LA PAJA DE CAÑA DE AZÚCAR EN SUELO ADICIONADO CON VIÑAZA (SUBPRODUCTO DE LA INDUSTRIA DEL ALCOHOL DE CAÑA DE AZÚCAR) Y FERTILIZANTE NITROGENADO

Mineralization of sugar-cane straw in soil amended with vinasse (a sugar-cane alcohol industry byproduct) and nitrogen fertilizer

Luciana Terumi Sanomiya¹, Luis Carlos Assis¹, João Ademir de Oliveira² y Ely Nahas^{1*}

ABSTRACT

Cellulose is the most abundant vegetable organic compound, being derived mainly from plant residues. The decomposition of sugar-cane (Saccharum officinarum L.) straw was studied in a period up to 90 days, through variables related to the carbon cycle, such as respiratory activity and CM-cellulase (CM, cellulose microcrystalline) and CMC-cellulase (CMC, carboxymethylcellulose) activities. The treatments consisted of 0, 0.5 and 1.0% of straw, in the presence and absence of vinasse (a sugar-cane alcohol industry byproduct) and nitrogen fertilizer. The respiratory and cellulase activities increased up to the 14th day of incubation and later decreased. The respiratory activity was 1.9 and 2.3 fold larger (P < 0.05) in the soil with 0.5 and 1.0% of straw added, respectively, in relation to the control. CM- and CMC- cellulase activities also increased from 1.8 to 2.9 and from 2.3 to 2.7 fold. respectively. The vinasse addition enhanced CO production and CM-cellulase activity, however, no significant effect was observed on CMC-cellulase activity. The addition of N reduced both respiratory and cellulase activities. The decomposition of the sugar-cane straw may enhance soil nutrient cycling increasing agricultural production.

Key words: sugar-cane straw, respiratory activity, CM-cellulase, CMC-cellulase, mineralization

RESUMEN

La celulosa es el compuesto orgánico vegetal más abundante, derivándose principalmente de los residuos de las plantas. La descomposición de la paja de caña de azúcar (Saccharum officinarum L.) fue estudiada en un período de hasta 90 días a través de variables relacionadas con el ciclo del carbono, como la actividad respiratoria y las actividades de la CM-celulasa (CM, celulosa microcristalina) y de la CMC-celulasa (CMC, carboximetilcelulosa). Los tratamientos consistieron en la adición de 0; 0,5 y 1,0% de paja, en la presencia y ausencia de viñaza (residuo de las destilerías de producción de alcohol de caña de azúcar) y fertilizante nitrogenado. Las actividades respiratorias y de las celulasas aumentaron hasta el día 14 de incubación y después disminuyeron. La actividad respiratoria fue 1.9 y 2.3 veces mayor (P < 0.05) en el suelo adicionadocon 0,5 y 1,0% de paja, respectivamente, con relación al control. Las actividades de la CM-celulasa y de la CMC-celulasa también aumentaron de 1,8 a 2,9 veces y de 2,3 a 2,7 veces, respectivamente. La adición de viñaza estimuló la producción de CO₂ y la actividad de la CM-celulasa, sin embargo, no se observó ningún efecto significativo sobre la actividad de la CMCcelulasa. La adición de N redujo tanto la actividad respiratoria como las actividades de las celulasas. La descomposición de la paja de caña de azúcar debe aumentar el reciclaje de los nutrientes del suelo, aumentando la producción agrícola.

Palabras clave: paja de caña de azúcar, actividad respiratoria, CM-celulasa, CMC-celulasa, mineralización.

¹ Universidade Estadual Paulista (UNESP), Departamento de Producao Vegetal, 14884-900 Jaboticabal, Sao Paulo, Brasil. E-mail: enahas@fcav.unesp.br *Autor para correspondencia.

² Universidade Estadual Paulista (UNESP), Departamento de Ciencias Exatas, Jaboticabal. Recibido: 6 de agosto de 2004. Aceptado: 14 de enero de 2005.

INTRODUCCIÓN

Brasil posee una área cultivada con caña de azúcar (*Saccharum officinarum* L.) mayor de 5,4 millones de hectáreas (IBGE, 2004). Últimamente, la cosecha de la caña se realiza sin quema (Mendonza *et al.*, 2000), permaneciendo una cobertura vegetal en el suelo, la pajada. En el Estado de São Paulo, Brasil, la cantidad de pajada después del corte de la caña varió de 13 a 29 t ha⁻¹ de materia seca (Oliveira *et al*, 1999). La descomposición de la paja depende de la acción de los microorganismos, que son los principales responsables de la mineralización y reciclaje de los nutrientes en el suelo (Powlson *et al.*, 1987).

Debido a la gran cantidad de lignocelulosa (aproximadamente el 60% de la materia seca), es importante conocer el proceso de degradación de la paja, porque las reacciones implicadas proporcionan carbono rápidamente disponible para el crecimiento de microorganismos del suelo (Deng y Tabatabai, 1994). La comunidad de microorganismos celulolíticos en el suelo es bastante grande, por consiguiente, es de esperar una actividad significativa en la descomposición de los materiales celulósicos. En suelos con diferentes cultivos, fuentes de fósforo y de encalado, el número de bacterias y de hongos celulolíticos fue de 80 y 38% del total, respectivamente (Sanomiya y Nahas, 2003).

La degradación completa de la celulosa depende de un sistema complejo de enzimas, constituido por endo- y exo-glucanasas y β-glucosidasa, sin embargo, no todos los microorganismos secretan todas las celulasas (Béguin y Aubert, 2000). Una baja velocidad de descomposición se ha atribuido a la deficiencia de N y a la presencia de constituyentes recalcitrantes en los vegetales. Materiales pobres en N como la paja de maíz (*Zea mays* L.) mostraron baja velocidad de degradación (Recous *et al.*, 1995). La paja de la caña de azúcar de la variedad SP 71-616338 contiene 38% de carbono y 0,5% de nitrógeno (Abramo Filho, 1995). Por eso se adiciona fertilizante nitrogenado para aumentar la velocidad de descomposición de la pajada.

La viñaza, residuo de la industria alcoholera, es aplicada en los cultivos de la caña de azúcar, principalmente porque constituye una fuente de potasio y otros nutrientes para el propio cultivo, además de proporcionar carbohidratos rápidamente asimilables, favoreciendo el crecimiento microbiano (Nahas *et al.*, 1990). Hay pocos estudios relacionados con la actividad microbiana de degradación de la paja en períodos cortos. El objetivo de este trabajo fue evaluar la descomposición de la paja de la caña de azúcar en suelo adicionado con viñaza y fertilizante nitrogenado, a través de la medición de la actividad respiratoria microbiana y de las actividades de las celulasas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Las muestras de suelo se recogieron de un Nitossolo (Alfisol) en el campus de la Facultad Ciências Agrárias y Veterinarias de Jaboticabal, Universidad Estadual Paulista, São Paulo, Brasil, en 2002, a una profundidad de 0-20 cm, se secaron y tamizaron (2 mm). Las características del suelo eran: materia orgánica (MO) = 4,6%; P Melich = 53 μ g mL⁻¹; pH en CaCl₂ = 5,2 ; cationes de intercambio en mmol dm⁻³; Ca²⁺ = 51; Mg²⁺ = 30; K⁺ = 10,5; H+Al³⁺ = 38; arena = 22%; arcilla = 48% y limo = 30%.

Los tratamientos consistieron en la adición de tres concentraciones de paja de caña de azúcar (Saccharum officinarum L.), (0,0; 0,5 y 1,0% peso/ peso o 0,0; 12 y 24 t ha⁻¹) en la presencia y ausencia de viñaza y de fertilizante nitrogenado. La paja se recolectó de la superficie del suelo de un área de cosecha sin quema de la caña de azúcar de la variedad RB 855536. La paja se transportó al laboratorio, se lavó, secó (60° C por 18 h), trituró finamente (< 1 mm) y mezcló uniformemente con el suelo. La viñaza se obtuvo de la Usina São Francisco (São Paulo, Brasil). La viñaza es un residuo de las destilerías de producción de alcohol de caña de azúcar y presenta la siguiente composición (mg mL⁻¹): azúcares totales 14,71; azúcares reductores 10,15; sólidos totales 38,10; sólidos solubles 31,72; nitrógeno total 0,53; fosfato soluble 0,04; ceniza 6,40; acidez 36,90 v pH 4,2 (Nahas et al., 1990). El fertilizante nitrogenado se aplicó en una cantidad de 60 kg N ha⁻¹ en la forma de solución de NH₄NO₃.

En frascos de 2500 mL se colocaron 200 g de suelo seco, a los que se añadió o no la paja, la viñaza y el nitrógeno. La viñaza, el agua para humedecer el suelo y la solución de nitrógeno se aplicaron en cantidades necesarias para obtener un 60% de la capacidad de retención de agua del suelo, y luego se mezclaron con el suelo. La cantidad de viñaza

correspondió a 344 m³ ha⁻¹. Los frascos se incubaron en estufa microbiológica hasta 90 días a 30°C. La actividad respiratoria microbiana se determinó según Mamilov y Dilly (2002). Muestras de 15 g de suelo húmedo se retiraron periódicamente (Cuadro 1) de los frascos para la determinación de la actividad de las enzimas.

Las actividades de la CM-celulasa (CM, celulosa microcristalina) y de la CMC-celulasa (CMC, carboximetilcelulosa; endoglucanase, EC 3.2.1.4) se determinaron por el método de Kanazawa y Miyashita (1986). Los azúcares reductores se determinaron por el método de Somogyi-Nelson. Para ambas enzimas, una unidad de actividad enzimática se definió como la cantidad de enzima que produjo 1 µg glucosa 4 h-¹ 50°C-¹. La actividad enzimática se expresó en µg glucosa g-¹ de suelo seco.

Se utilizó un diseño completamente aleatorizado, en factorial 3 x 2 x 2, con tres concentraciones de paja, dos de viñaza (sin y con) y dos de nitrógeno (sin y con), totalizando doce tratamientos con tres

repeticiones. Los datos se analizaron a través del programa SAS (SAS Institute, 1990). Cuando F fue significativa, se utilizó la prueba de Tukey (P < 0,05) para la comparación de las medias. Las actividades enzimáticas se transformaron en log (x+1) en que x = μ g glucosa g⁻¹ de suelo seco para normalizar la respuesta y homogeneizar las variaciones de los grupos experimentales. Se realizó el análisis de correlación simple para evaluar las relaciones entre las variables.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La adición de 0,5% (Figura 1B) y 1,0% (Figura 1C) de paja aumentó la producción de CO₂ en 1,9 y 2,3 veces (Cuadro 1), respectivamente, en comparación con el control (Figura 1A). El aumento de la producción de CO₂ puede ser considerado como el resultado de la mineralización de la paja debido al aumento de la actividad microbiana. Boopathy *et al.* (2001) reportaron un aumento del número de bacterias y hongos celulolíticos en suelo adicionado con paja de caña de azúcar. Entry *et al.* (1987)

Cuadro 1. Actividad respiratoria y de las enzimas CM-celulasa (CM, celulosa microcristalina) y CMC-celulasa (CMC, carboximetilcelulosa) en suelo adicionado con paja, viñaza y fertilizante nitrogenado. Table 1. Respiratory activity, CM-cellulase (CM, cellulose microcrystalline) and CMC-cellulase (CMC, carboxymethylcellulose) activities of the soil with straw, vinasse and nitrogen fertilizer added.

Días	Actividad respiratoria (mg CO ₂ g ⁻¹ suelo seco)	CM-celulasa (μg glucosa g ⁻¹ suelo seco)	CMC-celulasa (μg glucosa g ⁻¹ suelo seco)
3	109,358 a	Nd	Nd
7	79,231 cd	52,105 b	209,548 a
10	46,284 g	Nd	Nd
14	62,422 f	58,539 a	142,606 a
21	83,153 bc	0,198 e	134,616 a
28	85,914 b	17,236 c	121,039 a
35	69,083 e	Nd	Nd
42	48,029 g	Nd	Nd
60	76,996 d	6,499 d	129,751 a
90	67,110 e	Nd	Nd
Paja (%)			
0,0	38,558 c	12,361 c	62,331 c
0,5	71,887 b	22,655 b	145,760 a
1,0	87,987 a	35,961 a	168,648 b
Viñaza			
Con	77,018 a	26,354 a	120,748 a
Sin	55,270 b	20,965 b	130,412 a
Nitrógeno			
Con	64,339 b	21,084 b	118,901 b
Sin	67,949 a	26,234 a	132,259 a

Medias seguidas por las mismas letras en la columna, no son diferentes entre sí según prueba de Tukey (P < 0.05). Nd: no detectado.

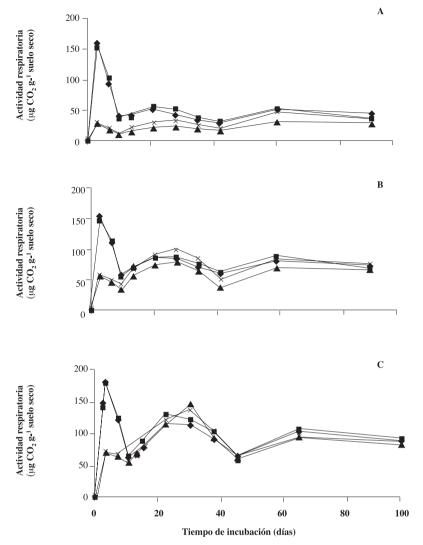


Figura 1. Actividad respiratoria del suelo adicionado con (A) 0,0 %, (B) 0,5 % y (C) 1,0 % de paja de caña de azúcar (*Saccharum officinarum* L.). ◆Con viñaza, con N; ■ Con viñaza, sin N; ▲ Sin viñaza, con N; x Sin viñaza, sin N.

Figure 1. Respiratory activity of the soil with (A) 0,0 %, (B) 0,5 % y (C) 1,0 % of sugar cane (Saccharum officinarum L.) straw added. ♦ With vinasse, with N; ■ With vinasse, without N; ▲ Without vinasse, with N; x Without vinasse, without N.

relacionaron el aumento de la degradación de la celulosa con el aumento de la biomasa microbiana. Cuando la viñaza fue agregada al suelo, la producción de CO₂ fue un 39% mayor (Figura 1, Cuadro 1) en relación al control sin viñaza. Este resultado se debió, probablemente, al aumento de la actividad microbiana por la contribución de la fuente de carbono disponible aportada por la viñaza (Nahas *et al.*, 1990), favoreciendo el metabolismo microbiano.

Cuando se añadió N al suelo (Cuadro 1), la actividad respiratoria microbiana se redujo en un 6% (P <

0,05) en relación al control (Figura 1 A, B, C). Por otra parte, Mamilov y Dilly (2002) verificaron un aumento del 150% en la actividad respiratoria, 10 días después de la incorporación de N en un suelo con paja de avena (Avena sativa L.). La adición de nutrientes limitantes al crecimiento microbiano, como es el N, generalmente promueve la mineralización de la MO debido a la disminución de la relación C/N. Sin embargo, dependiendo del estadio en que se encuentra la descomposición y del estatus del N en el suelo, la adición de N puede tener un efecto estimulante o supresor de la actividad

microbiana. Con la adición de N al suelo, Sampaio y Salcedo (1982) verificaron una reducción en la liberación de CO₂, tanto procedente de la mineralización de la paja de maíz (*Zea mays* L.) agregada al suelo como el del suelo, y un aumento de la incorporación de C de la paja en la biomasa microbiana. Las concentraciones de N disponible inferiores al 1,2% de la materia seca de la paja del trigo redujo significativamente la tasa de mineralización y el crecimiento de la biomasa microbiana total, debido a la reducción del contenido de N mineral del suelo (Henriksen y Breland, 1999).

Confirmando los resultados de Stamatiadis *et al.* (1999) y Rezende *et al.* (2004), la actividad respiratoria encontrada en este estudio se redujo significativamente después del tercer día de incubación (Figura 1), debido a la disminución de las fuentes de carbono agregadas o presentes en el suelo y del aumento de compuestos recalcitrantes (Neely *et al.*, 1991).

Las actividades de la CM-celulasa y de la CMC-celulasa aumentaron entre el día 7 y 14 de incubación del suelo y después disminuyeron (Figuras 2 y 3). Estos resultados pueden ser un indi-

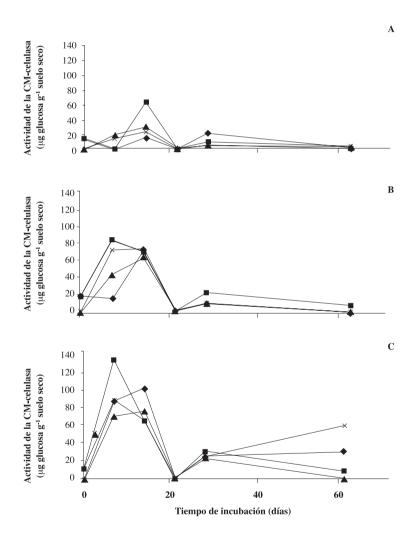


Figura 2. Actividad de la CM-celulasa (CM, celulosa microcristalina) del suelo adicionado con (A) 0,0 %, (B) 0,5 % y (C) 1,0 % de paja de caña de azúcar. ♦ Con viñaza, con N; ■ Con viñaza, sin N; ▲ Sin viñaza, con N; x Sin viñaza, sin N.

Figure 2. CM-cellulase (CM, cellulose microcrystalline) activity of the soil with (A) 0,0 %, (B) 0,5 % and (C) 1,0 % of sugar cane (Saccharum officinarum L.) straw added. ◆With vinasse, with N; ■ With vinasse, without N; ▲ Without vinasse, with N; x Without vinasse, without N.

cador de la acción sinérgica de estas enzimas en la degradación de la celulosa (Deng y Tabatabai, 1994), lo que puede ser confirmado por el coeficiente de correlación positivo obtenido entre la actividad de la CM-celulasa y de la CMC-celulasa (r=0.52***) (***, P<0.001). Además, la correlación positiva obtenida entre la actividad respiratoria y las actividades de la CM-celulasa (r=0.24***) y de CMC-celulasa (r=0.60***) sugiere que la producción de estas enzimas se deriva del crecimiento microbiano.

La actividad celulolítica observada al inicio en este trabajo también fue encontrada por Romero et al. (1999), quienes verificaron mayor actividad de la endoglucanasa (CMC-celulasa) después de 100 h de incubación del hongo Neurospora crassa en medio conteniendo paja de maíz como fuente de carbono. Normalmente, al principio del proceso de descomposición, las enzimas celulolíticas aumentan la actividad y después disminuyen con la reducción de la concentración del substrato; es decir, cuando la celulosa se va descomponiendo y los

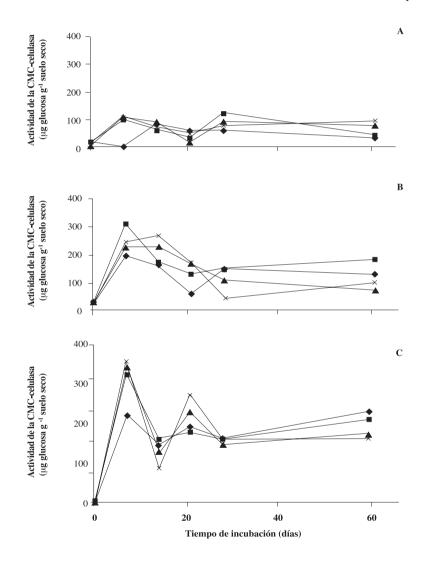


Figura 3. Actividad de la CMC-celulasa (CMC, carboximetilcelulosa) del suelo adicionado con (A) 0,0 %, (B) 0,5 % (B) y (C) 1,0 % de paja de caña de azúcar. ◆ Con viñaza, con N; ■ Con viñaza, sin N; ▲ Sin viñaza, con N; x Sin viñaza, sin N.

Figure 3. CMC-cellulase (CMC, carboxymethylcellulose) activity of the soil with (A) 0,0 %, (B) 0,5 % and (C) 1,0 % of sugar cane (*Saccharum officinarum* L.) straw added. ♦ With vinasse, with N; ■ With vinasse, without N; ▲ Without vinasse, with N; x Without vinasse, without N.

productos de la reacción van siendo usados por los microorganismos, la actividad enzimática tiende a disminuir (Kourtev *et al.*, 2002). Es posible que la disminución de la actividad de las celulasas también ocurra por la acción de proteasas del suelo (Criquet, 2002) o por el efecto represor de los productos de la degradación de la celulosa, como celobiosa, ciclodextrinas y glucosa (Warren, 1996), porque las celulasas son enzimas que sufren represión catabólica.

El aumento de la actividad respiratoria encontrada después del 21º día de incubación (Figura 1) puede ser explicada por la absorción de los productos de la degradación enzimática por la comunidad de microorganismos presente en el suelo.

El aumento proporcionado por la adición de 0,5 y 1,0% de paja en la actividad de la CM-celulasa fue de 18 y 54%, y de la CMC-celulasa fue de 25 y 18%, respectivamente, en relación al control (Cuadro 1). Se encontró un menor efecto de la concentración de paja sobre la actividad de CMC-celulasa comparado con la CM-celulasa (Figuras 2 y 3). Romero et al. (1999) verificaron que concentraciones superiores al 2% de paja de trigo fueron inhibitorias del crecimiento de Neurospora crassa. Sampaio y Salcedo (1982) encontraron un mayor incremento de la biomasa microbiana con 0,3% de paja de maíz que con 0,6%. Los resultados obtenidos en este trabajo pueden ser una indicación de una mayor inhibición

de la CMC-celulasa que la CM-celulasa por los productos de la hidrólisis, disminuyendo la disponibilidad de substratos para el crecimiento microbiano. Este efecto inhibitorio puede explicar por qué la adición de viñaza fue significativa solamente sobre la actividad de la CM-celulasa, obteniéndose un aumento de 24% de la actividad en comparación con el suelo sin viñaza (Cuadro1).

CONCLUSIONES

Este trabajo mostró la relación de dependencia de los microorganismos con respecto a la fuente de carbono en suelo adicionado con paja de caña de azúcar y de viñaza, aumentando la producción de CO₂ y las actividades de la CM-celulasa y de la CMC-celulasa. Puede suponerse que esta práctica, normalmente adoptada por los agricultores que cultivan caña de azúcar, favorezca la mineralización del carbono orgánico y propicie fuentes de energía y de carbono asimilable, necesarios para las transformaciones microbianas de los otros nutrientes en el suelo, aumentando la producción agrícola.

RECONOCIMIENTOS

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) y al Conselho Nacional de Pesquisas de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) por la concesión de becas para Luciana Terumi Sanomiya y Ely Nahas, respectivamente.

LITERATURA CITADA

- Abramo Filho, J. 1995. Decomposição da palha da canade-açúcar colhida sem queima, mecanicamente. 91 p. Mestrado em Ciências Biológicas. Universidade Estadual Paulista, Inst. Biociências, Rio Claro, São Paulo, Brasil.
- Béguin, P., and J.P. Aubert. 2000. Cellulases. p. 744-758. *In J. Lederberg (ed.) Encyclopedia of microbiology.* Academic Press, San Diego, California, USA.
- Boopathy, R., T. Beary, and P.J. Templet. 2001. Microbial decomposition of post-harvest sugarcane residue. Bioresour. Technol. 79:29-33.
- Criquet, S. 2002. Measurement and characterization of cellulase activity in sclerophyllous forest litter. J. Microbiol. Methods 50:165-173.
- Deng, S.P., and M.A. Tabatabai. 1994. Cellulase activity of soils. Soil Biol. Biochem. 26:1347-1354.

- Entry, J.A., N.M. Stark, and H. Loewenstein. 1987. Timber harvesting: effects on degradation of cellulose and lignin. For. Ecol. Manage. 22:79-88.
- Henriksen, T.M., and T.A. Breland. 1999. Nitrogen availability effects on carbon mineralization, fungal and bacterial growth, and enzyme activities during decomposition of wheat straw in soil. Soil Biol. Biochem. 32:1121-1134.
- IBGE. 2004. Estatísticas agropecuárias. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). Disponible en http://www.ibge.gov.br/home/ estatistica/indicadores/agropecuaria Leído en 13 de julho de 2004.
- Kanazawa, S., and K.A. Miyashita. 1986. Modified method for determination of cellulase activity in forest soil. Soil Sci. Plant Nutr. 32:71-79.

- Kourtev, P.S., J.G. Ehrenfeld, and W.Z. Huang. 2002. Enzyme activities during litter decomposition of two exotic and two native plant species in hardwood forests of New Jersey. Soil Biol. Biochem. 34:1207-1218.
- Mamilov, A.S., and O.M. Dilly. 2002. Soil microbial ecophysiology as affected by short-term variations in environmental conditions. Soil Biol. Biochem. 34:1283-1290.
- Mendonza, H.N.S., E. Lima, L.H.C. Anjos, L.A. Silva, M.B. Ceddia, e M.V.M. Antunes. 2000. Propriedades químicas e biológicas de solo de tabuleiro cultivado com cana de açúcar com e sem queima da palhada. Rev. Bras. Cienc. Solo 24:201-207.
- Nahas, E., D.A. Banzatto, and L.C. Assis. 1990. Fluorapatite solubilization by *Aspergillus niger* in vinasse medium. Soil. Biol. Biochem. 22:1097-1101.
- Neely, C.L., M.H. Beare, W.L. Hargrove, and D.C. Coleman. 1991. Relationship between fungal and bacterial substrate-induced respiration, biomass and plant residue decomposition. Soil Biol. Biochem. 23:947-954.
- Oliveira, M.W., P.C.O. Trivelin, G.J.C. Gava, e C.P. Penatti. 1999. Degradação da palhada da cana-deaçúcar. Sci. Agric. (Piracicaba, SP) 56:803-809.
- Powlson, D.S., P.C. Brookes, and B.T. Christensen. 1987. Measurement of soil microbial provides an early indication of changes in total soil organic matter due to straw incorporation. Soil Biol. Biochem. 19:159-164.

- Recous, S., D. Robin, D. Darwis, and B. Mary. 1995. Soil inorganic N availability: effect on maize residue decomposition. Soil Biol. Biochem. 27:1529-1538.
- Rezende, L.A., L.C. Assis, and E. Nahas. 2004. Carbon, nitrogen and phosphorus mineralization in two soils amended with distillery yeast. Bioresour. Technol. 94:159-167.
- Romero, M.D., J. Aguado, L. González, and M. Ladero. 1999. Cellulase production by *Neurospora crassa* on wheat straw. Enzyme Microb. Technol. 25:244-250.
- Sampaio, E.V.S.B., e I.H. Salcedo. 1982. Efeito da adição de nitrogênio e palha-(14C) na liberação de CO₂ e formação de biomassa microbiana em latossolo vermelho-amarelo. Rev. Bras. Cienc. Solo 6:177-181.
- Sanomiya, L.T., e E. Nahas. 2003. Microorganismos produtores de hidrolases envolvidos nas transformações dos compostos do carbono e do nitrogênio do solo. Rev. Ciência Rural 33:835-842.
- SAS Institute. 1990. Statistical Analysis System, SAS/ STAT users guide (Version 6). 3rd ed. 705 p. SAS Institute, Cary, North Carolina, USA.
- Stamatiadis, S., M. Werner, and M. Buchanan. 1999. Field assessment of soil quality as affected by compost and fertilizer application in a broccoli field (San Benito County, California). Appl. Soil Ecol. 12:217-225.
- Warren, R.A.J. 1996. Microbial hydrolysis of polysaccharides. Ann. Rev. Microbiol. 50:183-212.