



LUCAS LENIN RESENDE DE ASSIS

**CARACTERIZAÇÃO DAS COMUNIDADES DE BACTÉRIAS
RESPONSÁVEIS PELA BIODEGRADAÇÃO DE RESÍDUOS
ORGÂNICOS NO PROCESSO DE COMPOSTAGEM**

LAVRAS – MG

2019

LUCAS LENIN RESENDE DE ASSIS

**CARACTERIZAÇÃO DAS COMUNIDADES DE BACTÉRIAS RESPONSÁVEIS
PELA BIODEGRADAÇÃO DE RESÍDUOS ORGÂNICOS NO PROCESSO DE
COMPOSTAGEM**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do programa de Pós-graduação em Agronomia/Fitotecnia, área de concentração em Produção Vegetal, para a obtenção do título de Mestre.

Prof.^a Dr.^a Joyce Dória Rodrigues Soares

Orientadora

Prof.^a Dr.^a Tsai Sui Mui

Coorientadora

LAVRAS - MG

2019

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

Assis, Lucas Lenin Resende de.

Caracterização das comunidades de bactérias responsáveis pela
biodegradação de resíduos orgânicos no processo de
compostagem / Lucas Lenin Resende de Assis. - 2019.

83 p. : il.

Orientador(a): Joyce Dória Rodrigues Soares.

Coorientador(a): Tsai Sui Mui.

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de
Lavras, 2019.

Bibliografia.

1. Agricultura Orgânica. 2. Inoculantes. 3. Microrganismos
Eficientes - EMs. I. Soares, Joyce Dória Rodrigues. II. Mui, Tsai
Sui. III. Título.

LUCAS LENIN RESENDE DE ASSIS

**CARACTERIZAÇÃO DAS COMUNIDADES DE BACTÉRIAS RESPONSÁVEIS
PELA BIODEGRADAÇÃO DE RESÍDUOS ORGÂNICOS NO PROCESSO DE
COMPOSTAGEM**

**CHARACTERIZATION OF BACTERIAL COMMUNITIES RESPONSIBLE FOR
BIODEGRADING ORGANIC WASTE IN COMPOSTING PROCESS**

Dissertação de mestrado apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do programa de Pós-graduação em Agronomia/Fitotecnia, área de concentração em Produção Vegetal, para a obtenção do título de Mestre.

APROVADO em 19 em fevereiro de 2019.

Dr. Teotonio de Carvalho UFLA

Dr. Lucas William Mendes CENA

Prof.^a Dr.^a Joyce Dória Rodrigues Soares

Orientadora

Prof.^a Dr.^a Tsai Sui Mui

Coorientadora

LAVRAS - MG

2019

À minha filha Luísa Pinheiro, meu irmão Mateus.

Meus pais, Imaculada e Osvaldo, meus avós e ao meu companheiro Juliano.

Dedico!

AGRADECIMENTOS

Ao meu irmão Mateus, pela amizade, sonhos idealizados juntos e momentos de alegria quando por perto e meus pais, que mesmo de longe sempre me apoiam e incentivam seguir com meus estudos.

A minha filha, por me compreender e ser o motivo para seguir em frente e ao Juliano, pelo carinho e fazer parte de mais uma etapa decisiva em minha vida colaborando para esta conquista.

À professora Dra. Joyce, pela orientação, incentivo, amizade e confiança nesses dois anos e à professora Dra. Tsai pela coorientação, ótima recepção, oportunidade, disponibilidade e sugestões que contribuíram para a melhoria do trabalho.

À Neliane pelo carinho, força e compreensão, à Suelen pela caminhada juntos e suporte mútuo, ambas pelas contribuições; tia Rita, tia Virgínia, tio João Duarte e minha madrinha Dulcilene pelo apoio e palavras de encorajamento.

À Universidade Federal de Lavras, pelo espaço cedido dos Departamentos de Biodiesel e Laboratório de Microbiologia Agrícola, em especial, ao Pedrão e da Rosane Schwan, respectivamente. Ao Centro de Energia Nuclear na Agricultura, e aqueles que me acompanharam e contribuíram para esse trabalho.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

Meus sinceros agradecimentos!

*“La normalidad es un camino pavimentado:
es cómodo para caminar, pero nunca crecerán flores en él.”*

Vincent Van Gogh

RESUMO

O Brasil é um dos maiores exportadores de alimentos do mundo e a agricultura é uma das principais bases da sua economia. Ainda assim, os grandes gargalos que se fazem presente são a taxa de desperdício, o volume de resíduo orgânico gerado e seu tratamento adequado. Visto o grande problema em questão, percebemos a importância de se reduzir a geração de resíduos na origem como primeira alternativa, e não sendo possível, buscar alternativas como a compostagem para alcançar a sustentabilidade. A degradação desse material é normalmente realizada por processos biológicos e por isso se faz importante os estudos quanto a microbiota presente no processo de compostagem, assim como a influência físico-química presente ao longo do tempo. O trabalho objetiva caracterizar o processo de compostagem quanto aos parâmetros microbiológicos e físico-químicos para a produção de um composto de qualidade que possa ser reutilizado e que amenize um problema que é o acúmulo indevido de resíduos. Conhecer e estudar sua biodiversidade nos diferentes tratamentos: comercial e não comercial, assim como isolar, caracterizar e identificar esses microrganismos. Além de verificar a otimização do tempo de processo da compostagem entre os tratamentos. Em um primeiro momento abordaremos o assunto com um referencial teórico mensurando os principais pontos e as informações mais relevantes a respeito da técnica, no que tange principalmente a realidade de Minas Gerais, quanto as usinas de compostagem e em seguida apresentaremos o experimento conduzido no departamento de Biodiesel da Universidade Federal de Lavras em estufa, sob condições controladas de temperatura, irrigação e aeração, e as posteriores análises físico-químicas e microbiológicas realizadas no Departamento de Microbiologia Agrícola. Foi utilizado como matéria prima, resíduos alimentares do restaurante universitário e resíduos de jardinagem, oriundo do paisagismo do campus. As amostras coletadas em triplicata nos tempos 0, 5, 10, 20, 40, 60, 90 e 120 dias, de acordo com as mudanças de fase para realização de contagem, isolamento e identificação de microrganismos através da diluição seriada até a 10^{-8} . Os isolados foram caracterizados morfológicamente, purificados e submetidos a testes bioquímicos afim de serem agrupados e testados quanto a oito atividades enzimáticas, a saber: lignolítica, celulolítica, amilolítica, pectinolítica, proteolítica, lipolítica, amonificação e solubilização de fosfato. Foram obtidos 83 isolados de microrganismos mesofílicos que apresentaram Índice Enzimático – IE > 2 para atividades pectinolítica, proteolítica e principalmente celulítica. Esses microrganismos, em condições ideais, se estabelecem no meio e possuem um papel importante na decomposição da matéria-prima. Os resultados não apresentaram diferença significativa entre tratamentos não comercial, comercial e controle, com variações pequenas em relação aos parâmetros físico-químicos e microbiológicos. Foram observados isolados dos inóculos persistentes ao longo do processo de compostagem que se apresentaram termotolerantes no início do processo. Paralelamente, os tratamentos foram também testados quanto à fitotoxicidade, seguindo o protocolo de teste germinativo, com culturas de alface (*Lactuca sativa*) e berinjela (*Solanum melongena*). O Índice Germinativo foi maior para alface, quando utilizado o tratamento comercial a concentrações de 50%. Utilizando o tratamento ambiental, o índice para berinjela foi maior. Em relação as maiores concentrações dos tratamentos inoculados, o índice de indução foi decrescente em sementes de berinjela, o mesmo não ocorreu com o controle.

Palavras-chave: Agricultura Orgânica. Inoculantes. Microrganismos Eficientes.

ABSTRACT

Brazil is one of the largest exporters of food in the world, and agriculture is one of the main bases of its economy. Still, the major bottlenecks that are presented are the rate of waste, the volume of organic waste generated, and its proper treatment. Considering the great problem in question, we realized the importance of reducing waste generation as a first alternative, and, if it is not possible, seek alternatives, such as composting, to achieve sustainability. The degradation of this material is usually carried out by biological processes and, because of that, the studies for microbiota presented in the composting process is important, as well as the physical-chemical influence present over time. The objective of this work is to characterize the composting process in terms of microbiological and physico-chemical parameters for the production of a quality compound that can be reused, and that can soften the undue accumulation of residues problem; to know and study its biodiversity in the different treatments: commercial and non commercial, as well as to isolate, characterize and locate these microorganisms, and to verify the optimization of the composting process among treatments. In a first moment, we will approach the subject with a theoretical reference, measuring the main points and the most relevant information about the technique, in what mainly concerns the reality of Minas Gerais, as well as the composting plants, and then we will present the experiment conducted in the Biodiesel Department of the Federal University of Lavras in a greenhouse, under controlled conditions of temperature, irrigation and aeration, and the subsequent physical-chemical and microbiological analyzes carried out in the Department of Agricultural Microbiology. As raw material, it was used food waste from the university restaurant and the garden waste, from the campus landscaping. The samples were collected in triplicate at 0, 5, 10, 20, 40, 60, 90 and 120 days, according to the phase changes for counting, isolation and identification of microorganisms, by 10^{-8} serial dilution. The isolates were morphologically characterized, purified and submitted to biochemical tests in order to be grouped and tested for the eight enzymatic activities: lignolytic, cellulolytic, amylolytic, pectinolytic, proteolytic, lipolytic, ammonification and phosphate solubilization. 83 mesophilic microorganisms were gotten and they presented Index Enzymatic Index - IE > 2 for pectinolytic, proteolytic and mainly cellulite activities. These microorganisms, in ideal conditions, settle in the field and play an important role in the decomposition of the raw material. The results showed no significant difference between non-commercial, commercial and control treatments, with small variations in relation to physical-chemical and microbiological parameters. Persistent inoculums of isolates were observed throughout the composting process, which were thermotolerant at the beginning of the process. In parallel, the treatments were also tested for phytotoxicity, following the germinative test protocol, with lettuce (*Lactuca sativa*) and eggplant (*Solanum melongena*). The Germination Index was higher for lettuce, when 50% commercial treatment was used. When using the environmental treatment, the index for eggplant was higher. In relation to the highest concentrations of the inoculated treatments, the induction index was decreasing in eggplant seeds; the same did not occur with the control.

Keywords: Organic Agriculture. Inoculants. Efficient Microorganisms.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 01	Mapa de disposição final de Resíduos Sólidos Urbanos (RSU) no estado de Minas Gerais	19
Figura 02	Gráfico de produção acadêmica-científica que contempla compostagem ao longo do tempo	21
Figura 03	Mudança de temperatura em três pilhas de composto. Detalhe para a evolução da temperatura na fase bio-oxidativa	24
Figura 04	Representação gráfica das células de alvenaria para compostagem; células onde foram conduzidas o experimento	38
Figura 05	Mapa mostrando a localização dos 8 pontos de coleta para obtenção do inóculo ambiental realizado na UFLA	39
Figura 06	Processo de obtenção e ativação do inóculo ambiental. Procedimentos para preparo do arroz; aspecto do arroz contendo os MA's antes da ativação; ativação dos MA's em caldo de cana-de-açúcar	40
Figura 07	Mudanças na temperatura (C°) dos três tratamentos e da temperatura ambiente (T. ref.) durante o processo de compostagem por 120 dias	46
Figura 08	Gráfico de quantificação microbiológica para o tratamento controle ao longo do tempo	52
Figura 09	Gráfico de quantificação microbiológica para o tratamento comercial ao longo do tempo	53
Figura 10	Gráfico de quantificação microbiológica para o tratamento ambiental ao longo do tempo	53
Figura 11	Testes bioquímicos para caracterização de microrganismos. Coloração de gram, oxidase e motilidade	55
Figura 12	Placas com meio de cultura específico utilizados para o teste de atividade enzimática	55
Figura 13	Dendograma de agrupamento de isolados segundo o Maldi-Tof e localização dos principais isolados identificados	57
Figura 14	Isolados obtidos e testados quanto a atividade enzimática	59

LISTA DE TABELAS

Tabela 01	Tipologia de Destinação dos Resíduos Sólidos Urbanos entre 2013 e 2017 no estado de Minas Gerais	20
Tabela 02	Principais problemas, causas e soluções durante o processo de compostagem	22
Tabela 03	Composição de alguns materiais empregados na compostagem (material seco a 110°C)	28
Tabela 04	Caracterização inicial dos resíduos	38
Tabela 05	Amostras coletadas durante o processo de compostagem e fase temporal	41
Tabela 06	Descrição dos meios de cultura utilizados para determinarmos as respectivas atividades enzimáticas	43
Tabela 06	Amostras coletadas e parâmetros físico-químicos avaliados durante o processo de compostagem	48
Tabela 07	Análise química do composto no início do experimento, com 60 e 120 dias	50
Tabela 08	Microrganismos persistentes isolados da compostagem nas diferentes fases, de acordo com a sua similaridade morfológica	58
Tabela 09	Índice germinativo para a cultura do alface e da berinjela nas seguintes concentrações	60
Tabela 10	Taxa de Crescimento Relativo da Radícula – RRC nas diferentes concentrações para alface e berinjela	61

LISTA DE ABREVIACOES

AAF – Autorização Ambiental de Funcionamento
AS – Aterro Sanitário
AN – Agar-Nutriente (meio de cultura)
BAL – Bactérias do cido Láctico
CaCl₂ – Cloreto de cálcio
CMC – Carboximetilcelulose
CO – Controle
CTC – Capacidade de Troca Catinica
EM's – Microrganismos Eficientes
GI - ndice de Germinação
GYC – Glucose Yest CaCO₃
IE – ndice Enzimático
IR - Inibidor de Crescimento
K – Potássio
KCl – Cloreto de potássio
KNO₃ – Nitrato de potássio
MA – Microrganismos Ambientais (Microrganismos Eficientes)
NaCl – Cloreto de sódio
K₂HPO₄ - Fosfato de potássio dibásico
MgSO₄H₂O – Sulfato de Magnésio monohidratado
CaCO₃ – Carbonato de Calcio
FeSO₄.7H₂O – Sulfato de ferro heptahidratado
MO – Matéria Orgânica
MRS – Man, Rogosa e Shape
NaOH – Cloreto de sódio
PCR – Reação em Cadeia Polimerase
P – Fósforo
RSG - Germinação Relativa de Sementes
RRC - Crescimento Relativo da Radícula
RU – Restaurante Universitário
SG - Sementes Germinadas
YPD – Yeast extrato, Peptona e Dextrose

LISTA DE SIGLAS

BDMG - Banco de Desenvolvimento de Minas Gerais

BLAST - Basic Local Alignment Search Tool

CAPES – Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior

CENA – Centro de Estudos em Energia Nuclear

CONAMA - Conselho Nacional do Meio Ambiente

COPAM – Conselho Estadual de Política Ambiental de Minas Gerais

COPASA – Companhia de Saneamento de Minas Gerais

DNA – Ácido Desoxirribonucleico

EM – Microrganismos Eficientes (ou Ambientais)

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

FEAM – Fundação Estadual do Meio Ambiente

GESOIS - Instituto de Gestão de Políticas Sociais

HPLC – Cromatografia líquida de alta Eficiência (*High performance liquid chromatography*)

MA – Microrganismos Ambientais (ou Eficientes)

MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

OSCIP - Organização da Sociedade Civil de Interesse Público

PCR – Reação em Cadeia da Polimerase

PIB – Produto Interno Bruto

PNRS - Política Nacional de Resíduos Sólidos

RSU – Resíduos Sólidos Urbanos

Rio+20 - Conferência das Nações Unidas ocorrida no Rio de Janeiro em 2012

SEMAD - Secretaria de Estado de Meio Ambiente e Desenvolvimento Sustentável

UFLA – Universidade Federal de Lavras

UFV – Universidade Federal de Viçosa

UTC - Unidades de Triagem e Compostagem

LISTA DE SÍMBOLOS

B – Boro

C – Carbono

°C – graus celsius

C/N – relação carbono e nitrogênio

cmol/dm³ – centimol por decímetro cúbico

CO₂ – Gás carbônico

Cu – Cobre

g/l – grama por litro

m³ – metro cúbico

Na - sódio

N - nitrogênio

pH – Potencial hidrogeniônico

S – Enxofre

Sp. - espécie

Log UFC/g – Unidade Formadora de Colônia logarítmica por grama

W/V – peso/volume (Weight/Volume)

Zn – zinco

μl - microlitro

> - maior que

< - menor que

% - por cento; por cem

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	16
1.1	REFERENCIAL TEÓRICO.....	19
1.1.1	A compostagem	22
1.1.2	Etapas da compostagem.....	25
1.1.3	Parâmetros físico-químicos	27
1.1.4	Inoculantes biológicos e aditivos químicos	31
1.1.5	Vantagens dos compostos orgânicos no solo.....	32
1.1.6	Procariotos	33
1.1.7	Atividade Enzimática.....	34
1.1.8	Identificação de microrganismos.....	38
1.1.9	Ensaio de fitotoxicidade.....	39
1.2	MATERIAL E MÉTODOS.....	39
1.2.1	Processo de compostagem	39
1.2.2	Preparo e ativação dos inóculos: Ambiental e comercial	41
1.2.3	Coleta e preparo das amostras	43
1.2.4	Análises físico-químicas	43
1.2.5	Análises biológicas	44
1.2.6	Análise Enzimática	45
1.2.7	Agrupamento dos isolados por MALDI-TOF	46
1.2.8	Teste de Fitotoxicidade.....	46
1.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	47
1.3.1	Físico-químicos.....	47
1.3.2	Coleção de isolados	53
1.3.3	Teste de germinação	63
1.4	CONCLUSÃO.....	64
1.5	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	66
1.6	ANEXOS	76
1.6.1	ANEXO I.....	76
1.6.2	ANEXO II.....	80

1 INTRODUÇÃO

Devido ao crescimento populacional e industrial a partir da década de 60, no mundo e no Brasil, gerou-se uma grande demanda de recursos naturais. O resultado desses processos produtivos aliados ao consumo mais intenso, ocasionou elevada produção de resíduos. Com consequente falta de espaço em aterros e regulamentos ambientais mais rigorosos para novos aterros sanitários e incineradores, aumentaram as taxas de eliminação de resíduos em vários locais (VOBERKOVA et al., 2016), sendo esses muitas vezes impróprios. Esse modo de produção, o uso dos produtos que resultam dessa transformação e a geração de resíduos, decorrentes tanto dos processos produtivos quanto do consumo geram enorme descompasso entre o tempo que a natureza leva para manter o equilíbrio em relação aos impactos gerados pela sociedade (KIBLER et al., 2018). Portanto, um dos caminhos para a solução dos problemas relacionados com os resíduos sólidos orgânicos é a gestão e o gerenciamento destes, que consiste em ações relacionadas ao controle da geração, armazenamento, coleta, transporte, processamento e disposição de resíduos sólidos de maneira que esteja de acordo com as melhores condições de saúde pública, economia, engenharia e conservação dos recursos naturais (PROIETTI et al., 2016). Um dos grandes problemas da nossa civilização, atualmente, é a banalização de assuntos que devem ser questionados como a destinação do nosso “lixo”. Bauman (1999) sustenta a ideia de que o preço do silêncio é pago na dura moeda corrente do sofrimento humano e completa dizendo: “Questionar as premissas supostamente inquestionáveis do nosso modo de vida é provavelmente o serviço mais urgente que devemos prestar aos nossos companheiros humanos e a nós mesmos”.

Com a Conferência das Nações Unidas sobre Sustentabilidade, a Rio+20, o desenvolvimento sustentável seguiu em pauta e o plano de Gestão de Resíduos Sólidos baseado na política nacional (Lei nº12.305/10), procurou instituir um modelo de gestão, no qual o Estado de Minas Gerais tem como estrutura. Em Minas Gerais, junto as ações da Fundação Estadual do Meio Ambiente – FEAM, busca-se fomentar atividades administrativas locais e regionais para otimizar a gestão de Resíduos Sólidos Urbanos – RSU antepondo a redução na geração de resíduos, o reaproveitamento, reciclagem, tratamento desses resíduos e correta disposição final dos mesmos.

O destino final dos resíduos sólidos tem recebido uma atenção especial em vários países. Desde 1960, as Usinas de Triagem e Compostagem – UTC no Brasil são consideradas uma opção para a destinação adequada dos resíduos sólidos, principalmente quando levamos em

conta o grande número de municípios que apresentam um menor porte e conseqüente geração de resíduos em menor quantidade. Essa preocupação envolve várias responsabilidades que se interagem entre si nos seus diferentes papéis: agentes de coleta; condições de trabalho (pagamentos, promoção, condições adequadas de trabalho), recursos disponíveis e destinados a tarefa de coleta, locais apropriados e adequado para destinação do resíduo, competência dos responsáveis e o tratamento propriamente dito a esses resíduos. O tratamento do resíduo urbano descartado pode consistir na separação da fração orgânica de materiais inertes e recicláveis, como vidro, papel, papelão e plástico principalmente.

Para mitigação dos problemas gerados pela produção e mau escalonamento de alimentos, alternativas práticas para o aproveitamento desses resíduos vem sendo desenvolvidas e aprimoradas. Uma técnica bastante explorada em outros países e de grande potencial no Brasil, um país de clima tropical, é a transformação desse resíduo em um material que possa ser reaproveitado, a essa técnica dá-se o nome de compostagem.

A compostagem é uma técnica utilizada para redução e reaproveitamento do resíduo sólido orgânico por um processo biológico em que microrganismos transformam a matéria orgânica (folhas, resto de comida, casca de vegetal, etc.) em um material semelhante ao solo, que é denominado composto, e que pode ser utilizado como adubo. Esse processo ao mesmo tempo que melhora a estrutura e aduba o solo, pode reduzir a presença de plantas daninhas e microrganismos, como fungos, que possam prejudicar as plantas, reduzindo assim a utilização de produtos químicos (SINGH et al, 2011). É necessário reduzir a quantidade significativa de descarte de resíduos alimentares em aterros, área licenciada por órgãos ambientais, destinadas a receber os resíduos sólidos urbanos, porque o assentamento desses tem aumentado em muitos municípios do estado de Minas Gerais. Por estas razões, a disposição direta de resíduos alimentares devem ser desviados do aterro para sua utilização mediante a técnica da compostagem, como alternativa à destinação desses resíduos. Com isso, somamos a outras técnicas no objetivo de amenizar os impactos causados pela destinação incorreta de resíduos orgânicos, evitando assim o proliferação de animais, controle de microrganismos fitopatogênicos e redução do volume de material.

Quais os principais fatores devemos levar em consideração para que ocorra a compostagem adequadamente? A inoculação de microrganismos influencia de fato no processo? Sem apresentar dados estatísticos em relação a biodiversidade de microrganismos de maneira isolada e em experimentos pontuais, se faz necessário, fazer um compilado de vários trabalhos desenvolvidos utilizando de sistemas e parâmetros distintos. Isso de forma que

possamos extrair informações relevantes e úteis a serem aplicados com a técnica em questão, quando analisados em conjuntos.

Em um segundo momento é apresentado o experimento conduzido dentro da Universidade Federal de Lavras - UFLA no setor de Biodiesel, em que utilizamos como matéria-prima resíduo orgânico oriundo do Restaurante Universitário - RU e resíduo vegetal do paisagismo, sem qualquer tratamento prévio, em parceria com o laboratório de Microbiologia Agrícola e o Centro de Estudos em Energia Nuclear – CENA em Piracicaba, São Paulo.

O objetivo deste trabalho foi destacar os recentes avanços do processo de compostagem no que se refere ao uso de microrganismos, em especial, procariotos. Conhecer e estudar sua biodiversidade em diferentes tratamentos: inóculo comercial e não comercial, assim como isolar, caracterizar e identificar esses microrganismos. Averiguar sua aplicação quanto ao potencial biotecnológico, podendo ser utilizado pela indústria para diversas finalidades. Aferir a ausência de toxicidade em relação ao uso do composto estabilizado na agricultura. Além de verificar a otimização do tempo de processo da compostagem entre os tratamentos e viabilidade econômica, por consequência do uso de inoculantes não-comerciais.

1.1 REFERENCIAL TEÓRICO

O Brasil se destaca na produção agrícola, um setor que têm grande participação no Produto Interno Bruto (PIB). Segundo a projeção do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA, a taxa anual média de crescimento da produção de lavouras entre os anos de 2017 e 2027 deverá ser de 29,8%. Com as novas tecnologias e modernização do campo voltada para a produção de alimentos, os sistemas agrícolas e agropecuários têm crescido para suprir a necessidade da população. Esse avanço agrícola e industrial também tem gerado grande quantidade e variedade de resíduos, causando sérios problemas ambientais (ROSSOL et al., 2012). Ademais, uma grande quantidade de resíduos orgânicos é gerada anualmente pela agricultura para a produção de alimento, mas principalmente durante o preparo das nossas refeições (KIBLER et al., 2018). Essas projeções elevam seus números consideravelmente, tendo em vista também o crescimento populacional e a demanda por alimentos.

Um método adequado para a reciclagem de resíduos orgânicos, através da decomposição por meio de microrganismos e controle adequado de alguns parâmetros tais como: temperatura, pH, condutividade elétrica e umidade. Útil como substrato a ser reincorporado ao sistema. Entretanto, ainda exige a busca por pilares que permitam um processo projetado para usar grandes quantidades de resíduos (TATÀNO et al., 2015; TSAVKELOVA et al., 2018). A fração orgânica pode ser destinada a compostagem, tendo como produto final um resíduo orgânico humificado com potencial de utilização na agricultura (GABHANE et al., 2012).

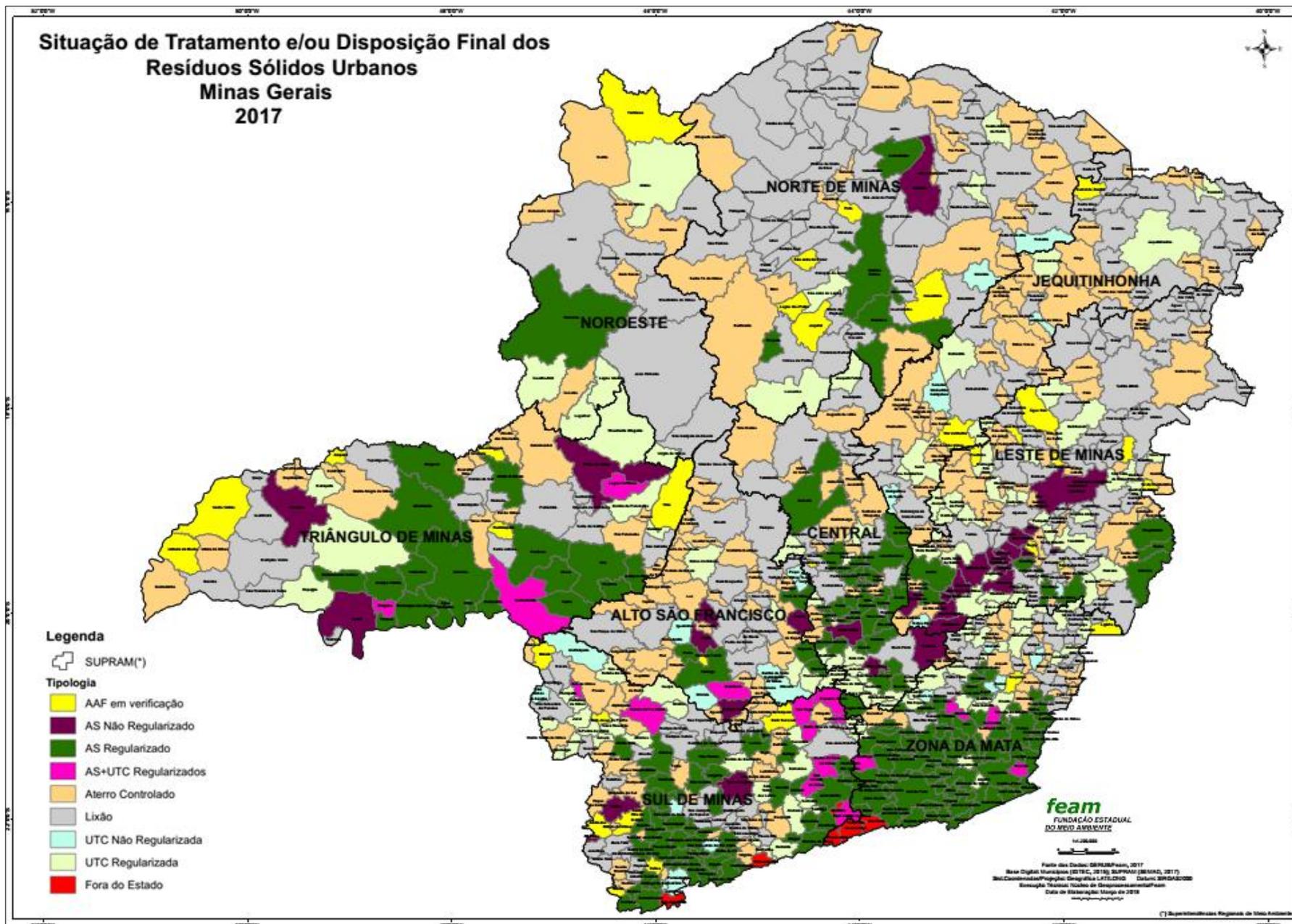
Segundo a lei nº 12.305, que institui a Política Nacional de Resíduos Sólidos - PNRS, estabelece a implantação de um sistema de compostagem para resíduos orgânicos sólidos, integrado a um plano municipal de gestão desses materiais. Em 1997, o governo de Minas Gerais projetou o “Minas Joga limpo”, um programa destinado aos municípios com até 20.000 habitantes com o intuito de instaurar alternativas para os problemas de saneamento, dentre eles, os resíduos sólidos urbanos e teve como parceiro a Secretaria de Estado de Meio Ambiente e Desenvolvimento Sustentável – SEMAD, a Fundação Estadual de Meio Ambiente - FEAM, o Banco de Desenvolvimento de Minas Gerais – BDMG, a Companhia de Saneamento de Minas Gerais - COPASA e a Universidade Federal de Viçosa – UFV, segundo a FEAM.

Em 2001, o Conselho Estadual de Política Ambiental de Minas Gerais (COPAM) lançou a Deliberação Normativa 52/2001, deixando claro uma política de erradicação dos lixões no estado. Em 2009, foi publicado a POLÍTICA ESTADUAL DE RESÍDUOS SÓLIDOS (LEI

18.031), que define a Gestão Integrada dos Resíduos Sólidos Urbanos, como conjunto articulado de ações políticas, normativas, operacionais, financeiras, de educação ambiental e de planejamento desenvolvidas e aplicadas aos processos de geração, segregação, coleta, manuseio, acondicionamento, entre outras ações. Grandes quantidades de resíduos sólidos urbanos, e principalmente orgânicos são produzidas na sociedade moderna e sua disposição representa graves questões ambientais, sociais e econômicas (VOBEKOVA et al., 2017). Em outros países como os da União Europeia tem-se uma gestão de resíduos sólidos baseada num sistema hierárquico integrado com prevenção de resíduos como a mais alta prioridade.

Mais recentemente, a resolução CONAMA n° 481, de 03 de outubro de 2017, estabelece critérios e procedimentos para assegurar o controle e a qualidade ambiental do processo de compostagem, dos quais resíduos orgânicos *in natura* ou após passarem por algum procedimento podem ser compostados. Essa resolução também permite a adição de lodos de estação de tratamento de esgoto sanitário, por exemplo, mediante autorização prévia do órgão competente. Segundo o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA, o dimensionamento do processo de compostagem deve ser realizado de forma que o produto final esteja dentro dos limites estabelecidos e possuam características exigidas pela legislação brasileira para fertilizantes orgânicos.

No país, existem demandas recorrentes quanto às pesquisas que buscam entender a evolução físico-química e biológicas que ocorrem e substâncias voláteis produzidas durante o processo de compostagem (JURADO et al., 2014b; LÓPEZ-GONZALEZ et al., 2015). A partir de maio de 2018, a FEAM dispõe de novo Termo de Parceria, formalizado com a instituição também Organização da Sociedade Civil de Interesse Público (OSCIP) – Instituto de Gestão de Políticas Sociais - GESOIS, que objetiva dar apoio às ações desenvolvidas pela Fundação junto aos municípios mineiros para otimização das alternativas para gestão dos seus resíduos sólidos urbanos. Dados recentes mostram como é a atual conjuntura no estado de Minas Gerais (Figura 01):



Legenda: Mapa de disposição final de Resíduos Sólidos Urbanos (RSU) no estado de Minas Gerais, onde observamos: as AAF em verificação (amarelo); AS não regularizada (roxo), AS regularizados (verde); AS+UTC regularizados (rosa); Aterro Controlado (creme); Lixão (cinza); UTC não regularizada (azul claro) e regularizada (branco), e algumas fora do estado (vermelho). **Fonte:** FEAM

1.1.1 A compostagem

A preocupação com o desenvolvimento sustentável, juntamente com a gestão dos resíduos orgânicos, representa a possibilidade de garantir mudanças sociopolíticas que não comprometam os sistemas ecológicos e sociais nos quais sustentam as comunidades. É cada vez mais notória a complexidade desse processo de transformação de um cenário urbano não só crescentemente ameaçado, mas diretamente afetado por riscos e agravos socioambientais (JACOBI, 2003; SPADOTTO E RIBEIRO, 2006). O descarte tradicional de resíduos orgânicos, de origem animal e vegetal, envolve incineração ou deposição em aterros sanitários, o que reduz a eficiência do uso do solo e causa problemas ambientais (GABHANE et al., 2012), propagação de maus cheiros e incêndios, transmissão de doenças, além de um resultado visual negativo (FERNANDEZ et al., 2015).

A preocupação com o desenvolvimento sustentável, juntamente com a gestão dos resíduos orgânicos, representa a possibilidade de garantir mudanças sociopolíticas que não comprometam os sistemas ecológicos e sociais nos quais sustentam as comunidades. É cada vez mais notória a complexidade desse processo de transformação de um cenário urbano não só crescentemente ameaçado, mas diretamente afetado por riscos e agravos socioambientais (JACOBI, 2003; SPADOTTO E RIBEIRO, 2006). O descarte tradicional de resíduos orgânicos, de origem animal e vegetal, envolve incineração ou deposição em aterros sanitários (Tabela 01), o que reduz a eficiência do uso do solo e causa problemas ambientais (GABHANE et al., 2012), propagação de maus cheiros e incêndios, transmissão de doenças, além de um resultado visual negativo (FERNANDEZ et al., 2015). Como já foi mencionado, a compostagem é um processo microbiológico, que ocorre de maneira mais eficiente quando alguns parâmetros mais

Tabela 01 - Tipologia de Destinação dos Resíduos Sólidos Urbanos (RSU) entre 2013 e 2017.

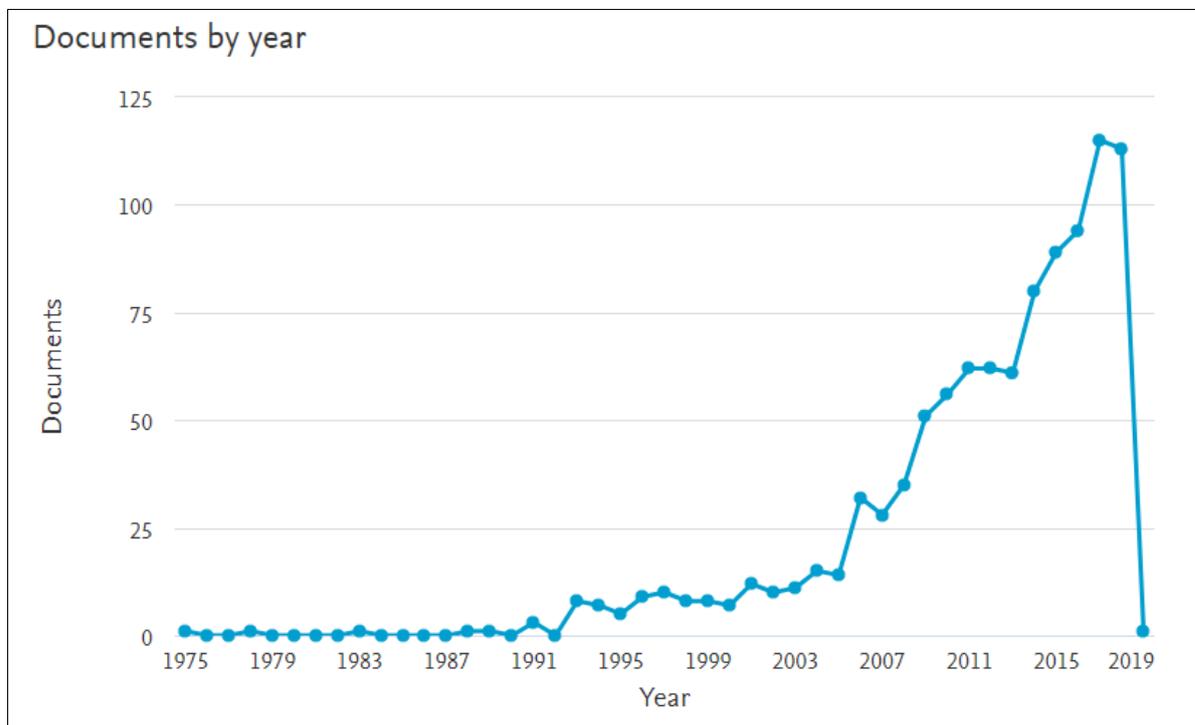
Tipologia de Destinação de RSU	2013		2014		2015		2016		2017	
	Nº de municípios	Pop. urbana (IBGE 2010)	Nº de municípios	Pop. urbana (IBGE 2010)	Nº de municípios	Pop. urbana (IBGE 2010)	Nº de municípios	Pop. urbana (IBGE 2010)	Nº de municípios	Pop. urbana (IBGE 2016)
Lixão	264	22,81%	264	21,94%	246	18,62%	241	18,95%	223	17,81%
Aterro Sanitário	101	51,27%	80	47,58%	134	51,40%	155	51,60%	197	53,34%
Aterro Sanitário não Regularizado	13	1,70%	45	7,41%	23	7,76%	29	8,85%	31	9,66%
Aterro Sanitário + UTC	4	0,99%	5	1,06%	11	1,12%	15	1,24%	18	0,83%
UTC	128	4,68%	123	4,68%	106	3,42%	115	3,71%	125	4,63%
UTC Não Regularizada	27	0,78%	34	1,00%	36	1,75%	35	1,66%	24	0,89%
Aterro Controlado	280	15,57%	278	15,58%	252	14,16%	226	12,76%	196	11,57%
Fora de MG	3	0,05%	3	0,05%	13	0,46%	6	0,19%	6	0,17%
AAF's em verificação	33	2,15%	21	0,71%	32	1,31%	31	1,05%	33	1,11%
Somatório	853	100%								

Fonte: FEAM.

importantes são controlados e conduzidos de maneira que favoreça essa microbiota a atuar degradando a matéria-prima.

Por definição, é um processo biológico, aeróbico e passível de controle, onde ocorre a transformação da matéria orgânica em húmus inteiramente por ação microbiológica. Recentemente, o interesse por estudos que envolvam esse processo se tornou maior, como mostra o gráfico (Figura 02), atrelado a diferentes maneiras de condução da técnica e culminando em estratégias para otimização do tempo.

Figura 02 - Gráfico de produção acadêmica-científica que contempla compostagem, ao longo do tempo.



Fonte: Scopus, 2019.

A compostagem quando conduzida de maneira correta e sob condições adequadas reduz o volume do resíduo e gera um adubo de alta qualidade (Tabela 02). Para obtermos um bom resultado se faz necessário mantermos uma temperatura adequada, umidade em torno de 40%, pH equilibrado e alto teor de minerais para que torne o ambiente favorável a microrganismos responsáveis pelo processo de decomposição (RAWOTEEA et al., 2017). Os parâmetros utilizados são indicadores quanto à condução do processo e podem ser acompanhados por meio de várias técnicas, caso contrário, acarretará alguns prejuízos em relação a qualidade do produto final.

Tabela 02 - Principais problemas, causas e soluções durante o processo de compostagem.

Problemas	Causas	Solução
Temperatura baixas	Falta de nitrogênio	Adicionar material rico em N
	Umidade baixa	Revolver e molhar
Odor desagradável	Falta de oxigênio (compactação)	Revolver
	Falta de oxigênio (encharcamento)	Revolver
	Umidade de excesso	Revolver e adicionar material seco e poroso
Moscas e demais animais	Matéria-prima utilizada e/ou manejo	Revolver
Cheiro de amônia	Geração de chorume	Revolver
	Relação C/N imprópria	Correção da relação C/N

Os principais objetivos do processo de compostagem, de acordo com EPSTEIN (1997), são: a) decomposição de matéria orgânica potencialmente putrescível em um estado estável e produzir um material que pode ser usado para melhorar o solo; b) decomposição de resíduos em produtos benéficos, podendo ser economicamente favorável e ambientalmente mais aceitável quando comparado a outros métodos de tratamento de resíduos; e c) desinfetar resíduos orgânicos infestados com patógenos, para que possam ser utilizados de maneira segura.

A compostagem, uma prática agroecológica, é importante nos sistemas agrícolas de produção devido a sua capacidade de integrar as atividades, além de otimizar a ciclagem da matéria orgânica (ECHEVERRÍA et al., 2011; SUNADA et al., 2015). Na agricultura, da forma como ela é praticada, ocorre um empobrecimento do solo que quando não há reposição, reduz os índices de produtividade gradativamente. Entre outros, os métodos biológicos aerados, como a compostagem, são de particular interesse por sua simplicidade operacional e capacidade de converter o resíduo orgânico descartado de maneira inadequada em fertilizante de alta qualidade, rica em matéria orgânica estabilizada e nutrientes para plantas (ALTIERI E ESPOSITO, 2008; CHENNAOUI et al., 2016).

1.1.2 Etapas da compostagem

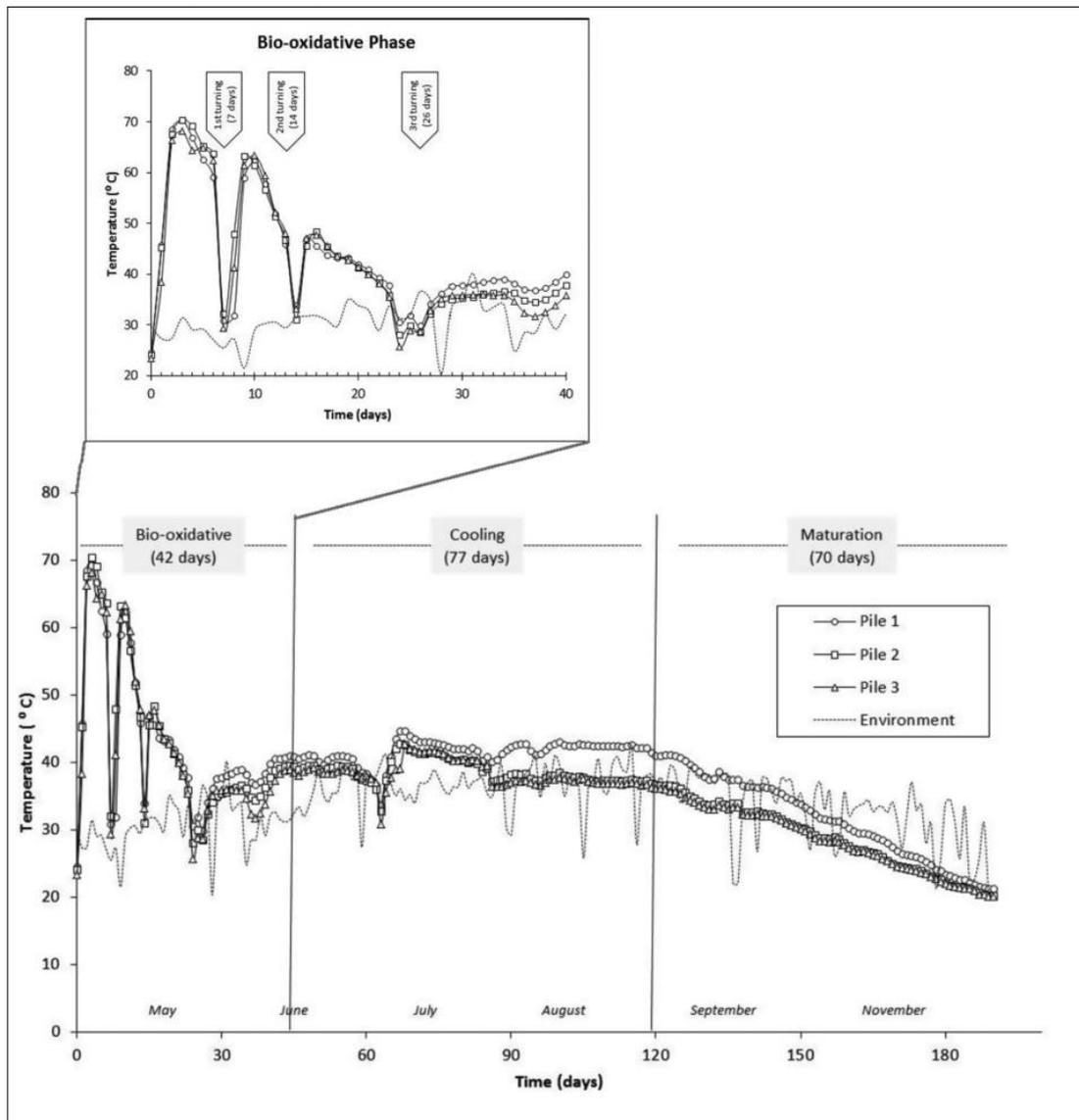
A geração de calor é consequência das atividades metabólicas microbianas e impulsionam as mudanças físico-químicas drásticas da matéria orgânica em produtos finais de biomassa, CO₂ e húmus e que resultará, no final do processo, em uma mistura complexa e rica em húmus (FEDERICI et al., 2011). Durante esse processo, várias enzimas são liberadas por microrganismos durante a evolução cronológica desse composto até a maturação. A população termotolerante e termofílica domina o fase intermediária, produzindo enzimas responsáveis pela degradação de compostos orgânicos complexos e a temperatura aumenta ainda mais (LIMAYE et al., 2017).

A temperatura constitui um dos principais indicadores de eficiência do processo de compostagem (VALENTE et al., 2009), variando de 23°C até 70°C durante todo o processo (Figura 03). Pode ser influenciada pelas características da matéria-prima, sistema utilizado, umidade e controle operacional. O processo se divide em quatro principais etapas, a saber: 1) mesofílica, fase de aquecimento, 2) termofílica, bio-oxidativa, 3) resfriamento e 4) maturação (LÓPEZ-GONZALEZ et al., 2015). A primeira etapa é conduzida por microrganismos mesofílicos, que atuam na decomposição de componentes rapidamente degradáveis da matéria orgânica. Esses são responsáveis pelo aumento da temperatura, próximas da ambiente, até em torno de 45°C, devido ao metabolismo exotérmico, durante a oxidação da matéria orgânica.

Com esse aumento de temperatura a microbiota mesofílica é suprimida e dá espaço para a segunda etapa, propriamente dita (VALENTE et al., 2009). Comumente denominada termofílica, a etapa apresenta temperaturas entre 50°C e 65°C e ocorre durante aproximadamente 40 dias. A segunda fase é o estágio na qual a matéria atinge a humificação e produção do composto curado. Nessa etapa ocorre a degradação ativa da matéria orgânica, presença de bactérias que degradam lipídios; actinobactérias e fungos que contribuem na degradação da celulose e lignina, transformando-as em substâncias húmicas, que caracterizam o composto. Essa é de grande importância para que diminua o número de possíveis microrganismos patogênicos do resíduo orgânico (ORRICO et al., 2018), como plantas espontâneas, ovos de parasitas e insetos. Temperatura acima de 65°C deve ser evitada, pois causam a eliminação de microrganismos mineralizadores e atuantes na degradação dos resíduos. A fase de resfriamento, terceira fase, ocorre com aproximadamente 70 dias em que as temperaturas atingem valores inferior a 45°C (LÓPEZ-GONZALEZ et al., 2015) e dá início a

última fase, a de maturação do composto, quando as temperaturas se estabilizam e são controladas abaixo de 40°C durante 30 a 60 dias, a depender das condições ambientais.

Figura 03 - Mudança de temperatura em três pilhas de composto. Detalhe para a evolução da temperatura na fase bio-oxidativa.



Fonte: López-Gonzalez, 2015.

O produto da compostagem, húmus, é composto de matéria orgânica mineralizada e resistente à decomposição pelos microrganismos. No solo, vão sendo lentamente decompostas pelos microrganismos e liberando nutrientes que são utilizados pelas raízes das plantas, ao contrário de adubos sintéticos. Outra importante contribuição é a formação de pequenos grânulos que ajudam na retenção e drenagem da água e melhoram a aeração do solo. Entretanto, quando se aplica um composto que não alcançou a maturidade, pode ocorrer a mineralização

do nitrogênio, gerar mau cheiro e inibir a germinação de sementes. A toxicidade de um composto, geralmente está relacionado à sua concentração (YOUNG et al., 2016).

A fase de maturação de um composto é o período de estabilização que produz um composto livre de toxicidade. Alguns fatores nos indicam se um composto está maduro e pronto para utilizar ou não, por exemplo, valores baixos de pH indicam que o processo não chegou ao fim (CERRI et al., 2008). A utilização de plantas sensíveis em testes biológicos informa sobre o potencial fitotóxico do fertilizante (ASSIS et al., 2017), no nosso caso, composto utilizado para mesma finalidade. A fitotoxicidade é uma indicação de que o fertilizante não se encontra suficientemente curado ou que contém substâncias tóxicas e as plantas respondem alterando seu padrão de desenvolvimento (CERRI et al., 2008; MONDA et al., 2017). A maturação incompleta do material orgânico pode resultar em quantidades desproporcionais das frações de baixo peso molecular, a fração dos ácidos fúlvicos. Durante o processo de maturação, a matéria orgânica se complexa, e substâncias húmicas vão sendo sintetizadas (SPADOTTO E RIBEIRO, 2006). O composto deve ser incorporado ao solo trinta dias antes da instalação da cultura, tanto em culturas anuais, como perenes. No caso de culturas perenes instaladas (como a do café e das frutíferas), esse adubo orgânico deverá ser enterrado formando uma coroa ao redor das plantas (CERRI et al., 2008).

O produto final é diretamente afetado por fatores ambientais e forma geométrica das leiras ou pilhas de compostagem. O composto deve apresentar ao final do processo uma textura mais homogênea possível (SPADOTTO E RIBEIRO, 2006). Quando possível é feita a trituração do material orgânico em fragmentos de até 3 cm, antes de ser compostado, de forma a aumentar a qualidade do produto final, pois melhora a distribuição de temperatura e menor perda de calor da pilha.

1.1.3 Parâmetros físico-químicos

As análises físico-químicas, no controle do processo, são de grande relevância principalmente por serem parâmetros de qualidade em relação à estabilização do mesmo. Um composto não estabilizado pode reduzir o teor de oxigênio no solo, imobilizar o nitrogênio, apresentar cheiro desagradável e até mesmo inibir a germinação de sementes (FERNANDEZ et al., 2015). No entanto, a compostagem tradicional também tem algumas desvantagens, como o longo período de tempo e a perda substancial de nitrogênio (N), reduzindo a eficiência da compostagem, e também a disponibilidade de nutrientes (RICH et al., 2018).

Dentre os fatores principais que determinam as características do produto final, como a temperatura, devemos considerar também a matéria-prima, umidade, pH, condutividade elétrica, relação C/N, concentração de sais e concentração de nutrientes. De maneira geral, resíduos de origem orgânica são descartados de modo inadequado ou reutilizados sem muito critério. O reaproveitamento desses resíduos oriundos do processo produtivo na agricultura, na pecuária, agroindústria e da urbanização são formas de garantir o desenvolvimento socioeconômico do país de maneira mais sustentável (SPADOTTO E RIBEIRO, 2006). As misturas e uso de resíduos exercem influência sobre a composição química do produto final. Pode-se citar ainda: lodos das estações de tratamento de efluentes (ABREU-JUNIOR et al., 2015), restos culturais, sobras de alimentos, palha de cana-de-açúcar, cultura em que o Brasil se destaca, entre outros, que quando aplicado diretamente ao solo pode implicar em perdas de nutrientes, danos fisiológicos às plantas, entre outros fatores negativos (ABREU-JUNIOR et al., 2015). A matéria orgânica é a principal fonte de B dos solos às plantas, por exemplo, um micronutriente importante na formação da parede celular, intervém na absorção de cátions como o Ca, florescimento e processo de frutificação (FAQUIN, 2015). O composto, em certas situações pode ser a melhor escolha, como fonte de M.O. humificada, tornando o solo mais arável, assegurando a conservação da umidade e protegendo-o da evaporação, frio e calor. Portanto, solos arenosos e com baixos teores de matéria orgânica e a ocorrência de fatores que diminuem a sua mineralização, predispõem as culturas à carência do micronutriente (FAQUIN, 2015).

Em grande quantidade, a irrigação pode tornar o meio anaeróbico, produção de chorume, percolação de nutrientes, emitir odores desagradáveis e, portanto atrair animais indesejáveis e vetores de doenças (CERRI et al., 2008). Por outro lado, quando o fornecimento de irrigação é reduzido, a velocidade de decomposição será menor, ou seja, o tempo para obter um produto final estabilizado será maior e sua qualidade pode não ser tão boa. A umidade deve ser mantida entre 40% e 60%, pois quando em valores menores a velocidade do processo de decomposição é bastante reduzida e quando acima a pilha fica muito encharcada a ponto de gerar uma condição de anaerobiose (VALENTE et al., 2009), devido ao preenchimento dos espaços vazios (porosidade) do material.

Aeração é discutida por vários autores (INFORSATO E PORTO, 2016; JURADO et al., 2014b; LÓPEZ-GONZÁLEZ et al., 2015; ABREU-JUNIOR et al., 2015); os quais sugerem que ela favoreça a oxigenação, secagem e redução em volume do material a ser compostado, a partir do fornecimento de O₂ para atividade microbológica (energia), remoção da umidade da

massa em compostagem e remoção do calor, diminuindo a temperatura da massa (PASSOS, 2014). Durante todo o processo de compostagem, além de fornecer condições favoráveis à atividade microbiana, ocorre a remoção de gás carbônico, água e calor, resultando em redução do volume final do composto em relação à quantidade de resíduos utilizados na mistura inicial.

Passos (2014) afirma também que a presença de oxigênio confere elevação da temperatura e aceleração do processo. Na primeira etapa da compostagem, como os materiais estão sobrepostos, ocorre a compactação natural, provocando a expulsão do oxigênio existente entre as camadas. Consequentemente, as temperaturas tendem a ser mais baixas, devido ao processo aeróbico dos microrganismos.

A condutividade elétrica tende a diminuir com a compostagem. Logo, a incorporação de compostos orgânicos mal amadurecidos ao solo aumenta a concentração de sais no solo e a sua condutividade elétrica (C.E.) devido à salinidade do composto. Ao final do processo de maturação a condutividade elétrica não deve ultrapassar $4000 \mu\text{s.m}^{-1}$, pois no decorrer do processo a fração mineral aumenta, enquanto a presença de sais diminui. A disposição de lodo de esgoto, composto de lixo e vinhaça, entre outros resíduos orgânicos, pode aumentar a condutividade elétrica devido aos altos teores de sais nos resíduos (ABREU-JUNIOR, 2015).

O pH, no início do processo apresenta valores mais ácidos, em torno de 5,0, devido à formação de ácidos orgânicos ou acúmulo de ácidos intermediários, indicando também, falta de maturação no processo ou ocorrência de anaerobiose no interior da pilha (KIEHL, 2004). Após os primeiros dias, o pH se eleva, à medida que os ácidos são metabolizados, alcançando pH em torno de 7,5 a 9,0, ao fim do processo. Durante o processo, pode haver a adição de calcário para elevação do pH, mas este aumento pode ocasionar a volatilização do nitrogênio na forma de amoníaco, gerando odores desagradáveis (COLOMBO, 2016).

A matéria orgânica do solo está formado por compostos geralmente incolores e que são exclusivos do solo. A maioria dessas substâncias são compostos simples, de baixo peso molecular, utilizado geralmente pelos microrganismos como substrato e necessita sua reposição ao solo, esse que é complexo e dinâmico (MOREIRA et al., 2006). Entre esses compostos se encontram proteínas e aminoácidos, carboidratos simples e complexos, resinas, ligninas, álcool, auxinas, aldeídos e ácidos aromáticos e alifáticos, componentes em maiores ou menores escalas em um composto pronto. Esses compostos constituem aproximadamente, de 10 a 15% da reserva total do carbono orgânico nos solos minerais (GABHANE, 2012).

Os microrganismos variam quanto a suas exigências, fatores de crescimento e a capacidade de utilizarem diferentes substratos que compõem os alimentos. E para sua

multiplicação é necessário que estejam disponíveis: água, vitaminas, sais minerais, nitrogênio, e o carbono, que é fonte de energia para que ocorra a respiração e atividade microbiana e representa 50% da massa celular dos microrganismos (VALENTE et al., 2009). A relação C/N considerada ideal no processo de compostagem é 30/1, considerando-se aceitáveis os limites de 25/1 e 35/1 (EPSTEIN, 1997), para proporcionar a intensificação da atividade microbiana e diminuição no tempo de compostagem. Essa proporção (Tabela 03), está relacionada com a transformação do resíduo orgânico em adubo e a regulação dos microrganismos que atuam na decomposição.

O valor C/N de cada resíduo pode ser feito por análise em laboratório, ou ainda pela equação:

$$PMRC = \frac{(30 \cdot Nn) - Cn}{Cc - (30 - Nc)}$$

Onde, PMRC é a Parte do Material Rico em Carbono; Nn é o teor do material rico em nitrogênio; Cn, o teor de carbono do material rico em nitrogênio; Cc, o teor de carbono do material rico em carbono e Nc, o teor de nitrogênio do material rico em carbono.

Assim, quando obtiver uma alta relação C/N, será possível o retardamento do processo, já que os microrganismos não serão capazes de digerir todo carbono presente; e no caso de baixo C/N, ocorre anaerobiose, pois o oxigênio é consumido rapidamente (GOMES, 2011). O nitrogênio é essencial para a composição das proteínas, que representam metade da biomassa microbiana e importante para o crescimento da célula de microrganismos heterotróficos, envolvidos no processo (VALENTE et al., 2009).

Tabela 03 - Composição de alguns materiais empregados na compostagem (material seco a 110°C).

Material	M.O	C/N	C (g/kg)	N (g/kg)	P ₂ O ₅ (g/kg)	K ₂ O (g/kg)
Capim-colonião	910,3	27/1	504,9	18,7	5,3	-
Borra de café	867,9	25/1	477,5	19,1	1,7	0,2
Esterco de gado	621,1	18/1	345,6	19,2	10,1	16,2
Esterco de galinha	540	10/1	304	30,4	47	18,9
Feijão guandu	959	29/1	524,9	18,1	5,9	11,4
Gramma batatais	908	36/1	500,4	13,9	3,6	-
Serragem de madeira	934,5	300/1	519,2	0,6	0,1	0,1

Fonte: (Kiehl, 1985) adaptada.

A concentração de nutrientes no composto varia com a diversificação dos resíduos orgânicos, e conseqüente população e intensidade da atividade microbiana. Os microrganismos, conhecidos como autotróficos são capazes de obter carbono a partir da síntese do CO₂, como principal ou única fonte de carbono. Durante a compostagem, alguns componentes da matéria orgânica são utilizados pelos próprios microrganismos para formação de seus tecidos, outros são volatilizados ou são transformados biologicamente em uma substância escura, uniforme e de aspecto amorfa, rica em partículas coloidais, com propriedades físicas, químicas e físico-químicas inteiramente diferentes da matéria-prima original (GOMES, 2011).

Ainda, no início da decomposição ocorre à formação de ácidos orgânicos e a incorporação de carbono orgânico ao protoplasma celular microbiano, o que torna o meio mais ácido em relação ao inicial (VALENTE et al., 2009), e posteriormente retoma a pH mais alcalino. Isso ocorre principalmente devido à grande presença de microrganismos mesófilos que elevam a temperatura até 40°C aproximadamente e, em decorrência de sua atividade, convertem C orgânico na forma de CO₂ para a atmosfera (VALENTE et al., 2009).

1.1.4 Inoculantes biológicos e aditivos químicos

Com o intuito de acelerar o processo de compostagem, obter um composto rico em nutrientes e livres de agentes patogênicos ou ainda sementes de plantas espontâneas, é comum o uso de inoculantes biológicos e aditivos químicos favoráveis (SILVA et al., 2017). Os inoculantes, geralmente são uma mistura de diferentes microrganismos presentes em esterco de animais ou ainda microrganismos isolados, tais como bactérias, actinobactérias e fungos que possuem alta capacidade de degradação de compostos (KARNCHANAWONG E NISSAIKLA, 2014). Os aditivos utilizados variam com a disponibilidade na propriedade, desde cinzas de carvão, cinzas de madeira, farinha de osso, esterco de animais, nutrientes minerais, ou formas prontamente disponíveis de carbono, enzimas e compostos que equilibram o pH (GABHANE et al., 2012). Em condições de umidade adequada, temperatura, relação C/N suficientes e aeração, o tempo para obter um composto pode ser reduzido.

A própria natureza tem a capacidade de manter o seu sistema estável e em equilíbrio. Isso com a ajuda das plantas, animais e todos os demais organismos que a compõem. Os microrganismos ambientais, ditos eficientes ou ainda indígenas, nada mais são que microrganismos nativos encontrados em mata, locais com serrapilheira, processos fermentativos não controlados, solos férteis e em plantas, a saber: leveduras, actinobactérias, bactérias produtoras de ácido lático e fotossintéticas (BONFIM, 2011), e que geralmente são

responsáveis pela decomposição da matéria orgânica e proteção das plantas à enfermidades. Descoberto pelo professor Teruo Higa, da Faculdade de Agronomia da Universidade de Ryukyus, Japão, o EM, como é mais conhecido, é o resultado do cultivo composto de microrganismos anaeróbicos, aeróbios, e de outras dezenas de microrganismos de diferentes atuações (os principais são as bactérias produtoras de ácido lático, actinobactérias, as leveduras, as bactérias fotossintéticas e fungos).

A maioria dos bioinoculantes produzidos atualmente consiste em estirpes microbianas fermentadas ou cultivadas separadamente gerando o produto final com inóculos puros (CALVO et al., 2014). Microrganismos Ambientais (MA), como são chamados nesse trabalho, é uma coleção de microrganismos com alto potencial de biodegradação e compostagem encontrados na serapilheira, em matas. São compostos por um coquetel de microrganismos que auxiliam no processo de decomposição e são ativados com alguma fonte de energia, como melaço ou açúcar, em água desclorada. Os inoculantes são geralmente misturas contendo microrganismos, nutrientes minerais ou formas prontamente disponíveis de carbono e enzimas, que balanceiam o pH promovendo o aumento da atividade microbiana quando o produto está em contato com os resíduos (PATLE, 2014). A eficiência desses inoculantes não está bem elucidada, ainda que haja vários produtos comerciais que possam ser utilizados no processo de tratamento de resíduos sólidos orgânicos.

1.1.5 Vantagens dos compostos orgânicos no solo

A preocupação com o desenvolvimento sustentável representa a possibilidade de garantir mudanças sócio-políticas que não comprometam os sistemas ecológicos e sociais nos quais se sustentam as comunidades (JACOBI, 2003). A compostagem é ambientalmente segura, e entre as principais vantagens está: a redução da quantidade de lixo nos aterros e lixões, evita as queimadas que poluem o ar, menores riscos de contaminação de rios por lixiviação, dentre outros. Além do mais, o uso do composto auxilia na agregação do solo melhorando a sua estrutura e pode reduzir a necessidade do uso de herbicidas e pesticidas, eliminando também os possíveis patógenos, melhorando a saúde do solo (CARON et al., 2015).

São vários os benefícios oferecidos pelo composto: Enriquece a terra em nutrientes disponibilizando-os para as plantas de maneira lenta; melhora a drenagem nos solos argilosos e a retenção da água nos solos arenosos; ajuda na aeração e na habilidade de reter água, pois aumenta a capacidade de infiltração de água; e melhor condicionamento do solo, reduzindo assim a erosão. Com isso realiza uma “adubação de disponibilidade controlada”, ou seja,

permite que os vegetais retirem os nutrientes que precisam de acordo com suas necessidades, ao longo de um tempo maior (VICENTINI et al., 2009).

Aproveitamento agrícola da matéria orgânica não é feito apenas pelo agricultor, mas também pela microbiota do solo. O número de minhocas, insetos e microrganismos desejáveis é aumentado, devido à presença de matéria orgânica, o que reduz a incidência de doenças de plantas e também dificulta ou impede a germinação de sementes de plantas espontâneas (CERRI, 2008).

1.1.6 Procariotos

A presença de bactérias e outros organismos no solo se faz muito importante para o equilíbrio e resiliência do sistema como um todo, por meio de relações simbióticas e antagônicas, na produção de enzimas e degradação em nutrientes assimiláveis pelas plantas (MORENO et al., 2013). Na compostagem, de maneira análoga, a comunidade microbiana presente em resíduos orgânicos geralmente executa o processo de decomposição satisfatoriamente, estabilizando resíduos orgânicos através da degradação de componentes biodegradáveis sob condições adequadas. É um processo biológico e aeróbico que envolve microrganismos e vem ganhando destaque na agricultura sustentável e ética pela praticidade e demanda de poucos recursos para sua prática, capaz assim de melhorar a eficiência do uso de nutrientes e a qualidade do produto final.

As actinobactérias é um grupo de microrganismos gram-positivos com alto teor de G+C (Guanina + Citosina), em torno de até 70% do total de nucleotídeos, que compõem o filo (BREED et al., 1957). Exibem uma grande variedade de morfologias, como cocóide (*Micrococcus*) ou cocobacilo (por exemplo, *Arthrobacter*), ocorre fragmentação de hifas (por exemplo, *Nocardia* spp.) e podem ser altamente diferenciadas em micélio ramificado (por exemplo, *Streptomyces* spp.). Também, exibem diversas propriedades fisiológicas e metabólicas, tais como a produção de enzimas extracelulares e a formação de uma ampla variedade de metabólitos secundários (AZUMA, 2011). São amplamente distribuídos em ecossistemas naturais, desenvolvem micélios aéreos e são cultiváveis em meios sólidos, representando grande parte da população de microrganismos que vivem no solo (MINOTTO, 2014). Durante o processo de compostagem esse grupo é de grande importância na degradação de materiais compostos principalmente por celulose e lignocelulose, quando em pH neutro. E sua característica de formação de esporos fazem com que esses microrganismos permaneçam ao longo do processo, ainda que em temperaturas mais elevadas. Algumas cepas podem

constituir um risco respiratório para trabalhadores que operam no manejo da compostagem (OLIVEIRA, 2013), inclusive durante o revolvimento, quando esse for o caso.

As bactérias lácticas estão compreendidas pela ordem Lactobacillales (Reino Bacteria; Filo Firmicutes; Classe Bacilli). Essa ordem é, por sua vez, subdividida em 6 Famílias: Aerococcaceae, Carnobacteriaceae, Enterococcaceae, Lactobacillaceae, Leuconostocaceae e Streptococcaceae, compreendendo mais de 530 espécies e subespécies. Existem outros microrganismos gram positivos produtores de ácido láctico, mas pertencentes ao Filo Actinobacteria, os gêneros *Aerococcus*, *Microbacterium* e *Propionibacterium* (AZUMA, 2011).

As bactérias lácticas são essencialmente mesófilas, com algumas linhagens termófilas, sendo capazes de crescer num intervalo de temperaturas de 5 a 45°C. É um grupo heterogêneo, com cocos e bacilos, gram positivas, não formadoras de esporos, anaeróbias e aerotolerantes. Têm a capacidade de crescer a pH de 3,8 e são proteolíticas fastidiosas em relação a alguns aminoácidos. Produzem grande número de enzimas glicolíticas, lipolíticas e proteolíticas, que transformam os nutrientes fundamentais do leite e do queijo em compostos com propriedades sensoriais desejáveis (LIMA, 2009). Também produzem vários fatores antimicrobianos, incluindo ácidos orgânicos, peróxido de hidrogênio, nisinas, bacteriocinas, diacetilo e acetaldeído, que atuam favoravelmente nos produtos alimentares, fazendo parte dos microrganismos capazes de exercer efeitos benéficos ao hospedeiro (LIMA, 2009).

1.1.7 Atividade Enzimática

A degradação de materiais lignocelulósicos até monossacarídeos como a glicose não é um processo simples. Para melhorar a eficiência são utilizados alguns processos prévios para a abertura ou rompimento da fibra por meio de ataques físicos e químicos (INFORSATO E PORTO, 2016). As espécies que dominam o processo de compostagem liberam uma gama de enzimas hidrolíticas, em particular, celulasas, hemicelulasas, proteases, lipases, fosfatases e arilsulfatases (HE et al., 2013). As enzimas são moléculas de natureza proteica que catalisam as reações químicas e são dependentes de fatores como a temperatura e pH. Para cada tipo de enzima específica há uma temperatura ótima, na qual a velocidade da reação é máxima, permitindo que a desnaturação enzimática não ocorra. Uma vez que os compostos prontamente degradáveis serão esgotados, atividades enzimáticas microbiana decompõem materiais poliméricos, proporcionando mais compostos solúveis (LOPÉZ-GONZALEZ et al., 2014). Atualmente, a maioria das lignocelulasas comercialmente exploradas e os processos comerciais

de biodegradação dependem principalmente de microrganismos fúngicos ou bacterianos, enquanto as actinobactérias são relativamente menos explorados para o processo de biodegradação (Limaye, 2017).

A biodegradação de diferentes componentes poliméricos ocorre provavelmente de maneira simultânea ao longo do processo e não de maneira isolada, devido a multifuncionalidade da microbiota, segundo Lopéz-Gonzalez (2014). Os microrganismos são a principal fonte de produção de amilase, por exemplo, devido aos requisitos de crescimento, acessibilidade, eficiência, *eco-friendly* e custo-benefício, em comparação com outros recursos como animais e plantas (PAUL, 2016). As amilases degradam o substrato amido, um composto orgânico formado por amilose e amilopectina, que faz parte da composição da massa vegetal e da massa animal e, é decomposto por microrganismos no solo. Considerado a reserva vegetal, o amido é o composto orgânico mais importante, no que diz respeito ao armazenamento de energia (MINOTTO et al., 2014). As amilases estão entre as enzimas mais importantes e são de grande importância para a biotecnologia.

As celulasas são enzimas de estrutura complexa, responsáveis pela degradação de materiais celulósicos, promovendo sua hidrólise (CASTRO, 2010) e, no solo representa fração significativa de carbono orgânico. A celulose é formada da junção de milhares de moléculas de glicose e é o principal componente da parede celular em plantas, sendo um polissacarídeo altamente resistente e que confere rigidez à estrutura do vegetal. As lípases agem sobre os lipídeos e são utilizadas no tratamento de efluentes industriais com altos teores de matéria orgânica. Hemicelulasas são formadas por polímeros de hexoses, pentoses e ácidos urônicos, de forma linear ou ramificada. As pectinases formam um grupo de enzimas que degradam substâncias pécnicas, hidrolisando ligações glicosídicas ao longo da cadeia carbônica. Podem ser despolimerizantes ou desesterificantes e são produzidas por plantas, fungos filamentosos, bactérias e leveduras (UENOJO E PASTORE, 2007). As pectinases são usadas pelas indústrias de alimentos no amadurecimento de frutas e estão presentes em frutas cítricas, pera, pêssego e na maçã, principalmente.

O monitoramento desses microrganismos em sucessão é fundamental para o gerenciamento eficaz do processo de compostagem, taxa de biodegradação e qualidade do composto, uma vez que o aparecimento de alguns microrganismos reflete a maturidade do composto (CHAN, SELVAM & WONG, 2016). Alguns trabalhos sugerem como estratégia a inoculação com microrganismos externos, que poderia potencialmente melhorar a maneira

como se processa esses resíduos acelerando o período de compostagem devido a interação com os microrganismos, já ali preestabelecidos.

No início do processo, compostos orgânicos são facilmente disponíveis e relativamente abundantes, microrganismos são extraordinariamente ativos e crescem rapidamente. Além disso, vários isolados bacterianos foram encontrados por pesquisadores (INFORSATO E PORTO, 2016; JURADO et al., 2014a) exibindo uma ampla gama de capacidades metabólicas, tais como polímeros (lignocelulose, proteína, lipídios, pectina e amido) decomposição e solubilização de fosfato que podem encontrar muitas aplicações biotecnológicas.

Por outro lado, organismos patogênicos também são identificados como os gêneros *Listeria* e *Clostridium* que podem causar infecção alimentar e diarreia, respectivamente, geralmente eliminados com o aumento da temperatura (CHAN, SELVAM, & WONG, 2016; MORENO et al., 2013; QIAN et al., 2014). Por isso, se faz importante a condução, segundo critérios pré-estabelecidos como temperatura e uso de determinadas matérias primas, afim de não manter presentes esses microrganismos que possam vir a prejudicar a saúde humana.

Nos processos de compostagem em que há predominância de atividades bacterianas e aeróbicas, tanto a quantificação da taxa de consumo de oxigênio (O_2) como a taxa de geração de dióxido de carbono temporal (CO_2) podem ser realizadas em ambiente controlado (SCOTON, BATTISTELLE, BEZERRA, & AKUTSU, 2016), o contrário não pode acontecer em ambientes abertos, em que esse controle é feito com outras alternativas.

Quando em sistemas abertos, foi observado que a comunidade bacteriana foi muito afetada pela temperatura da pilha, mas subsequentemente se associaram aos diferentes tratamentos usados nos processos de compostagem (ZHONG et al., 2018). A microbiota tem sido tradicionalmente relacionada flutuações de temperatura dentro da pilha de compostagem. Essas alterações são cruciais para descrever atividade microbiana durante todo o processo e atingir a estabilidade do material (MORENO et al., 2013; LÓPEZ-GONZÁLEZ, 2015). Xie (2017) aponta que as estirpes do filo Proteobacteria exibiram forte tolerância à baixa temperatura e que é efetivo na degradação orgânica durante a compostagem a baixas temperaturas. Jurado (2014b) obteve em maioria, isolados procarióticos, firmicutes, seguido por Actinobacteria enquanto que apenas dois isolados pertenciam a Proteobacteria na fase final.

Há uma grande diversidade entre os materiais utilizados como base do composto, e mesmo à proporção (Carbono/Nitrogênio) foi muito variável, sendo de 10/1 no trabalho de Vázquez-Campos (2017) até valores mais altos 62/1 segundo Soares et al. (2017) em um dos seus tratamentos, o que influencia diretamente na presença ou não de alguns microrganismos

específicos. O carbono fornece a fonte de energia primária para o metabolismo microbiano, e o nitrogênio é crítico para o crescimento da população microbiana, alterando a biomassa microbiológica do composto.

Zhong (2018) em seu estudo observou que as comunidades bacterianas eram mais filogeneticamente diferentes entre as fases de sucessão do que entre os tratamentos, demonstrando dessa maneira a forte ligação da microbiota com a temperatura como afirma outros pesquisadores (AWASTHI et al., 2014; QIAN et al., 2014; ZHONG et al., 2018), apresentando uma rotatividade filogenética similar entre tratamentos.

Podemos observar a eficiência quando fazemos a prática de inoculação de bactérias como *Bacillus subtilis*, *Bacillus thuringiensis* (ZHAO et al., 2013); fungos como *Coprinopsis cinerea*, *Coprinopsis comatus*, *Trichoderma harzianum* e *Rhizopus oryzae* (ZHAO et al., 2013); *Pseudomonas fragi*, *Pseudomonas simiae*, *Clostridium vincentii*, *Pseudomonas jessenii* e *Iodobacter fluviatilis* (XIE et al., 2017) e cepas de bactérias degradadoras de celulose (WANG et al., 2014). Esses microrganismos depois de isolados, quando aplicados no composto apresentam alto potencial na decomposição (WANG et al., 2014) e degradação da matéria orgânica e liberação de calor conseqüentemente. Sucessivamente, com o aumento do calor o meio se torna favorável ao surgimento de actinobactérias, bactérias e outros fungos termófilos que degradam lipídeos, hemicelulose, celulose e lignina, sendo caracterizada desta forma, a fase de redução da massa e volume enleirados (SUNADA et al., 2015).

Nakasaki & Hirai (2017) ao inocular leveduras, *Pichia kudriavzevii* RB1 a uma temperatura constante de 40°C por um período de tempo até que se estabelecesse no meio, ocasionou a degradação de ácidos orgânicos antes encontrados na matéria prima e também daqueles produzidos durante o processo de decomposição do material. (TSAVKELOVA et al., 2018) obteve isolados de microrganismos principalmente Firmicutes (*Acetivibrio sp.*, *Herbinix sp.*, *Thermoanaerobacterium sp.*, *Tepidanaerobacter sp.*) isolados de sedimentos de lagoa, estrume de bovino e de zebra, confirmou-se a presença e, assim, o papel proeminente das bactérias sintróficas oxidantes do acetato em suas interações cooperativas com os metanogênicos hidrogenotróficos que fornecem um funcionamento estável e eficiente da comunidade microbiana.

Os microrganismos podem mineralizar completamente a matéria orgânica em dióxido de carbono e água, secretando enzimas. Vários estão envolvidos em vários processos bioquímicos em diferentes fases de compostagem. Assim, a estratégia para inocular potenciais microrganismos (RAHMAN, 2018).

1.1.8 Identificação de microrganismos

A identificação de microrganismos pode ocorrer de várias maneiras: Uma delas e recentemente muito utilizada principalmente em estudos de compostagem é a metagenômica e extração de DNA total de amostras (FERNANDEZ-DELGADO, 2015; MARTINS, 2013), entretanto além de ser uma técnica onerosa, ela impossibilita o cultivo dos microrganismos identificados em laboratório. Isso, em muitas das vezes pode gerar uma dificuldade muito grande, se o interesse do estudo não for puramente o conhecimento da biodiversidade.

Em laboratório é feito o uso de microscópio eletrônico que pode oferecer informações visuais como a superfície do organismo, presença de esporos e micélio, como é o caso de actinobactérias e sua estrutura (OLIVEIRA, 2003). Testes bioquímicos como catalase, motilidade e esporulação também podem auxiliar e agrupar os microrganismos de maneira a facilitar os estudos e otimizar o tempo, visto que muitas dessas características são comuns entre os microrganismos.

O MALDI-TOF é uma ferramenta poderosa para identificação rápida e altamente resolutive de microrganismos (STETS, 2013). A técnica é baseada na detecção do peso molecular das moléculas celulares mais abundantes (proteínas e peptídeos) e usando a informação de espectro de massa como impressão digital para um organismo particular. Os dados são gerados em uma lista de pico usando o software FlexAnalysis 3.0 (Bruker Daltonics, Bremen, Alemanha), a coleta de pico é realizada com o método centróide do pico, altura de 80%, pico com 0,1 m / z e sinal / ruído superior a 3, seguido de um subtração e suavização da linha de base (STETS, 2013). Com essa ferramenta é possível agrupar os microrganismos e identificados segundo o banco de dados cadastrado, que pode ser mais amplo conforme a biblioteca utilizada.

As comunidades microbianas podem executar atividades importantes relacionadas ao processo de compostagem, principalmente na determinação do destino e mobilidade de alguns elementos no ambiente (VÁZQUEZ-CAMPOS et al., 2017) e degradação de alguns substratos através de reações químicas. Com isso, o objetivo deste trabalho foi compreender a biodiversidade microbiana de procariotos, sua evolução temporal e características enzimáticas importantes durante a compostagem de resíduos orgânicos e sua comparação com outros parâmetros químicos, geralmente empregados como índices de qualidade e maturidade do

composto final. Dessa forma, podemos estabelecer uma relação entre a atividade microbiológica e degradação ao longo do processo.

1.1.9 Ensaios de fitotoxicidade

A aplicação de compostos imaturos pode causar deficiência de nitrogênio às plantas, nutriente de extrema importância, e também torna o meio fortemente redutor, aumentando a solubilidade de compostos com metais pesados. Além disso, a presença de certos ácidos orgânicos, como propiônicos, isobutírico e acético, em teor bem maior quando o composto é imaturo, inibe a germinação ou causa a fitotoxicidade. O efeito da salinidade é muito drástico na fase de germinação das plântulas, uma vez que elas são muito mais susceptíveis a alterações do ambiente do que plantas em outras fases de desenvolvimento e representa o principal fator limitante para a germinação de sementes e crescimento de plântulas (BUSTAMANTE, 2008 APUD JARA-SAMANIEGO et al., 2017).

Ensaios de fitotoxicidade consideram a germinação e crescimento de raízes de espécies vegetais distintas como indicadores de respostas biológicas para a estabilização de biossólidos (MENDES et al., 2016). Ainda que não tenha definida qualquer padronização em relação as espécies utilizadas, algumas podem ser mais observadas entre os trabalhos em que se pretende testar a fitotoxicidade de substrato como: alface - *Lactuca sativa* L. (MAÑAS et al., 2016); rabanete - *Radish* (HUANG et al.; ZHANG et al. 2016), agrião - *Lepidium sativum* L. (CESARO et al., 2015). Portanto, o teste de germinação de sementes tem sido amplamente aceito para avaliar a qualidade do composto.

1.2 MATERIAL E MÉTODOS

1.2.1 Processo de compostagem

O experimento foi conduzido no setor de Biodiesel da UFLA, em casa de vegetação coberta por polietileno de baixa densidade, em blocos de alvenaria com volume de 1 m³ (cada célula) e tubos de aeração de 5 cm de diâmetro atravessando as células no sentido horizontal, pela base das células de compostagem, com orifícios de 1 cm de diâmetro, em 3 pontos (25 cm, 50 cm e 75 cm) do tubo (Figura 04) injetado por um compressor radial da marca Ventbras, modelo CV-501, com vazão de 6,3 m³/min, visando a renovação da atmosfera no interior do composto.

Consistiram em três tratamentos (inóculo ambiental, inóculo comercial e controle) e seis repetições, totalizando dezoito unidades experimentais em blocos inteiramente casualizados. Após a montagem do experimento e durante um período médio de 120 dias foi realizado o monitoramento da temperatura (termômetro digital PT10 modelo MPT2, Lexitron-Guemisa, Madrid, Espanha), irrigação conforme a temperatura aumentasse e altura de rebaixamento com uma trena, até que não houvesse mudanças significativas para os respectivos parâmetros e os mesmos apresentassem estáticos.

Figura 04 - Representação gráfica das células de alvenaria para compostagem; células onde foram conduzidas o experimento.



Fonte: Passos, 2014.

A matéria prima utilizada foi composta por resíduos alimentares do Restaurante Universitário - RU, dentre sobras do almoço e do preparo das refeições, como arroz, feijão preparados, cascas de abacaxi, alface, beterraba, cenoura, repolho, acelga e resíduos do paisagismo, oriundos da poda e do manejo da flora dentro da universidade, segundo a composição:

Tabela 04 - Caracterização inicial dos resíduos.

Material	Carbono	Nitrogênio	Relação C/N
Resíduos Jdg.	39	0,6	65/1
Resíduos RU	35,16	2,93	12/1

*Jdg = jardim; RU = restaurante universitário.

1.2.2 Preparo e ativação dos inóculos: Ambiental e comercial

Foi utilizado aproximadamente 700g de arroz sem sal preparados em água destilada, e após o cozimento, foi colocado em bandejas de plástico com perfurações no fundo a fim de evitar o acúmulo de água, e coberto com tela fina visando proteger o conteúdo de predadores ou ação de intempéries, como vento e chuva. O recipiente foi colocado em mata nativa dentro das dependências da universidade, segundo os pontos (Figura 05), e a serapilheira que cobre o solo foi colocada sobre a bandeja, de modo a aproveitar a microbiota natural do ambiente. As bandejas foram distribuídas na mata em um raio de 20 metros, durante a primeira quinzena de agosto durante 15 dias.

Figura 05 - Mapa mostrando a localização dos 8 pontos de coleta para obtenção do inóculo ambiental realizado na UFLA.



Créditos: Romualdo J. B.

Após esse período, os microrganismos presentes no arroz de coloração rosada, azulada, amarelada e alaranjada, seguiram para o processo de ativação, no qual foram colocados em um recipiente de 20 litros, seguido de homogeneização com 1 litro de caldo de cana-de-açúcar e água destilada até completar o volume total de 20 litros (Figura 06). Por um período de 20 dias, o recipiente foi armazenado fechado em local fresco e arejado, até apresentar coloração

alaranjada com cheiro doce agradável. O preparo do inóculo ambiental foi realizado de acordo com o Caderno dos Microrganismos Eficientes (COUTINHO, 2011).

Figura 06 - Processo de obtenção e ativação do inóculo ambiental.



Legenda: Procedimentos para preparo do arroz (a); aspecto do arroz contendo os EM's antes da ativação (b); ativação dos EM's em caldo de cana-de-açúcar (c). **Fonte:** Do autor (2017).

O inóculo comercial foi preparado de acordo com as instruções do fabricante. Consistiu em uma solução obtida através da diluição do inóculo concentrado em água e melado de cana nas seguintes proporções: 10% de melado, 80% de água e 10% do inóculo comercial concentrado. Foi colocado parte da água no galão de 20 litros, adicionou-se o melado e depois de homogeneizado adicionamos o inóculo concentrado, seguido da água para completar o volume. O galão com o inóculo foi acondicionado em local protegido do sol durante o período de uma semana. Ambos foram inoculados durante o processo de montagem do experimento, no tempo 0, de maneira homogênea com a matéria prima nas células correspondentes. Foram adicionados 5 litros do respectivo inóculo com 15 litros de água, totalizando 20 litros em cada célula.

1.2.3 Coleta e preparo das amostras

Amostras compostas, em diferentes profundidades (20, 40 e 90 cm), foram coletadas com 0, 5, 10, 20, 40, 60, 90 e 120 dias do início do processo, obtendo um total de setenta e duas amostras (Tabela 05). As amostras de aproximadamente 300g foram obtidas através da mistura e homogeneização de subamostras extraídas de cada célula e nomeadas conforme indicado na Tabela 05. Cada amostra foi dividida em duas partes iguais, uma delas foi mantida a 4°C para posteriores análises químicas e a segunda parte foi utilizada imediatamente para os testes biológicos.

Tabela 05 - Amostras coletadas durante o processo de compostagem e fase temporal.

Amostras ¹	Descrição	Tempo (dias ²)
1 a 9	Matéria-prima (aumento da temperatura)	0
10 a 18	Fase termofílica (aumento da temperatura)	5
19 a 27	Fase termofílica (aumento da temperatura)	10
28 a 36	Fase termofílica (CO, MA); mesofílica (ME)	20
37 a 45	Fase mesofílica (redução da temperatura)	40
46 a 54	Fase mesofílica (redução da temperatura)	60
55 a 63	Fase mesofílica (redução da temperatura)	90
64 a 72	Fase mesofílica (estabilização)	120

Legenda: *Amostras em triplicata por coleta¹; Dias a partir da montagem do experimento. CO = Controle; MA= Inóculo Não-comercial; ME= Inóculo Comercial.

1.2.4 Análises físico-químicas

As metodologias utilizadas para as análises físico-químicas foram determinadas de acordo com o Manual de Análises Químicas de Solos (EMBRAPA, 2011). Determinou-se a umidade por secagem a 105°C durante 36 horas. O carbono orgânico foi determinado por oxidação da matéria orgânica via úmida com dicromato de potássio em meio sulfúrico, empregando-se como fonte de energia o calor desprendido do ácido sulfúrico e aquecimento, o excesso de dicromato após a oxidação foi titulado com solução padrão de sulfato ferroso amoniacal (sal de Mohr). O nitrogênio total (N) foi determinado usando o método Kjeldahl por câmara de difusão. O teor de matéria orgânica foi avaliado por determinação da perda por ignição a 550°C até um peso constante. A Capacidade de Troca de Cátions (CTC) e a acidez trocável (H + Al) foram determinadas pelo método do KCl 1 mol L⁻¹, e acidez potencial

determinada com acetato de cálcio tamponado com pH 7,0, determinado volumetricamente com solução de NaOH em presença de fenolftaleína como indicador. As quantidades de micronutrientes foram determinadas pelo Método de Mehlich modificado (BARBOSA et al., 2014).

1.2.5 Análises biológicas

As análises microbiológicas foram realizadas no laboratório de Fermentações, no Departamento de Biologia. Foram adicionados 25g da amostra em 225 mL de solução peptonada, e sob agitação de 120 rotações por minuto (rpm) durante 45 min. Em seguida, foram realizadas diluições seriadas até 10^{-8} e plaqueamento com uma alíquota de 0,1 mL da respectiva suspensão nas placas identificadas em duplicata. Os inóculos foram plaqueados seguindo os mesmos procedimentos e utilizando os mesmos meios seletivos.

Para o cultivo de bactérias presentes nas amostras, foi realizado plaqueamento em meio de cultivo: 1) Ágar Nutriente – AN, constituído por (g L^{-1}) peptona (5), extrato de carne (3), extrato de levedura (1), ágar (15) acrescido de nistatina (4) para inibir o crescimento de fungos; 2) Glucose Yeast Calcium Carbonate - GYC (g L^{-1}) constituído por glicose (50), extrato de levedura (10), carbonato de cálcio (5), ágar (20); e meio de cultura 3) Man, Rogosa e Shape - MRS Ágar, específico para bactérias do Ácido Láctico (BAL) constituído por (g L^{-1}) peptona (10), extrato de carne (10), extrato de levedura (5), glicose (20), acetato de sódio (5), fosfato hidrogênio dipotássio (2), citrato de amônia (2), sulfato de magnésio (0,2), sulfato de manganês (0,05), Ágar (13) e o pH próximo 6,2. Para actinobactérias foi utilizado o meio de cultivo 4) Aarosan, constituído por (g L^{-1}) nitrato de potássio (2), caseína (0,8), cloreto de sódio (2), Fosfato de potássio dibásico (2); Sulfato de magnésio mono-hidratado (0,05), carbonado de cálcio (0,02), Sulfato de ferro hepta-hidratado (0,04), ágar (15). Após a inoculação, as placas foram incubadas à 35°C por 48 h para o crescimento de bactérias mesófilas e 96 h para o crescimento de actinobactérias (BREED et al., 1957) e bactérias do ácido láctico.

A análise morfológica das colônias incluiu tamanho, dias de crescimento, forma, elevação, borda, superfície, produção de muco, detalhe óptico, cor e presença ou não de halo em meio GYC e teste bioquímicos: gram, catalase, oxidase, motilidade, esporulação, produção de pigmentos e produção de gás para bactérias lácticas. As amostras em água peptonada foram preservadas em tubo Falcon contendo glicerol 20% (1:1) e os isolados em criotubos contendo 20% glicerol e meio de cultura nutriente (1:1) e mantidos a temperatura adequada de -20°C .

Os dados foram submetidos a análises estatísticas através do software R (R CORE TEAM, 2018).

1.2.6 Análise Enzimática

As placas foram inoculadas com 10 µl de gotas de suspensão de biomassa preparadas em 3 mL de solução salina estéril (NaCl 0,9%) a partir de um microrganismo cultivado em ágar nutriente durante 24h/48h para bactérias e actinobactérias, e a 10⁷ células/mL, de acordo com a escala de Mc Farland. Os isolados selecionados foram verificados quanto à capacidade metabólica de interesse biotecnológico em relação a oito atividades: amilolítica, proteolítica e solubilizante de fosfato (incubados a 30 °C durante 3 dias), pectinolítica e lipolítica (incubados por 5 dias), celulolítica e ligninolítica (incubadas por 7-10 dias) e atividade de amonificação (por 15 dias) e verificado a presença da atividade em meios específicos:

Tabela 06 - Descrição dos meios de cultura utilizados para determinarmos as respectivas atividades enzimáticas.

Atividades de interesse	Meios de cultura	Referências
Lignolítica	Meio básico extrato de levedura	Widiastuti; Wulaningtyas (2008); Pointing (1999)
Celulolítica	Meio Ágar CMC 1%	Limaye (2017)
Amilolítica	Meio Amido Ágar	Buzzini e Martini (2002)
Pectinolítica	Meio Mineral MP5	Ferreira et al.(2013); Schwan et al (1997)
Proteolítica	Meio YPD	Strauss (2001); Scatamburlo et al., (2015)
Lipolítica	Meio 1% CaCl ₂	Fuciños et al., 2005
Amonificação	Meio CZAPECK mod.	Jana; Roy (1985)
Solubilização de fosfato	GYC - Glucose Yest CaCO ₃	Sylvester-Bradley et al (1982)

A determinação enzimática foi expressa como índice enzimático (IE), por meio da relação entre o diâmetro médio do halo de degradação e o diâmetro médio da colônia segundo a fórmula:

$$IE = \frac{\text{diâmetro do halo}}{\text{diâmetro da colônia}}$$

Para a avaliação do potencial enzimático, é recomendado um índice enzimático $> 2,0$ (TERRA, 2008). Dessa forma, os isolados que exibirem os maiores IE são os que possuem maior atividade enzimática extracelular (OLIVEIRA et al., 2006).

1.2.7 Agrupamento dos isolados por MALDI-TOF

Os isolados, após purificados, foram submetidos a análises do seu perfil de proteínas ribossomais a fim de realizar um agrupamento e possível identificação da espécie. As colônias foram repicadas em placas de Petri com meio AN e incubadas por 48 horas à 32°C, obtendo ao final colônias novas que posteriormente foram analisadas em triplicata no equipamento MALDI-TOF Biotyper 3.0 (Bruker Daltonics; Bremen, Alemanha). Foi transferido para um eppendorf aproximadamente 1 µg de biomassa de cada isolado e adicionado 6 µL de uma solução orgânica (33% etanol, 33% acetonitrila e 33% TFA a 10%) segundo Isabel (2013). As amostras foram agitadas e sonicadas para permitir a homogeneização das células. Posteriormente, 1 µL da amostra foi colocado sobre a placa de aço inoxidável de MALDI-TOF MS. Quando as amostras se apresentavam quase secas, 1 µL da solução de matriz ácido α -ciano-4-hidroxicinâmico (CHCA, Fluka; Buchs, Switzerland) saturada em uma solução orgânica, foi adicionada sobre as amostras e misturado suavemente. As medições foram realizadas em modo iônico linear positivo, um laser de azoto (337 nm) a frequência de 50 Hz. A aceleração a tensão foi de 20 kV, com aquisição de tempo de atraso e faixa de massa de 3000 a 20.000 m / z. A calibração externa foi realizada antes para cada análise utilizando uma cepa de *Escherichia Coli K12*. Para a avaliação dos resultados gerados pelo MALDI-TOF MS foram considerados os valores de score: $> 2,000$ Probabilidade alta de identificação da espécie; 1,700 - 1,999 Provável identificação da espécie e $< 1,700$ Identificação não confiável. Os procedimentos de clusterização calculam a pontuação de similaridade para cada par de listas de pico, seguida pelo cálculo das distâncias baseadas nos escores de similaridade.

1.2.8 Teste de Fitotoxicidade

A fitotoxicidade dos produtos finais da compostagem foram avaliados com um ensaio de germinação de sementes como descrito por Zucconi et al. (1981). Alface (*Lactuca sativa*) e berinjela (*Solanum melongena*) foram utilizadas. Amostras finais e frescas de cada tratamento do composto foram colocadas em água destilada na proporção de 1:10 (W/V) e agitadas por 45 minutos, em seguida, foram transferidas para outro erlenmeyer, com papel de filtro para

remover partículas. Em placas de Petri com 9 cm de diâmetro contendo duas folhas de papel de filtro estéreis foram adicionadas vinte sementes de alface e dez de berinjela em cada placa, com 5 mL dos extratos diluídos a 25%, 50%, 75% e 90% em duplicata e controle (germinadas em placas contendo água destilada). A incubação foi a uma temperatura de 25°C por 7 dias, e o número de sementes germinadas e seus comprimentos de raízes foram determinados.

O desempenho das sementes foi avaliado pelos seguintes testes: Sementes Germinadas (SG), Germinação Relativa de Sementes (RSG), Crescimento Relativo da Radícula (RRC), Índice de Germinação (GI), Inibidor de Crescimento (IR) (Courtney & Mullen, 2009; Luo et al., 2018), determinados com as seguintes fórmulas:

$$I) \quad SG = \frac{(n^\circ \text{ de sementes germinadas})}{n^\circ \text{ total de sementes}} \times 100\%$$

$$II) \quad RSG = \frac{n^\circ \text{ de sementes germinadas da amostra}}{n^\circ \text{ de sementes germinadas do controle}} \times 100\%$$

$$III) \quad RRC = \frac{\text{total do comprimento radicular da amostra}}{\text{total do comprimento radicular do controle}} \times 100\%$$

$$IV) \quad GI = RSG \times RRC \times 100\%$$

$$GI = \frac{GI_{25\%} + GI_{50\%} + GI_{75\%} + GI_{90\%}}{4} \times 100\%$$

$$V) \quad IR = \frac{\text{comprimento radic. do controle} - \text{comprimento radic. da amostra}}{\text{comprimento radicular do controle}} \times 100$$

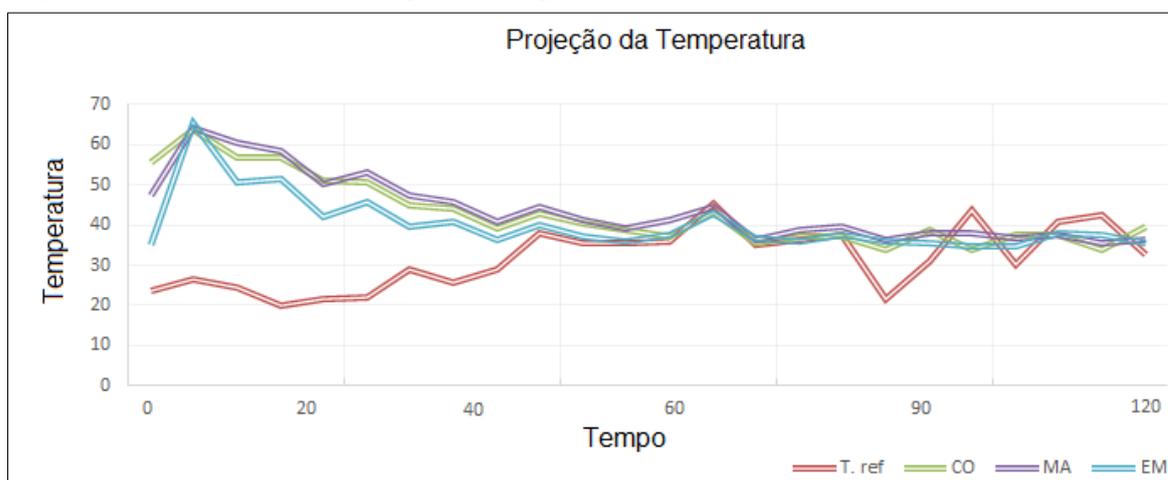
1.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

1.3.1 Físico-químicos

As células de compostagem possuem 1 m³ (100 cm de altura), sendo que no final do processo as alturas eram de aproximadamente 40 cm para os tratamentos controle e comercial (ME) e 43,3 cm para o tratamento ambiental (MA), ou seja, reduzindo sua altura em 50% para todos os tratamentos. A redução na altura da célula de compostagem pode ser um indicativo de evolução do processo, devido à decomposição do material de origem em partículas menores, o que implica na redução da porosidade da célula, e conseqüente redução de oxigênio.

A variação da temperatura no interior das células ao longo dos 120 dias do processo de compostagem encontra-se na figura 07. A temperatura de todos tratamentos chegou à fase termofílica ($>50^{\circ}\text{C}$) dentro de dois dias após a montagem das células, refletindo o rápido início do processo, segundo Zhou et al (2016). Tal temperatura ocorre devido a energia dissipada pelo metabolismo microbiano e reações como de oxidação no decorrer do processo, pela decomposição da matéria orgânica facilmente decomposta (MORENO et al., 2013). O consumo de O_2 foi intenso nas primeiras horas do processo que foram acompanhados por altas temperaturas, com picos variando em torno de 60°C em todos os tratamentos. Os tratamentos MA e comercial apresentaram temperaturas acima de 50°C por aproximadamente 27 dias.

Figura 07 - Gráfico de mudanças na temperatura ($^{\circ}\text{C}$) dos três tratamentos.



Legenda: (CO=controle, MA= Não comercial, ME= comercial) e da temperatura ambiente (T.ref.) durante o processo de compostagem por 120 dias.

O controle se manteve nessa fase por 18 dias e alcançou temperatura mais elevadas no quinto dia, após montado o experimento, com $64,38^{\circ}\text{C}$. Segundo a literatura e os perfis relacionados a capacidade de eliminar patógenos nocivos, a temperatura adequada do composto deve chegar entre 65 e 70°C (JURADO et al , 2014a; LÓPEZ-GONZÁLEZ et al., 2015; MICAELA et al, 2017) e foi observada nos primeiros dias do experimento. A temperatura influencia o processo de compostagem, pois afeta a taxa de degradação da matéria orgânica para alcançar um produto maduro e estável (JURADO et al., 2014b).

Essa fase é caracterizada pela atuação das bactérias e fungos denominados termofílicos, que sobrevivem em ambientes com temperaturas mais elevadas que os mesofílicos e irão atuar sobre a matéria orgânica, degradando as moléculas mais complexas. Após esse período, os tratamentos entraram na fase mesofílica com 28 dias e se mantiveram até a estabilização com

temperaturas próximas de 35°C para todos os tratamentos até os 103 dias. As temperaturas observadas podem ter se dado por dois fatores: a periodicidade de irrigação que ocorreram de acordo com a temperatura mensurada das células e a baixa retenção de água influenciada pela granulometria da matéria-prima utilizada que não passou por qualquer processamento de redução das partículas previamente. Partículas de tamanhos menores podem reduzir os espaços dentro da célula, ocasionando redução da disponibilidade de O₂, que é necessário a microbiota e quando limitado, o meio se torna anaeróbico e consequentemente favorável a outros grupos de microrganismos.

O tratamento MA manteve as maiores temperaturas durante todo o processo, porém na fase de resfriamento e maturação sua estabilidade ocorreu anteriormente ao tratamento controle. Observa-se que no tratamento controle e MA, as temperaturas eram maiores do que no tratamento comercial durante todo o processo, apesar disso, não foram valores significantes em comparação aos outros tratamentos. Quanto a temperatura no interior da estufa, não houve interferência nas células em razão da temperatura dentro de um mesmo tratamento se manter constante. Em comparação ao tratamento controle, as culturas iniciadoras não apresentaram vantagens em relação a maior taxa de degradação de resíduos e o processo aconteceu de forma similar em ambos os tratamentos durante o processo de compostagem. A utilização de inoculantes microbianos com atividade ligno-celulolítica durante a compostagem de resíduos sólidos urbanos mostrou que é possível melhorar a qualidade final do composto, além de acelerar o seu processo de formação (WEI et.al 2010, GABHANE et al., 2012). Entretanto, no presente trabalho não houve alterações significativas dentre os tratamentos. A maturação se estendeu por 18 dias, e o composto maturado obtido após uma média 120 dias com o final do experimento na casa de vegetação.

A irrigação foi realizada a cada cinco dias (28 vezes ao todo, reduzindo a frequência no tempo), levando em consideração a temperatura das células em relação a temperatura ambiente, se mantendo próximas de 64% e 74% de umidade para os tratamentos comercial e ambiental respectivamente, permanecendo próximo de 60% (WANG et al, 2014) apenas o tratamento comercial. Esses valores foram ajustados de forma a não ocorrer lixiviados. Assim que as células foram umedecidas, a temperatura aumentou consideravelmente, o que mostra que ainda havia intensa atividade de microrganismos na compostagem, mas não havia condições ideais de umidade, se reestabelecendo após a irrigação.

Atrelado a irrigação, a aeração se faz necessária pois os microrganismos presentes nas células de compostagem são predominantemente aeróbios e necessitam de oxigênio para

sobreviver. A injeção de ar foi feita com a finalidade de evitar temperaturas muito elevadas e para remoção da umidade excessiva, ocasionada muitas vezes pelo excesso de irrigação e compactação das células que no decorrer do processo se dá devido a decomposição da matéria-prima em particular menores, resultando na redução da porosidade e diminuição da disponibilidade de oxigênio. Com o tempo a retenção de água foi reduzindo e exigindo menos volume para manter a umidade estável, ocasionado principalmente pela compactação dentro das células e diminuição dos espaços vazios de ar. Comportamento semelhante foi observado em experimentos em que foi utilizado resíduo de reciclagem de papel em que a perda de água foi reduzida, devido a absorção de água por esse material (EKINCI et al., 2002).

Um nível de pH adequado pode permitir que microrganismos atuem sobre o composto de maneira eficaz, retendo nitrogênio efetivo e reduzindo a perda de íons amônio (NH_4^+) ao longo do processo. Contrariando o intervalo de pH, segundo Nakasaki et al. (2017) entre 6,5 e 7,5, que é mais adequado para o crescimento de bactérias e actinobacterias, o pH se manteve dentro dessa faixa somente no início do experimento, por 10 dias. A partir de então foi aumentando a valores de 8,2-9,0 até estabilizar aos 120 dias com uma média de 7,6 para todos os tratamentos (Tabela 07).

Alguns autores apontam para o uso de aditivos e uso de aeração (fornecimento de O_2) como alternativa para contornar o baixo valor do pH na fase inicial, e conseqüentemente reduzir o odor da compostagem de resíduos orgânicos (GABHANE et al., 2012), quando for o caso.

Houve uma queda de pH no tratamento controle com 40 e 90 dias reduzindo ainda mais com 120 dias de maneira gradual. As diminuições no valor do pH podem estar relacionadas com a produção de ácidos orgânicos ao longo do processo e perda de outros por volatilização como a amônia. O tratamento comercial apresentou um aumento no valor do pH até os 60 dias de maneira gradual alcançando seu pico máximo e posteriormente reduzindo até a estabilização. De maneira semelhante o tratamento com inóculo ambiental apresentou uma pequena queda com 40 dias e voltou a aumentar aos 60 dias para reduzir de maneira também gradual até os 120 dias.

A evolução do N aumentou de maneira pouco expressiva durante a fase de resfriamento e maturação com valor de 1.2% nos três tratamentos, significando que não houve perdas de N durante o processo de compostagem. Em temperaturas mais altas e pH na faixa alcalina, são relatadas grandes perdas da fração N, principalmente quando há pouca resistência à degradação (WANG et al., 2015). A relação C/N diminuiu ao longo do tempo nos tratamentos MA e comercial, atingindo um valor final de 11,8/1 e 11,3/1, respectivamente, característica de um

composto estabilizado (LÓPEZ-GONZÁLEZ, 2015). Apesar do tratamento comercial ter apresentado perda de C até a fase de resfriamento, o produto final não apresentou diferenças significativas em relação ao tratamento EM. Segundo Inácio e Miller (2009), o uso de resíduos de alta C/N na compostagem pode resultar em um produto final com relação C/N acima de 20, devido à remanescência destes materiais, geralmente mais grosseiros no produto final. Essa constatação contraria o resultado obtido no experimento, onde material não foi processado previamente e ainda sim obteve relação C/N positiva e abaixo do esperado. Entretanto, esses valores são usados como referências, e não como indicadores absolutos do grau de maturação do composto (EPSTEIN, 1997).

Tabela 07 - Amostras coletadas e parâmetros físico-químicos avaliados durante o processo.

Amostra	Dias de amostragem	Fase	Temperatura (C°)	pH	C (%)	N (%)	C/N
CO	0	Material cru	37	5,42	21,6	0.9	24,1/1
CO	5	Termófila	57,9	6,32	nm	nm	nm
CO	10	Termófila	65,4	7,95	nm	nm	nm
CO	20	Termófila	54,1	8,24	nm	nm	nm
CO	40	Mesófila	40,8	8,03	nm	nm	nm
CO	60	Resfriamento	41,7	8,96	15.2	1.2	12.6/1
CO	90	Resfriamento	30,2	9,1	nm	nm	nm
CO	120	Produto final	39,5	7,47	19.1	1.2	15.9/1
MA	0	Material cru	37	5,04	21.8	0.9	24.2/1
MA	5	Termófila	60,3	5,61	nm	nm	nm
MA	10	Termófila	62,8	7,47	nm	nm	nm
MA	20	Termófila	56,2	8,27	nm	nm	nm
MA	40	Mesófila	41,9	8,18	nm	nm	nm
MA	60	Resfriamento	40,7	9,04	19.1	1.2	15.9/1
MA	90	Resfriamento	39	8,5	nm	nm	nm
MA	120	Produto final	36,3	7,7	13.6	1.2	11.3/1
ME	0	Material cru	37	5,19	24.5	0.9	27.2/1
ME	5	Termófila	57,5	6,47	nm	nm	nm
ME	10	Termófila	55,1	7,73	nm	nm	nm
ME	20	Mesófila	43,3	7,85	nm	nm	nm
ME	40	Mesófila	36,2	8,15	nm	nm	nm
ME	60	Resfriamento	36,6	8,96	15.4	1.2	12.8/1
ME	90	Resfriamento	36,6	8,4	nm	nm	nm
ME	120	Produto final	35,5	7,66	14.2	1.2	11.8/1

*nm = não mensurado.

As análises químicas (Tabela 08) foram feitas com base na metodologia para solos. Ao início do experimento os tratamentos apresentavam teores de M.O. maiores que ao final. O tratamento com inóculo ambiental decresceu de 21,82 para 13,59%, comercial de 24,49% para 14,22% e controle de 29% para 19,13%. Os teores de P aumentaram progressivamente ao longo do processo de compostagem com uma média de 305,54 mg/dm³ para 577,43 no tratamento comercial, 545,95 mg/dm³ no tratamento ambiental e controle um teor de 423,22 mg/dm³. Os valores de K oscilaram ao longo do processo, obtendo teores mais altos com 60 dias de compostagem para todos os tratamentos: ambiental (6.454,06), comercial (6.417,58) e controle (6.537,50 mg/dm³). Os teores para Ca também apresentaram pouca variação predominando os mais altos ao final do processo: 10,27 mg/dm³ para o ambiental, 9,31 mg/dm³ para o tratamento comercial e 12,12 mg/dm³ para o controle. O contrário ocorreu com os valores de S e Na, que decresceram em todos os tratamentos ao longo do processo.

Em relação aos micronutrientes os teores de Zn aumentaram de maneira constante com valores finais de 13.4 mg/dm³, 14.0 mg/dm³ e 12.3 mg/dm³, nos tratamentos ambiental, comercial e controle, respectivamente. Não houve diferenças expressivas para os teores de B e os valores de Mn apresentaram um aumento com valores iniciais de 61.6 mg/dm³, 44.2 mg/dm³, 87.5 mg/dm³ e finais de 80.6 mg/dm³, 84.2 mg/dm³ e 94.0 mg/dm³ para os tratamentos ambiental, comercial e controle. Os teores de Cu iniciais foram maiores em relação ao final do composto que apresentou teores em torno de 0,8 mg/dm³. Os valores de Fe, apresentaram valores mais altos no início da compostagem, e ao final de 25,9 mg/dm³, 27,31mg/dm³ e 26.2 mg/dm³ para o tratamento ambiental, comercial e o controle, se mantendo próximos entre si.

Os resíduos de jardinagem eram de cor castanha clara com tamanho de partículas superiores a 5cm e os resíduos orgânicos apresentavam mal cheiro e também tamanhos variados. As amostras finais de composto mostraram cor marrom-escura, produto solto e granular sem odor e sem presença de mosquitos, indicando que o processo de compostagem ocorreu de maneira satisfatória. Ainda que fosse observado alguns materiais mais resistentes não foram compostados: como galhos com diâmetro de até 1cm, resíduos não orgânicos que porventura estavam misturados e cascalhos mais grosseiros.

Tabela 08 - Análise química do composto no início do experimento, com 60 e 120 dias.

Id. Amostra	M.O %	P- Mehlich	K mg/dm³	S mg/dm³	Na	Ca (cmol/dm³)	B	Cu	Fe mg/dm³	Mn	Zn
CO-T0	29	379,2	5,982.73	152,12	224,64	11,95	2,71	2,17	69,9	87,52	9,7
CO-T60	15,18	394,1	6,537.50	24,97	249,98	7,46	1,33	0,95	28,25	94,66	11,71
CO-T120	19,13	423,22	6,060.54	39,74	192,3	12,12	2,71	0,87	26,27	93,96	12,31
MA-T0	21,82	245,4	4,582.93	120,27	303,66	10,55	1,87	1,96	49,13	61,64	7,1
MA-T60	19,13	257,63	6,454.06	21,04	202,84	10,25	1,33	0,84	21,51	99,6	12,21
MA-T120	13,59	545,95	4,796.33	42,34	224,14	10,27	1,31	0,8	25,9	80,55	13,41
ME-T0	24,49	292,03	4,136.63	100,85	399,9	7,89	1,84	2,06	37,37	44,17	10,69
ME-T60	15,43	318,24	6,417.58	37,94	237,51	8,15	1,69	1,23	31,85	85,8	11,18
ME-T120	14,22	577,43	5,233.63	31,18	208,47	9,31	1,38	0,98	27,31	84,21	14

Legenda: CO = Tratamento Controle, MA = Tratamento Não-comercial, ME= Comercial, nos tempos T0= início do processo, T60=meio do processo e T120=final do processo.

As alterações físico-químicas confirmaram que o processo ocorreu de forma esperada com temperaturas mais elevadas ao início do experimento e passagem para a fase mesofílica até a estabilização. As alterações que ocorreram na temperatura em detrimento da umidade e aeração principalmente, dentre outros fatores, influenciam diretamente a presença/ausência de grupos de microrganismos e sua atividade no processo de decomposição e mineralização da matéria orgânica. Esses são os parâmetros de grande importância para a condução de uma compostagem adequada.

1.3.2 Coleção de isolados

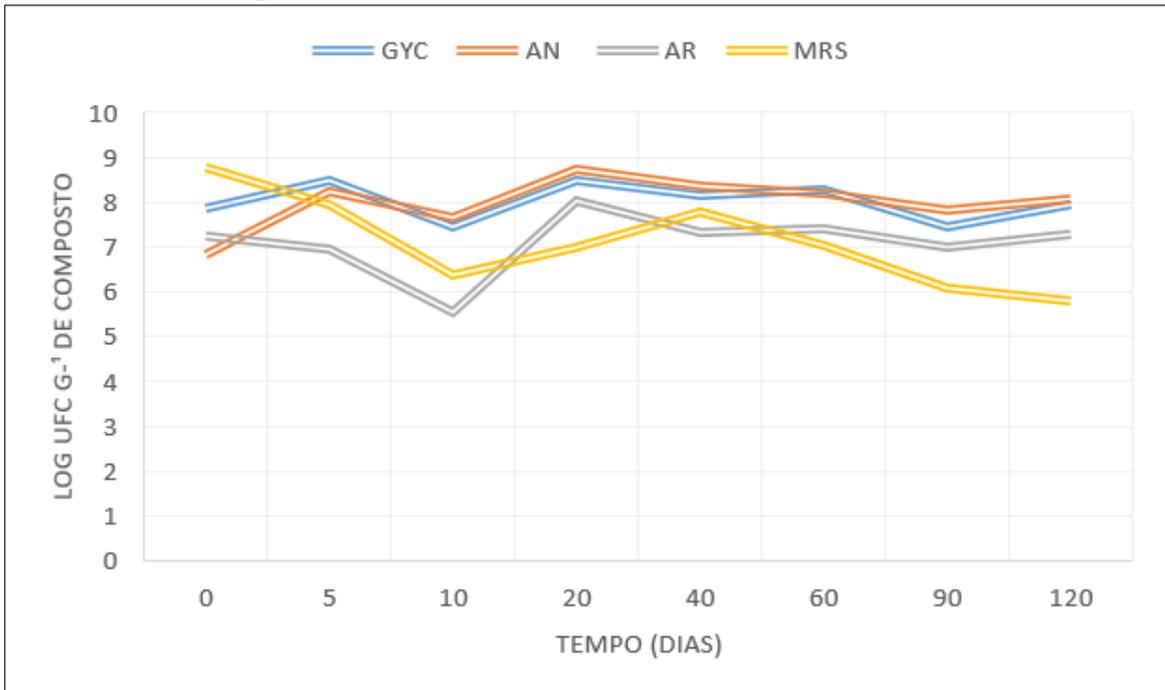
Em resumo, o processo de plaqueamento e purificação consistiu 1964 isolados (64% bactérias, 21% actinobactérias e 14% bactérias láticas) inicialmente. Essa perda observada ao transferir de uma placa com meio de cultura para outra foi observada também por outros autores (LÓPEZ-GONZÁLEZ,2015) e vem de encontro ao que Stewart (2012) propõem quando afirma que a fatores que são encontrados somente no meio de isolamento original como a disponibilidade de nutrientes, condições osmóticas e a presença de outros microrganismos, acarretando a perda de sua capacidade de crescimento. O isolamento em meio de cultivo exige que a composição do meio forneça nutrientes e condições necessárias para o crescimento de microrganismos.

A contagem de bactérias e actinobactérias foram semelhantes entre os tratamentos durante todo o processo, e se mantiveram estáveis durante o processo, sem diferenças significativas entre os tratamentos. Diversos microrganismos estão envolvidos em vários processos bioquímicos em diferentes fases da compostagem (AWASTHI et al., 2018) e a microbiologia precisa desenvolver metodologias que torne os meios de cultura já estabelecidos ainda melhores, para um melhor entendimento da biologia e fisiologia dos microrganismos isolados de amostras ambientais, conforme o caso. A população de bactérias no inóculo ambiental foi de 5.322 log UFC/g, sendo que no inóculo comercial a contagem foi superior, com 6,80 log UFC/g. As funções da população microbiana e as características bioquímicas da maioria destes aditivos comerciais durante o processo de compostagem ainda não são bem elucidados (SASAKI *et al.* 2003) e não são identificados por seus fabricantes. O mesmo ocorreu com a população de actinobactérias, que foi de 3.939 log UFC/g no inóculo ambiental e de 6.431 log UFC/g no inóculo comercial.

A população de microrganismos no inóculo comercial se mostrou superior ao inóculo ambiental. Khaliq, Abbasi, & Hussain (2006), em seu trabalho, identificou Microrganismos Eficientes, no caso do presente trabalho referidos como ambientais, na qualidade de uma cultura mista de microrganismos benéficos, incluindo uma predominante população de bactérias do ácido láctico (*Lactobacillus sp.*) e levedura (*Saccharomyces sp.*) e uma pequena proporção de bactérias fotossintéticas (*Rhodospseudomonas sp.*), actinomicetos e fungos.

As contagens de bactérias foram semelhantes dentre os tratamentos durante todo o processo (Figuras 08, 09 e 10), com população inicial de em média 8.097 log UFC/g, que se manteve estável durante todo o processo de compostagem, sem diferenças significativas entre os tratamentos, na fase de maturação os níveis diminuíram levemente, com população média entre os tratamentos de 7.873 log UFC/g.

Figura 08 - Gráfico de quantificação microbiológica para o tratamento controle ao longo do tempo.



Houve presença de bactérias em todos os tratamentos decrescendo a quantidade ao longo do tempo de maneira geral, entretanto com um aumento significativo entre os tempos 10 e com 20 dias.

Figura 09 - Gráfico de quantificação microbiológica para o tratamento comercial ao longo do tempo.

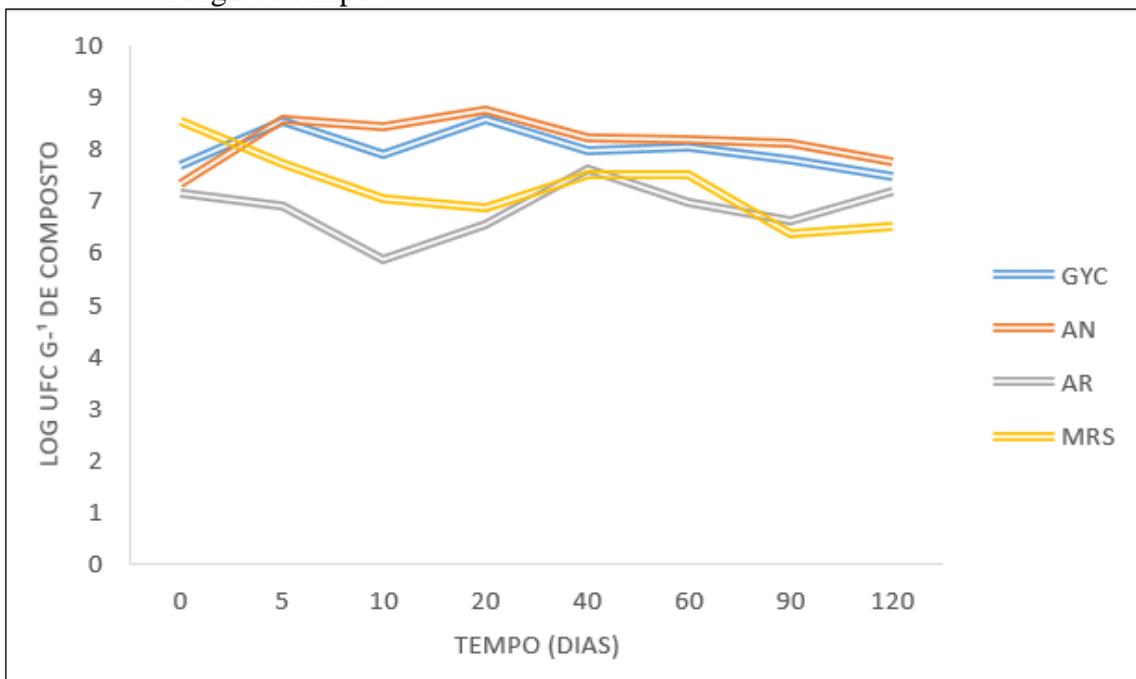
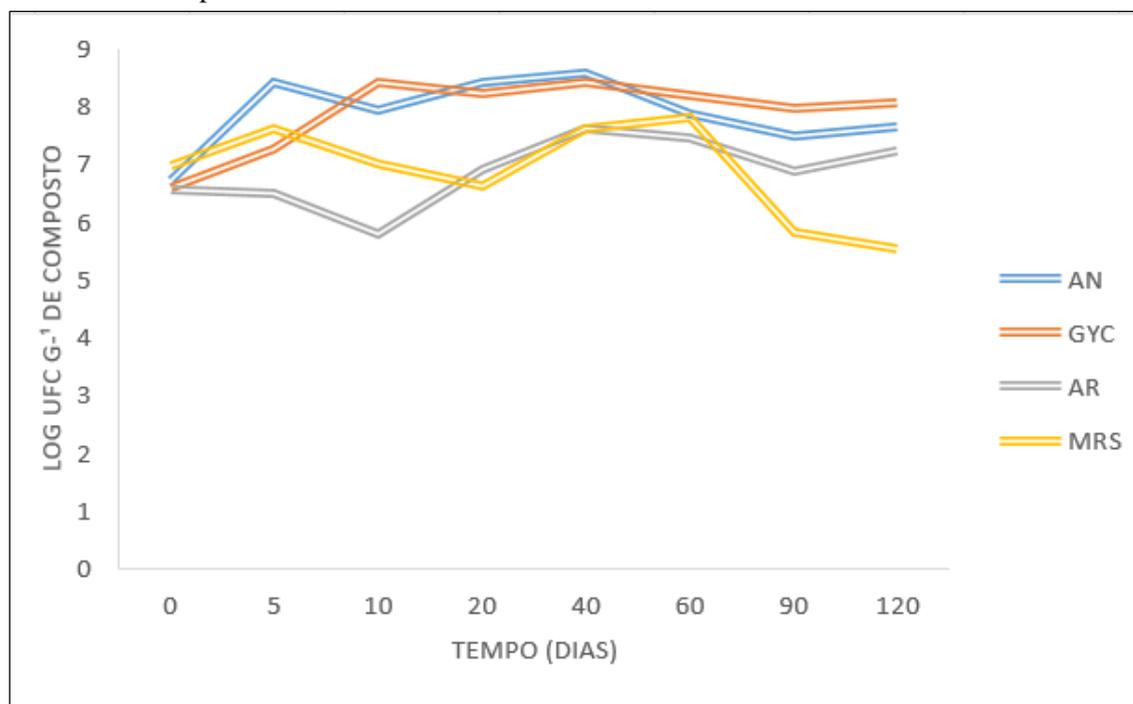


Figura 10 - Gráfico de quantificação microbiológica para o tratamento ambiental ao longo do tempo.



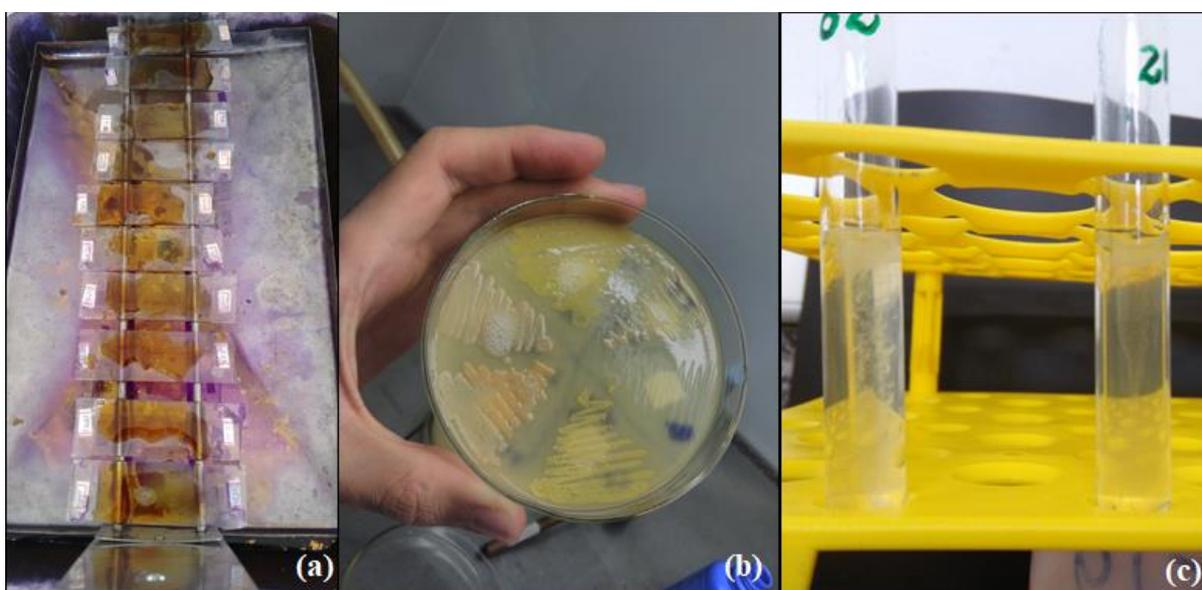
As populações iniciais de actinobactérias, cultivadas em meio Aaronson (AR) e apresentadas nos gráficos não foram significativamente diferentes entre os tratamentos, com população média de 8,45 log UFC/g, 7,86 log UFC/g e 8,52 log UFC/g para o tratamento comercial, ambiental e controle, respectivamente. Alguns dias após o início do processo, na fase termófila, a contagem da população de actinobactérias no tratamento controle, 5,26 log UFC/g, foi inferior à população dos tratamentos ambiental e comercial, com populações de 7,07 log UFC/g e 7,34 log UFC/g.

Durante essa fase ocorreu a diminuição gradual dos níveis de actinobactérias, chegando à 4,35 log UFC/g, 4,45 log UFC/g e 6,69 log UFC/g, para controle, tratamento ambiental e comercial, mostrando que a população de actinobactérias é sensível a temperaturas mais altas. Muitos microrganismos, entre bactérias e actinobactérias, podem retardar sua taxa de crescimento ou parar diretamente de crescer, mas não perdem sua capacidade de crescer sob a alta temperatura, ou seja, acima de 50°C (LÓPEZ-GONZÁLEZ et al., 2015). Na fase mesófila, as populações se mantiveram estáveis entre os tratamentos, com populações de em média 8,07 log UFC/g. Já no período de resfriamento as populações foram maiores no tratamento controle em relação aos tratamento ambiental e comercial, com populações de 8,04 log UFC/g, 7,71 log UFC/g e 5,17 log UFC/g, respectivamente. Durante a maturação, os níveis das populações se mantiveram altos, porém estáveis em ambos os tratamentos, com média de 8,54 log UFC/g.

Além disso, os efeitos da temperatura e do pH possivelmente influenciaram as actinobactérias a decompor o material orgânico (ZHANG & SUN, 2018; ORRICO et al., 2018). Alguns autores também relataram maior diversidade na fase de maturação em comparação com a fase termófila (FERNANDEZ, et al., 2015). Em relação aos inóculos: o ambiental foram obtidos apenas 6 isolados de actinobacterias que corresponde a 3,50 log UFC/g e 13 isolados de bactérias correspondente a 5,71 log UFC/g. Quando o plaqueamento foi feito para o inoculo comercial obtivemos 6,02 log UFC/g de bactérias representadas por 2 isolados.

Foram feitos testes bioquímicos, como gram, catalase, oxidase e motilidade (Figura 11), esporulação e produção de gás (homofermentativos ou heterofermentativos) para bactérias lácticas e testes morfológicos (tamanho, forma, elevação, borda, superfície, produção de muco, detalhe optico, cor, presença de halo), conforme o anexo I e II, a fim de agrupar esses microrganismos para serem testados quanto ao potencial enzimático.

Figura 11 - Testes bioquímicos para caracterização de microrganismos.

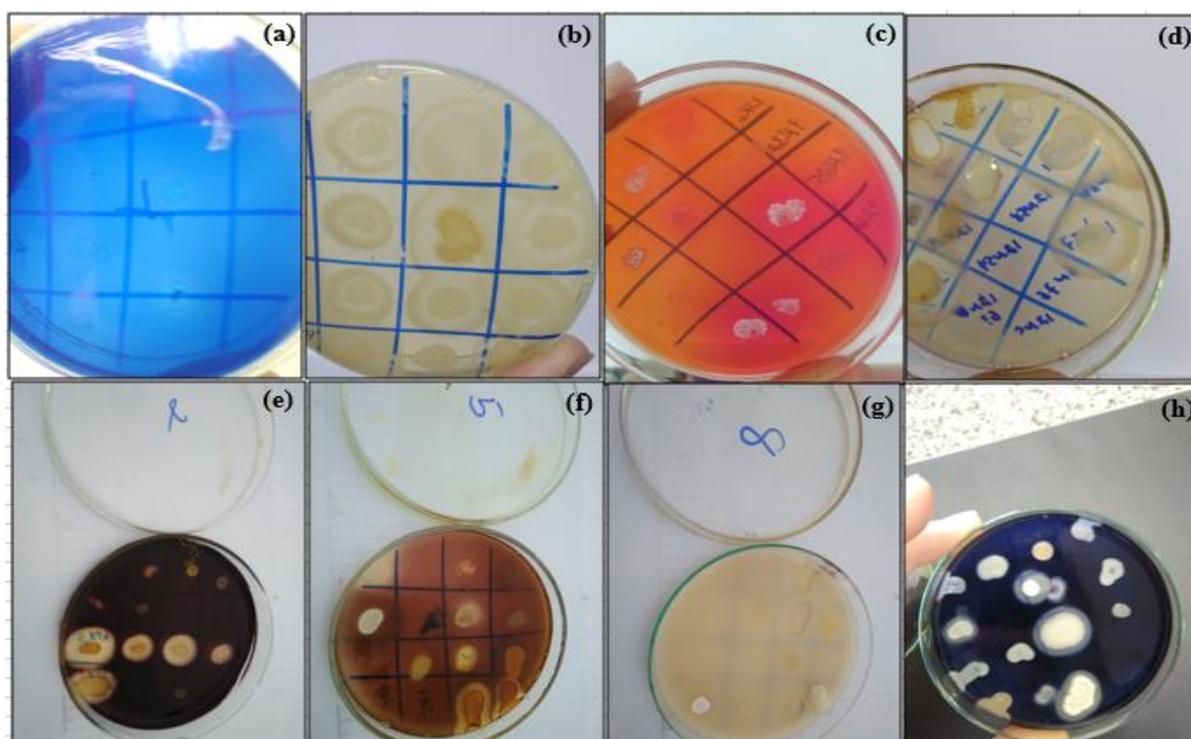


Legenda: Coloração de gram (a), oxidase (b) e motilidade (c). Fonte: Do autor (2017).

Dentre esses, foram selecionados 654 isolados, excluindo aqueles que apresentavam ser semelhantes morfológicamente entre si, ainda que se faziam presentes em áreas diferentes, para serem testados quanto à atividade enzimática identificando-os quanto a presença ou não de halo, conforme a figura 12.

A matéria orgânica (MO) contém uma grande quantidade de substâncias, como proteínas, celulose, hemicelulose e açúcares, que fornecem fontes de carbono e nitrogênio para o crescimento de microrganismos (SHAN et al, 2017). As espécies que dominam o processo de compostagem liberam uma gama de enzimas hidrolíticas, em particular, celulases, hemicelulases, proteases, lipases, fosfatases e arilsulfatases (HE et al., 2013). As enzimas são moléculas de natureza proteica que catalisam as reações químicas e são dependentes de fatores como a temperatura e pH. Foi observado que 69,87% desses isolados apresentaram $IE > 2$ para degradação da celulose, que é formada da junção de milhares de moléculas de glicose e é o principal componente da parede celular em plantas, sendo um polissacarídeo altamente resistente e que confere rigidez à estrutura do vegetal.

Figura 12 - Placas com meio de cultura específico utilizados para o teste.



Legenda: Placas com meio de cultura específico utilizados para o teste de atividade enzimática, são eles: ligninolítica (a), lipolítica (b), amonificação (c), proteolítica (d), amilolítica após inundar com solução de lugol (e), celulolítica após inundar com solução de lugol (f), solubilizante de fosfato de cálcio (g) e pectinolítica após inundar com solução de lugol (h). **Fonte:** Do autor (2017).

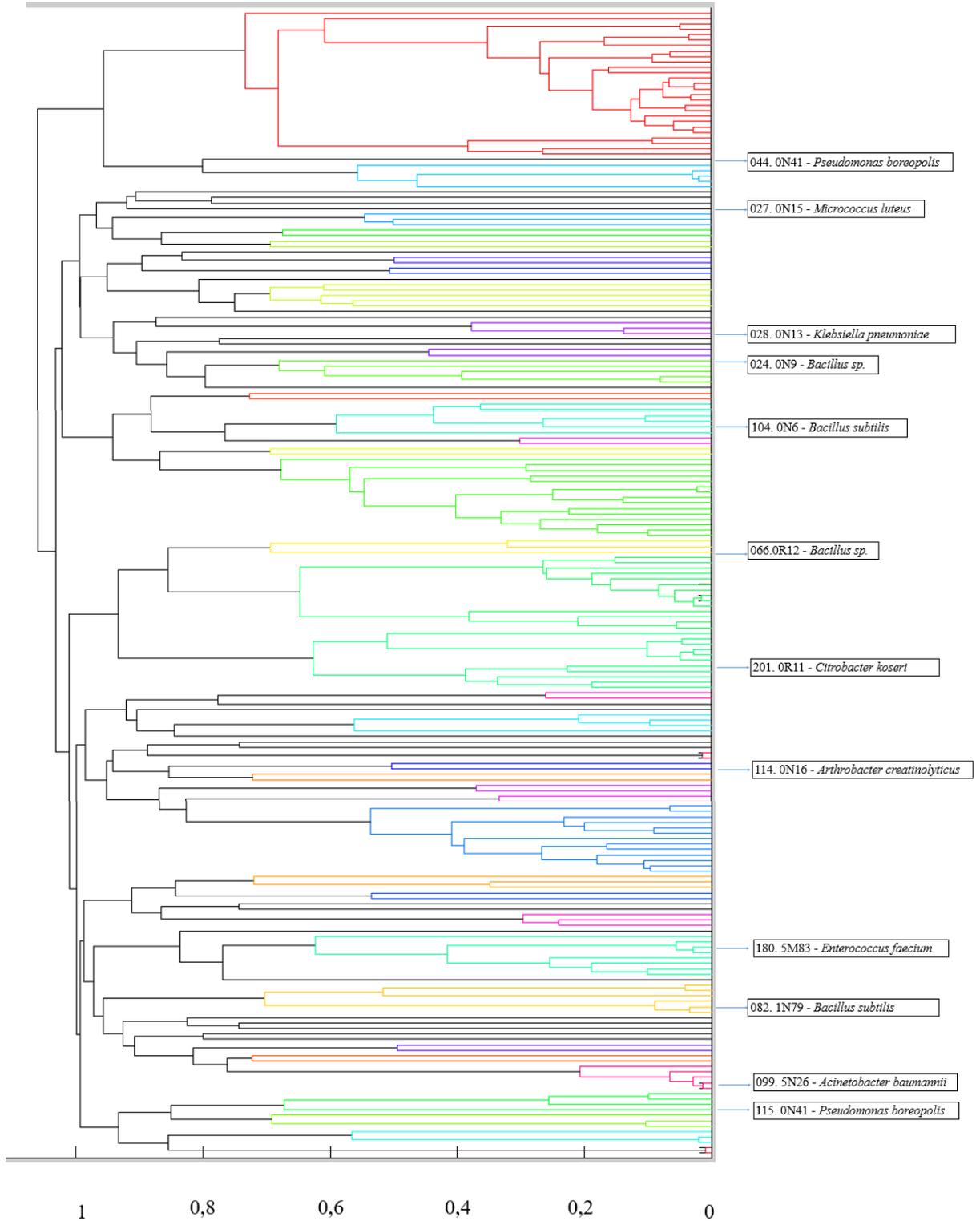
Foram encontradas grandes quantidades de isolados com atividade celulíticas na fase termofílica, presumivelmente devido à natureza termotolerante da enzima com maior atividade hidrolítica em altas temperaturas, já que a celulose possui estrutura mais complexa para a degradação (HORIKOSHI, 2001). Foram observados também 27,71% para amilase, 32,53%

proteínase, amonificação 18,07%, 16,86% solubilizadoras de fosfato e apenas 4,81% para degradação de pectina. As pectinases formam um grupo de enzimas que degradam substâncias pécnicas, hidrolisando ligações glicosídicas ao longo da cadeia carbônica. São usadas pelas indústrias de alimentos no amadurecimento de frutas e estão presentes em frutas cítricas, pera, pêsego e na maçã, principalmente. Para cada tipo de enzima específica há uma temperatura ótica, na qual a velocidade da reação é máxima, permitindo que a desnaturação enzimática não ocorra.

A maioria dos estudos com compostagem focam em inoculação de microrganismos específicos (VOBERKOVA et al., 2016; NAKASAKI E HIRAI, 2017; ZHONG et al., 2018), que deveriam ser inoculados a depender da matéria-prima, devido à sua composição. O mais comum, nos rótulos descritos por fabricantes de inoculantes, é o aumento da taxa de degradação e conseqüente redução do tempo de compostagem, porém o experimento não apresentou diferença entre os tratamentos inoculados e o controle.

A identificação inicialmente daqueles que apresentaram qualquer atividade enzimática, ainda que menores que o IE, se deu pela técnica de MALDI-TOF, afim de agrupar os isolados por espectrometria de massa, poucos isolados foram identificados e conferidos em relação a sua presença ao longo do processo conforme a caracterização morfológica (Figura 13).

Figura 13 - Dendograma de agrupamento de isolados segundo o MALDI-TOF e localização dos principais isolados identificados.



Alguns trabalhos tem relatado que as atividades microbianas são inibidas ou reduzidas com o aumento da temperatura (JURADO et al., 2014; NAKASAKI E HIRAI, 2017), entretanto podemos observar a presença de microrganismos mesofílicos em fases com temperaturas mais elevadas (Tabela 09), ainda que em quantidade menores. Embora os isolados sejam considerados mesofílicos e cultivados a uma temperatura de 32°C, a maioria entre os que degradam proteína como *Arthrobacter creatinolyticus*, *Micrococcus luteus*, ambos identificados em outros trabalhos com compostagem (LÓPEZ-GONZALEZ, 2015) e *Bacillus sp.*, dentre outros que degradam pectina foram isolados da fase termofílica da compostagem. Isso pode ter ocorrido devido à formação de “ilhas de temperatura”, que significa ambientes dentro da pilha com temperaturas diferentes, seja mais alta ou baixo, que o restante da célula, mantendo assim a microbiota característica de fases anteriores, na fase amostrada. As *Arthrobacter* apresentam colônias circulares, lisas e amareladas em agar nutriente com diâmetro de cerca de 1-15 mm após 24 h de cultura em temperatura adequada, sendo possível sua identificação.

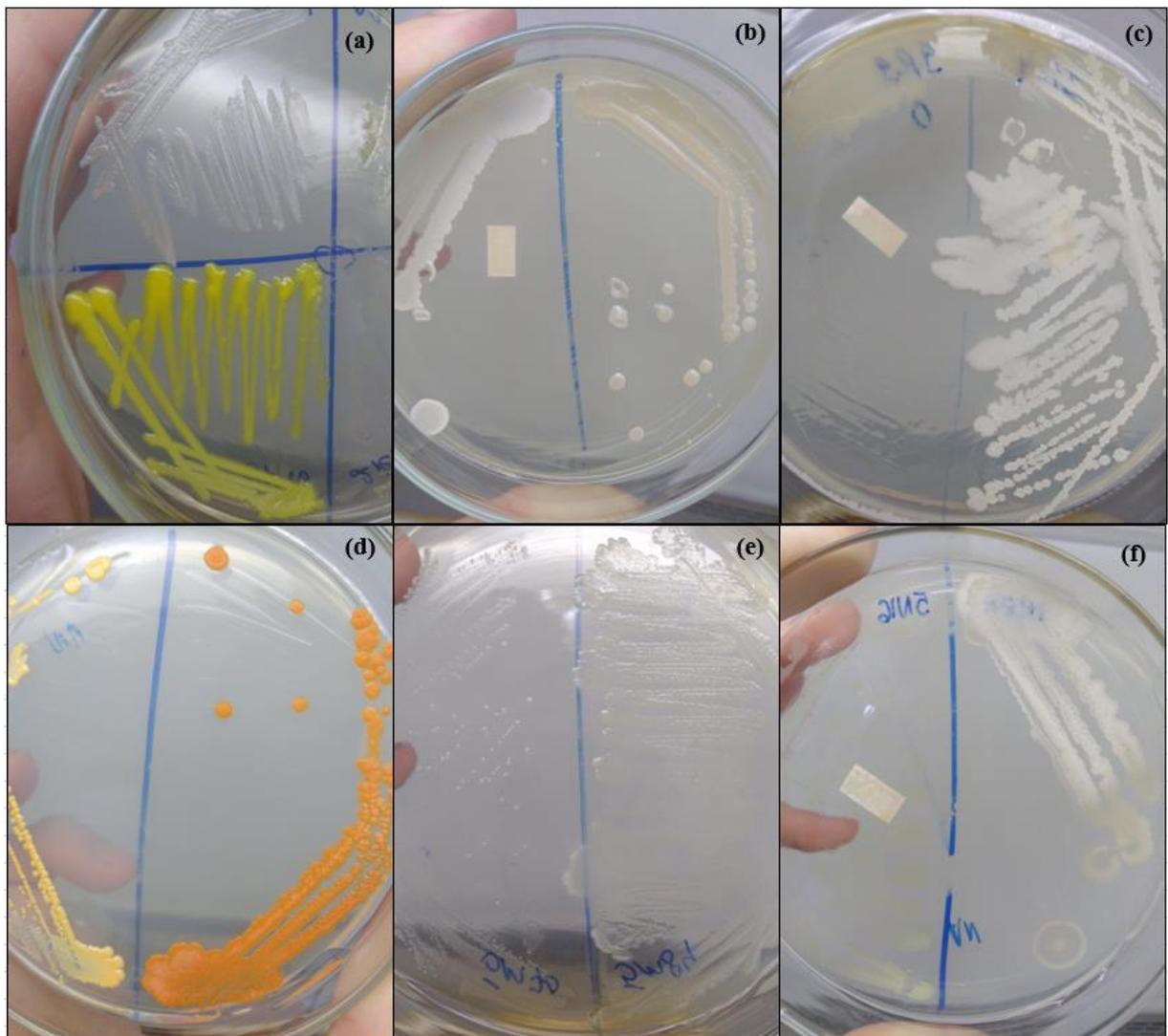
Tabela 09 - Microrganismos persistentes isolados da compostagem nas diferentes fases, de acordo com a similaridade morfológica.

Cod.	Tratamento	Tempo (em dias)								Isolado*
		0	5	10	20	40	60	90	120	
0N13	Comercial A	+	+	+	+	+	-	-	+	<i>Klebsiella sp.</i>
0N15	ME Inóculo	+	+	-	+	-	-	-	+	<i>Micrococcus sp.</i>
0N16	ME Inóculo	+	+	-	+	+	-	+	+	<i>Arthrobacter sp.</i>
0N41	Comercial B	+	-	+	+	+	-	-	+	<i>Pseudomonas sp.</i>
0N6	Controle A	+	+	+	+	-	+	-	-	<i>Bacillus sp.</i>
0N9	Controle A	+	+	+	+	-	-	-	-	<i>Bacillus sp.</i>
0R11	Controle A	+	+	-	+	+	+	-	+	<i>Citrobacter sp.</i>
0R12	MA Inóculo	+	+	+	+	-	+	-	-	<i>Bacillus sp.</i>
1N79	MATA A	+	+	+	+	+	-	-	-	<i>Bacillus sp.</i>
5M83	Comercial A	-	+	-	-	-	-	-	-	<i>Enterococcus sp.</i>
5N26	Comercial C	-	+	-	+	+	+	-	-	<i>Acinetobacter sp.</i>
1N18	Controle B	-	-	+	+	+	-	-	-	<i>Micrococcus sp.</i>
1N91	MATA B	+	+	+	+	+	-	-	+	<i>Acinetobacter sp.</i>

*Identificação atribuída de acordo com Maldi-Tof.

Citrobacter sp. é um gênero de bactérias Gram-negativas da família Enterobacteriaceae identificada em outros trabalhos por Guan (2004), Calvo (2014), López-Gonzalez (2015), comum em água e no solo, produzem odores desagradáveis e são importantes em relação à saúde pública, por algumas espécies serem patogênicas, podendo causar infecções do trato urinário e outras em humanos e animais (COLLINS AND LYNE'S, 2004). A seguir as imagens de alguns dos microrganismos isolados durante o processo de compostagem, em placa:

Figura 14 - Isolados obtidos do processo de diluição seriada e ao longo do tempo, testados quanto à atividade enzimática.



Legenda: Isolados obtidos e testados quanto a atividade enzimática: (a)6M7:1245 e 0N16:124; b) 1N46:124 e 1N69; (c) 9R9:1,4,5,6 e 9R4:1,2,4,5,6; (d) 1N29:124 e 1N25:124; (e) 5M70 e 5M84; (f) 5N16:124 e 1N87, onde celulítica (1); amilase(2), pectinase(3), proteinase (4), amonificação (5) e solubilizadora de fosfato(6). Fonte: Do autor (2017).

Dentre os gêneros identificados, a comunidade do gênero *Bacillus* sp. se mostrou predominante principalmente nas fases iniciais da compostagem. Esse gênero produz endósporos e toleram as altas temperaturas encontradas no início do processo, podendo crescer e se reproduzir mesmo em temperaturas de 80°C (ZHAO, 2016), fator de grande relevância e preponderante para diminuição da biodiversidade de outras espécies.

1.3.3 Teste de germinação

A taxa de germinação de sementes para cultivares de alface aumentou progressivamente com o aumento da concentração do chá de composto com inóculo ambiental até 75% e depois diminuiu com concentração de 90%. Em relação aos tratamentos controle e comercial, o teste não apresenta uma linearidade ocorrendo uma melhor germinação nas concentrações de 25% e 75% para sementes de alface.

Em sementes de berinjela o tratamento com inóculo ambiental e comercial apresentaram poucas diferenças entre as concentrações de 50% e 90%. O tratamento comercial teve resposta semelhante ao tratamento ambiental com valores decrescentes de SG: 0,4>0,2>0,15>0,15 para proporções respectivas, 0%, 25%, 50%, 75% e 90%. Nagda (2006) constataram que, quando se trata de efluente industrial em maior concentração, a eficiência de germinação das sementes diminui, resultados semelhantes ao do experimento, em relação a concentrações maiores. O índice germinativo (IG) para berinjela teve valores decrescentes para os tratamentos com inóculos ambiental e comercial em relação ao aumento das concentrações. Com o tratamento controle o IG apresentou os seguintes valores: 0,512>0,002<0,004<0,007, para as concentrações 25%, 50%, 75% e 90% respectivamente, conforme a tabela:

Tabela 10 - Índice germinativo para alface e da berinjela nas seguintes concentrações.

Tratamentos	Índice de Germinação							
	Alface				Berinjela			
	25%	50%	75%	90%	25%	50%	75%	90%
CO	0,14	0,1	0,38	0,1	0,51	0	0	0,01
AM	0,07	0,18	0,51	0,22	2,22	0,01	0,02	0,01
EM	0,29	0,7	0,22	0,49	2,01	0,01	0	0

A pressão osmótica do composto aumenta com concentrações mais elevadas de sais totais, dificultando a inibição e retardando a eficiência da germinação (LAVEZO et al., 2015). A Germinação Relativa de Semente (RSG) para sementes de alface apresentou melhores

resultados para o tratamento comercial com valores de $1,2 < 1,5 > 1,3 < 1,5$ para as concentrações 25%, 50%, 75% e 90% respectivamente, enquanto para berinjela somente o tratamento comercial a concentração de 25%. Quanto ao índice de germinação total - IG total, os tratamentos com inóculo comercial em sementes de alface e o tratamento com inóculo ambiental em sementes de berinjela obtiveram valores mais altos de 0,425 e 0,566.

A capacidade de germinação das sementes sob alta pressão osmótica difere com a variedade e também com a espécie. O tratamento controle atrasou a germinação das sementes tanto de alface como nas sementes da berinjela com maiores valores de IR, com valores mais altos de IR nas concentrações de 50% e 75% em sementes de berinjela. Isto pode ser devido a uma baixa de umidade que poderia elevar o teor de salinidade (JARA-SAMANIEGO et al., 2017). Os valores mais altos do índice RRC são encontrados nos tratamentos comerciais e ambientais e no controle, conforme a tabela a seguir:

Tabela 11 - Taxa de Crescimento Relativo da Radícula – RRC nas diferentes concentrações para alface e berinjela.

Crescimento relativo de radícula – RRC								
Tratamentos	Alface				Berinjela			
	25%	50%	75%	90%	25%	50%	75%	90%
Controle	0,14	0,12	0,38	0,14	0,77	0,01	0,01	0,01
Ambiental	0,11	0,18	0,36	0,24	1,33	0,01	0,02	0,01
Comercial	0,24	0,47	0,17	0,33	1,51	0,01	0,01	0,01

1.4 CONCLUSÃO

O estudo não apresentou diferenças significativas entre os tratamentos com e sem inoculação, quanto a quantificação da microbiota. Com isso, foi possível constatar que o uso do inoculante ambiental com acompanhamento técnico na própria propriedade, pode ser tão eficiente quanto o uso de inoculante comercial, com base nos parâmetros físicos, que possam favorecer a condução do processo adequadamente. Algumas bactérias presentes durante o processo de compostagem apresentaram tolerância térmica em relação as mudanças de fase, observado em ambos os tratamentos tal característica. A máxima biodiversidade se dá no início e no meio do processo e a microbiota tem um papel determinante na compostagem, exibindo um potencial biotecnológico provado com IE superiores aos encontrados como referência na literatura. A toxicidade do extrato do composto passa a prejudicar a planta apenas quando as

concentrações são maiores, apresentando um maior índice germinativo em concentrações mais baixas.

1.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abdullah, N.; Chin, N. L.; Mokhtar, M. N.; Taip, F. S. Effects of bulking agents, load size or starter cultures in kitchen-waste composting. *International Journal of Recycling of Organic Waste in Agriculture*, 2(1), 1–10. <https://doi.org/10.1186/2251-7715-2-3>, 2013.

ABREU-JUNIOR, C. H.; BOARETTO, A. E.; MURAOKA, T.; AND KIEHL, J. D. C. Uso agrícola de resíduos orgânicos potencialmente poluentes: Propriedades químicas do solo e produção vegetal. *Research Gate*, 2015.

ALTIERI, R., ESPOSITO, A. Olive orchard amended with two experimental olive mill wastes mixtures: effects on soil organic carbon, plant growth and yield. *Bioresour Technology*, 8390-3, 2008.

ASSIS, M. P. D.; VALLONE, H. S.; SENE, M. G. T. D.; MELLO, I. E. D.; OLIVEIRA, J. N. S. D. Produção de rabanete em função de doses de composto orgânico na semeadura. *Anais do Seminário de Pesquisa e Inovação Tecnológica-SEPIT 1*, 2017.

AWASTHI, M.K.; WANG, Q.; AWASTHI, S.K.; WANG, M.J.; CHEN, H.Y.; REN, X.N.; ZHAO, J.C.; ZHANG, Z.Q.; Influence of medical stone amendment on gaseous emissions, microbial biomass and abundance of ammonia oxidizing bacteria genes during bio- solids composting. *Bioresour. Technol.* 247, 970–979. 2018.

AZUMA, M. V. P. Actinobactérias com potencial biotecnológico isoladas da região entre-marés da Ilha do Mel - PR, Brasil. **Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia, Parasitologia e Patologia, Área de concentração em Microbiologia**, Departamento de Patologia Básica, Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, 2011.

BAUMAN, ZYGMUNT. **Globalização: As consequências humanas**. Tradução: Marcus Penchel, Jorge Zahar, Rio de Janeiro, 1999.

BARBOSA, S. S.; TAROCO, G.; SOARES, L.; ZANINI, M. S.; ALMEIDA, E. F. A. D.; LESSA, M. A.; MAURICIO, R. M., CAMPOS, W. G. D.; MADUREIRA, A. P. Compostagem como alternativa para o tratamento de resíduos sólidos provenientes de biotério de criação. *Revista da Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório*, São Paulo, 291-354. 2014.

BREED, R. S.; MURRAY, E. G. D.; SMITH, N. R. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. **The Williams & Wilkins Company**. 1957

BONFIM, F. P. G. H.; ISABELA C. G.; REIS, I. L. Caderno dos Microrganismos Eficientes (EM) - Instruções práticas sobre o uso ecológico e social do EM, 2011.

BUZZINI P., MARTINI A. Extracellular enzymatic activity profiles in yeast and yeast-like strains isolated from tropical environments. *Journal Application Microbiology*, 1020-5, 2002. CALVO, P.; NELSON L. KLOPPER. Agriculture uses of plant biostimulants. **Plant Soil**. 2014.

CARON, V. C.; GRAÇAS, J. P.; CASTRO, P. R. D. C. E. Condicionadores do solo: ácidos húmicos e fúlvicos. Piracicaba: ESALQ - Divisão de Biblioteca Digital da Câmara dos DEPUTADOS. 2015.

CASTRO, A. M. D.; JR., N. P. Produção, propriedades e aplicação de celulases na hidrólise de resíduos agroindustriais. **Química Nova**, No. 1 33, 181-188. 2010.

CHAN, M. T., SELVAM, A., & WONG, J. W. C. Bioresource Technology Reducing nitrogen loss and salinity during 'struvite' food waste composting by zeolite amendment. **Bioresource Technology**, 200, 838–844. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.10.093>, 2016.

CERRI, C.E.P.; FEIGL, B.; CERRI, C.C. Dinâmica da matéria orgânica do solo na Amazônia. In: SANTOS, G. de A.; SILVA, L.S. da; CANELLAS, L.P.; CAMARGO, F. de O. (Ed.). **Fundamentos da matéria orgânica do solo: ecossistemas tropicais e subtropicais**. 2.ed. rev. atual. Porto Alegre: Metrópole, p.325-358, 2008.

CESARO, A., BELGIORNO, V., GUIDA, M. Compost from organic solid waste: Quality assessment and European regulations for its sustainable use. **Resources, Conservation and Recycling**, 94, 72–79, 2015.

CHENNAOUI, M.; SALAMA, Y.; MAKAN, A.; MOUNTADAR, M. Valorisation Agricole D'un Compost Produit À Partir Du Compostage en Cuve Des Déchets Municipaux. **European Scientific Journal**, 2016.

Collins CH, Lyne PM, Grange JM, Falkinham JO, **Microbiological Methods**, 8 edição, Euston Road, London NW1, 2004.

COLOMBO, L. T.; OLIVEIRA, M. N. V.; CARNEIRO, D. G.; SOUZA, R. A.; ALVIM, M. C. T.; SANTOS, J. C.; SILVA, C. C.; VIDIGAL, P. M. P.; SILVEIRA, W. B.; PASSOS, F. M. L. Applying functional metagenomics to search for novel lignocellulosic enzymes in a microbial consortium derived from a thermophilic composting phase of sugarcane bagasse and cow manure. Antonie van Leeuwenhoek, **International Journal of General and Molecular Microbiology**, 109(9), 1217–1233. <https://doi.org/10.1007/s10482-016-0723-4>, 2016.

COURTNEY, R., & MULLEN, G. Use of Germination and Seedling Performance Bioassays for Assessing Revegetation Strategies on Bauxite Residue, **Water, Air, and Soil Pollution**, 15–22. <https://doi.org/10.1007/s11270-008-9787-8>. 2009.

COUTINHO A. M. CADERNO DOS MICRORGANISMOS EFICIENTES (EM) **Instruções práticas sobre uso ecológico e social do EM**. 2011.

ECHEVERRI, M. C.; CARDELLI, R.; BEDINI, S.; AGNOLUCCI, M.; CRISTANI, C.; SAVIOZZI, A.; NUTI, M. Composting Wet Olive Husks with a Starter Based on Oil-Depleted Husks Enhances Compost Humification. **Compost Science & Utilization**, vol 19, n°3, 182-188, 2011.

EKINCI, K., KEENER, H.M., ELWELL, D.L., Composting short paper fiber with broiler litter and additives. **Compost Science & Utilization**. 10, 16–28. 2002.

Embrapa, Documentos 132, Manual de Métodos de Análise de Solo, **Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária Embrapa Solos**, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2ª edição, 2011.

EPSTEIN, E. The Science of composting. **Techonomic Publishing Company**, 487. 1997.
FAQUIN, V. Diagnose do estado nutricional das plantas/ Valdemar Faquin, Lavras: **Curso de pós-graduação "latu-senso"** (especialização), Editora UFLA, 2017.

FEDERICI, E.; PEPI, M.; ESPOSITO, A.; SCARGETTA, S.; FIDATI, L.; GASPERINI, S.; GIOVANNI, C.; ALTIERI, R. Two-phase olive mill waste composting: Community dynamics and functional role of the resident microbiota; **Bioresource Technology** 102, 10965–10972, 2011.

FERNANDEZ, D. J.; PRAHAUSER, B.; WALTER, A.; INSAM, H.; FRANKE-WHITTLE, I. H. Co-composting of biowaste and wood ash, influence on a microbially driven-process. **Waste Management**, 46, 155-64. 2015.

FERREIRA, C. et al. Evaluation of a potential starter culture for enhance quality of coffee fermentation. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 29, p. 235–247, 2013.
FUCIÑOS, P. et al. Identification of extracellular lipases/esterases produced by *Thermus thermophilus* HB27: Partial purification and preliminary biochemical characterisation. **Journal of Biotechnology**, v. 117, p. 233–241, 2005.

GOMES, T. C. D. A. Resíduos orgânicos no processo de compostagem e sua influencia sobre a matéria orgânica do solo em cultivo de cana-de-açúcar. **Tese - Doutorado em Ciência do Solo**, Universidade Federal Rural de Pernambuco. 2011.

GABHANE, J.; WILLIAM, S. P.; BIDYADHAR, R.; BHILAWE, P.; ANAND, D.; VAIDYA, A. N.; WATE, S. R. Additives aided composting of green waste: effects on organic matter degradation, compost maturity, and quality of the finished compost. **Bioresour Technology**. 114, 382-8. 2012.

GUAN, J. SPENCER J.; SAMPATH M.; DEVENISH J. The fate of a genetically modified *Pseudomonas* strain and its transgene during the composting of poultry manure, Can. **Journal Microbiology** 50, 415-421, 2004.

He, Y., Xie, K., Xu, P., Huang, X., Gu, W., Zhang, F., and Tang, S. Evolution of microbial community diversity and enzymatic activity during composting. **Research Microbiology**, 164, 189-98. 2013.

HUANG, D.; QIN, X.; XU, P.; ZENG, G.; PENG, Z.; WANG, R.; WAN, J.; GONG, X.; XUE, W. Composting of 4-nonylphenol-contaminated river sediment with inocula of *Phanerochaete chrysosporium*. **Bioresour. Technol.** 221, 47–54, 2016.

HORIKOSHI, K., Lignocellulose Converting Enzymes from Thermophiles. **Extremophiles Handbook**. Springer, New York, pp. 444–453. 2001.

INÁCIO, C. T; MILLER, P. R. M. Compostagem: ciência e prática para a gestão de resíduos orgânicos. **Embrapa Solos**, Rio de Janeiro, 156 p. 2009.

INFORSATO, F. J.; PORTO, A. L. M. Atividade Enzimática De Celulases Pelo Método Dns De Fungos Isolados De Sementes Em Germinação. **Revista Brasileira de Energias Renováveis**, 5(4), 444–465, 2016.

Isabel, M., Soares, A., Jr, P., Fernandes, L., Maltempi, E., Souza, D., ... Magalhães, L. Rapid identification of bacterial isolates from wheat roots by high resolution whole cell MALDI-TOF MS analysis. *Journal of Biotechnology*, 165(3–4), 167–174. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2013.04.001>. 2013.

JACOBI, P. Educação Ambiental, Cidadania E Sustentabilidade. **Cadernos de Pesquisa**, n. 118, p. 189-205, março/ 2003.

JANA, B. B.; ROY, S. K. Distribution patterns of protein mineralizing and ammonifying bacterial populations in fish-farming ponds under different management systems *Aquaculture*. [s.l: s.n.]. 1985.

JARA-SAMANIEGO, J.; PÉREZ-MURCIA, M. D.; BUSTAMANTE, M. A.; PAREDES, C.; PÉREZ-ESPINOSA, A.; GAVILANES-TERÁN, I. MORAL, R. Development of organic fertilizers from food market waste and urban gardening by composting in Ecuador. **PLoS ONE**, 12(7), 1–17. 2017.

JURADO, M. M.; LÓPEZ, M. J.; MORENO, J. Increasing native microbiota in lignocellulosic waste composting : Effects on process efficiency and final product maturity. **Process Biochemistry**, 49(11), 1958–1969. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2014.08.003>. 2014a

JURADO, M. M.; SUAREZ-ESTRELLA, F.; VARGAS-GARCIA, M. C.; LOPEZ, M. J.; LOPEZ-GONZALEZ, J. A.; MORENO, J. Evolution of enzymatic activities and carbon fractions throughout composting of plant waste. **Environmental Management** 133, 355-64. 2014b.

KHALIQ, A.; ABBASI, M. K.; HUSSAIN, T. Effects of integrated use of organic and inorganic nutrient sources with effective microorganisms (EM) on seed cotton yield in Pakistan. **Bioresource Technology**, 97(8), 967–972. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2005.05.002>. 2006.

KARNCHANAWONG, S., AND NISSAIKLA, S. Effects of microbial inoculation on composting of household organic waste using passive aeration bin. *International Journal of Recycling of Organic Waste in Agriculture* 3, 113-119, 2014.

KIBLER, K. M.; REINHART, D.; HAWKINS, C.; MOTLAGH, A. M.; WRIGHT, J. Food waste and the food-energy-water nexus: A review of food waste management alternatives. **Waste Management**. 52–62. 2018.

KIEHL, E. J. Manual de Compostagem: maturação e qualidade do composto. 1998.
LAVEZO, A.; BRAGA, L. F.; BATISTÃO, A. C.; BONFANTE, L. V. Estresse osmótico na germinação de sementes de *Petiveria alliacea* L. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Campinas, v.17, n.4, p.622-630, 2015.

LIMA, C. D.L.C.; LIMA, L. A.; CERQUEIRA, M. M.O.P.; FERREIRA, E. G.; ROSA, C. A. Bactérias do ácido láctico e leveduras associadas com o queijo-de-minas artesanal produzido na região da Serra do Salitre, **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Minas Gerais. v. 61, 1, 2009.

LIMAYE, L.; PATIL, R.; RANADIVE, P.; KAMATH, G. Application of Potent Actinomycetes Strain of Bio-Degradation of Domestic Agro-Waste by Composting and Treatment of Pulp-Paper Mill Effluent, Scientific Research Publishing, **Advances in Microbiology**, 7, 94-108, 2017.

LOPEZ-GONZALEZ, J. A.; VARGAS-GARCIA MDEL, C.; LOPEZ, M. J.; SUAREZ-ESTRELLA, F., JURADO, M.; MORENO, J. Enzymatic characterization of microbial isolates from lignocellulose waste composting: chronological evolution. **Journal Environmental Management** 145, 137-46, 2014.

LÓPEZ-GONZÁLEZ, J. A., SUÁREZ-ESTRELLA, F., VARGAS-GARCÍA, M. C., LÓPEZ, M. J., JURADO, M. M., & MORENO, J. Dynamics of bacterial microbiota during lignocellulosic waste composting: Studies upon its structure, functionality and biodiversity. **Bioresource Technology**, 175, 406–416. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.10.123>. 2015.

LUO, Y., LIANG, J., ZENG, G., CHEN, M., MO, D., LI, G., & ZHANG, D. Seed germination test for toxicity evaluation of compost : Its roles , problems and prospects Seed germination test for toxicity evaluation of compost : Its roles , problems and prospects. **Waste Management**, (October). <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2017.09.023>. 2017.

MAÑASP.; DE LAS HERAS J. Phytotoxicity test applied sewage sludge using *Lactuca sativa* L. and *Lepidium sativum* L. seeds. **International Journal Environmental Science Technology** (2018) 15:273–280, 2017.

MARTINS L. F.; ANTUNES L.P, PASCON R.C. OLIVEIRA J.C.F.O.; DIGIAMPIETRI L.A. BARBOSA D.; PEIXOTO BM. VALLIM M.A. VERJOVSKI-ALMEIDA S. SILVA, A.M.; SETUBAL J.C. Metagenomic Analysis of a Tropical Composting Operation at the São Paulo Zoo Park Reveals Diversity of Biomass Degradation Functions and Organisms, **Plos One**, vol 8 issue 4, 2013.

MENDES PM; BECKER R.; CORREA LB; BIANCHI I.; DAI PRA MA; LUCIA TJR; CORREA EK. Phytotoxicity as an indicator of stability of broiler production residues. **Journal of Environmental Management**. 167:156–159, 2016.

MICAELA A.R. S.; MARGARIDA J. Q.; MARCO S. R.; ROSA QUINTA-FERREIRA, Assessment of co-composting process with high load of an inorganic industrial waste, **Waste Management**, 2017.

MINOTTO, E.; MILAGRE, L. P.; OLIVEIRA, M. T.; SAND, S. T. V. D. Enzyme Characterization of Endophytic Actinobacteria isolated from Tomato Plants. **Journal of Advanced Scientific Research**, 2014.

MONDA, V.; VILLANO, I.; MESSINA, A.; VALENZANO, A.; ESPOSITO, T.; MOSCATELLI, F.; VIGGIANO, A. CIBELLI, G.; CHIEFFI, S.; MONDA, M.; MESSINA, G. Exercise modifies the gut microbiota with positive health effects. **Oxidative Medicine and**

Cellular Longevity, v. 2017, p. 1-8, 2017.

MOREIRA, F. M. D. S.; CARES, J. E.; ZANETTI, R.; STURMER, S. L. **O Ecossistema Solo - Componentes, Relações Ecológicas e efeitos na Produção Vegetal**. 352, 2006.

MORENO, J., LÓPEZ, M. J., GARCÍA, M. C. V., & ESTRELLA, F. S. Recent Advances in Microbial Aspects of Compost Production and Use, 443–458, 2013.

NAGDA, G.K., DIWAN, A.M., GHOLE, V.S. Seed germination bioassays to assess toxicity of molasses fermentation based bulk drug industry effluent. *Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry* 5(6), 1598-1603, 2006.

NAKASAKI, K., HIRAI, H.; Temperature control strategy to enhance the activity of yeast inoculated into compost raw material for accelerated composting, **Waste Management**, 29-36, 2017.

OLIVEIRA, A. N.; OLIVEIRA, L. A.; ANDRADE, J. S.; CHAGAS-JUNIOR, A. F. Hidrolíticas Extracelulares de isolados de rizóbia nativos da Amazônia central, Amazonas, Brasil. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, n. 4, p. 853-860, out-dez. 2006. OLIVEIRA M. F. identificação e caracterização de actinomicetos isolados de processo de compostagem. **Dissertação apresentada como um dos requisitos para obtenção do grau de Mestre em Microbiologia Agrícola e do Ambiente**. Porto Alegre. 2003.

ORRICO JUNIOR, M. A. P., ORRICO, A. C. A., FAVA, A. F., SUNADA, N. DA S., SCHWINGEL, A. W., GARCIA, R. G., ... BORQUIS, R. R. A. Crude glycerin in co-composting with laying hen manure reduces N losses. **Scientia Agricola**, 75(5), 361–367. <https://doi.org/10.1590/1678-992x-2016-0478>. 2018.

PASSOS, L. C. Métodos de Aeração de Compostagem utilizando coprodutos da extração de óleo. **Monografia apresentada para obtenção do título de Bacharel em Agronomia - UFLA**, 47. 2014.

PROIETTI, P.; CALISTI, R.; GIGLIOTTI, G.; NASINI, L.; REGNI, L. Composting optimization: Integrating cost analysis with the physical-chemical properties of materials to be composted. **Journal of Cleaner Production**, Perugia, Italy, 1086e1099. 2016.

PATLE, D. S. P. M. P. W., JAGDISH GABHANE, HIYA DHAR, DR. P. B. NAGARNAIK. Microbial Assisted Rapid Composting of Agriculture Residues. **International Journal of Scientific & Engineering Research**. 2014.

PAUL, D. Microorganisms and alfa-amilase: A concise Review. **Innovare Journal of Sciences** 4. 2016.

POINTING. S.B., Quantitative methods for the determination of lignocellulolytic anzyme production by tropical fungi, **Fungal Diversity**, 2, 1999.

QIAN, X., SHEN, G., WANG, Z., GUO, C., LIU, Y., LEI, Z., & ZHANG, Z. Co-composting of livestock manure with rice straw: Characterization and establishment of maturity evaluation system. **Waste Management**, 34(2), 530–535. [https://doi.org/10.1016/j.wasman](https://doi.org/10.1016/j.wasman.2014), 2014.

RAHMAN, J. C. J. M. M. Poultry feather waste management and effects on plant growth. **International Journal of Recycling of Organic Waste in Agriculture**, (0123456789). <https://doi.org/10.1007/s40093-018-0204-z>, 2018.

RAWOTEEA, S. A.; MUDHOO, A.; AND KUMAR, S. Co-composting of vegetable wastes and carton: Effect of carton composition and parameter variations. **Bioresour Technology**, 227, 171-178. 2017.

ROSSOL, C. D.; FILHO, H. S. ; BERTÉ, L. N.; JANDREY P. E.; SHWANTES D.; GONÇALVES, A .C. Caracterização, classificação e destinação de resíduos da agricultura. **Scientia Agraria Paranaensis**, 11, número 4, p.33-43, 2012.

RICH, N.; BHARTI, A.; KUMAR, S. Effect of bulking agents and cow dung as inoculant on vegetable waste compost quality. **Bioresource Technology** 252, 83–90. 2018.

SASAKI, N., SUEHARA, K.I., KOHDA, J., NAKANO, Y., YANO, T. Effects of CN ratio and pH of raw materials on oil degradation efficiency in a compost fermentation process. **Journal of Bioscience Bioengineering**. 96, 47–52. 2003.

SCATAMBURLO, T. M. et al. Spoilage potential of *Pseudomonas* species isolated from goat milk. *Journal of Dairy Science*, 2015.

SCOTON, E. J., BATTISTELLE, R. A. G., BEZERRA, B. S., & AKUTSU, J. A sewage sludge co-composting process using respirometric monitoring method in hermetic rotary reactor. **Journal of Cleaner Production**, 121, 169–175. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2015.04.081>, 2016.

SCHWAN, R.F., COOPER, R.M. AND WHEALS, A.E. Endopolygalacturonase secretion by *Kluyveromyces marxianus* and other cocoa pulp-degrading yeasts. **Enzyma and Microbial Technology**. 21, 234– 244, 1997.

SOARES, M. A. R.; QUINA, M. J.; REIS, M. S.; QUINTA-FERREIRA, R. Assessment of co-composting process with high load of an inorganic industrial waste. **Waste Management**, 59, 80–89. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2016.09.044>. 2017.

STETS MI., PINTO AS.; HUERGO LF.; SOUZA EM.; GUIMARÃES VF.; ALVES AC. STEFFENS MBR. MONTEIRO RA. PEDROSA FO.; CRUZ LM. Rapid identification of bacterial isolates from wheat roots by high resolution whole cell MALDI-TOF MS analysis. **Jornal of Biotechnology**, 167-174, 2013.

STEWART, E. J. Growing Unculturable Bacteria, **Journal of Bacteriology**, 2012.

SYLVESTER-BRADLEY, R.; ASAKAWA, N.; LATORRACA, S.; MAGALHÃES, F. M. M.; OLIVEIRA, L. A.; PEREIRA, R. M. Levantamento quantitativo de microrganismos solubilizadores de fosfato na rizosfera de gramíneas e leguminosas forrageiras na amazônia. **Acta Amazônica**, Manaus, v.1, p.12-22, 1982.

SCATAMBURLO T. M.; A. K. YAMAZI; V. Q. CAVICCHIOLI; F. A. PIERI; NERO L. A. Spoilage potential of *Pseudomonas* species isolated from goat milk, **Journal of Dairy Science** Vol. 98 No. 2, 2015.

SILVA, D. J.; SIGNOR, D.; DEON, M. D. I.; SILVA, J. A. D.; BARROS, J. Q.; LIMA, P. C. P. Avaliação do efeito de aceleradores de compostagem no cultivo de plantas de sorgo, **Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA**, 2017.

SINGH J. S.; PANDEY V. C.; D. P. SINGH. Efficient soil microorganisms: A new dimension for sustainable agriculture and environmental development. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, Uttar Pradesh, India, 140. 339–353. 2011.

SPADOTTO, C.; RIBEIRO, W. **Gestão de Resíduos na Agricultura e Agroindústria**. Fundação de Estudos e Pesquisas Agrícolas e Florestais, 1ª edição, 2006.

SHAN, G.; LU, H.; LI, Q. The properties and dynamic changes of DOM subfractions during food waste and sugarcane leaves co-composting. **Environmental Science and Pollution Research**, 25, 8, 7433 - 7442, 2017.

STRAUSS, M. L. A., JOLLY, N. P., LAMBRECHTS, M. G., AND VAN RENSBURG, P. Screening for the production of extracellular hydrolytic enzymes by non- *Saccharomyces* wine yeasts. **Journal of Applied Microbiology**. 91, 182–190. doi: 10.1046/j.1365-2672.2001.01379. 2001.

SUNADA, S.; ORRICO, A.; CAROLINA, A.; JUNIOR, P. O., ANTÔNIO, M.; CENTURION, R.; OLIVEIRA, D. M. Composting of solid waste from poultry slaughterhouse, **Ciência Rural**, Santa Maria, 178–183. <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20120261>, 2015.

TATÀNO, F.; PAGLIARO, G.; DI GIOVANNI, P.; FLORIANI, E.; MANGANI, F. Biowaste home composting: Experimental process monitoring and quality control. **Waste Management**, 38(1), 72–85. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2015>.

TERRA, M. F. Atividades enzimática de fungos filamentosos isolados de cavernas da caatinga brasileira. 60p. **Trabalho de conclusão de curso** – Universidade Federal de Lavras, Lavras. 2008.

TSAVKELOVA, E.; PROKUDINA, L.; EGOROVA, M.; LEONTIEVA, M.; MALAKHOVA, D.; NETRUSOV, A. The structure of the anaerobic thermophilic microbial community for the bioconversion of the cellulose-containing substrates into biogas. **Process Biochemistry**, 66 (August 2017), 183–196. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2018>.

UENOJO, M.; PASTORE, G. M. Pectinases: Aplicações industriais e Perspectivas. **Química Nova**, 30, 2007.

VALENTE, B. S.; XAVIER, E. G.; MORSELLI, T. B. G. A.; JAHNKE, D. S.; JR., B. S. B.; CABRERA, B. R.; MORAES, P. D. O.; LOPES, D. C. N. Fatores que afetam o desenvolvimento da compostagem de resíduos orgânicos. **Archivos de Zootecnia**, 59-85. 2009.

VÁZQUEZ-CAMPOS, X.; KINSELA, A. S.; BLIGH, M. W.; HARRISON, J. J.; PAYNE, T. E.; WAITE, T. D. Response of microbial community function to fluctuating geochemical conditions within a legacy radioactive waste trench environment. **Applied and Environmental Microbiology**, 83(17), 1–17. <https://doi.org/10.1128/AEM.00729-17>, 2017.

VOBERKOVA, S.; VAVERKOVA, M. D.; BURESOVA, A.; ADAMCOVA, D.; VRSANSKA, M.; KYNICKY, J.; BRTNICKY, M.; ADAM, V. Effect of inoculation with white-rot fungi and fungal consortium on the composting efficiency of municipal solid waste. **Waste Management**. 157-164. 2016.

_____, S.; VAVERKOVÁ, M. D.; BUREŠOVÁ, A.; ADAMCOVÁ, D.; VRŠANSKÁ, M., KYNICKÝ, J.; ... ADAM, V. Effect of inoculation with white-rot fungi and fungal consortium on the composting efficiency of municipal solid waste. **Waste Management**, 61, 157–164. <https://doi.org/10.1016/j.wasman>, 2017.

WANG, L., WANG L., WANG, D. Isolation and Application of Thermophilic and Psychrophilic Microorganisms in the Composting Process, **Waste Biomass Valor** 5:433–440, 2014.

WANG, K., HE, C.; YOU, S.; LIU, W.; WANG, W.; ZHANG, R., ... REN, N. Transformation of organic matters in animal wastes during composting. **Journal of Hazardous Materials**, 300, 745–753. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2015.08.016>, 2015.

WEI, Z. et al. Effect of inoculating microbes in municipal solid waste composting on Broad-Based PCR assay coupled with High-Resolution Melt Analysis. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 48, p. 3410- 3413, 2010.

WIDIASTUTI, H.; WULANINGTYAS, A. Activity of Ligninolytic Enzymes during Growth and Fruiting Body Development of White Rot Fungi *Omphalina* sp. and *Pleurotus ostreatus*. HAYATI **Journal of Biosciences**, v. 15, n. 4, p. 140–144, 2008.

VICENTINI, L. S., CARVALHO, K., AND RICHTER, A. S. Use of Efficient Microorganisms in Compound Prepare. **Revista Brasileira de Agroecologia** 4, 2009.

YOUNG, B.J.; RIZZO, P.F.; RIERA, N.I.; TORRE, V.D.; LÓPEZ, V.A.; MOLINA, C.D.; FERNÁNDEZ, F. E.; CRESPO, D.C.; BARRENA, R.; KOMILIS, D.; SÁNCHEZ, A. Development of phytotoxicity indexes and their correlation with ecotoxicological, stability and physicochemical parameters during passive composting of poultry manure. **Waste Management**. 54, 101–109, 2016.

XIE, X. Y., ZHAO, Y., SUN, Q. H., WANG, X. Q., CUI, H. Y., ZHANG, X., ... WEI, Z. M. A novel method for contributing to composting start-up at low temperature by inoculating cold-adapted microbial consortium. **Bioresource Technology**, 238, 39–47. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.04.036>, 2017.

ZHANG, L.; JIA, Y.; ZHANG, X.; FENG, X., WU, J.; WANG, L.; CHEN, G. Wheat straw: An inefficient substrate for rapid natural lignocellulosic composting. **Bioresource Technology**, 209, 402–406, 2016.

ZHANG, L., & SUN, X. Influence of sugar beet pulp and paper waste as bulking agents on physical, chemical, and microbial properties during green waste composting. **Bioresource Technology**, 267(May), 182–191. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.07.040>, 2018.

Zhao, S.; Cheng, T.; Duo, L. Responses of nematode-community structure in turfgrass soil to microbial filtrates from municipal-solid waste compost. *Journal of Plant Nutrition and Soil*

Science, 176(2), 260–266. <https://doi.org/10.1002/jpln.201200277>, 2013.

ZHONG, X. Z.; MA, S. C.; WANG, S. P.; WANG, T. T.; SUN, Z. Y.; TANG, Y. Q.; ... KIDA, K. A comparative study of composting the solid fraction of dairy manure with or without bulking material: Performance and microbial community dynamics. **Bioresource Technology**, 247(July 2017), 443–452. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.09.116>, 2018.

ZHOU, J., WANG, L., WANG, H., JIANG, L., & JIANG, X. Effects of different ratios of pig manure to fungus residue on physicochemical parameters during composting. **Journal of the Air & Waste Management Association**, 66(5), 499–507. 2016.

ZUCCONI, F., PERA, A., FORTE, M., DE BERTOLDI, M., Evaluating toxicity of immature compost. **BioCycle** 22, 54–57, 1981.

1.6 ANEXOS

1.6.1 ANEXO I

Cód.	Isolados	Tam. (mm)	Da colônia				Halo	Detalhe óptico	Cor	Gram	Forma
			Forma	Elevação	Borda	Superfície					
0M2	EM0(-5)A2	2	circular	convexa	lisa	concentrica	ausente	fosca	amarela	+	cocos
0M22	EM0(-5)B3	1	circular	convexa	lisa	concentrica		brilhante	translúcida	+	cocos
0M29	MA0(-4)A5	1	circular	achatada	lisa	concentrica	ausente	brilhante	translúcida	+	cocos
0M30	CO0(-6)A2	1	circular	convexa	lisa	concentrica	ausente	brilhante	translúcida	+	cocos
0M5	EM0(-6)A1	2	irregular	achatada	crenada	concentrica	ausente	fosca	creme	+	cocos
0M9	EM0(-3)C1	2	circular	cume	crenada	concêntrico	ausente	fosca	creme	+	bacilos
0N12	CO0(-4)12	1	circular	achatada	lisa	concêntrica	ausente	fosca	rosa	+	bacilos
0N13	EM0(-3)A4	2	circular	convexa	lisa	concentrica	presente	brilhante	creme	+	cocos
0N15	EMP(-3)6	2	circular	convexa	lisa	concentrica	ausente	fosca	branca	+	cocos
0N16	EMP(-3)5	2	circular	convexa	lisa	concentrica	ausente	brilhante	amarela	+	cocos
0N41	EM0(-4)B11	1	circular	achatada	lisa	concentrica	ausente	brilhante	amarela	-	cocos
0N6	CO0(-4)6	1,5	circular	achatada	lisa	concêntrica	ausente	fosca c halo	branca	-	bacilos
0N9	CO0(-4)9	1	puntiforme	achatada	lisa	concêntrica	ausente	brilhante	branca	+	cocos
0R11	CO0(-4)A10	1	circular	elevada	crenada	granulosa	presente	fosca	cinza	+	cocos
0R12	MAP(-3)1	1	circular	achatada	lisa	granulosa	ausente	brilhante	branca	+	cocos
0R15	MAP(-3)4	1	irregular	achatada	ondulada	granulosa	ausente	brilhante	creme	+	cocos
0R16	MAP(-3)5	1	irregular	achatada	crenada	granulosa	ausente	brilhante	creme	+	cocos
0R17	MAP(-3)6	1	circular	achatada	lisa	granulosa	ausente	fosca	creme	+	cocos
0R31	EM0(-4)A5	1	circular	achatada	lisa	granulosa	presente	fosca	amarela	+	cocos

0R32	EM0(-4)A6	1	circular	achatada	espiral	granulosa	presente	fosca	azul	+	cocos
0R49	EM0(-4)C6	1	circular	achatada	espiral	granulosa	presente	fosca	cinza	+	cocos
0R59	MA0(-4)B2	1,5	circular	achatada	denteada	concêntrica	ausente	fosca	creme	+	cocos
0R69	MA0(-4)C4	1,5	circular	convexa	lisa	granulosa	ausente	fosca	laranja	+	filamentosa
0R84	EM0(-4)C12	0,2	circular	achatada	lisa	concêntrica	ausente	brilhante	translúcida	+	cocos
12N11	C012(-6)B2	1,5	circular	convexa	lisa	concentrica	presente	brilhante	laranja	+	cocos
12N26	EM12(-6)A6	2	circular	convexa	lisa	concentrica	presente	brilhante	branca	+	bacilos
12N3	C012(-6)A3	2	circular	convexa	lisa	concentrica	ausente	brilhante	creme	-	cocos
1M18	EM10(-5)B3	1	circular	convexa	lisa	concentrica	ausente	brilhante	translúcida	-	cocos
1M29	MA10(-5)B2	1,5	circular	com cume	lisa	concentrica	ausente	brilhante	amarela	-	cocos
1M3	CO10(-5)B1	1	circular	convexa	lisa	concentrica	ausente	fosca	amarela	-	cocos
1M33	MA10(-5)C3	0,5	circular	convexa	lisa	concentrica	ausente	brilhante	branca	-	cocos
1M35	MA10(-5)C5	1,5	circular	achatada	lisa	concentrica	ausente	brilhante	branca	-	cocos
1N106	MA10(-6)C1	2	circular	achatada	crenada	estrias	ausente	fosca	vermelha	+	cocos
1N16	CO10(-6)B5	1,5	circular	achatada	lisa	concentrica	ausente	fosca	branca	+	bacilos
1N18	CO10(-6)B7	2	circular	achatada	crenada	concentrica	ausente	fosca	branca	+	cocos
1N25	CO10(-6)C2	3	circular	umbicada	crenada	concentrica	ausente	fosca	rosa	-	bacilos
1N29	CO10(-6)C6	1,5	circular	convexa	lisa	concentrica	ausente	brilhante	laranja	+	cocos
1N30	CO10(-6)C7	2	circular	convexa	lisa	concentrica	ausente	brilhante	branca	-	cocos
1N43	EM10(-6)A5	2	circular	achatada	lisa	concentrica	ausente	fosca	amarela	+	cocos
1N46	EM10(-6)A8	1	circular	achatada	lisa	concentrica	ausente	brilhante	translúcida	+	cocos
1N53	EM10(-6)B5	1	circular	convexa	lisa	concentrica	ausente	brilhante	translúcida	+	cocos
1N70	EM10(-6)C10	1,5	circular	achatada	lisa	concentrica	ausente	brilhante	translúcida	-	cocos
1N79	MA10(-6)A7	2	circular	achatada	lisa	concentrica	ausente	fosca	laranja	+	bacilos
1N80	MA10(-6)A8	2,5	circular	achatada	crenada	concentrica	ausente	brilhante	translúcida	-	cocos
1N89	MA10(-6)B1	2	circular	achatada	lisa	concentrica	ausente	fosca	branca	+	cocos
1N91	MA10(-6)B3	1,5	circular	achatada	lisa	concentrica	ausente	fosca	creme	+	bacilos

1R17	MA10(-5)B2	1	circular	convexa	crenada	granulosa	presente	fosca	branca	+	cocos
2N111	MA20(-6)C1	1	circular	convexa	lisa	concentrica	ausente	brilhante	branca	+	cocos
2N28	CO20(-6)B7	1	circular	achatada	lisa	concentrica	ausente	brilhante	branca	+	cocos
2R26	CO20(-5)A17	1	circular	achatada	lisa	granulosa	ausente	fosca	branca	+	cocos
2R40	EM20(-6)B4	1	circular	achatada	denteada	granulosa	ausente	fosca	branca/cinza	+	cocos
4M6	CO40(-6)C4	0,5	circular	convexa	lisa	concentrica	ausente	brilhante	translucida	+	cocos
5M21	EM5(-4)A1	3	circular	achatada	lisa	concentrica	ausente	fosca	creme	+	cocos
5M23	EM5(-4)A3	1	puntiforme	convexa	lisa	concentrica	ausente	brilhante	translúcida	+	cocos
5M50	CO5(-4)C2	1,5	circular	convexa	lisa	concentrica	ausente	brilhante	creme	+	cocos
5M52	CO5(-4)C4	1	circular	convexa	lisa	concentrica	ausente	brilhante	branca	+	cocos
5M57	CO5(-6)B4	1	circular	convexa	lisa	concentrica	ausente	fosca	branca	+	diplococos
5M67	EM5(-5)C3	0,5	circular	convexa	lisa	concentrica	ausente	fosca	translúcida	+	cocos
5M83	EM5(-5)A5	0,8	puntiforme	achatada	lisa	concêntrica	pouco	brilhante	branca	+	cocos
5M89	CO5(-6)A2	1	circular	convexa	lisa	concentrica	ausente	brilhante	branca	+	cocos
5N16	MA5(-5)B3	2	circular	convexa	lisa	concentrica	ausente	brilhante	branca	+	bacilos
5N23	MA5(-4)B8	1		achatada	lisa	concentrica	ausente	brilhante	branca	+	cocos
5N26	EM5(-3)C1	1	circular	convexa	denteada	granulosa	ausente	brilhante	creme	+	cocos
5N34	MA5(-3)B1	1	circular	convexa	lisa	concentrica	ausente	brilhante	amarela	+	cocos
5N36	MA5(-5)C1	2	circular	convexa	lisa	concentrica	presente	brilhante	branca	-	-
5R1	CO5(-3)A1	1	circular	convexa	crenada	granulosa	presente	fosca	cinza	+	cocos
5R15	CO5(-6)C5	1	circular	convexa	lisa	concentrica	ausente	brilhante	amarela	+	cocos
5R16	CO5(-6)C6	2	circular	convexa	filamentosa	granulosa	presente	fosca	branca	+	diplobacilos
5R38	MA5(-4)A1	0,5	circular	convexa	lisa	concentrica	ausente	brilhante	translucida	+	cocos
5R42	MA5(-5)A3	1	circular	convexa	crenada	granulosa	presente	fosca	cinza	+	cocos
5R45	MA5(-4)B2	1	circular	convexa	lisa	granulosa	ausente	fosca	branca	+	cocos
5R58	MA5(-4)A3	1	circular	achatada	lisa	granulosa	ausente	brilhante	translucida	+	cocos
5R6	CO5(-3)B1	1	irregular	convexa	lisa	granulosa	ausente	translúcida	-	+	bacilos

5R65	MA5(-4)B3	1	circular	achatada	espiral	granulosa	presente	fosca	cinza	+	cocos
6M21	MA60(-6)A3	2	circular	achatada	crenada	granulosa	presente	fosca	branca	+	cocos
6M4	CO60(-6)C1	1,5	circular	achatada	ondulada	granulosa	ausente	brilhante	creme	+	cocos
6M7	EM60(-6)A1	2	circular	convexa	lisa	granulosa	presente	fosca	creme	+	cocos
9N15	CO9(-6)C2	1	circular	convexa	lisa	concêntrica	presente	brilhante	branca	-	cocos
9N36	EM9(-6)C4	1	circular	convexa	lisa	concêntrica	ausente	brilhante	amarela	+	cocos
9R12	EM9(-6)A2	1	circular	convexa	lisa	concentrica	ausente	fosca	creme	+	bacilos
9R19	EM9(-6)C3	2	circular	côncava	lisa	concentrica	ausente	fosca	branca	+	bacilos
9R4	CO9(-6)B3	3	circular	achatada	lisa	concentrica	ausente	brilhante	translúcida	+	bacilos
9R9	CO9(-6)C1	1	circular	convexa	lisa	concentrica	ausente	fosca	branca	+	bacilos

1.6.2 ANEXO II

Cód.	Isolados	Testes bioquímicos				Índice Enzimático							
		Catalase	Motilid.	Esporul.	Pigmentos	(Cel)	(Ami)	(Pec)	(Pro)	(Lip)	(Amo)	(Sol)	
0M2	EM0(-5)A2	+	+	-	-	3,3	0,0	0,0	0,0	0,0	2,5	0,0	
0M22	EM0(-5)B3	+	+	-	-	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	3,0	
0M29	MA0(-4)A5	+	+	-	-	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	8,0	
0M30	CO0(-6)A2	+	+	-	-	3,0	3,2	2,0	1,0	0,0	1,5	0,0	
0M5	EM0(-6)A1	+	+	-	-	2,1	2,0	0,0	1,5	0,0	1,0	0,0	
0M9	EM0(-3)C1	+	+	-	-	1,6	2,3	0,0	1,0	0,0	1,5	0,0	
0N12	CO0(-4)12	+	+	-	-	3,0	0,0	0,0	2,0	0,0	0,0	0,0	
0N13	EM0(-3)A4	+	+	-	-	2,5	1,0	0,0	0,0	0,0	2,5	0,0	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
0N15	EMP(-3)6	+	-	-	-	2,5	1,3	0,0	2,1	0,0	0,0	0,0	<i>Micrococcus luteus</i>
0N16	EMP(-3)5	+	-	-	-	2,9	0,3	0,0	2,4	0,0	0,0	0,0	<i>Arthrobacter creatinolyticus</i>
0N41	EM0(-4)B11	-	+	-	-	3,0	2,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	<i>Pseudomonas boreopolis</i>
0N6	CO0(-4)6	+	-	-	-	2,4	0,0	0,3	0,7	0,0	0,0	0,0	<i>Bacillus subtilis</i>
0N9	CO0(-4)9	+	-	-	-	3,1	3,0	0,0	0,0	0,0	2,5	0,0	<i>Bacillus sp.</i>
0R11	CO0(-4)A10	+	-	-	-	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	4,0	0,0	<i>Citrobacter koseri</i>
0R12	MAP(-3)1	+	-	-	-	5,1	0,5	0,0	3,0	0,0	0,0	0,0	<i>Bacillus sp.</i>
0R15	MAP(-3)4	+	-	-	+	4,2	0,5	0,0	3,4	0,0	0,0	0,0	
0R16	MAP(-3)5	+	-	-	-	4,0	0,5	0,0	3,5	0,0	0,0	0,0	
0R17	MAP(-3)6	-	-	-	-	0,0	0,0	0,0	4,1	0,0	0,0	0,0	
0R31	EM0(-4)A5	+	-	-	-	5,0	1,1	0,0	2,0	0,0	0,0	0,0	
0R32	EM0(-4)A6	+	-	-	+	5,1	1,5	0,0	3,2	0,0	0,0	0,0	
0R49	EM0(-4)C6	+	-	-	+	3,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	

0R59	MA0(-4)B2	+	-	-	-	2,5	0,1	0,0	0,0	0,0	0,3	0,0
0R69	MA0(-4)C4	-	+	-	-	1,7	0,0	0,0	0,0	0,0	2,0	2,3
0R84	EM0(-4)C12	+	+	-	-	25,0	9,5	13,5	0,0	0,0	0,0	0,0
12N11	C012(-6)B2	+	+	-	-	2,0	0,8	0,0	0,0	0,0	0,7	0,0
12N26	EM12(-6)A6	+	+	+	-	2,0	1,8	0,0	2,5	0,0	0,0	0,0
12N3	C012(-6)A3	+	-	-	-	2,5	1,5	0,0	1,0	0,0	0,0	0,0
1M18	EM10(-5)B3	+	-	-	-	0,0	1,8	0,0	0,0	0,0	0,0	2,1
1M29	MA10(-5)B2	+	-	-	-	0,0	0,0	0,0	2,7	0,0	0,0	0,8
1M3	CO10(-5)B1	+	-	-	-	5,0	1,8	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
1M33	MA10(-5)C3	+	-	-	-	0,0	2,4	0,0	4,0	0,0	10,0	0,0
1M35	MA10(-5)C5	+	-	-	-	4,0	2,3	0,0	4,0	0,0	0,0	0,0
1N106	MA10(-6)C11	+	-	-	-	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	2,3
1N16	CO10(-6)B5	+	-	-	-	3,4	2,0	0,0	2,7	0,0	0,0	0,0
1N18	CO10(-6)B7	+	+	-	-	3,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,5
1N25	CO10(-6)C2	+	-	-	-	2,2	1,5	0,0	1,3	0,0	0,0	0,0
1N29	CO10(-6)C6	+	+	-	-	4,1	3,3	0,0	3,3	0,0	0,0	0,0
1N30	CO10(-6)C7	-	+	+	-	1,6	1,5	0,0	2,5	0,0	0,0	0,0
1N43	EM10(-6)A5	+	+	-	-	3,8	0,5	0,0	2,5	0,0	0,0	0,0
1N46	EM10(-6)A8	+	+	-	-	8,0	4,0	0,0	5,0	0,0	0,0	0,0
1N53	EM10(-6)B5	-	-	-	-	6,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
1N70	EM10(-6)C10	+	-	-	-	3,3	1,4	0,0	3,2	0,0	0,0	0,0
1N79	MA10(-6)A7	+	-	-	-	4,0	2,0	1,0	2,5	0,0	2,0	0,0
1N80	MA10(-6)A8	+	+	-	-	1,6	2,0	0,0	2,4	0,0	0,0	0,0
1N89	MA10(-6)B1	+	+	+	-	2,3	2,0	0,0	3,0	0,0	0,0	0,0
1N91	MA10(-6)B3	+	+	-	-	3,7	2,0	1,0	0,0	0,0	0,0	0,0
1R17	MA10(-5)B2	+	+	-	-	2,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
2N111	MA20(-6)C1	-	+	+	-	2,2	2,0	0,0	1,5	0,0	0,0	0,0

Bacillus subtilis

2N28	CO20(-6)B7	+	+	+	-	3,0	1,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	
2R26	CO20(-5)A17	+	+	-	-	3,0	1,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	
2R40	EM20(-6)B4	+	-	+	-	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	5,0	0,0	
4M6	CO40(-6)C4	+	-	+	-	9,2	4,0	0,0	0,0	0,0	0,0	6,0	
5M21	EM5(-4)A1	+	-	+	-	3,0	0,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	
5M23	EM5(-4)A3	+	-	+	-	2,6	3,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,4	
5M50	CO5(-4)C2	+	-	+	-	0,0	6,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	
5M52	CO5(-4)C4	+	-	+	-	3,0	3,6	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	
5M57	CO5(-6)B4	+	-	+	-	0,7	3,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	
5M67	EM5(-5)C3	+	-	+	-	0,0	4,2	0,0	0,0	0,0	0,0	6,0	
5M83	EM5(-5)A5	+	-	+	-	0,0	1,3	0,0	0,0	0,0	0,0	2,4	<i>Enterococcus faecium</i>
5M89	CO5(-6)A2	+	-	+	-	0,0	2,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,5	
5N16	MA5(-5)B3	+	-	-	-	2,5	2,0	0,0	1,5	0,0	0,0	0,0	
5N23	MA5(-4)B8	+	-	-	-	3,0	1,7	0,0	0,0	0,0	0,0	2,5	
5N26	EM5(-3)C1	+	-	-	-	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	4,0	3,5	<i>Acinetobacter baumannii</i>
5N34	MA5(-3)B1	+	-	-	-	0,0	0,0	0,5	0,0	0,0	3,0	2,0	
5N36	MA5(-5)C1	+	-	-	-	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	2,5	0,0	
5R1	CO5(-3)A1	+	-	+	-	1,5	0,0	3,0	0,0	0,0	0,0	0,0	
5R15	CO5(-6)C5	+	+	+	-	4,1	0,0	0,5	0,1	0,0	0,0	2,0	
5R16	CO5(-6)C6	+	+	-	-	1,5	0,0	0,0	2,5	0,0	0,0	0,0	
5R38	MA5(-4)A1	+	+	-	-	10,4	0,0	3,0	0,0	0,0	0,0	0,0	
5R42	MA5(-5)A3	+	-	+	-	4,6	0,0	1,5	0,0	0,0	0,0	0,0	
5R45	MA5(-4)B2	+	-	+	-	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	3,2	1,0	
5R58	MA5(-4)A3	+	+	-	-	5,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	
5R6	CO5(-3)B1	+	+	-	-	7,1	1,1	0,0	4,1	0,0	0,0	0,0	
5R65	MA5(-4)B3	+	-	-	-	5,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,5	0,0	
6M21	MA60(-6)A3	+	-	-	-	3,1	1,1	1,0	2,0	0,0	1,8	0,0	

6M4	CO60(-6)C1	+	-	-	-	4,6	1,9	0,0	2,7	0,0	0,0	0,0
6M7	EM60(-6)A1	+	-	-	-	3,7	1,0	0,0	1,8	0,0	1,2	0,0
9N15	CO9(-6)C2	-	-	+	-	2,1	0,0	0,0	1,2	0,0	0,0	0,0
9N36	EM9(-6)C4	+	+	-	-	2,2	0,0	0,0	3,0	0,0	0,0	0,0
9R12	EM9(-6)A2	+	+	+	-	1,0	0,0	0,0	0,0	0,0	4,0	0,0
9R19	EM9(-6)C3	+	-	+	-	2,6	0,5	0,0	1,6	0,0	2,0	2,0
9R4	CO9(-6)B3	+	-	+	-	2,2	0,3	0,0	1,0	0,0	1,3	0,7
9R9	CO9(-6)C1	+	+	+	-	7,0	0,0	0,0	2,9	0,0	2,0	2,5
