

Trabalho de Formatura

Curso de Graduação em Engenharia Ambiental

Sucessão da comunidade fúngica termofílica e termotolerante na compostagem da
gordura de frango

Lana Sobral Vieira Escada Monteiro

Prof. Dr. André Rodrigues (orientador)

Rio Claro – SP

2019

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
Instituto de Geociências e Ciências Exatas
Câmpus de Rio Claro

LANA SOBRAL VIEIRA ESCADA MONTEIRO

SUCESSÃO DA COMUNIDADE FÚNGICA TERMOFÍLICA E
TERMOTOLERANTE NA COMPOSTAGEM DA GORDURA DE
FRANGO

Trabalho de Formatura apresentado ao
Instituto de Geociências e Ciências Exatas -
Câmpus de Rio Claro, da Universidade
Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”,
para obtenção do grau de Engenharia
Ambiental.

Rio Claro – SP
2019

M775s Monteiro, Lana Sobral Vieira Escada
Sucessão da comunidade fúngica termofílica e
termotolerante na compostagem da gordura de frango /
Lana Sobral Vieira Escada Monteiro. -- Rio Claro, 2019
35 p. : tabs., fotos

Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado -
Engenharia Ambiental) - Universidade Estadual Paulista
(Unesp), Instituto de Geociências e Ciências Exatas, Rio
Claro
Orientador: André Rodrigues

1. Fungos. 2. Resíduos. 3. Degradação. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca do
Instituto de Geociências e Ciências Exatas, Rio Claro. Dados fornecidos pelo
autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

LANA SOBRAL VIEIRA ESCADA MONTEIRO

SUCESSÃO DA COMUNIDADE FÚNGICA TERMOFÍLICA E
TERMOTOLERANTE NA COMPOSTAGEM DA GORDURA DE
FRANGO

Trabalho de Formatura apresentado ao
Instituto de Geociências e Ciências Exatas -
Câmpus de Rio Claro, da Universidade
Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”,
para obtenção do grau de Engenheira
Ambiental.

Comissão Examinadora

Prof. Dr. André Rodrigues (orientador)

Profa. Dra. Lara Durães Sette

Me. Igor Vinicius Ramos Otero

Rio Claro, 6 de junho de 2019.

Lana Sobral Vieira Escada Monteiro
- Discente -

Prof. Dr. André Rodrigues
- Orientador -

AGRADECIMENTOS

Agradeço,

À empresa Korin Agricultura e Meio Ambiente, por concordar com a realização do presente trabalho, disponibilizando os funcionários, material e espaço. Agradeço especialmente ao Sr. Domiedson Santos, que esteve junto, acompanhando todas as etapas do trabalho.

Ao meu professor orientador, André Rodrigues, por toda atenção, cuidado e confiança em mim e no meu trabalho.

À FAPESP, que disponibilizou recursos para a realização desse estudo e também ao CNPq, pela concessão da bolsa de Iniciação Científica (PIBIC).

A todos os estudantes que trabalharam no Laboratório de Ecologia e Sistemática de Fungos (LESF), pelo apoio técnico e experiências compartilhadas.

Aos meus pais, por todo apoio e dedicação, sempre me aconselhando, sem faltar atenção e incentivo, constantemente orgulhosos do caminho que tenho trilhado.

A todos que de forma direta ou indireta contribuíram para o desenvolvimento desse trabalho.

RESUMO

A compostagem é uma alternativa comum e sustentável para a disposição final de resíduos sólidos. Fungos e bactérias são os principais atuantes nesse processo, uma vez que realizam a decomposição da matéria orgânica. A participação dos fungos termofílicos e termotolerantes (i. e. aqueles que resistem a altas temperaturas) na compostagem é pouco estudada. A compreensão da composição e da dinâmica das comunidades desses micro-organismos possibilita desenvolver aceleradores para a compostagem de diversos tipos de resíduos. O sistema de compostagem de “Alta Digestão Biológica” (ADB) utiliza de tal acelerador para aumentar a taxa de decomposição. O presente trabalho avaliou a sucessão das comunidades fúngicas na compostagem da gordura de frango utilizando esse sistema. Foram coletadas amostras do resíduo em decomposição nas diferentes fases da compostagem para isolamento dos fungos termofílicos e termotolerantes. Utilizando técnicas clássicas e moleculares (sequenciamento de DNA), foi realizada a identificação desses micro-organismos. As comunidades fúngicas foram avaliadas quanto à riqueza e abundância de taxa nas diferentes fases do processo. O substrato inicial (serragem) apresentou maior quantidade de fungos termofílicos e termotolerantes, quando comparado à fase mesofílica do processo, considerando as unidades formadoras de colônias por grama de amostra. A quantidade desses fungos voltou a aumentar durante a fase termofílica e a carga fúngica manteve-se estável na fase de maturação do composto. Foram obtidos 74 isolados de fungos resistentes ao calor. Desse total, foi possível identificar cinco taxa: *Rhizomucor* sp. (compreendendo 54,1 % do total de isolados), *Aspergillus fumigatus* (29,7 %), *Lichtheimia* sp. (6,8 %), *Rhizopus* sp. (5,4 %) e *Thermomyces* sp. (4,1 %). Os fungos *A. fumigatus* e *Rhizomucor* sp. ocorreram em todas as fases do processo, sendo que na termofílica representaram 100 % dos isolados. Por outro lado, *Thermomyces* sp. e *Rhizopus* sp. foram observados somente no substrato inicial (serragem) e na fase mesofílica. Portanto, observamos uma diminuição da riqueza de fungos durante a fase termofílica. Apesar do sistema ADB apresentar características específicas, esse proporciona a mesma dinâmica de sucessão fúngica observada em outros processos de compostagem. Tal fato possivelmente esteja relacionado às mudanças na temperatura durante o processo, o que também ocorre em outros sistemas de compostagem.

Palavras chave: Termófilos. Resíduos. Decomposição. Fungos.

ABSTRACT

Composting is a popular sustainable alternative for final waste disposal. Fungi and bacteria are the main drivers of this process, because they are the ultimate decomposers of the organic matter. However, few studies explored how the thermophilic and thermotolerant fungi (the ones that can resist high temperature) are involved in composting. Assessing the composition and dynamics of such fungal communities can be helpful for developing products to accelerate the composting of many residues. The high biological digestion system (ADB) uses such an accelerator to increase the decomposition rate. Here we evaluate the succession of the thermophilic and thermotolerant fungi in the composting process of residues derived from a poultry slaughterhouse. A total of four samples from the decomposing material were collected for fungal isolation, each representing one stage of the composting process. Classic and molecular (DNA sequencing) methods were used to identify the isolated microorganisms. Fungal communities found were evaluated for richness and abundance of taxa in each stage of the process. The initial raw substrate (sawdust) had a greater number of fungi when compared to substrate in the mesophilic phase, considering the colony forming units per gram of sample. The fungal abundance increased again during the thermophilic phase and remained stable until the end of the process. A total of 74 heat resistant fungi were isolated comprehending five taxa: *Rhizomucor* sp. (representing 54.1 % of the isolated fungi), *Aspergillus fumigatus* (29.7 %), *Lichtheimia* sp. (6.8 %), *Rhizopus* sp. (5.4 %) and *Thermomyces* sp. (4.1 %). *Aspergillus fumigatus* and *Rhizomucor* sp. were observed in all stages, representing 100 % of the isolated fungi at the thermophilic phase. On the other hand, *Thermomyces* sp. and *Rhizopus* sp. were isolated from the initial substrate and in the mesophilic stage. This result points to a decrease of fungal richness during the thermophilic stage. Although the ADB system has its peculiarities, the dynamics of fungal communities in this system is similar to the dynamics of fungal communities observed in different composting processes. This similarity can be related to the temperature changes that are inherent to any composting process.

Key words: Thermophiles. Solid waste. Decomposition. Fungi.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	7
2 FUNDAMENTAÇÃO.....	9
2.1 Resíduos sólidos agrossilvopastoris	9
2.2 Compostagem	10
2.3 Microbiologia da compostagem	14
2.4 Korin Agricultura e Meio Ambiente e o sistema de compostagem ADB.....	16
3 OBJETIVO.....	17
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	19
4.1 Monitoramento da compostagem ADB e coleta do material	19
4.2 Isolamento dos fungos	20
4.3 Identificação e preservação dos fungos	21
4.4 Análise da carga e sucessão fúngica	21
5 RESULTADOS.....	22
5.1 Fases do sistema ADB e monitoramento da temperatura	22
5.2 Carga fúngica na compostagem	23
5.3 Identificação e sucessão fúngica	24
6 DISCUSSÃO	27
7 CONSIDERAÇÕES	31
REFERÊNCIAS	32

1 INTRODUÇÃO

Com o aumento da população mundial e o crescimento das cidades, o consumo de produtos aumentou, bem como a geração de resíduos. Esse aumento em larga escala na geração de resíduos sólidos e a falta de destinação apropriada dos mesmos são problemas de caráter mundial. Paralelamente, leis mais restritivas em relação à disposição final dos resíduos foram aprovadas nos últimos anos e, com o contínuo crescimento da população, a disponibilidade de espaço edificável diminuiu. O quadro gerou um incremento nos gastos com disposição de resíduos sólidos, favorecendo a busca por alternativas sustentáveis, de baixo custo e que ocupem espaços reduzidos (VALENTE et al., 2009).

Nesse cenário, a compostagem é considerada uma solução natural, que exige pouco espaço e pode ser realizada em pequena, média ou grande escala. No geral, as indústrias investem nessa alternativa, por ser menos dispendiosa do que a disposição final em aterro sanitário e por ser um processo eficiente. Como a compostagem é realizada essencialmente por micro-organismos, entender a dinâmica das comunidades microbianas durante o processo é fundamental para desenvolver melhorias no processo. Uma delas seria a criação de aceleradores de compostagem para diferentes tipos de resíduos (COOPER et al., 2010; VALENTE et al., 2009).

No presente trabalho, estudamos a compostagem da borra da gordura de frango, um resíduo comumente gerado em abatedouros avícolas. Trata-se de um material rico em lipídios, de difícil decomposição e considerado impróprio para o processo de compostagem. A organização Korin Agricultura e Meio Ambiente desenvolveu um sistema de compostagem denominado de “Alta Digestão Biológica” (ADB), que, em conjunto com o produto Embiotic[®], é capaz de realizar a decomposição desse resíduo em até 72 horas. O processo de decomposição aeróbia ocorre com a utilização de um substrato, composto por maravalha (serragem), Embiotic[®] e por populações de micro-organismos existentes no próprio resíduo. Nesse sistema, as temperaturas atingem valores extremamente altos (superiores a 70 °C), portanto, os micro-organismos resistentes ao calor são importantes atores nesse processo (TOMITA; AKIBA, 2013).

As bactérias e os fungos são os principais micro-organismos atuantes na compostagem. Nesse processo, as comunidades variam de acordo com as condições físico-químicas do processo. As bactérias são metabolicamente versáteis e apresentam uma ampla gama de enzimas que realizam a degradação de vários materiais orgânicos (RYCKEBOER et al., 2003). Por outro lado, as comunidades fúngicas também são importantes, pois estão

associadas à degradação da matéria orgânica mais recalcitrante, além de serem menos exigentes do que as bactérias quanto às condições de crescimento na compostagem (HASAN; SHAH; HAMEED, 2006; TRAUTMANN; KRASNY, 1997). Segundo as temperaturas cardiais de crescimento, os micro-organismos presentes no sistema de compostagem são classificados como: termofílicos, termotolerantes e mesofílicos. Sendo assim, as leiras (ou pilhas) de compostagem são adequadas para as necessidades dos termofílicos e termotolerantes, que se desenvolvem melhor em temperaturas mais elevadas (OLIVEIRA; GOMES; RODRIGUES, 2015).

Pouco se sabe sobre quais são os fungos termofílicos e termotolerantes que atuam na compostagem do sistema ADB. Conhecer os fungos que estão presentes nesse sistema é importante para entender a dinâmica da sucessão desses micro-organismos em cada etapa da degradação da borra de frango. No presente trabalho, foi avaliada a sucessão dos fungos resistentes ao calor durante o processo de compostagem de resíduo de abatedouro avícola. O presente estudo servirá como base para eventuais trabalhos que desejem criar aceleradores de compostagem para resíduos contendo elevado teor de gordura, como a borra de frango.

2 FUNDAMENTAÇÃO

2.1 *Resíduos sólidos agrossilvopastoris*

O agronegócio é um dos setores mais importantes na economia brasileira, pois contribui com grande parte do Produto Interno Bruto (PIB) nacional (Tabela 1). A produção do setor é elevada e praticamente constante devido às demandas geradas pelo crescimento populacional e econômico das cidades, somado a possibilidade de exportação de produtos alimentícios (VALENTE et al., 2009).

Com a incorporação da sustentabilidade nos ambientes empresariais e de negócios, o grande desafio é a manutenção de uma elevada produtividade, minimizando os impactos ambientais negativos derivados das atividades (BINI et al., 2018). Essa é uma tarefa cada vez mais difícil, uma vez que cada setor de atividade está associado à geração de grandes quantidades de resíduos sólidos, com potencial para causar danos ambientais se não tratados corretamente. Nesse cenário, legislações ambientais, como a Política Nacional dos Resíduos Sólidos, Lei nº 12.305/10 (BRASIL, 2010), são ferramentas importantes para solucionar o problema.

A PNRS define resíduo sólido como:

Material, substância, objeto ou bem descartado resultante de atividades humanas em sociedade, a cuja destinação final se procede, se propõe proceder ou se está obrigado a proceder, nos estados sólido ou semissólido, bem como gases contidos em recipientes e líquidos cujas particularidades tornem inviável o seu lançamento na rede pública de esgotos ou em corpos d'água, ou exijam para isso soluções técnica ou economicamente inviáveis em face da melhor tecnologia disponível (BRASIL, 2010).

A lei também define como resíduo sólido agrossilvopastoril “...os gerados nas atividades agropecuárias e silviculturais, incluídos os relacionados a insumos utilizados nessas atividades” (BRASIL, 2010). Esses resíduos são aqueles provindos de abatedouros agrícolas, lodos de estação de tratamento de efluente agroindustrial, restos de culturas e hortaliças, bagaço de cana de açúcar, entre outros.

Tabela 1. Contribuição do agronegócio para o Produto Interno Bruto Brasileiro (2010-2018).

Ano	PIB Agronegócio	
	R\$ milhões	%
2010	259.523	21,6
2011	252.145	21,0
2012	232.752	19,4
2013	229.856	19,2
2014	228.527	19,1
2015	246.270	20,5
2016	273.891	22,8
2017	256.996	21,4
2018	253.208	21,1

Fonte: Adaptado de Cepea/CNA USP (2019).

A PNRS estabelece as formas ambientalmente adequadas de destinação e disposição final dos resíduos sólidos. Segundo a legislação, a destinação final é dada quando ainda existe a chance de reaproveitamento do resíduo. Por outro lado, a disposição final está relacionada ao rejeito, resíduo remanescente após o esgotamento de todas as opções de reaproveitamento, ou seja, aquilo que não pode mais ser transformado. Reutilização, reciclagem, recuperação, aproveitamento energético e compostagem são considerados as alternativas legais de destinação, porém a disposição em aterro sanitário é a indicada (PNRS, Lei nº 12.305/10).

O estabelecimento de formas legais de reaproveitamento é uma ação importante para a resolução de problemas ambientais decorrentes da geração descontrolada de resíduos sólidos. No setor agrossilvopastoril, deve-se levar em conta que existe um desequilíbrio entre as taxas de geração e a taxa de degradação dos resíduos. Com isso, surge a necessidade de ampliar as áreas disponíveis para a disposição final, levando ao aumento da possível área afetada pela degradação ambiental inerente da atividade de um aterro sanitário. Assim, o incentivo à alternativas de destinação final desses resíduos torna-se cada vez mais importante, dada a alta e constante atividade da indústria do agronegócio e a sua importância econômica e estratégica (FIORI; SCHOENHALS; FOLLADOR, 2008).

2.2 Compostagem

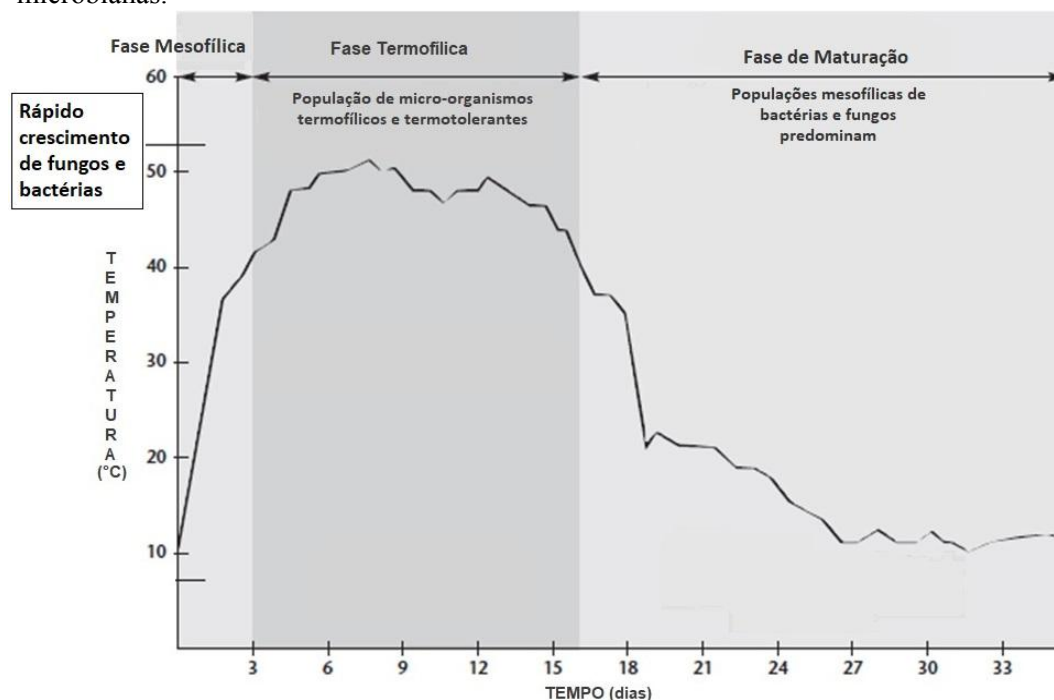
No geral, os resíduos agrossilvopastoris são biodegradáveis, portanto, a compostagem aparece como uma alternativa à disposição final. A compostagem é um processo natural de

decomposição da matéria orgânica, realizado por macro e micro-organismos. Considerando os últimos, bactérias e fungos são os responsáveis pela decomposição. Invertebrados, como minhocas e caramujos, também ajudam na decomposição, podendo ou não fazer parte do processo (COOPER et al., 2010).

Há dois tipos de compostagem: anaeróbia e aeróbia. A primeira é realizada na ausência de oxigênio e exige manutenção intensa, pois ocorre a baixas temperaturas e geralmente não resulta na eliminação dos micro-organismos patogênicos (AMORIM, 2005). Como produtos, a decomposição anaeróbia gera gás carbônico, metano, energia, além de alguns subprodutos intermediários. (COOPER et al., 2010) Existem diferentes métodos de compostagem anaeróbia, sendo o mais comum denominado de digestão anaeróbia, a qual é realizada em biodigestores (AMORIM, 2005). A digestão ocorre em duas etapas: inicialmente a matéria orgânica é transformada em compostos simples pela ação dos micro-organismos e, em seguida, as bactérias transformam esses produtos em metano e dióxido de carbono, sendo que o metano pode ser reaproveitado para a produção de energia. Nesse sistema, as características e a forma de operação do digestor, somadas às características do resíduo a ser degradado, são os principais fatores que influenciam na velocidade e na efetividade do processo de degradação (SOUZA, 1984).

Por outro lado, a compostagem aeróbia, realizada na presença de oxigênio, atinge temperaturas elevadas que proporcionam a quebra acelerada de moléculas complexas (i. e. proteínas, gorduras e celulose), bem como a eliminação de patógenos. Como produtos, a compostagem aeróbia gera gás carbônico, água e energia (MISRA; ROY; HIRAOKA, 2003). A compostagem aeróbia é geralmente realizada em leiras de material orgânico, montadas em condições controladas. O processo de transformação do resíduo é dividido em três fases: mesofílica, termofílica e de maturação, caracterizadas pelas variações de temperatura e o nível de degradação do resíduo (Figura 1, TRAUTMANN; KRASNY, 1997). Na primeira fase a temperatura se mantém a aproximadamente 37 °C, enquanto na segunda, ela é mais elevada, podendo atingir 70 °C (dependendo do sistema de compostagem). A fase de maturação consiste em dois estágios: o de resfriamento, em que as temperaturas variam entre 40 °C até a temperatura ambiente e o de estabilização, em que ocorre uma diminuição significativa da atividade microbiana e a temperatura se iguala à do ambiente (CANCELADO, 2014). Para que todas as fases se completem e o composto orgânico final esteja estabilizado são necessários de 90 a 120 dias, variando segundo as características de cada resíduo e da estrutura do sistema de compostagem (CANCELADO, 2014).

Figura 1. As fases da compostagem e característica da dinâmica das comunidades microbianas.



Fonte: Adaptado de Trautmann e Krasny (1997).

A ação dos agentes microbiológicos no processo de compostagem depende de condições físicas e químicas adequadas. Características como: temperatura, disponibilidade de oxigênio, pH, umidade e relação carbono/nitrogênio são de grande importância para o desenvolvimento de micro-organismos e a otimização da atividade desses agentes (TRAUTMANN; KRASNY, 1997). Variações na temperatura da leira ocorrem devido à rápida proliferação das comunidades de micro-organismos e a liberação de calor pelo processo de decomposição aeróbio. Quanto maior a atividade microbiana, mais calor é liberado nas leiras e maiores serão as temperaturas. Cada grupo de micro-organismo atua numa faixa de temperatura ideal (CANCELADO, 2014). Altas temperaturas criam ambientes em que só micro-organismos termofílicos ou termotolerantes sobrevivem (OLIVEIRA; GOMES; RODRIGUES, 2015). Atingir altas temperaturas é importante, porém, se a situação se estender por muito tempo, esses micro-organismos desejáveis para o processo também podem desaparecer (COOPER et al., 2010; FETTI, 2014). A atuação dos micro-organismos é ótima em temperaturas de até 65 °C. Quando essa temperatura é superada, apenas as populações aptas a temperaturas mais elevadas conseguem atuar no processo. Muitas vezes a aeração é utilizada como um meio de controlar a temperatura, uma vez que quando a leira é revolvida o calor se dissipa. A temperatura também funciona como um indicador do equilíbrio do processo. Se a leira registra temperaturas entre 40 e 60 °C no segundo ou terceiro dia é

uma indicação de que o processo provavelmente ocorrerá normalmente. Se apresentar temperaturas inferiores, pode ser um sinal de que algum parâmetro está limitando a atividade microbiana e deve ser ajustado (FERNANDES; SILVA, 1999).

A disponibilidade de oxigênio é outro fator que influencia drasticamente a comunidade microbiana da compostagem. Micro-organismos aeróbios dependem de elevadas concentrações desse elemento para que as comunidades cresçam e degradem o substrato. Assim, a concentração de oxigênio interfere na velocidade de oxidação do material orgânico e na diminuição de odores. A introdução de oxigênio no processo de degradação pode ser realizada pelo revolvimento das pilhas, o qual pode ser feito com ação manual ou mecânica. A aeração é importante para a retirada de vapores, excesso de calor e gases que eventualmente possam estar presos na pilha. Nas fases, mesofílica e termofílica, a aeração deve ser realizada mais frequentemente do que na fase de maturação, quando a atividade microbiana é reduzida e o composto está estabilizado (FERNANDES; SILVA, 1999; FETTI, 2014).

Outro fator que regula a participação dos micro-organismos na compostagem é o pH. Valores extremos podem ser prejudiciais às comunidades de bactérias e fungos. Durante a compostagem os valores de pH variam entre 5,5 e 8,5, faixa ideal para a maioria dos micro-organismos. No início do processo, ácidos orgânicos podem ser formados como subprodutos da degradação, resultando na acidificação do composto. Com o aumento da temperatura ocorre a volatilização desses compostos e a alcalinização do composto. Ao final do processo, o pH tende à neutralidade, devido a formação de substâncias húmicas tamponantes (CANCELADO, 2014; VALENTE et al., 2009). É importante levar em consideração que o pH, quando atinge oito, pode provocar um deslocamento do equilíbrio químico gerando a liberação de amônia, que em temperatura ambiente é um contaminante atmosférico (MISRA; ROY; HIRAOKA, 2003). O pH do próprio resíduo também pode interferir na compostagem. Se o resíduo apresentar como característica um pH baixo, no início do processo tal redução do pH pode ser tão drástica que a atividade microbiológica cai, não havendo a passagem para a fase termofílica (FERNANDES; SILVA, 1999).

A umidade das leiras é outro fator importante na compostagem. A atividade metabólica e de reprodução dos micro-organismos que atuam no processo de compostagem dependem da água. Se não houver umidade suficiente, as comunidades não conseguem se desenvolver e a temperatura da leira não aumenta. Para o início do processo é essencial que a umidade se mantenha alta, próxima de 65 %, para que haja um crescimento ótimo dos micro-organismos. Devido à aeração, normalmente há perda de água, sendo assim, é importante monitorar a umidade. Se as pilhas estiverem muito secas, o processo ocorre de forma mais lenta, ou se

umidade é excessiva, o processo começa a se tornar anaeróbio, uma vez que a água ocupará os espaços vazios do material, dificultando a circulação do oxigênio (VALENTE et al., 2009).

O carbono e o nitrogênio são dois dos principais macronutrientes requeridos pelos micro-organismos. A disponibilidade de carbono da matéria orgânica é utilizada como fonte de energia e o nitrogênio na síntese proteica. Por estar presente em grande quantidade no material celular, a necessidade de carbono é consideravelmente maior, do que a de nitrogênio. Quando a relação C:N encontra-se elevada (80:1), o processo de compostagem é mais lento, pois não há a quantidade necessária de nitrogênio para que os micro-organismos se desenvolvam. Para relações mais baixas (10:1), a decomposição é mais rápida, pois há um certo balanço na disponibilidade de carbono e nitrogênio (CANCELADO, 2014). Segundo Kiehl (2004), no início da compostagem, a relação C:N deve estar entre 25:1 e 35:1 para o desenvolvimento apropriado dos micro-organismos. Quando a fonte de carbono for de difícil degradação, é aconselhada uma maior relação C:N inicial. No final da compostagem a relação C:N tende a diminuir, uma vez que as perdas de carbono são maiores que as de nitrogênio, em decorrência da oxidação da matéria orgânica (FERNANDES; SILVA, 1999; VALENTE et al., 2009).

2.3 Microbiologia da compostagem

A compostagem é caracterizada pela degradação da matéria orgânica por comunidades microbianas que se sucedem nas leiras. O processo de degradação inicia com a presença de uma comunidade diversificada de bactérias e fungos (HASSEN et al., 2001). As variações de temperatura, que marcam as fases do processo de compostagem (Figura 1), são o reflexo das atividades dessas populações microbianas sucessivas, que realizam a degradação da matéria orgânica (VALENTE et al., 2009).

Os micro-organismos podem ser classificados segundo às suas temperaturas de mínimas, máximas e ótimas de crescimento, como: termofílicos, termotolerantes e mesofílicos. Os primeiros se desenvolvem melhor em temperaturas mais elevadas, com crescimento ótimo entre 40 e 50 °C e inabilidade de crescerem em temperaturas abaixo de 20 °C (OLIVEIRA; GOMES; RODRIGUES, 2015). Os termotolerantes tem crescimento ótimo entre 40 e 50 °C e também crescem em temperaturas abaixo de 20 °C (OLIVEIRA; GOMES; RODRIGUES, 2015). Os mesofílicos apresentam o crescimento ótimo em temperaturas menores, de 20 a 35 °C, mas não resistem a temperaturas mais altas, por exemplo, 45 °C (PATHAK; SINGH; KUMAR, 2011).

No início do processo de compostagem ocorre um crescimento intenso de bactérias e fungos mesofílicos, que tem crescimento ótimo em temperatura ambiente. O calor gerado dessa degradação inicial da matéria orgânica provoca o aumento da temperatura e gera um ambiente termofílico, no qual apenas os organismos resistentes ao calor realizam a degradação da matéria orgânica. Quando grande parte do substrato é transformado, a atividade de degradação diminui, levando a redução da temperatura da leira e o reaparecimento dos micro-organismos mesofílicos (Figura 1, FERNANDES; SILVA, 1999).

A sucessão das comunidades microbianas no processo de compostagem também está associada à disponibilidade de nutrientes. O tipo de matéria orgânica utilizada estabelece a quantidade de macronutrientes disponíveis no meio, fator que influencia no desenvolvimento das comunidades (GHAZIFARD; KASRA-KERMANSIAHI; FAR, 2001). Inicialmente são decompostos amidos e proteínas de menor peso molecular, em seguida ocorre a decomposição das proteínas de maior peso molecular e da hemicelulose. Outros componentes, como a celulose, a lignina e as gorduras são de difícil decomposição, por isso são os últimos a serem degradados. Esses também são os componentes que podem dar origem ao húmus, substância orgânica de estrutura química complexa e utilizada na adubação (SCHUCHARDT, 2005; VICENTINI; CARVALHO; RICHTER, 2009).

As bactérias realizam grande parte da quebra inicial da matéria orgânica, pois são decompositoras mais rápidas do que os fungos (CARNEIRO, 2012). Nesse cenário, as comunidades fúngicas são importantes por terem capacidade de quebrar componentes mais recalcitrantes da matéria orgânica, como a celulose, além de serem menos exigentes do que as bactérias quanto às características do meio (TRAUTMANN; KRASNY, 1997). Os esporos dos fungos resistem às altas temperaturas e à baixa umidade, sendo assim, mesmo se a célula vegetativa do fungo (hifa) for eliminada durante o processo, os esporos e outras estruturas são responsáveis por manter o fungo ainda no sistema (REIS, 2005).

Os fungos termofílicos são ubíquos, devido ao nicho de temperatura que ocupam. Eles estão presentes em solos e em qualquer região onde há aquecimento da matéria orgânica. Leiras de compostagem são adequadas às necessidades dos termofílicos, já que durante o processo de decomposição as temperaturas excedem 40 °C e não decrescem para valores menores que 20 °C. Estudos já identificaram espécies de fungos na compostagem de diversos tipos de resíduos (BONITO et al., 2010; GHAZIFARD; KASRA-KERMANSIAHI; FAR, 2001; GU et al., 2017; HULTMAN et al., 2008; ZAFAR et al., 2013). Não existem muitos estudos sobre os fungos termofílicos que ocorrem no processo de compostagem de abatedouro avícola, porém os mais reportados na decomposição de outros resíduos orgânicos são:

Aspergillus fumigatus e *Rhizomucor pusillus*. Outros fungos reportados (alguns termofílicos e outros não) são os gêneros *Absidia*, *Chaetomium*, *Cladosporium*, *Geotrichum*, *Humicola*, *Lichtheimia*, *Mucor*, *Penicillium*, *Rhizopus* e *Thermomyces*, além de leveduras (GHAZIFARD; KASRA-KERMANSNAHI; FAR, 2001).

2.4 Korin Agricultura e Meio Ambiente e o sistema de compostagem ADB

A Korin Agropecuária é uma empresa de grande porte do ramo do agronegócio. Fundada em 1994, tem uma visão corporativa baseada no método de “Agricultura Natural”, que consiste no equilíbrio entre a produção e a preservação do ambiente. A Korin Agricultura é o resultado da união entre alguns setores da Korin Agropecuária com o Centro de Pesquisa Mokiti Okada (CPMO). A organização é especializada no tratamento de resíduos orgânicos sólidos e líquidos. A empresa também oferece soluções sustentáveis via prestação de serviços em consultoria ambiental e agropecuária, juntamente com a produção, pesquisa/desenvolvimento e venda de produtos biológicos, com utilização de micro-organismos benéficos ao meio ambiente.

Neste cenário, a empresa desenvolveu a linha Embiotic[®], na qual um dos produtos atua como acelerador do processo de compostagem, adequado para o tratamento de diversos tipos de resíduos de origem orgânica (Korin Agricultura, 2015). Utilizando esse produto, a Korin Agricultura desenvolveu o sistema de compostagem de Alta Digestão Biológica (ADB). Na unidade de Ipeúna-SP, o sistema é utilizado na compostagem da borra de frango, um resíduo difícil de ser decomposto. Esse resíduo é constituído por diversos componentes, tais como: sangue, gordura, excrementos, substâncias do trato digestório, penas, ovos, entre outros e gerado em grandes quantidades no abatedouro avícola mantido pela empresa (BERNARDI, 2011; SUNADA, 2011).

O processo de decomposição aeróbia ocorre com a utilização de um substrato, composto por maravalha (serragem), Embiotic[®] e por populações microbianas existentes nos próprios resíduos. O substrato contém micro-organismos em condições controladas de pH, umidade, C:N e de disponibilidade de oxigênio. Nesse sistema, as temperaturas atingem valores extremamente elevados (até 78 °C), criando um processo excepcionalmente rápido e que ocorre pela ação de micro-organismos termofílicos e termotolerantes (TOMITA; AKIBA, 2013). A transformação do resíduo orgânico no sistema ADB leva até 72 horas, com redução de 90% massa inicial.

Para o melhor desempenho da compostagem no sistema ADB, alguns passos devem ser seguidos. Primeiramente, o Embiotic[®] é aplicado na maravalha e o conjunto permanece durante cinco dias no processo de maturação. Em seguida o resíduo do abatedouro de frango, centrifugado (sem excesso de água), é adicionado a esse substrato maturado. Em 24 horas a diminuição de massa do resíduo é acentuada e o processo de decomposição estará praticamente finalizado. A massa residual é reutilizada no processo e faz o papel do substrato maturado (Embiotic[®] e maravalha), ou seja, do inóculo. Portanto, normalmente é realizada uma alimentação diária das leiras de compostagem mantidas pela empresa sendo 250 litros de borra de frango adicionados por dia, por leira (Figura 2). Foi nesse sistema de compostagem que avaliamos a dinâmica das comunidades fúngicas.

Figura 2. Leiras de compostagem realizadas na Korin



Fonte: Korin Agricultura e Meio Ambiente (2018).

3 OBJETIVO

Descrever as comunidades fúngicas termofílicas e termotolerantes na compostagem da borra de frango.

4 MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho contou com três etapas. A primeira consistiu na coleta das amostras. Em seguida, o material foi transportado ao Laboratório de Ecologia e Sistemática de Fungos (LESF/UNESP – Câmpus de Rio Claro, SP) para a o isolamento dos fungos termofílicos e termotolerantes. A última etapa consistiu na caracterização morfológica e molecular dos fungos obtidos, bem como na análise dos dados.

4.1 Monitoramento da compostagem ADB e coleta do material

A compostagem foi realizada em um equipamento da Korin Agricultura, que realiza o revolvimento mecânico do composto (Figura 3). Tal aparato foi utilizado para atender as necessidades da empresa. Como o volume de resíduo adicionado é reduzido no sistema ADB, o uso desse equipamento possibilitou que a manutenção do experimento fosse realizada por apenas um funcionário. Na empresa, tal máquina é utilizada para testar os produtos antes de aplica-los na compostagem em larga escala. Além disso, o equipamento permitiu um melhor monitoramento da temperatura do processo.

As medições de temperatura foram realizadas no período de 08/09/2017 a 12/10/2017 duas vezes ao dia (manhã e tarde), exceto nos finais de semana e feriados. As medições da temperatura foram realizadas com um termômetro (Modelo Coterm 180 da marca Cotergavi), disposto no centro do equipamento. Diariamente, na parte da tarde, foram adicionados ao equipamento dois litros de borra de frango, provenientes da Korin Agropecuária. Quando adicionado o resíduo, o revolvimento do sistema foi realizado durante dois minutos para permitir a homogeneização do resíduo e a penetração de oxigênio no substrato.

O processo de compostagem iniciou-se com a maravalha tratada e terminou na fase de maturação, com o composto maturado. O substrato foi pesado, tanto no início quanto no final do processo para acompanhar a eficiência de degradação da matéria orgânica. Foram realizadas quatro coletas, sendo a primeira, correspondente ao substrato inicial (maravalha) tratado, a segunda, foi realizada durante a fase mesofílica, a terceira, na fase termofílica e a última correspondente ao composto orgânico final maturado (fase de maturação).

Em cada amostragem, foram recolhidos 10 g do composto de três pontos diferentes do equipamento. Essas três amostras foram reunidas em uma única amostra composta por coleta. As amostras foram coletadas com auxílio de uma pá, acondicionadas em sacos plásticos e mantidas a temperatura ambiente, para processamento no LESF no mesmo dia.

Figura 3. Equipamento com revolvimento mecânico.



Fonte: A autora (2017).

4.2 Isolamento dos fungos

Cada amostra de substrato foi adicionada em 90 mL de solução salina a 0,85%. Após agitação durante 5 min no agitadora orbital (*shaker*), foi realizada diluição seriada até obter uma diluição a 10^{-5} , em seguida, alíquotas de 100 μL das diluições foram semeadas em placas de Petri contendo os meios de cultivo: (1) *Yeast Starch Agar* (em g L^{-1} : 4 extrato de levedura; 15 amido solúvel; 1 K_2HPO_4 ; 0,5 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ e 20 ágar) e (2) *Yeast Glucose Agar* (em g L^{-1} : 5 extrato de levedura; 10 glicose e 20 ágar). Ambos os meios foram suplementados com 50 mg L^{-1} de rosa bengala e 0,04 mg mL^{-1} de estreptomicina e 0,02 mg mL^{-1} penicilina G (Sigma). Os dois últimos foram utilizados para inibir o crescimento de bactérias. As placas foram incubadas em estufa a 45 °C, durante 24 h (SALAR; ANEJA, 2007; OLIVEIRA et al., 2016). Para cada coleta foi realizada a contagem de unidades formadoras de colônias (UFCs). A diluição 10^{-3} , a qual apresentou entre 30 e 300 UFCs, foi considerada a mais adequada para realizar as contagens nos dois meios de cultivo.

Após incubação, as colônias que emergiram nas placas foram transferidas para outras placas contendo meio Ágar Malte 2%. Essas placas foram incubadas nas mesmas condições.

4.3 Identificação e preservação dos fungos

Inicialmente foi realizada uma triagem dos isolados obtidos utilizando as características macroscópicas e microscópicas das colônias. Tal triagem resultou em grupos de fungos denominados morfoespécies. Isolados representativos de cada morfoespécie foram selecionados para purificação da cultura e posterior identificação.

A purificação dos isolados foi realizado pelo método de cultura monospórica. As culturas axênicas foram transferidas para tubos contendo meio Ágar Malte 2%. Os fungos foram preservados em tubos inclinados contendo o mesmo meio e mantidos a 25 °C, como cultura de trabalho.

Posteriormente, foi realizada a identificação molecular das morfoespécies obtidas. Com tal informação procuramos definir quais grupos fúngicos predominam nas diferentes fases da compostagem. Para tanto, o DNA genômico foi extraído de acordo com Oliveira et al. (2016). A região ITS (*internal transcribed spacer*) e o gene que codifica para a proteína β -tubulina (somente para o gênero *Aspergillus*) foram amplificados. Os *primers* utilizados foram: ITS4/ITS5 e β t2a/ β t2b, para a região ITS e o gene que codifica para β -tubulina, respectivamente. Os fragmentos amplificados foram sequenciados utilizando o sequenciador ABI 3500 (*Thermo Fischer Scientific*), no Centro de Estudos de Insetos Sociais (CEIS/UNESP – Câmpus de Rio Claro).

As sequências *forward* e *reverse* geradas foram reunidas em sequências consenso no *software* Bioedit (HALL, 1999). Os *contigs* obtidos foram utilizados em buscas na base de dados do *NCBI-GenBank* e do *Westerdijk Fungal Biodiversity Institute* para descobrir as sequências homólogas das sequências em questão. Para a identificação final, foram utilizadas as informações tanto das características morfológicas, quanto os dados moleculares.

4.4 Análise da carga e sucessão fúngica

O número de colônias fúngicas que cresceram nos meios de cultivos foi contabilizado. Os valores obtidos foram expressos em termos de UFCs por grama, para determinar a carga fúngica. O número de UFCs foi calculado baseado na seguinte fórmula:

$$g^{-1} = \frac{n \text{ de colônias}}{\text{diluição}}$$

Foi calculada a média e o desvio padrão de UFCs g^{-1} para cada meio, em cada fase do processo de compostagem. As porcentagens de cada taxa foram plotadas em um gráfico de barras que expõe a sucessão fúngica.

5 RESULTADOS

5.1 Fases do sistema ADB e monitoramento da temperatura

O tempo total do processo de compostagem da borra de frango foi de 30 dias. No início da compostagem foram utilizados 31 L de substrato, correspondentes à serragem maturada (maravalha). Ao final do processo, havia 32 L de composto orgânico maturado. Levando em consideração que foram adicionados 2 L de borra de frango diariamente ao sistema, ao fim de um mês, foi adicionado um total de 42 L desse resíduo. Foi possível notar um consumo da matéria orgânica adicionada ao sistema, sendo que a diferença de volume inicial e ao final do processo foi de apenas 1L, revelando uma redução de 97,6% do material residual. Após peneiramento, 3 L do composto foram retidos e 29 L passaram pela peneira. O material peneirado é o composto resultante do processo, que é reutilizado para adubagem.

A temperatura da composteira variou durante o dia, sendo que as temperaturas mais elevadas foram registradas no período da tarde (Figura 4), cerca de 21 horas após a adição da borra de frango. No período da manhã, a temperatura variou de 25 °C a 56,1 °C e, no período da tarde, a variação foi de 30 °C a 62,6 °C (Figura 4). As coletas foram realizadas em diferentes temperaturas, que caracterizam os diferentes estágios do processo de compostagem, conforme indicado na Tabela 2.

Figura 4. Temperaturas registradas na composteira com borra de frango, durante 30 dias.

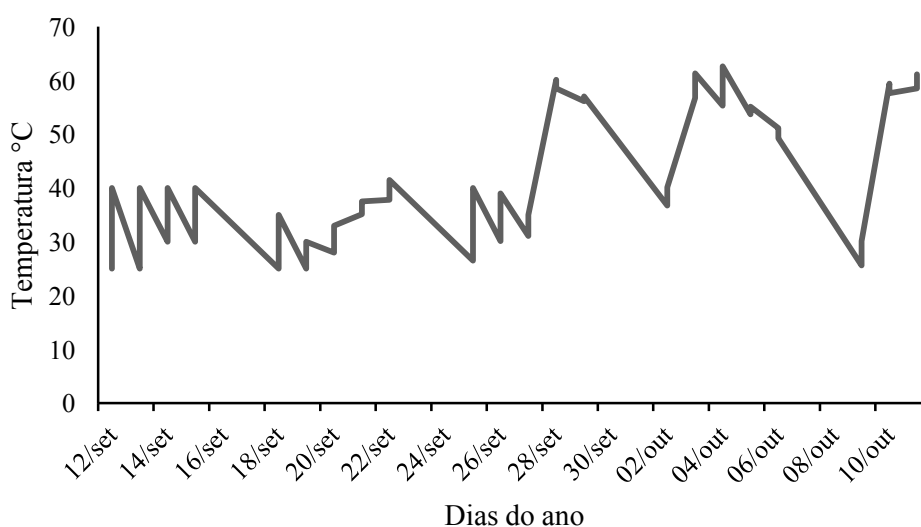


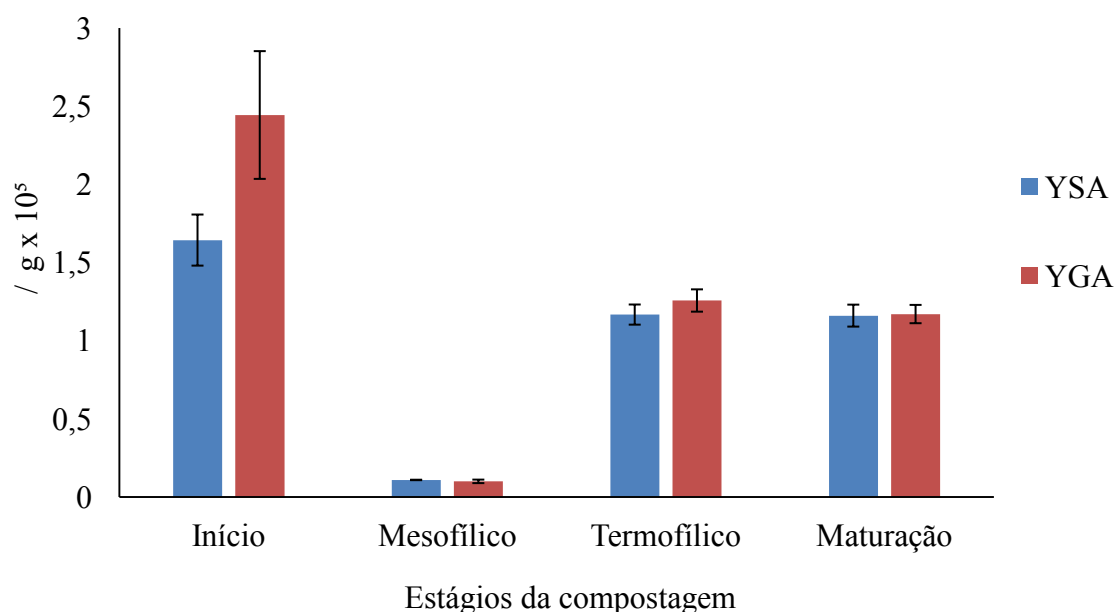
Tabela 2. Temperaturas da composteira com borra de frango no momento das coletas

Coleta	Data	Estágio	Temperatura (°C)
1	12/09/2017	Início (substrato)	23,5
2	21/09/2017	Mesofílico	36,9
3	03/10/2017	Termofílico	56,7
4	12/10/2017	Maturação	31,4

5.2 Carga fúngica na compostagem

Para as amostras obtidas na primeira, terceira e quarta coletas, a diluição 10^{-3} foi a mais adequada, pois apresentou entre 30-300 UFCs. Já para a amostra obtida na segunda coleta, a diluição 10^{-2} foi a escolhida. Em relação à carga fúngica encontrada, não foi observada diferença entre os meios de cultivo empregados, com exceção no substrato inicial, que houve uma tendência de apresentar uma maior carga de fungos no meio YGA (Figura 4). No geral, a carga fúngica apresentou uma redução expressiva da fase inicial para a fase mesofílica. Na fase termofílica, a quantidade de fungos termofílicos e termotolerantes no sistema voltou a aumentar, mantendo-se estável durante a fase de maturação do composto (Figura 5).

Figura 5. Quantidade de unidades formadoras de colônias (UFC g^{-1} de substrato) de fungos termofílicos e termotolerantes, em cada fase da compostagem da borra de frango. As médias de UFC estão representadas, seguidas do desvio padrão (barras). Meios de cultivo: YSA (Yeast Sucrose Agar) e YGA (Yeast Glucose Agar).



5.3 Identificação e sucessão fúngica

No geral, foram obtidos 74 isolados de fungos termofílicos e termotolerantes em cultura pura. A partir das análises macroscópicas e microscópicas, os 74 isolados foram agrupados em 22 morfoespécies. Em seguida, com a identificação molecular foi possível identificar cinco taxa: *Rhizomucor* sp. (compreendendo 54,1 % do total de isolados), *Aspergillus fumigatus* (29,7 %), *Lichtheimia* sp. (6,8 %), *Rhizopus* sp. (5,4 %) e *Thermomyces* sp. (4,1 %, Tabelas 3 e 4 e Figura 6).

A fase inicial, correspondente à serragem tratada e maturada, apresentou menor riqueza de espécies quando comparada a fase mesofílica (Figura 6). A fase termofílica apresentou a menor riqueza, seguida pela fase de maturação do composto, na qual os fungos presentes na fase mesofílica foram novamente isolados nessa fase, exceto *Rhizopus* sp. e *Thermomyces* sp.

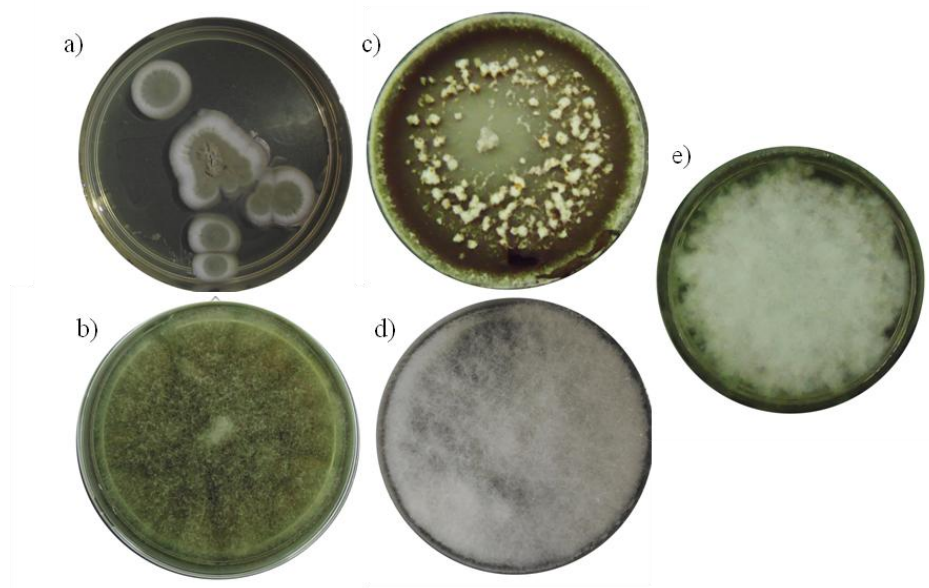
Tabela 3. Resultado da identificação utilizando *barcoding* ITS e o gene b-tubulina (para o gênero *Aspergillus*) das 22 morfoespécies de fungos encontradas na compostagem da borra de frango. As porcentagens indicam a similaridade à sequência correspondente na base de dados.

Morfoespécie	Resultado BLAST		Pares de base (pb)	Identificação final
	%	Fungo		
1	94	<i>Aspergillus fumigatus</i>	423	<i>Aspergillus</i> sp.
2	100	<i>Rhizomucor pusillus</i>	610	<i>Rhizomucor</i> sp.
3	100	<i>Aspergillus fumigatus</i>	455	<i>Aspergillus</i> sp.
4	99	<i>Rhizopus microsporus</i>	678	<i>Rhizopus</i> sp.
5	99	<i>Rhizomucor pusillus</i>	610	<i>Rhizomucor</i> sp.
6	99	<i>Rhizomucor pusillus</i>	610	<i>Rhizomucor</i> sp.
7	100	<i>Rhizomucor pusillus</i>	610	<i>Rhizomucor</i> sp.
8	100	<i>Rhizomucor pusillus</i>	610	<i>Rhizomucor</i> sp.
9	99	<i>Rhizopus microsporus</i>	678	<i>Rhizopus</i> sp.
10	99	<i>Lichtheimia ramosa</i>	850	<i>Lichtheimia</i> sp.
11	99	<i>Thermomyces lanuginosus</i>	608	<i>Thermomyces</i> sp.
12	99	<i>Thermomyces lanuginosus</i>	608	<i>Thermomyces</i> sp.
13	100	<i>Rhizomucor pusillus</i>	610	<i>Rhizomucor</i> sp.
14	99	<i>Rhizomucor pusillus</i>	580	<i>Rhizomucor</i> sp.
15	100	<i>Rhizomucor pusillus</i>	610	<i>Rhizomucor</i> sp.
16	99	<i>Rhizomucor pusillus</i>	610	<i>Rhizomucor</i> sp.
17	100	<i>Rhizomucor pusillus</i>	610	<i>Rhizomucor</i> sp.
18	99	<i>Rhizomucor pusillus</i>	610	<i>Rhizomucor</i> sp.
19	100	<i>Rhizomucor pusillus</i>	610	<i>Rhizomucor</i> sp.
20	99	<i>Rhizomucor pusillus</i>	610	<i>Rhizomucor</i> sp.
21	99	<i>Rhizomucor pusillus</i>	610	<i>Rhizomucor</i> sp.
22	100	<i>Rhizomucor pusillus</i>	610	<i>Rhizomucor</i> sp.

Tabela 4. Fungos termofílicos e termotolerantes encontrados nas diferentes fases da compostagem da borra de frango. Números representam a quantidade de isolados obtidos.

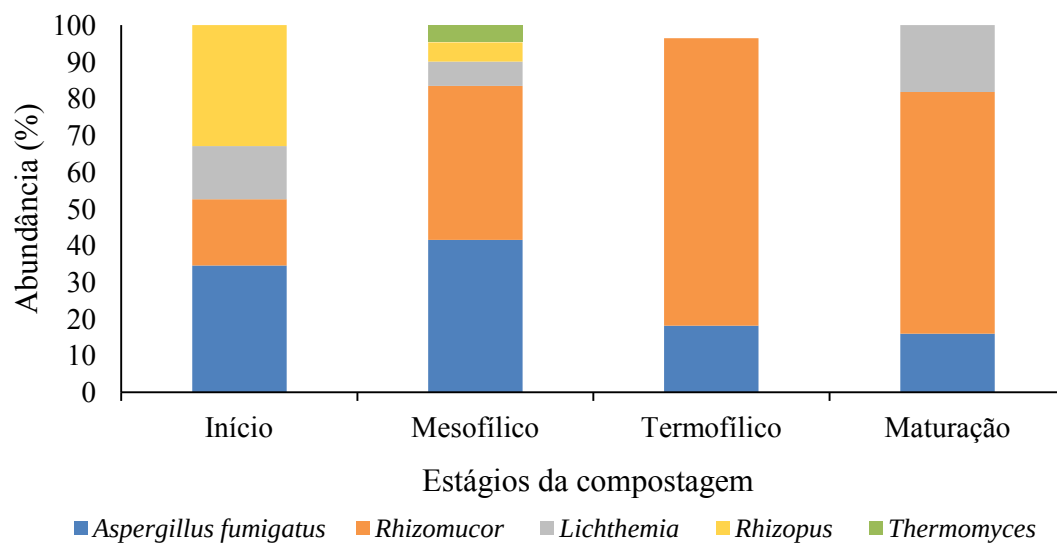
Fungos	Fases da compostagem				Total
	Início	Mesofílica	Termofílica	Maturação	
<i>Rhizomucor</i> sp.	4	13	11	12	40
<i>Aspergillus fumigatus</i>	6	11	2	3	22
<i>Lichtheimia</i> sp.	2	1	0	2	5
<i>Rhizopus</i> sp.	3	1	0	0	4
<i>Thermomyces</i> sp.	0	3	0	0	3
Total	15	29	13	17	74

Figura 6. Aspecto das colônias de fungos termofílicos e termotolerantes encontrados nas diferentes fases da compostagem da borra de frango. a) *Aspergillus fumigatus*; b) *Rhizomucor* sp.; c) *Thermomyces* sp.; d) *Rhizopus* sp.; e) *Lichtheimia* sp. Os fungos foram cultivados a 45 °C, durante 24 horas.



Os fungos, *A. fumigatus* e *Rhizomucor* sp., foram os únicos que apareceram em todas as fases da compostagem. Na fase termofílica, esses fungos representaram 100% dos isolados obtidos. Os fungos, *Rhizopus* sp. e *Lichtheimia* sp., foram encontrados na fase inicial (serragem) e na fase mesofílica (Figura 7). Entretanto, apenas o último apareceu na fase de maturação. Fungos do gênero *Thermomyces* foram isolados apenas na fase mesofílica (Figura 6).

Figura 7. Composição e abundância (em %, em relação ao total de isolados) de fungos termofílicos e termotolerantes em cada fase da compostagem da gordura de frango.



6 DISCUSSÃO

O sistema de compostagem ADB difere das demais compostagens convencionais, pois apresenta características únicas de temperatura e consumo de material orgânico. Os resultados desse estudo permitiram entender que o processo apresenta uma riqueza de fungos termofílicos e termotolerantes, sendo que há uma sucessão das comunidades desses micro-organismos. Tal sucessão é um pouco diferente daquela observada em outros sistemas de compostagem, o que sugere que a manutenção constante de temperaturas elevadas no sistema ADB esteja associada à dinâmica das comunidades desses fungos, observada no presente estudo. Possivelmente, fungos produtores de lipases sejam proeminentes na degradação da gordura de frango.

A temperatura máxima registrada na compostagem ADB foi de 62,6 °C. O valor ideal médio de temperatura em uma leira de compostagem é de 55 °C, sendo que temperaturas acima de 65 °C devem ser evitadas, uma vez que elimina a maioria dos micro-organismos que degrada a matéria orgânica (PEREIRA NETO, 1996). Entretanto, na compostagem da gordura de frango realizada em larga escala (em leiras), como a implantada na Korin Agricultura, a temperatura máxima registrada foi de 78 °C (Domiedson santos, comunicação pessoal). Acredita-se que, em consequência da realização do processo em escala reduzida (Figura 1), a maior temperatura atingida pela composteira utilizada nesse estudo não se igualou à mais elevada registrada pela empresa, nas leiras de larga escala. É possível que grande parte da decomposição seja realizada por micro-organismos termofílicos, uma vez que a compostagem utilizando o sistema ADB sustenta temperaturas acima de 60 °C por um período prolongado (TOMITA; AKIBA, 2013).

O valor de 97,6% de redução do substrato em relação ao volume adicionado na leira é uma medida indireta, que não analisa a degradação de cada componente específico do substrato. Tal redução de volume durante o processo ADB, quando comparada aos processos rotineiros de compostagem, pode indicar uma alta taxa de consumo do resíduo. Sistemas de compostagem que utilizam outros resíduos normalmente apresentam taxas de redução entre 50 e 70 % do volume inicial (AMORIM, 2002; PEIXOTO, 1988). Utilizando resíduo de abatedouro avícola, Costa e colaboradores (2006) avaliaram a redução de volume em quatro sistemas de compostagem. Dentre os sistemas analisados, a maior redução de massa encontrada foi de 78,4 %, um valor consideravelmente menor do que o encontrada no sistema ADB. Isso pode indicar uma eficiência do sistema desenvolvido pela Korin Agricultura, em relação à taxa de consumo de matéria orgânica, possivelmente relacionada à presença de

fungos termofílicos e termotolerantes (além das bactérias, as quais não foram avaliadas nesse estudo). Entretanto, como não foram realizadas análises cromatográficas do substrato antes e após a compostagem, não é possível indicar com certeza como ocorre o consumo da matéria orgânica, dificultando entender se o consumo total foi em relação apenas ao resíduo adicionado ou se houve consumo da serragem inicial.

A fase mesofílica é caracterizada pela atividade dos micro-organismos (bactérias e fungos) mesofílicos. Os resultados obtidos indicam uma redução da carga de micro-organismos termofílicos e termotolerantes do estágio inicial para a fase mesofílica. Esse resultado sugere que houve um aumento da carga de micro-organismos mesofílicos que iniciam a degradação da matéria, em detrimento dos termofílicos. O início da atividade de decomposição gera a elevação da temperatura da leira (devido à liberação de calor, resultante do metabolismo aeróbio), criando um ambiente mais propício para o desenvolvimento dos fungos termofílicos (PEREIRA NETO, 1996). Isso explica o aumento da carga microbiana desses fungos, da fase mesofílica para a termofílica. Com o esgotamento das fontes de carbono, a atividade microbiana diminui e, conseqüentemente, há uma diminuição da temperatura, o que propicia condições ótimas para o crescimento dos micro-organismos mesofílicos, que se encontram nas zonas periféricas da leira, aonde a temperatura é mais baixa. Esses micro-organismos invadem a massa interna e continuam a degradação do resíduo (PEREIRA NETO, 1996).

Os micro-organismos proliferam no processo de compostagem conforme a disponibilidade dos resíduos. Quanto mais variado o resíduo utilizado, mais diversificados serão os nutrientes presentes. Da mesma forma, mais diversa será a comunidade microbiana no processo (PEREIRA NETO, 1996). O sistema estudado foi continuamente “alimentado” pelo mesmo tipo de resíduo, sendo que a principal fonte de carbono é proveniente dos lipídios. Portanto, é possível que a baixa riqueza de fungos encontrada esteja relacionada às características de fontes de carbono disponíveis para os fungos no resíduo. Também é importante considerar que a riqueza de fungos encontrada nesse estudo, provavelmente não representa a riqueza total presente no processo. Sabe-se que o cultivo em meios artificiais recupera de 0,1% a 10% das comunidades microbianas (ANDREOTE; DURRER, 2016). Neste cenário, o emprego de métodos independentes de cultivo na análise da diversidade microbiana da compostagem pode revelar uma maior riqueza a qual não é possível de ser estudada apenas utilizando métodos dependentes de cultivo (DELFORNO et al., 2016; OLIVEIRA et al., 2016; STETS et al., 2014).

A compostagem realizada com outros sistemas, utilizando outros resíduos e o mesmo

método dependente de cultivo aqui empregado, apresentaram maior riqueza de fungos, em contraste com o encontrado na compostagem da borra de frango com o sistema ADB. Por exemplo, Oliveira e colaboradores (2016) identificaram os fungos termofílicos e termotolerantes presentes na compostagem do resíduo de prensa do processamento da cana-de-açúcar (chamada de “torta de filtro”). Os autores identificaram nove gêneros de fungos termofílicos e termotolerantes, indicando uma riqueza maior do que a do processo ADB. Dos nove gêneros, cinco coincidem com os encontrados no presente trabalho. Lee et al. (2014) estudaram os fungos termofílicos presentes na compostagem de resíduos orgânicos, obtendo um total de seis espécies. Dentre elas, algumas pertencentes ao gênero *Thermomyces* estavam presentes. A riqueza reportada por Lee et al. (2014), mesmo menor do que a observada por Oliveira et. al. (2016), ainda é levemente maior do que a encontrada no processo de compostagem utilizando o sistema ADB. Como o processo ADB apresentou uma menor riqueza de fungos termofílicos e termotolerantes, é possível sugerir que a diversidade de fungos termofílicos e termotolerantes nem sempre esteja associada à uma rápida degradação do resíduo orgânico. Entretanto, mais estudos são necessários para realizar tal associação.

Naturalmente, as comunidades fúngicas na compostagem se sucedem segundo a disponibilidade de nutrientes e com a temperatura (PEREIRA NETO, 1996). No sistema ADB, a mesma dinâmica pode ser notada. Os resultados indicam maior riqueza na fase mesofílica. Possivelmente, a diferença de riqueza entre a fase inicial e a fase mesofílica se dá devido à adição da borra de frango ao processo. Com a maior disponibilidade de nutrientes, as comunidades fúngicas começam a se desenvolver, de modo a gerar o pico de riqueza na fase mesofílica. A abrupta diminuição da riqueza fúngica da fase mesofílica para a termofílica, pode sinalizar que a rápida mudança de temperatura na compostagem influencie até mesmo na riqueza das comunidades fúngicas resistentes ao calor. O reaparecimento do gênero *Lichtheimia* ao processo coincidiu com a etapa em que ocorre a redução da temperatura. É possível inferir que ainda haveria nutrientes propícios para o desenvolvimento desse fungo e que a temperatura tornou-se um fator limitante para esse, uma vez que é considerado um fungo termotolerante e não termofílico (OLIVEIRA; GOMES; RODRIGUES, 2015).

Os únicos fungos presentes em todos os estágios foram *A. fumigatus* e *Rhizomucor* sp. Ambos foram identificados em diversos processos de compostagem (GHAZIFARD; KASRA-KERMANS SHAHI; FAR, 2001; OLIVEIRA et al., 2016). Segundo Ferrarezi (2011) espécies do gênero *Rhizomucor*, em conjunto com *A. fumigatus*, estão associadas à produção de lipases, enzimas que hidrolisam a gordura. No estudo de Ferrarezi (2011), uma espécie de *Rhizomucor* sp. apresentou elevada produção de lipase em meio com óleo de soja. Os fungos

presentes na fase termofílica da compostagem com o sistema ADB coincidem com aqueles que são produtores de enzimas que hidrolisam a gordura. Sendo os lipídeos, a principal fonte de nutrientes da compostagem da gordura de frango, supõe-se que o processo de compostagem pode promover a proliferação dos fungos possivelmente lipofílicos. Entretanto, é importante salientar que, no presente estudo, não avaliamos a produção de lipases por esses micro-organismos. Portanto, trabalhos futuros poderão suportar tal hipótese avaliando se os isolados obtidos da compostagem da gordura de frango apresentam elevada produção de lipases.

7 CONSIDERAÇÕES

As variações na riqueza de fungos termofílicos e termotolerantes durante o processo de compostagem da gordura de frango podem estar associadas às características particulares do sistema ADB. Em especial, a elevada temperatura que esse sistema sustenta durante a fase termofílica pode ser seletiva até para esses fungos. Portanto, o sistema ADB apresenta características que podem ser determinantes na composição das comunidades fúngicas durante o processo. Além disso, é possível que fungos produtores de lipases atuem no processo de compostagem da borra de frango, nesse sistema.

REFERÊNCIAS

- AMORIM, A. C. **Caracterização dos dejetos de caprinos: reciclagem energética e de nutrientes**. 2002. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, 2002.
- AMORIM, A. C. **Avaliação do potencial de impacto ambiental e do uso da compostagem e biodigestão anaeróbia na produção de caprinos**. 2005. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, 2005.
- ANDREOTE, F. D.; DURRER, A. Introdução aos métodos independentes de cultivo no estudo da microbiologia do solo. In: CARDOSO, E. J. B. N.; ANDREOTE, F. D. **Microbiologia do solo**. 2ª ed. Piracicaba: DIBD/ESALQ/USP, 2016. Capítulo 14. pg. 211-221.
- BERNARDI, F. H. **Uso do processo de compostagem no aproveitamento de resíduos de incubatório e outros de origem agroindustrial**. 2011. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) - Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Cascavel, 2011.
- BERNARDI, F. H. **Materiais lignocelulósicos na compostagem de resíduos da agroindústria do frango de corte**. 2015. Tese (Doutorado em Engenharia Agrícola) - Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Cascavel, 2015.
- BINI, A. D.; MIRANDA, S. H. G.; VIAN, C. E. F.; PINTO, L. F. G. A dimensão econômica da sustentabilidade na agropecuária brasileira. **Revista de Política Agrícola**, v. 27, n. 2, p. 95-105, 2018.
- BONITO, G; ISIKHUEMHEN, O. S; VILGALYS, R. Identification of fungi associated with municipal compost using DNA-based techniques. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 3, p. 1021-1027, 2010.
- BRASIL. Lei Nº 12.305, de 2 de agosto de 2010. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 03 de ago. 2010. Seção 1, p. 3-7. Institui a Política Nacional de Resíduos Sólidos; altera a Lei n 9.605, de 12 de fevereiro de 1998, 2010.
- CANCELADO, S. **Avaliação da qualidade microbiológica de um composto produzido a partir de resíduos animais e vegetais**. 2014. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agropecuária) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, 2014.
- CARNEIRO, L. J. **Compostagem de resíduos agroindustriais: revolvimento, inoculação e condições ambientais**. 2012. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) - Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Cascavel, 2012.
- COOPER, M; ZANON, A. R.; REIA, M. Y.; MORATO, R. W. **Compostagem e reaproveitamento de resíduos orgânicos agroindustriais: teórico e prático**. Edição Especial. Piracicaba: Serviços de Produções Gráficas – USP/ESALQ, 2010. 35 p.
- COSTA, M. M. S. de M.; COSTA, L. A de M.; PELÁ, A.; SILVA, C. J. da S; DECARLI, L.

D.; MATTER, U. F. Desempenho de quatro sistemas de compostagem de carcaça de aves. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 10, n. 3, p. 692-698, 2006.

DELFORNO, T. P.; JUNIOR G. V. L.; NORONHA M. F.; SAKAMOTO I. K.; VARESCHE M. B. A.; OLIVEIRA, V. M. Microbial diversity of a full-scale A SB reactor applied to poultry slaughterhouse wastewater treatment: integration of 16S rRNA gene amplicon and shotgun metagenomic sequencing. **MicrobiologyOpen**, v. 6, n. 3, p. 443-455, 2017.

FERNANDES, F.; SILVA, S. M. C. P. **Manual prático para a compostagem de bio sólidos**. Londrina: UEL-Universidade Estadual de Londrina, 1999.

FERRAREZI, A. C. **Seleção de fungos termofílicos para produção de lipase e aplicação na produção de biodiesel**. 2011. Tese (Doutorado em Microbiologia Aplicada) – Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Rio Claro, 2011.

FETTI, G. L. R. **Avaliação do efeito da inoculação de fungos termofílicos em pilhas de compostagem de lixo urbano**. 2014. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) – Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, São José do Rio Preto. 2014.

FIORI, M. G. S.; SCHOENHALS, M.; FOLLADOR F. A. C. Análise da evolução tempo-eficiência de duas composições de resíduos agroindustriais no processo de compostagem aeróbia. **Engenharia Ambiental: Pesquisa e Tecnologia**, v. 5, n. 3, p. 178-191, 2008.

GHAZIFARD, A.; KASRA-KERMANSNAHI, R.; FAR, Z. E. Identification of thermophilic and mesophilic bacteria and fungi in Esfahan (Iran) municipal solid waste compost. **Waste Management and Research**, v. 19, n. 3, p. 257-261, 2001.

GU, W.; LU, Y.; TAN, Z.; XU, P.; XIE, K.; LI, X.; SUN, L. Fungi diversity from different depths and times in chicken manure waste static aerobic composting. **Bioresource Technology**, v. 239, n. 9, p. 447-453, 2017.

HALL, T. A. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. **Nucleic Acids Symposium Series**, v. 41, p. 95-98, 1999.

HASAN, F.; SHAH, A. A.; HAMEED, A. Industrial applications of microbial lipases. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 39, n. 2, p. 235-251, 2006.

HASSEN, A.; BELGUITH, K.; JEDIDI, N.; CHERIF A.; CHERIF, M.; BOUDABOUS, A. Microbial characterization during composting of municipal solid waste. **Bioresource Technology**, v. 80, n. 3, p. 217-225, 2001.

HULTMAN, J.; VASARA, T.; PARTANEN P.; KUROLA J.; KONTRO M. H.; PAULIN L.; AUVINEN P.; ROMANTSCHUK M. Determination of fungal succession during municipal solid waste composting using a cloning-based analysis. **Journal of Applied Microbiology**, v. 108, n. 2, p. 472-487, 2010.

KIEHL, E. J. **Manual de compostagem: maturação e qualidade do composto**. 4. ed. Piracicaba: Editora agrônoma Ceres, 2004. 173 p.

KORIN AGRICULTURA E MEIO AMBIENTE (Ipeúna - SP) (Org.). **Sobre a Korin**. 2015.

Disponível em: <<https://korinagricultura.com.br>>. Acesso em: 04 fev. 2019.

TRAUTMANN, N. M.; KRASNY, M. E. **Composting in the classroom**: scientific inquiry for high school students. Ithaca, New York: Laura Glenn, 1997. 126 p. Disponível em: <<http://cwmi.css.cornell.edu/compostingintheclassroom.pdf>>. Acesso em: 11 set. 2018.

LEE, H.; LEE, Y. M.; JANG, Y.; LEE, S.; LEE, W.; AHN, B. J.; KIM, G. H.; KIM, J. J. Isolation and analyses of the enzymatic properties of thermophilic fungi from compost. **Mycobiology**, v. 42, n. 2, p. 181-184, 2014.

MISRA, R. V.; ROY R. N.; HIRAOKA, H. **On-farm composting methods**. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2003. p. 51.

OLIVEIRA, T. B.; GOMES, E.; RODRIGUES, A. Thermophilic fungi in the new age of fungal taxonomy. **Extremophiles**, v. 19, n. 1, p. 31-37, 2015.

OLIVEIRA, T. B.; LOPES, V. C.; BARBOSA, F. N.; FERRO, M.; MEIRELLES, L. A.; SETTE L. D.; GOMES, E.; RODRIGUES, A. Fungal communities in pressmud composting harbour beneficial and detrimental fungi for human welfare. **Microbiology**, v. 162, n. 7, p. 1147-1156, 2016.

PATHAK, A. K.; SINGH, M. M.; KUMAR, V. Composting of municipal solid waste: a sustainable waste management technique in Indian cities – a review. **International Journal of Current Research**, v. 3, n. 12, p. 339-346, 2011.

PEREIRA NETO, J. T. **Manual de compostagem**: processo de baixo custo. Belo Horizonte: UNICEF, 1996. 56 p.

PEIXOTO, R. T. G. **Opção para o manejo orgânico do solo**. Londrina-PR: Fundação Instituto Agronômico do Paraná, 1988. pp. 17-42.

REIS, M. F. P. **Avaliação do processo de compostagem de resíduos sólidos urbanos**. 2005. Tese (Doutorado em Recursos hídricos e Saneamento Ambiental) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2005.

RYCKEBOER, J.; MERGAERT, J.; VAES K.; KLAMMER, S.; CLERCQ, D. D.; COOSEMANS, J.; INSAM, H.; SWINGS, J. A survey of bacteria and fungi occurring during composting and self-heating processes. **Annals of Microbiology**, v. 53, n. 4, p. 349-410, 2003.

SALAR, T. K.; ANEJA, K. R. Thermophilic fungi: taxonomy and biogeography. **Journal of Agricultural Technology**, v. 3, n. 1. p. 77-107, 2007.

SCHUCHARDT, F. Composting of organic waste. In: JÖRDENING, H-J.; WINTER, J. **Environmental Biotechnology**: concepts and applications. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2005. pp. 333-354.

SOUZA, M. E. Fatores que influenciam a digestão anaeróbia. **Revista DAE**, v. 44, n. 137, p. 88-94, 1984.

STETS, M. I; ETTO, R. M; GALVÃO C. W; AYUB R. A; CRUZ L. M; STEFFENS M. B. R; BARANA A. C. Microbial community and performance of slaughterhouse wastewater treatment filters. **Genetics and Molecular Research**, v. 13, n. 2, p. 4444-4455, 2014.

SUNADA, N. S. **Efluente de abatedouro avícola: processos de biodigestão anaeróbia e compostagem**. 2011. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, 2011.

TOMITA, J. L. C; AKIBA, N. **Compostagem de resíduos orgânicos**. In: Encontro regional sobre política nacional de resíduos sólidos - desafios e oportunidades, 1., 2013. **Anais...** São Carlos: ANEAM, 2013. Disponível em: <http://www.kmambiente.com.br/docs/COMPOSTAGEM_DE_RESIDUOS_ORGANICOS.pdf>. Acesso em: 17 abr. 2018.

VALENTE, V. S.; XAVIER, E. G.; MORSELLI, T. B. G. A.; JAHNKE, D. S.; BRUM JR, B. S.; CABRERA, B. R.; MORAES, P. O.; LOPES, D. C. N. Fatores que afetam o desenvolvimento da compostagem de resíduos orgânicos. **Archivos de Zootecnia**, v. 58, n. 221, p. 59-85, 2009.

VICENTINI, L. S.; CARVALHO, K.; RICHTER, A. S. Utilização de microorganismos eficazes no preparo da compostagem. **Cadernos de Agroecologia**, v. 4, n. 2, p. 3367-3370, 2009.

ZAFAR, U.; HOULDEN, A.; ROBSON, G. D. Fungal communities associated with the biodegradation of polyester polyurethane buried under compost at different temperatures. **Applied Environmental Microbiology**, v. 79, n. 23, p. 7313-7324, 2013.