

# REVISTA AIDIS

de Ingeniería y Ciencias Ambientales:  
Investigación, desarrollo y práctica.

## ISOLAMENTO E CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA DE MICRORGANISMOS PRESENTES NO PROCESSO DE COMPOSTAGEM DE RESÍDUOS DE ORIGEM VEGETAL

Ana Paula de Jesus Santos<sup>1</sup>  
Diane Cordeiro Araújo<sup>1</sup>  
Agnes Kiesling Casalli<sup>1</sup>  
Fabiana Ribeiro Viana<sup>2</sup>  
\* Marcos Paulo Gomes Mol<sup>2</sup>

## ISOLATION AND MORPHOLOGICAL CHARACTERIZATION OF MICROORGANISMS PRESENT IN THE PROCESS OF COMPOSTING LEAF WASTES

Recibido el 20 de diciembre de 2018; Aceptado el 7 de septiembre de 2019

### Abstract

*The management of urban solid waste (USW) represents a major environmental problem nowadays. Composting is one of the proposed solutions to make possible the reuse of part of the organic waste, constituting a controlled aerobic process, developed by a diverse population of microorganisms. The temperature is an important factor that interferes in the continuity of the microbial populations and its it may indicate the phases of degradation. The identification of the microorganisms present in composting is an important step to identify those more efficient, allowing a better control of the process and consequent better efficiency. Therefore, the present study aims to isolate and characterize, from morphological and phenotypic criteria, the microorganisms present in the final product of a leaf compost. The microorganisms were isolated from the final product of this composting process (pilot scale), carried out in a public institution in Belo Horizonte, Brazil. Selective and nonselective culture medium were used to obtain a greater possible variety of microorganisms. For the morphological evaluation of the plants a Gram staining technique was used. Of the analyzed samples, 44% are Gram positive bacilli, 22% Gram negative rods, 6% Gram positive cocci, 28% Gram negative cocci. The predominant aerobic bacteria found were those belonging to the genus bacillus spp., indicating the relevance of these microorganisms for the accomplishment of the composting process. New studies are needed to effect the identification of the species present in the processes of leaf wastes composting and the characterization of the biotechnological potential of these bacteria.*

**Keywords:** organic compost, decomposition, efficient microorganisms.

<sup>1</sup> Centro Universitário UMA, Brasil.

<sup>2</sup> Diretoria de Pesquisa e Desenvolvimento da Fundação Ezequiel Dias, Brasil.

\*Autor correspondente: Divisão de Ciência e Inovação, Diretoria de Pesquisa e Desenvolvimento. Fundação Ezequiel Dias – FUNED. Rua Conde Pereira Carneiro, 80. Bairro Gameleira. Cidade Belo Horizonte. Estado Minas Gerais. Código Postal (CEP) 30510-010. Brasil. Telefone: +55 31 3314-4770. E-mail: [marcos.mol@funed.mg.gov.br](mailto:marcos.mol@funed.mg.gov.br)

## Resumo

A gestão dos resíduos sólidos urbanos (RSU) representa um grande problema ambiental na atualidade. A compostagem é uma das soluções propostas para viabilizar o reuso de boa parte dos resíduos orgânicos, ela constitui-se por um processo aeróbio controlado, desenvolvido por uma população diversificada de microrganismos. A temperatura é um importante fator que interfere na continuidade das populações microbianas e sua representatividade nas fases de degradação. A identificação dos microrganismos presentes na compostagem é um passo importante para a seleção daqueles mais eficientes, permitindo um melhor controle do processo e consequente melhor eficiência. Portanto, o presente estudo tem como objetivo isolar e caracterizar, a partir de critérios morfológicos e fenotípicos, os microrganismos presentes em produto final de uma compostagem de folhas. Os microrganismos foram isolados a partir do produto final deste processo de compostagem (escala piloto), realizado em uma instituição pública em Belo Horizonte/MG. Foram utilizados os meios seletivos, e não seletivos, para obter maior variedade possível de microrganismos. Para avaliação morfológica das bactérias foi utilizada a técnica de coloração de Gram. Das amostras analisadas, 44% são bacilos Gram positivos, 22% bacilos Gram negativos, 6% cocos Gram positivos, 28% cocos Gram negativos. As bactérias aeróbicas predominantes encontradas foram as pertencentes ao gênero *bacillus spp.*, indicando a relevância destes microrganismos para a realização do processo de compostagem. Novos estudos são necessários para efetivar a identificação das espécies presentes nos processos de compostagem de resíduos de origem vegetal e a caracterização de potencial biotecnológico dessas bactérias.

**Palavras chave:** composto orgânico, decomposição, microrganismos eficientes.

## Introdução

A gestão dos resíduos sólidos urbanos (RSU) representa um grande problema ambiental na atualidade (Wieser, 2016). A compostagem é uma das soluções propostas para viabilizar o reuso de boa parte dos resíduos orgânicos (Maia, 2003). O termo compostagem diz respeito à manipulação dos resíduos pelo homem, através de técnicas para acelerar a decomposição e produzir compostos ricos em nutrientes para o solo (De Oliveira *et al.*, 2008).

Quando realizado adequadamente, o processo pode ser adotado como uma alternativa para minimizar os impactos ambientais negativos dos resíduos sólidos (De Figueiredo *et al.*, 2016). O húmus obtido através do processo de compostagem proporciona benefícios para o solo, dentre os quais se destaca a melhoria das propriedades físico-químicas, sendo uma opção para reduzir o uso de fertilizantes químicos (Rocha *et al.*, 2015).

Normalmente, a compostagem constitui-se por um processo aeróbio controlado, desenvolvido por uma população diversificada de microrganismos (De Oliveira *et al.*, 2008). A temperatura deste processo é um importante fator que interfere na continuidade das populações microbianas e sua representatividade nas fases de degradação, sendo elas a mesofílica e a termofílica (Heck *et al.*, 2013).

Na fase mesofílica a temperatura é levemente elevada devido às atividades microbianas que geram grande quantidade de energia na degradação da matéria orgânica. Dessa energia gerada, parte é usada pelos microrganismos para crescimento e movimento, e o restante é liberado como calor.

Na fase termófila a temperatura chega a valores mais elevados, em torno de 45°C a 65°C. Os microrganismos que não são capazes de tolerar essa temperatura são eliminados. Na terceira fase do processo denominada arrefecimento, acontece a diminuição da atividade dos microrganismos, seguida pela fase final de maturação. O composto gerado pela compostagem é um material homogêneo e relativamente estável (Rocha *et al*, 2015; Loureiro *et al*, 2007).

Outro fator de extrema importância para o processo de compostagem é a relação Carbono/Nitrogênio (C/N), já que esse processo tem o objetivo de criar condições para fixação de nutrientes a serem usados como condicionador dos solos. Dentre os nutrientes mais necessários para os microrganismos que envolvem o desenvolvimento de seu metabolismo, o carbono e o nitrogênio são de extrema importância, e sua concentração e disponibilidade podem afetar diretamente o desenvolvimento do processo de compostagem (De Oliveira *et al.*, 2008).

A falta do nitrogênio ocasiona a não reprodução celular dos microrganismos e o carbono é fundamental para as atividades vitais dos mesmos, já que é a sua fonte básica de energia. O carbono, na compostagem, pode ser obtido através de resíduos palhosos, como vegetais secos. Já o nitrogênio pode ser obtido através das células mortas dos microrganismos. A relação C/N mais favorável durante o processo de compostagem, descrita na literatura, é aproximadamente 30/1, sendo que no produto final a relação ideal deve estar em torno de 12/1 (Maragno, *et al.*, 2007).

O tempo gasto para que o processo de compostagem chegue ao seu estágio final depende da umidade, temperatura, quantidade de material, tipo de material, dentre outros. Portanto, em condições favoráveis o processo pode ser mais eficiente, sendo que o tempo de compostagem, incluindo todas as fases, pode variar entre 120 e 130 dias (Wangen e Freitas, 2010).

A identificação dos microrganismos presentes no processo de compostagem é um passo importante para favorecer na seleção daqueles mais eficientes, permitindo desta maneira um melhor controle do processo e conseqüente melhoria da eficiência. Assim, é possível pensar na otimização do processo, proporcionando produção em maior escala e diminuindo o tempo de compostagem até a geração do produto final.

Portanto, o presente estudo tem como objetivos isolar e caracterizar, a partir de critérios morfológicos e fenotípicos, os microrganismos presentes no produto final de uma compostagem de resíduos de origem vegetal.

## Metodologia

### Coleta e preparo do processo de compostagem

A amostra utilizada na análise dos microrganismos foi proveniente de compostagem de resíduos de folhas de árvores e jardins não triturados, coletadas em uma instituição pública localizada em Belo Horizonte, Brasil. Durante todo o processo houve o revolvimento semanal da leira, seguido por umidificação. O processo durou 59 dias, sendo monitorados os parâmetros, temperatura, umidade e pH ao longo de todo o tempo (Costa *et al.*, 2018). A leira atingiu o estágio de maturação ao final do processo.

### Análises Microbiológicas

#### **Isolamento de bactérias**

Para o isolamento de bactérias presentes no material de compostagem de folhas foi pesada 10 g de amostra de húmus previamente homogeneizada e transferida para um volume de 90 mL de água destilada estéril (diluição  $10^{-1}$ ). Em seguida foram realizadas diluições decimais até  $10^{-6}$ , utilizando o mesmo diluente (Dowes & Ito, 2001).

Foram feitas 6 placas por meio de cultura e inoculadas as diluições seriadas até  $10^{-6}$  da amostra do material compostado, chegando a um total de 48 placas. Foram realizadas duplicatas e triplicatas devido a limitações de disponibilidade de insumos. Os meios que houveram o crescimento desordenado, acima de 200 colônias, foram desconsiderados.

#### **Bactérias aeróbicas mesófilas**

Para detectar a presença de bactérias aeróbicas mesófilas foi utilizada a técnica de semeadura em superfície partindo de alíquotas de 0.1 mL das diluições decimais adequadas em Agar PCA. Os meios ágar nutriente (AN), ágar Triptona de soja (TSA) e ágar simples (AS) foram utilizados para obter a maior variedade possível de microrganismos isolados. As culturas foram incubadas em estufa a 37°C por 24 h. Após este período foi procedida à contagem, descrição morfológica e purificação das colônias presentes nos meios. Em seguida, as bactérias foram armazenadas sob congelamento a -20°C em criotubos contendo meio de cultura adequado acrescido de 20% de glicerol P.A. estéril utilizado como agente crioprotetor. Os ensaios foram realizados em triplicata.

#### **Bactérias entéricas**

Para o isolamento de bactérias entéricas foram utilizados os meios seletivos ágar Eosina Azul de Metileno (EMB), ágar Hecktoen entérico, ágar XLD e ágar MacConkey, partindo de alíquotas de 0.1 mL das diluições decimais seguido de estrias por semeadura em superfície das placas de cultivo. Em seguida, as culturas foram incubadas em estufa a 37°C por 48 h. Após este período foi procedida à contagem, descrição morfológica e purificação de colônias típicas presentes nas culturas. Em seguida, as bactérias foram armazenadas sob congelamento a -20°C em criotubos contendo meio de cultura adequado acrescido de 20% de glicerol P.A. estéril utilizado como agente crioprotetor. Os ensaios foram realizados em triplicata.

### **Bactérias do gênero *Pseudomonas***

Para o isolamento de bactérias do gênero *Pseudomonas* foram utilizados os meios seletivos Ágar cetrimida (AC) e Ágar *Pseudomonas* (AP) partindo de alíquotas de 0.1 mL das diluições decimais seguido de semeadura em superfície das placas. As culturas foram incubadas em estufa a 37°C por 48 h. Após este período foi procedida à contagem, descrição e purificação de colônias típicas presentes nos meios. Em seguida, as bactérias foram armazenadas sob congelamento a -20°C em criotubos contendo meio de cultura adequado acrescido de 20% de glicerol P.A. estéril utilizado como agente crioprotetor. Os ensaios foram realizados em triplicata.

#### Identificação bioquímica

##### **Caracterização de bactérias pela técnica de coloração de Gram**

Para a identificação das bactérias isoladas da compostagem de folhas foi utilizada inicialmente a técnica de coloração de Gram (Downes & Ito, 2001). As culturas foram preparadas partindo do esfregaço de um indivíduo colonial (puro) em lâminas para microscopia e fixado sobre chama. Após esta etapa as lâminas foram mergulhadas em diferentes soluções para coloração dos esfregaços. As leituras das lâminas contendo as culturas coradas foram analisadas em microscópio ótico e classificadas segundo o tipo de coloração observado como Gram positivas ou Gram negativas. Em seguida foram realizados testes bioquímicos de atividade enzimática da catalase e da oxidase (Mac Faddin, 2000) partindo de culturas puras de bactérias ativadas em caldo BHI estéril e cultivadas sob a superfície de ágar BHI.

#### Identificação de enterobactérias

Para a identificação presuntiva das espécies de enterobactérias foi utilizado o teste de Rugai modificado (Pessoa & Silva, 1972). Cada colônia isolada pura foi inoculada em profundidade nos tubos contendo o meio teste com o auxílio de uma alça de platina estéril. Em seguida, os tubos foram incubados em estufa a 37°C por 24 a 48 h. A leitura dos ensaios foi realizada utilizando uma tabela para interpretação das seguintes reações: motilidade, atividade lisina descarboxilase, fermentação de glicose e sacarose, produção de gás-glicose, ácido sulfídrico, produção de indol, atividade urease e L-triptofano desaminase.

#### Identificação de bactérias por testes de fermentação de carboidratos

Para o teste de fermentação de carboidratos foi utilizado o ágar CTA glicose, lactose, sacarose, maltose, arabinose e manitol. Cada indivíduo foi inoculado em profundidade nos meios de cultura com auxílio de uma alça de platina em agulha estéril. Em seguida os tubos foram incubados em estufa a 37°C por 24 h. A leitura do teste foi feita a partir da observação de alteração de cor presente nos meios, e a presença ou ausência de gás em seu interior. A partir dos resultados obtidos foram utilizadas chaves taxonômicas para a identificação dos isolados quanto ao gênero e/ou espécie presentes em Krieg and Holt (1984).

## Resultados e discussão

Foi possível isolar 75 colônias de bactérias. Apenas 53 amostras apresentaram crescimento na etapa de caracterização, sendo que 23 (43%) apresentaram características semelhantes à outras amostras e foram desconsideradas. Segundo trabalho de Symanski (2005) após o final da fase termofílica, caracterizada pelas altas temperaturas, ocorre uma recolonização por organismos mesófilos na leira de compostagem, o que poderia explicar a baixa variação de possíveis gêneros e espécies diferentes.

As 30 amostras selecionadas neste estudo (com crescimento e sem características semelhantes entre si foram caracterizadas em relação à morfológica e identificação do meio em que foram encontradas, conforme descrito na Tabela 1. Cerca de 80% das amostras apresentaram 2 morfologias. Em seu trabalho, Nunes (2012) descreve a interações entre bactérias mediadas pelo contato, em que há existência de nanotubos que ligam as células bacterianas e são responsáveis pela troca de moléculas intracelulares e nutrientes entre microrganismos da mesma espécie e de espécies diferentes. Esse contato e troca entre as células permite uma sobrevivência em um ambiente hostil, e favorece o crescimento e desenvolvimento desses microrganismos mutuamente. Podemos sugerir a presença desta relação para justificar o número de lâminas que apresentaram 2 morfologias. Não foi possível manter as duas morfologias para estudos posteriores, o que nos leva a sugerir que ao eliminar essa interação entre as duas espécies, uma não consegue se desenvolver e crescer como a outra.

Das amostras estudadas, 50% são bacilos Gram positivos, 23% bacilos Gram negativos, 7% cocos Gram positivos e 20% cocos Gram negativos. As contagens dos isolados coloniais variaram de  $1.6 \times 10^1$  a  $3.3 \times 10^3$  unidades formadoras de colônias por grama de amostra. Em trabalho similar Hassen *et al.* (2001) observaram 3 grandes grupos na compostagem de resíduos orgânicos, sendo cocos gram-positivos, bacilos gram-positivos e bastonetes Gram-negativos. Ainda como o presente trabalho, Vaz-Moreira (2008) também obteve maior número de bactérias Gram-positivas, o que indica que possivelmente são as mais resistentes às altas temperaturas do processo de compostagem, quando comparados aos microrganismos Gram-negativos e as principais responsáveis pelo processo de transformação ocorrido durante os estágios de iniciação e maturação.

Após a caracterização morfológica foram realizados testes bioquímicos a fim de identificar os gêneros presentes ou espécies presentes. Os testes realizados permitiram sugerir a presença das espécies *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus megaterium* e o gênero *Bacillus spp.* nas amostras em que foram realizados testes bioquímicos. Em trabalho similar, Hassen *et al.* (2001), Blanc *et al.*, (1999) e Dees e Ghiorse (2001) observaram que o gênero *Bacillus* mostrou-se dominante durante o ciclo de compostagem, que pode ser justificado pela capacidade de produção de endósporos bacterianos, que proporcionam uma melhor resistência às altas temperaturas e qualquer outra condição desfavorável presente no processo de compostagem.

**Tabela 1.** Características das bactérias isoladas nas amostras de compostagem de folhas.

| Meio de isolamento | Códigos Amostra | Morfologia | Teste de Gram |                   | Contagens (UFC/g) |
|--------------------|-----------------|------------|---------------|-------------------|-------------------|
|                    |                 |            | positivo      | negativo          |                   |
| Ágar Pseudomonas   | CM 14*          | bacilos    |               | x                 | $4.4 \times 10^2$ |
|                    | CM 45*          | cocos      |               | x                 | $4.6 \times 10^1$ |
| Ágar cetrimida     | CM 46           | bacilos    |               | x                 | $3.5 \times 10^1$ |
|                    | CM 15*          | cocos      |               | x                 | $9.3 \times 10^1$ |
| Ágar EMB           | CM 18*          | bacilos    |               | x                 | $2.5 \times 10^3$ |
|                    | CM 19           | cocos      |               | x                 | $1.6 \times 10^1$ |
|                    | CM 20*          | cocos      |               | x                 | $4.9 \times 10^1$ |
| Ágar PCA           | CM 23*          | bacilos    | x             |                   | $8.1 \times 10^2$ |
|                    | CM 24*          | bacilos    | x             |                   | $8.1 \times 10^2$ |
|                    | CM 25*          | bacilos    | x             |                   | $2.5 \times 10^3$ |
|                    | CM 27*          | cocos      |               | x                 | $1.5 \times 10^2$ |
|                    | CM 55*          | bacilos    | x             |                   | $3.3 \times 10^3$ |
| Ágar nutriente     | CM 58*          | bacilos    | x             |                   | $1.3 \times 10^3$ |
|                    | CM 31*          | bacilos    | x             |                   | $1.5 \times 10^3$ |
|                    | CM 33           | cocos      | x             |                   | $7.4 \times 10^1$ |
|                    | CM 38*          | bacilos    | x             |                   | $2.2 \times 10^2$ |
|                    | CM 39*          | bacilos    | x             |                   | $9.9 \times 10^2$ |
|                    | CM 41*          | cocos      | x             |                   | $3.3 \times 10^2$ |
| Ágar TSA           | CM 42*          | bacilos    | x             |                   | $2.0 \times 10^3$ |
|                    | CM 61*          | cocos      |               | x                 | $4.6 \times 10^2$ |
|                    | CM 62*          | bacilos    |               | x                 | $2.6 \times 10^2$ |
|                    | CM 63           | bacilos    | x             |                   | $1.1 \times 10^2$ |
|                    | CM 64*          | bacilos    | x             |                   | $1.3 \times 10^3$ |
|                    | CM 65*          | bacilos    | x             |                   | $8.1 \times 10^2$ |
|                    | CM 66*          | bacilos    | x             |                   | $4.4 \times 10^1$ |
|                    | CM 69           | bacilos    | x             |                   | $7.4 \times 10^1$ |
|                    | CM 70*          | bacilos    |               | x                 | $1.2 \times 10^2$ |
|                    | CM 71           | bacilos    |               | x                 | $2.2 \times 10^2$ |
| CM 74*             | bacilos         | x          |               | $4.4 \times 10^1$ |                   |
| CM 75*             | bacilos         |            | x             | $2.2 \times 10^1$ |                   |

Legenda: \* mais de um microrganismo por lâmina.

Apesar do presente trabalho se tratar de um processo de compostagem apenas de resíduo vegetal, em processo de compostagem de resíduos domésticos Symanski (2005) observou que de todos os microrganismos isolados, 52.2% pertenciam aos gêneros *Enterobacter*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Escherichia*. Dois destes gêneros também foram observados no presente trabalho. Em seu trabalho, Insam & Bertoldi (2007) fizeram um levantamento de gêneros e espécies já encontrados em trabalhos similares a esse, e foi possível identificar a presença desses mesmos gêneros também em seu trabalho.

Devemos levar em consideração que a biodiversidade bacteriana foi observada somente em um ponto, de uma leira que estava em fase de maturação, ou seja, baixa atividade microbiológica. Mesmo havendo o reviramento da leira durante todo o processo de compostagem, este procedimento foi interrompido durante a maturação, o que reduziu a redistribuição dos microrganismos. Esse fator deve ser considerado na discussão sobre os microrganismos encontrados e descritos nesse trabalho (Blanc, 1999). Outra consideração está associada ao fato da leira ter passado pela fase termofílica, que naturalmente elimina alguns microrganismos menos tolerantes.

A fase termofílica dura normalmente entre 60 e 90 dias, segundo Pereira Neto (1987) e De Oliveira *et al.* (2008), porém no processo de compostagem que originou o produto final deste experimento, a duração do período termofílico foi de 38 dias. Uma provável explicação está associada à maneira em que os resíduos de vegetais foram estocados antes do início do experimento, em área aberta sob intempéries, com observação da presença de fungos. A presença de fungos pode ter favorecido a quebra de cadeias orgânicas complexas como a celulose, conforme Richard *et al.*, (2002), facilitando a decomposição posterior das estruturas pelas bactérias presentes no meio, quando iniciada a compostagem. A atuação complementar entre os microrganismos pode sugerir que o melhor desempenho depende de um conjunto de microrganismos.

### Conclusões

As bactérias aeróbicas predominantes encontradas são pertencentes ao gênero *bacillus spp.*, indicando a relevância destes microrganismos para a realização do processo de compostagem. Novos estudos serão necessários para efetivação na identificação das espécies presentes no processo de compostagem de resíduos de matéria orgânica de origem vegetal e a elucidação das funções que estes microrganismos exercem durante o processo, ou seja, o potencial biotecnológico dessas bactérias quanto à eficiência de degradação e otimização do processo de compostagem.

As amostras isoladas com duas morfologias sugerem que há no processo de compostagem a presença de bactérias codependentes, atuando de forma importante na eficiência do processo. Mais estudos são necessários para melhor entendimento dessa relação.

### Agradecimentos

À Fundação Ezequiel Dias - FUNED pelo apoio na realização da pesquisa, em especial à Diretoria de Pesquisa e Desenvolvimento (DPD), à Unidade de Gestão Ambiental (UGA) e ao Serviço de Prospecção Biológica (SPM).



## Referências bibliográficas

- Blanc, M., Marilley, L., Beffa, T., Aragno, M. (1999) Thermophilic bacterial communities in hot composts as revealed by most probable number counts and molecular (16S rDNA) methods. *FEMS Microbiology Ecology*, **28**(2), 141-149. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.1999.tb00569.x>
- Costa, P., Neves, A. C., Valladão, S. A., Mol, M. P. G. (2018) Avaliação do processo de compostagem de resíduos de folhas de árvores e jardins em uma instituição pública de Belo Horizonte (Brasil) *Revista AIDIS de Ingeniería y Ciencias Ambientales: Investigación, desarrollo y práctica*, **11**(3), 389-400, doi: <http://dx.doi.org/10.22201/iingen.0718378xe.2018.11.3.61179>
- Dees, P. M., Ghiorse, W. C. (2001) Microbial diversity in hot synthetic compost as revealed by PCR-amplified rRNA sequences from cultivated isolates and extracted DNA. *FEMS Microbiology Ecology*, **35**(2), 207-216, doi: <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2001.tb00805.x>
- De Figueiredo, M. J. G., de Assis Barony, F. J., Penna, L. F. R., De Oliveira, R. R. (2016) Compostagem e horta orgânica no campus de um instituto federal. *VII Congresso Brasileiro de Gestão Ambiental*. Campina Grande, Paraíba.
- De Oliveira, E.C.A., Sartori, R. H., Garcez, T. B. (2008) *COMPOSTAGEM*. Pós-Graduação. Programa de Pós-Graduação em solos e nutrição de plantas. Universidade de São Paulo. Piracicaba. 19p.
- Downes F P and Ito K (2001) *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods*. Washington: American Public Health Association. 4.ed. Washington. 676 pp.
- Hassen, A., Belguith, K., Jedidi, N., Cherif, A., Cherif, M., Boudabous, A. (2001) Microbial characterization during composting of municipal solid waste. *Bioresource technology*, **80**(3), 217-225. doi: [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(01\)00065-7](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(01)00065-7)
- Heck, K., De Marco, É. G., Hahn, A. B., Kluge, M., Spilki, F. R., Van Der Sand, S. T. (2013) Temperatura de degradação de resíduos em processo de compostagem e qualidade microbiológica do composto final. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental-Agriambi*, **17**(1) doi: <https://doi.org/10.1590/S1415-43662013000100008>
- Insam, H., De Bertoldi, M. (2007) Microbiology of the composting process. In *Waste management series*, **8**, 25-48. doi: [https://doi.org/10.1016/S1478-7482\(07\)80006-6](https://doi.org/10.1016/S1478-7482(07)80006-6)
- Krieg, N. R., Holt, J. G. (1984) *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. *The Williams and Wilkins Co.*, Baltimore, **1**, 1388 pp.
- Loureiro, D. C., de Aquino, A. M., Zonta, E., Lima, E. (2007) Compostagem e vermicompostagem de resíduos domiciliares com esterco bovino para a produção de insumo orgânico. *Pesquisa agropecuária brasileira*, **42**(7), 1043-1048.
- MacFaddin, J. F. (2000) *Biochemical Tests for Identification of Medical Bacteria*. 3ed. Baltimore. 928 p.
- Maia, C. M. B. D. F. (2003) *Acompanhamento do processo de compostagem da serragem de Pinus taeda pelas características químicas e espectroscópicas das substâncias húmicas em formação*. Tese de doutorado. Curso de Pós-Graduação em Química. Universidade Federal do Paraná, Curitiba. 92 pp.
- Maragno, E. S., Trombin, D. F., Viana, E. (2007) O uso da serragem no processo de minicompostagem. *Engenharia Sanitária e Ambiental*, **12**(4), 355-360.
- Nunes, A. S. (2012) *O papel do contacto célula a célula na manutenção da diversidade bacteriana*. Tese de mestrado. Biologia (Biologia Evolutiva e do Desenvolvimento) Universidade de Lisboa, Faculdade de Ciências, Lisboa. 42 pp.
- Pereira Neto, J. T. (1987) *On the treatment of municipal refuse and sewage sludge using aerated static pile composting-a low cost technology approach*. Tese de Doutorado. University of Leeds, Inglaterra, 839-845.
- Pessoa, G. V. A., Silva, E. A. M. (1972) Meios de Rugai e lisinamotilidade combinados em um só tubo para a identificação presumtiva de enterobactérias. *Revista Instituto Adolfo Lutz*, **32**, 97-100.
- Richard, T.N., Trautmann, M., Krasny, S., Fredenburg, C. Stuart (2002) *The science and engineering of composting*. The Cornell composting website, Cornell University.
- Rocha, A. J. F., Souza, R. L. P., Reda, A. L. D. L., Silva, G. T. (2015) Destinação sustentável do resíduo da poda de árvores urbanas. *XV Safety, Health and Environment World Congress, XV*. Porto. Portugal.

- Symanski, C. S. (2005) *Caracterização de bactérias mesófilas presentes em processo de compostagem*. Dissertação de mestrado. Mestrado em Microbiologia Agrícola e do Ambiente, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. 113p.
- Vaz-Moreira, I., Silva, M. E., Manaia, C. M., Nunes, O. C. (2008) Diversity of bacterial isolates from commercial and homemade composts. *Microbial Ecology*, **55**(4), 714-722. doi: <https://doi.org/10.1007/s00248-007-9314-2>
- Wangen, D., Freitas, I. (2010) Compostagem doméstica: alternativa de aproveitamento de resíduos sólidos orgânicos. *Revista Brasileira De Agroecologia*, **5**(2) Acesso em 15 de maio de 2018, disponível em: <http://revistas.aba-agroecologia.org.br/index.php/rbagroecologia/article/view/7601>
- Wieser, C. J., Freitas, L. M. C., Stefanutti, R. (2016) Compostagem doméstica avaliada por meio da temperatura e relação C/N. *Blucher Engineering Proceedings*, **3**(2), 863-870. doi: <https://doi.org/10.5151/engpro-eneeamb2016-rs-006-5135>