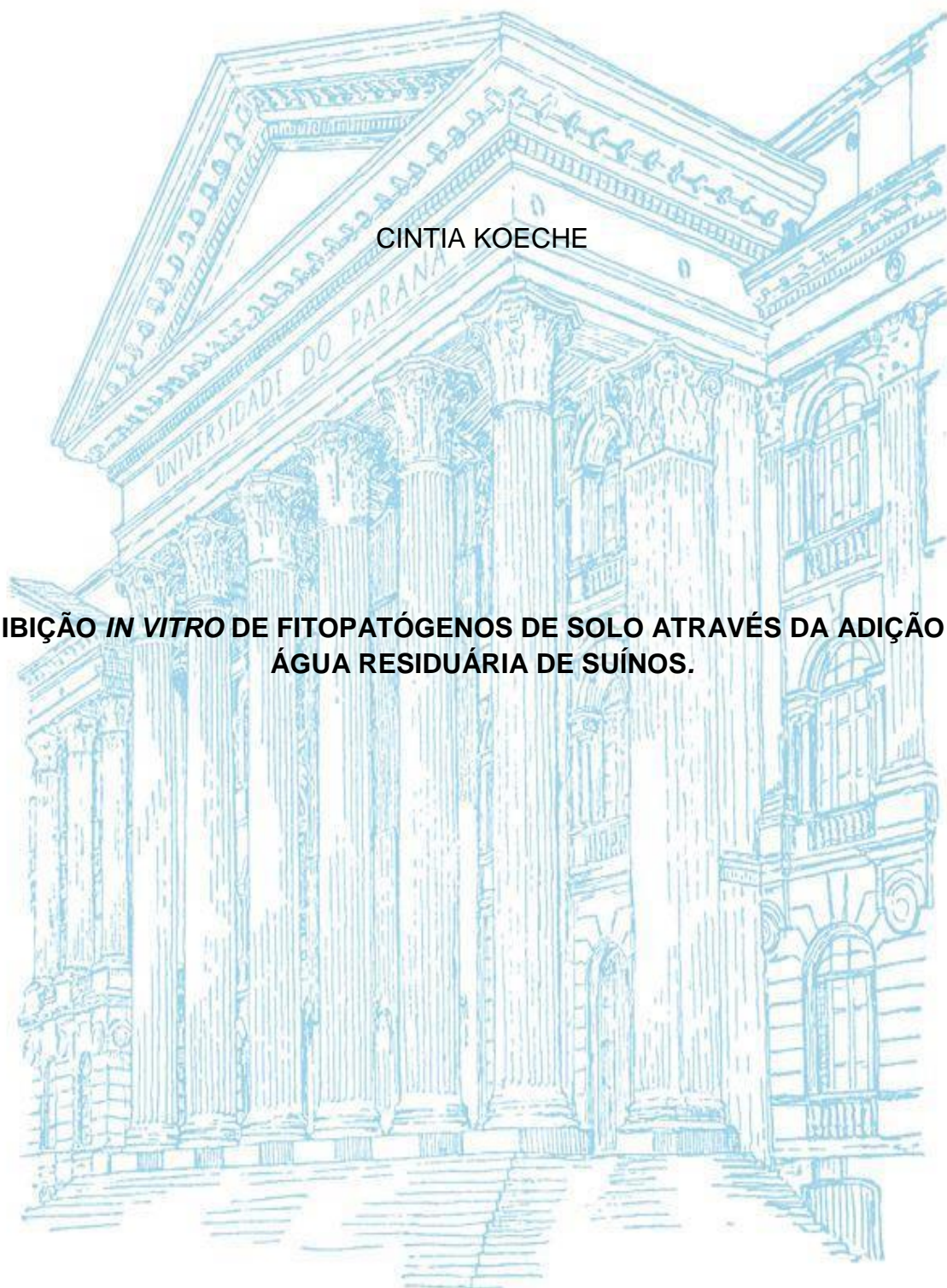


UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

CINTIA KOECHE

**INIBIÇÃO *IN VITRO* DE FITOPATÓGENOS DE SOLO ATRAVÉS DA ADIÇÃO DE
ÁGUA RESIDUÁRIA DE SUÍNOS.**



PALOTINA

2017

CÍNTIA KOECHE

**INIBIÇÃO *IN VITRO* DE FITOPATÓGENOS DE SOLO ATRAVÉS DA ADIÇÃO DE
ÁGUA RESIDUÁRIA DE SUÍNOS.**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como requisito para a disciplina TCC II do curso de graduação em Agronomia da Universidade Federal do Paraná - Setor Palotina.

Orientador: Prof. Dr. Jonathan Dieter
Co-orientador: Prof. Dr. Roberto Luis Portz
Co-orientadora: Danielle Dutra Martinha

PALOTINA

2017

TERMO DE APROVAÇÃO

CÍNTIA KOECHE

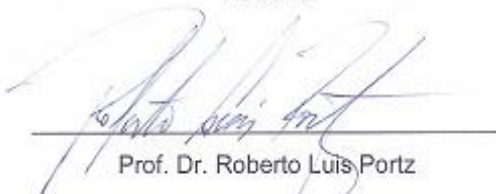
**INIBIÇÃO *IN VITRO* DE FITOPATÓGENOS DE SOLO ATRAVÉS DA
ADIÇÃO DE ÁGUA RESIDUÁRIA DE SUÍNOS.**

Trabalho de conclusão de curso aprovado como requisito parcial à obtenção do título de Engenheira Agrônoma, Curso de Agronomia no Setor Palotina da Universidade Federal do Paraná, pela seguinte banca examinadora:



Prof. Dr. Jonathan Dieter

Orientador – Departamento de Engenharia de Aquicultura - UFPR Setor
Palotina



Prof. Dr. Roberto Luis Portz

Departamento de Ciências Agronômicas - UFPR Setor Palotina



Engenheira Agrônoma Danielle Dutra Martinha

Palotina, 05 de julho 2017

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a minha família, principalmente meus pais Wilson e Célia e minha irmã Marília, pelo total apoio cada um ao seu modo, e a todos que me acompanharam durante a graduação em especial aos meus amigos, professores e orientadores.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por todas as oportunidades incríveis que tive durante minha vida e minha graduação. Agradeço a Ele especialmente por ter me dado saúde e força para superar as dificuldades.

À minha família, por todo amor, apoio e dedicação constante. Meus pais que sempre estiveram ao meu lado me apoiando, ajudando e aconselhando em toda fase desse processo. Minha mãe Célia Regina Boschi Koeche por servir de inspiração como mulher batalhadora e honesta que é, ao meu pai Vilson Luís Koeche por ser exemplo de humildade e dedicação, especialmente a mim e minha irmã Marília Koeche que mesmo tão nova sempre esteve ao meu lado com todo seu amor e carinho.

Agradeço ao meu amigo, colega e namorado Rafael Juchem Schenkel, por todo apoio e dedicação prestado. Mesmo nas horas difíceis você esteve ao meu lado impedindo a minha fraqueza e apoiando em todas as minhas decisões.

Agradeço ao meu orientador Jonathan Dieter por toda orientação, ensinamentos e dedicação durante a realização deste trabalho. Ao meu orientador Roberto Luis Portz por toda atenção, ensinamentos e paciência para a realização do mesmo. A minha amiga e orientadora Danielle Dutra Martinha, meu extremo agradecimento, especialmente pela sua dedicação na orientação e conselhos ao longo do trabalho, levarei você pra sempre no meu coração.

Agradeço aos meus amigos e amigas mais próximas por toda convivência, apoio, suporte, enfim, por tudo que vivemos juntos esses 5 anos de graduação, aos meus primos e primas especialmente Carine Morgenstern, Laura Morgenstern, Keila Boschi, Kauani Boschi, Igor Griebler e Lucas Griebler por serem meus primeiros amigos da vida que mesmo longe sempre estiveram presente, levarei vocês no coração. A minha amiga e companheira Marinara Ferneda, por toda convivência diária durante quatro anos e meio, será sempre minha companheira de quarto e colega profissional.

Meus agradecimentos a meus amigos Wésler Luiz Marcelino, aos meus colegas do grupo de estudo GEFIA por todo auxílio na realização deste trabalho. A professora Vivian Carré Missio e orientador Roberto Luis Portz por todo ensinamento

e por disponibilizar o Laboratório de Fitopatologia para realização de parte do trabalho.
Aos técnicos do departamento de Ciências Agrárias, por toda colaboração e auxílio.

E a todos que de uma maneira ou outra fizeram parte da minha formação, o meu muito obrigada.

RESUMO

Fitopatógenos de solo se tornou um grave problemas na produção agrícola devido à dificuldade de seu controle. Dentre os fitopatógenos do solo, os fungos se encontram entre o grupo mais vasto e diversos, causadores de doença. As espécies *Sclerotinia sclerotiorum* e *Sclerotium rolfsii*, causam grandes perdas na produção agrícola e seu controle é dificultado devido ao fato de serem fungos saprofíticos e de difícil acesso no solo. Métodos alternativos vem sendo utilizado para inibir seu desenvolvimento, como a adição de matéria orgânica. Solo supressivo é um meio alternativo indireto de inibir o desenvolvimento e infestação desses fungos fitopatogênicos. Sendo assim, o objetivo desse trabalho foi induzir a supressividade do solo em ambiente *in vitro* da adição de água residuária de suínos (ARS) em diferentes dosagens contra *Sclerotinia sclerotiorum* e *Sclerotium rolfsii*. A ARS foi incorporada nas dosagens de 2,5 mL, 5 mL, 10 mL, 20 mL por placa, e foi utilizado solo autoclavado e não autoclavado. Foi adicionado 5 ml de Ágar-água sobre o solo e adicionado disco de micélio dos respectivos fungos fitopatogênicos. A avaliação do crescimento micelial foi diária durante sete dias, através da dados quantitativos e qualitativos. O delineamento foi inteiramente casualizado com cinco repetições e os dados foram submetidos a análise de variância pelo programa estatístico Sisvar, utilizando teste Tukey a 5% de probabilidade. Resultados indicam que as maiores doses inibiram o crescimento dos fungos fitopatogênicos em condições de solo autoclavado e não autoclavado. A Agua residuária de suínos teve uma percentagem de inibição de 93,19 % para o fungo *S. sclerotiorum* e de 20,74% para *S. rolfsii* na dosagem de 20 mL, já para a menor dose teve a inibição de 76,53% e 20,74% respectivamente, em condição de solo autoclavado. A percentagem de inibição para o solo não autoclavado na menor e maior dose foi de 100% para *S. sclerotiorum* e 28,57% para *S. rolfsii*.

Palavras-chaves: Supressividade; água residuária de suínos; fungos fitopatogênicos.

ABSTRACT

Soil pathogens are considered a serious problem in agricultural production in general mainly due to the difficulty of control and elimination of the disease. Among the soil phytopathogens, fungi are among the largest and diverse group, causing disease. The species *Sclerotinia sclerotiorum* and *Sclerotium rolfsii* cause great losses in agricultural production and their control is difficult due to the fact that they are saprophytic fungi and difficult to access in the soil. Alternative methods have been used to inhibit its development as the addition of organic matter. Suppressive soil is an alternative and indirect pathway for inhibiting the development and infestation of these phytopathogenic fungi. The present work proposes to induce the suppressivity of the soil in an in vitro environment with addition of wastewater of pigs in different dosages against the fungi *Sclerotinia sclerotiorum* and *Sclerotium rolfsii*. The swine wastewater was incorporated at the dosages of 2.5 mL, 5.0 mL, 10.0 mL, 20.0 mL per dish, and autoclaved and non-autoclaved soil was used. The evaluation of the mycelial growth was daily, for a period of seven days through quantitative and qualitative dice. The design was completely randomized with five replicates and the data were submitted to analysis of variance using Tukey test at 5% probability. Results indicate that the higher doses inhibited the growth of phytopathogenic fungi under autoclaved and non-autoclaved soil conditions. The pig wastewater had a percentage of inhibition of 93.19% for *S. sclerotiorum* fungus and 20.74% for *S. rolfsii* in the dosage of 20 mL, whereas at the lowest dose the inhibition was 76.53% and 20.74%, respectively, under autoclaved soil conditions. The percent inhibition for non-autoclaved soil at the lowest and highest dose was 100% for *S. sclerotiorum* and 28.57% for *S. rolfsii*.

Key-words: Supressivity; Pig wastewater; Phytopathogenic fungi

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1 - CRESCIMENTO DAS HIFAS E ESCLERÓDIOS DO FUNGO <i>SCLEROTINIA SCLEROTIORUM</i>	21
FIGURA 2 - CRESCIMENTO DAS HIFAS E ESCLERÓDIOS DO FUNGO <i>SCLEROTIUM ROLFSII</i>	22
FIGURA 3 - PLACAS DE <i>SCLEROTINIA SCLEROTIORUM</i> COM ADIÇÃO DE ÁGUA RESIDUÁRIA DE SUÍNOS NAS DIFERENTES DOSAGENS COM SETE DIAS.	24
FIGURA 4 - INIBIÇÃO DO CRESCIMENTO MICELIAL DO PATÓGENO PELO ESTÍMULO DA COMUNIDADE MICROBIANA DA ÁGUA RESIDUÁRIA DE SUÍNO, NA DOSE DE 2,5 ML EM SOLO AUTOCLAVADO COM SETE DIAS.	25
FIGURA 5 - PLACAS DE <i>SCLEROTIUM ROLFSII</i> COM ADIÇÃO DE ÁGUA RESIDUÁRIA DE SUÍNOS NAS DIFERENTES DOSAGENS COM SETE DIAS	28
FIGURA 6 - INIBIÇÃO DO CRESCIMENTO MICELIAL DO PATÓGENO PELO ESTÍMULO DA COMUNIDADE MICROBIANA DA ÁGUA RESIDUÁRIA DE SUÍNO, NA DOSE DE 2,5 ML AUTOCLAVADO COM SETE DIAS.	28

LISTA DE GRÁFICOS

- GRÁFICO 1 - MÉDIA DA INIBIÇÃO DO CRESCIMENTO MICELIAL DO PATÓGENO *SCLEROTINIA SCLEROTIORUM* EM SOLO AUTOCLAVADO COM A INCORPORAÇÃO DE DIFERENTES DOSAGENS DE ÁGUA RESIDUÁRIA DE SUÍNOS..... 23
- GRÁFICO 2 - MÉDIA DA INIBIÇÃO DO CRESCIMENTO MICELIAL DO PATÓGENO *SCLEROTINIA SCLEROTIORUM* EM SOLO NÃO AUTOCLAVADO COM A INCORPORAÇÃO DE DIFERENTES DOSAGENS DE ÁGUA RESIDUÁRIA DE SUÍNOS..... 23
- GRÁFICO 3 - MÉDIA DA INIBIÇÃO DO CRESCIMENTO MICELIAL DO PATÓGENO *SCLEROTIUM ROLFSII* EM SOLO AUTOCLAVADO, COM A INCORPORAÇÃO DE DIFERENTES DOSAGENS DE ÁGUA RESIDUÁRIA DE SUÍNOS..... 26
- GRÁFICO 4 - MÉDIA DA INIBIÇÃO DO CRESCIMENTO MICELIAL DO PATÓGENO *SCLEROTIUM ROLFSII* EM SOLO NÃO AUTOCLAVADO COM A INCORPORAÇÃO DE DIFERENTES DOSAGENS DE ÁGUA RESIDUÁRIA DE SUÍNOS..... 27

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - PORCENTAGEM DE REDUÇÃO DOS FITOPATÓGENOS <i>SCLEROTINIA SCLEROTIORUM</i> E <i>SCLEROTIUM ROLFII</i> EM SOLO AUTOCLAVADO COM A ADIÇÃO DE ÁGUA RESIDUÁRIA DE SUÍNOS EM DIFERENTES DOSAGENS.....	29
TABELA 2 - PORCENTAGEM DE REDUÇÃO DOS FITOPATÓGENOS <i>SCLEROTINIA SCLEROTIORUM</i> E <i>SCLEROTIUM ROLFII</i> EM SOLO NÃO AUTOCLAVADO COM A ADIÇÃO DE ÁGUA RESIDUÁRIA DE SUÍNOS EM DIFERENTES DOSAGENS.....	30

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO REFERENCIADA	13
2 OBJETIVOS	18
2.1 OBJETIVO GERAL	18
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	18
3 MATERIAL E MÉTODOS	19
3.1 ISOLAMENTO E CULTIVO DOS FITOPATÓGENOS	19
3.2 MATERIAL ORGÂNICO	19
3.3 MEIOS DE CULTURA	19
3.4 PREPARO E OBTENÇÃO DOS TRATAMENTOS	19
3.5 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	20
3.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA	20
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	21
4.1 ISOLAMENTO E CULTIVO DOS FITOPATÓGENOS	21
4.2 EFEITO DA ARS NO CRESCIMENTO MICELIAL	22
4.2.1 <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	22
4.2.2 <i>Sclerotium rolfsii</i>	26
5 CONCLUSÕES	31
6 REFERÊNCIAS	32

1 INTRODUÇÃO REFERENCIADA

A produção de alimentos em grande escala é um dos maiores desafios do mundo, atualmente e para o futuro. De acordo com a última revisão da Organização das Nações Unidas (ONU, 2015) a população mundial alcançou 7, 349 bilhões de pessoas, com a previsão de aumentar 2, 376 bilhões até o ano de 2050

, atingindo assim 9, 725 bilhões de pessoas, o que torna ainda mais preocupante.

Entre os elementos do agronegócio brasileiro, destacam-se a produção da cultura do milho, soja e café (REIS, 2016). Porém, um dos maiores problemas da produção de alimentos é a inevitável contaminação fúngica causando grandes perdas econômicas (ALMEIDA, 2005).

O Brasil com seu clima tropical a temperado está mais propício ao desenvolvimento de doenças de plantas já que a variação de temperatura e umidade é constante (HOELTZ, 2009). Dentre o desenvolvimento de fungos no sistema, destacam-se os fungos causadores de doenças radiculares onde normalmente o desenvolvimento ocorre devido ao desequilíbrio do solo. De modo geral, o sistema agrícola adotado é responsável pela origem desse desequilíbrio, no qual transforma as áreas de cultivo em regiões com um alto índice de simplificação ecológica, resultando em áreas mais sujeitas as perturbações por agentes, bem como os fitopatógenos (MICHEREFF *et al*, 2005).

Um ponto em que deve ser destacado com tamanha precaução é o caráter contínuo das doenças radiculares em culturas de grande interesse econômico (MICHEREFF *et al*, 2005).

O fungo *Sclerotinia sclerotiorum* é o patógeno causador da doença conhecida como mofo branco ou podridão branca da haste. O fungo está disseminado em regiões acima de 800 metros de altitude com condições climáticas amenas. O fungo é capaz de infectar uma ampla gama de espécies hospedeiras, incluindo as plantas daninhas, porém com exceção das gramíneas (ALMEIDA *et al*, 1997).

A fase mais suscetível da ocorrência de *S. sclerotiorum* no hospedeiro compreende o período de floração plena ao início da formação das vagens. O desenvolvimento da doença é favorecido por condições de alta umidade relativa e temperaturas amenas. Os escleródios, estruturas de resistências desenvolvidas por

essa espécie que consiste em uma massa compacta de hifas, germinam sob temperaturas entre 10°C e 21°C e desenvolvem apotécios, que produzem ascósporos que são responsáveis pela infecção das plantas quando liberados ao ar. A disseminação da doença por semente ocorre quando os escleródios estão misturados às sementes ou pelo micélio dormente. Com o estabelecimento do patógeno na área, é difícil sua erradicação, devido a presença de escleródios na área por um longo período (GODOY, 2014).

Os sintomas iniciais são manchas de anasarca que em seguida adquirem uma coloração castanha clara, na sequência formam um micélio branco e denso. Em poucos dias os escleródios são formados no aspecto de uma massa negra e rígida. O tamanho dos escleródios pode variar de poucos milímetros a alguns centímetros, sendo desenvolvidos tanto no interior da haste ou nas vagens infectadas (ALMEIDA, *et al*, 1997).

O controle é difícil devido a permanência dos escleródios no solo por um longo tempo. Assim o controle baseia-se em um programa integrado de práticas culturais. Utilizar sementes certificadas livre do patógeno e realizar o tratamento de sementes, com fungicidas do grupo benzimidazóis, reduz a transmissão por meio do micélio dormente. É de fundamental importância a adoção da rotação de cultura, pois auxilia na degradação natural dos escleródios (LEITE, 2005). Para aplicação de fungicidas os estádios recomendados são no início do florescimento e durante a floração (GODOY, 2014).

Em todas as regiões produtoras do Brasil o tombamento de plântulas e a murcha de planta adulta são facilmente encontrados, doença ocasionada pelo patógeno *Sclerotium rolfsii* Sacc (ALMEIDA, *et al*, 1997).

A ocorrência da doença é favorecida em áreas com a presença de material vegetal em decomposição. O desenvolvimento do fungo ocorre com a germinação dos escleródios ou dos micélios presentes na matéria orgânica do solo, sob condições de alta umidade e temperatura (30 °C e 35 °C). A principal forma de disseminação do fungo é por equipamentos com solos contaminados (HENNING *et al*, 2014).

O sintoma inicia-se abaixo do nível do solo resultando em uma podridão mole e aquosa, frequentemente em fileiras com aspecto de morte em reboleiras. O fungo desenvolve-se na haste da planta produzindo uma massa branca de micélio podendo formar escleródios de coloração marrom-escura (ALMEIDA *et al*, 1997).

Seu controle é difícil devido a elevada gama de espécies hospedeiras, recomendando enterrar os restos culturais, na qual os microrganismos presentes no solo auxiliam na decomposição dos escleródios. (HENNING *et al*, 2014).

Segundo Huber e Schneider¹, (1982 citado por BETTIOL, 2005), em 1959, Menzies utilizou pela primeira vez o termo solo supressivo em um estudo na Califórnia analisando a ocorrência e severidade da sarna da batatinha com os diferentes tipos de solos. No entanto, a primeira menção da capacidade dos solos em controlar doenças das plantas, logo, solos supressivos, foi gerada por Atkinson, em 1889, ao identificar que a murcha do *Fusarium* do algodoeiro foi mais opressiva em solos arenosos do que nos argilosos em Arkansas e Alabama.

Supressividade é definida como um fenômeno natural que tem a finalidade de prevenção e inibição, agindo contra a fixação de patógenos, bem como suas atividades (BETTIOL *et al*. 2009). Segundo Hornby² (1983 citado por BETTIOL *et al*, 2009) existem dois tipos de solos supressivo, um que reduz a densidade do inoculo e outro que reduz a intensidade da doença mesmo com alta incidência do inoculo. Em relação à permanência, o solo supressivo é dividido em duas categorias: uma denominada de longo prazo, que pode ser identificada desde o início da exploração do solo; e outra denominada de curto prazo que é o resultado de práticas agrícola, no qual com novas alterações no sistema podem vim a desaparecer.

Segundo Cook e Baker ³ (1983 citado por MARIANO *et al* 2005) a definição mais aceita de controle biológico pode ser definido como a diminuição total de inoculo ou das atividades causadoras da doença provocada por um patógeno, acarretadas através de um ou mais organismos que não seja o homem. Esta definição ampla que inclui muito mais que o uso de antagonistas, inclui qualquer controle adquirido através de um sistema vivo, com exclusão do homem.

O autor ainda relata que a supressão da doença é o principal objetivo do controle biológico de patógeno, apesar de que o foco do controle biológico seja o patógeno.

¹ Huber, D. M. & Schneider, R. W. The description and occurrence of suppressive soils. In: Schneider, R. W. (Ed.) *Suppressive Soils and Plant Disease*. St Paul. APS Press. 1982. pp.1-7.

² Hornby, D. *Suppressive soils*. *Annual Review of Phytopathology* 21: 65-85. 1983

³ Cook, R.J. & Baker, K.F. *Nature and practice of biological control of plant pathogens*. St. Paul. APS Press. 1983.

Antibiose, competição e parasitismo são as principais interações antagônicas envolvendo microrganismos patogênicos presentes nos agentes de controle biológico (HOWELL, 2003).

A Matéria orgânica no solo (MOS) é um sistema composto de substâncias, no qual é formada pela adição de resíduos orgânicos provenientes de naturezas diversas, e por constantes alterações sob ação de fatores químicos, físicos e biológicos (CAMARGO *et al.* 1999).

A composição da MOS em sua grande parte é formada por substâncias húmicas de difícil degradação. Tais substâncias são geradas com a ação da biomassa microbiana constituinte no solo transformando os resíduos orgânicos e pela síntese de macromoléculas resistentes a degradação biológica (CAMARGO *et al.* 1999). Um exemplo do produto final da transformação da matéria orgânica é proveniente da atividade suinícola, a Água residuária de Suínos (ARS).

A suinocultura no Brasil é umas das atividades com maior potencial econômico, por fornecer emprego e renda, criando assim uma alternativa para oportunizar pequenas propriedades rurais. Em destaque, a região oeste do Paraná onde possui o maior plantel de suínos do Estado. Em contrapartida a suinocultura promove problemas ambientais, em consequência dos dejetos ocorrerem uma inadequada destinação na propriedade, sendo um dos principais problemas nas criações (SMANHOTTO *et al.*, 2010).

Os dejetos apresentam uma grande variação em seus componentes, sendo assim, os esterco mais líquidos apresentam uma quantidade de matéria orgânica, nitrogênio, fósforo, potássio, cálcio, sódio, magnésio, manganês, ferro, zinco, cobre e entre outros elementos, tudo isso depende do sistema de manejo adotado (DIESEL, 2002).

A produção de esterco varia de acordo com o peso de cada suíno, mas apresenta valores decrescentes de 8,5 a 4,9% em relação ao seu peso vivo por dia, para a faixa de 15 a 100 kg. Em média cada suíno produz 7 a 8 litros de água residuária por dia, sendo assim 0,21 a 0,24 m³ por mês. Para determinar a quantidade total de água residuária numa criação, basta utilizar os dados médios da produção de dejetos líquidos diários, considerando o número de suínos presentes, nas diferentes fases produtivas (DIESEL, 2002).

O destino final da ARS no solo vem se tornando uma prática de manejo de proteção ambiental. Porém se destinado incorretamente pode causar sérios problemas ambientais (PERDOMO *et al*, 2003). Como a contaminação de rios (por eutrofização), de lençóis freáticos (o aumento da concentração do íon nitrato é um exemplo), do solo (patógenos e excesso de nutrientes, dentre outros) e do ar (como emissões gasosas) (KUNZ *et al*, 2005).

A prática frequentemente utilizada pelos produtores de suínos no Brasil tem sido a conservação dos resíduos em lagoas ou tanques para depois ser aplicado como biofertilizantes em lavouras ou pastagens (KUNZ *et al*, 2009). Como citado anteriormente, se a disposição de água residuária for feita de maneira incorreta sem critérios agrônômicos, pode acarretar em problemas de contaminação, no entanto, se a aplicação ocorrer de maneira correta os benefícios são muitos, sendo fonte de nutrientes e água para as plantas, redução do uso de fertilizantes e de seu potencial poluidor, e ainda, inibir fitopatógenos de solo através do estímulo da microbiota do solo (ERTHAL *et al*, 2010).

Partindo desse pressuposto, experimentos devem ser realizados afim de observar o efeito que a água residuária de suínos tem em fitopatógenos do solo tanto em laboratório quanto a campo para comprovar a interação entre o resíduo e os fitopatógenos do solo, para que haja uma manejo mais sustentável visto que a água residuária de suínos é utilizada como um suporte nutricional para as plantas.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Inibição do crescimento micelial através da indução da supressividade *in vitro* de *Sclerotium rolfsii* e *Sclerotinia sclerotiorum* utilizando água residuária de suínos.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Verificar o crescimento micelial sob o efeito de diferentes dosagens de água residuária de suínos;
- b) Verificar qual a melhor dosagem para inibir o crescimento do patógeno;

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 ISOLAMENTO E CULTIVO DOS FITOPATÓGENOS

Os inóculos utilizados para o cultivo dos fitopatógenos foram obtidos através de espécimes mantidos no laboratório de fitopatologia da Universidade Federal do Paraná – Setor Palotina. Para isso os micélios dos fungos *Sclerotinia sclerotiorum* e *Sclerotium rolfsii* foram repicados em placa de petri com meio BDA (batata + dextrose + ágar) e mantidos em uma incubadora B.O.D (Demanda Bioquímica de Oxigênio) por 10 dias com temperatura média de 27°C e fotoperíodo de 12 horas.

3.2 COLETA DO DEJETO

O resíduo orgânico utilizado foi água residuária de suínos (ARS) coletada no mês de Abril em uma propriedade rural no município de Palotina - Pr. É um resíduo da produção de biogás, através de um sistema de biodigestores, sendo utilizado como biofertilizante pelo produtor.

3.3 MEIOS DE CULTURA

O meio de cultura utilizado foi o AA (Ágar + Água), e para suprir as necessidades dos fungos foi utilizado solo do tipo Latossolo Vermelho eutroférico.

O solo foi coletado em um campo experimental da Universidade Federal do Paraná- Setor Palotina e peneirado para obter um material mais homogêneo.

3.4 PREPARO E OBTENÇÃO DOS TRATAMENTOS

O solo peneirado foi autoclavado a uma temperatura de 120°C, 1 atm por 30 minutos, para que obtivesse um solo sem a presença de microrganismos em seguida a água residuária de suínos foi incorporada nas doses de 2,5 mL, 5 mL, 10 mL, 20 mL em relação a área da placa de petri. Essas dosagens são em proporção a 20, 40, 80 e 160 m³ de ARS por hectare, em condições de campo. As mesmas doses foram incorporadas no solo não autoclavado.

Para cada concentração de ARS houve cinco repetições para os patógenos *Sclerotinia sclerotiorum* e *Sclerotium rolfsii*. Assim, sendo utilizada Água Residuária de Suínos (ARS) aplicada em solo autoclavado e não autoclavado em quatro concentrações diferentes e a testemunha para os dois patógenos, totalizando 100 placas de petri.

As misturas do solo com a ARS foram depositadas no fundo de placas de Petri, sobre as quais foi colocada uma camada de aproximadamente 5 ml de meio AA (Ágar-Água).

Em seguida um disco de 6 mm de BDA contendo micélio de cada patógeno foi transferido ao centro de cada placa, sendo a mesma selada com filme de polietileno. As placas foram armazenadas em estufa do tipo B.O.D, durante 7 dias, com o fotoperíodo ajustado em 12/12 horas, e temperatura 27°C.

3.5 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

As medições do crescimento micelial foram avaliadas diariamente com o auxílio de uma régua, a fim de calcular a percentagem de inibição em relação à testemunha, placa sem adição de ARS. Os dados foram coletados até que o crescimento micelial da testemunha atingisse a placa por completo, totalizando 7 dias.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado.

3.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

As variáveis obtidas foram submetidas para análise de variância com auxílio do programa estatístico Sistema de Análise de Variância - SISVAR versão 5.4 Build 80 (FERREIRA, 2010), utilizando teste Tukey a 5% de probabilidade.

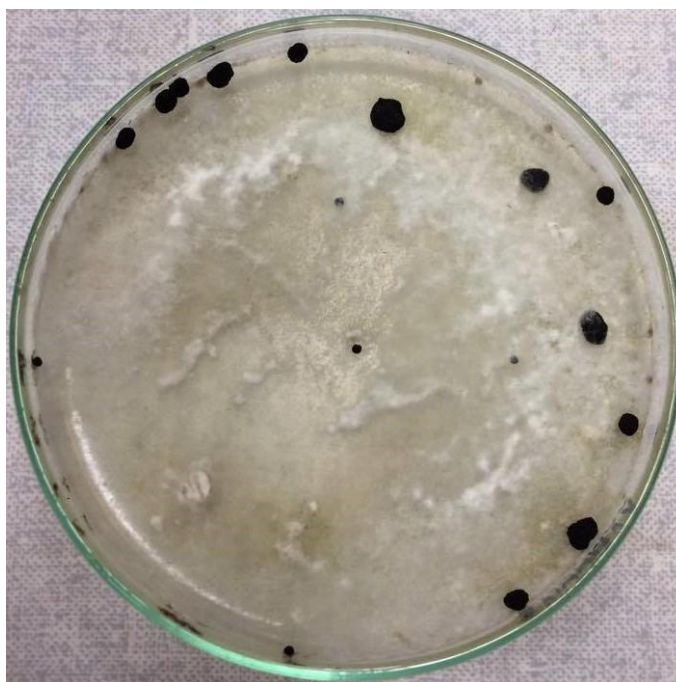
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 ISOLAMENTO E CULTIVO DOS FITOPATÓGENOS

Os fungos *Sclerotinia sclerotiorum* e *Sclerotium rolfsii* não demonstraram dificuldade no isolamento, sendo que na primeira tentativa de repicagem obteve-se sucesso.

As amostras apresentaram um crescimento micelial radial de forma uniforme, atingindo a placa em sete dias. As hifas são septadas e apresentam o aparecimento dos escleródios (FIGURA 01 e 02).

FIGURA 1 - CRESCIMENTO DAS HIFAS E ESCLERÓDIOS DO FUNGO *SCLEROTINIA SCLEROTIORUM*



FONTE: O autor, 2017

FIGURA 2: CRESCIMENTO DAS HIFAS E ESCLERÓDIOS DO FUNGO *SCLEROTIUM ROLFSII*

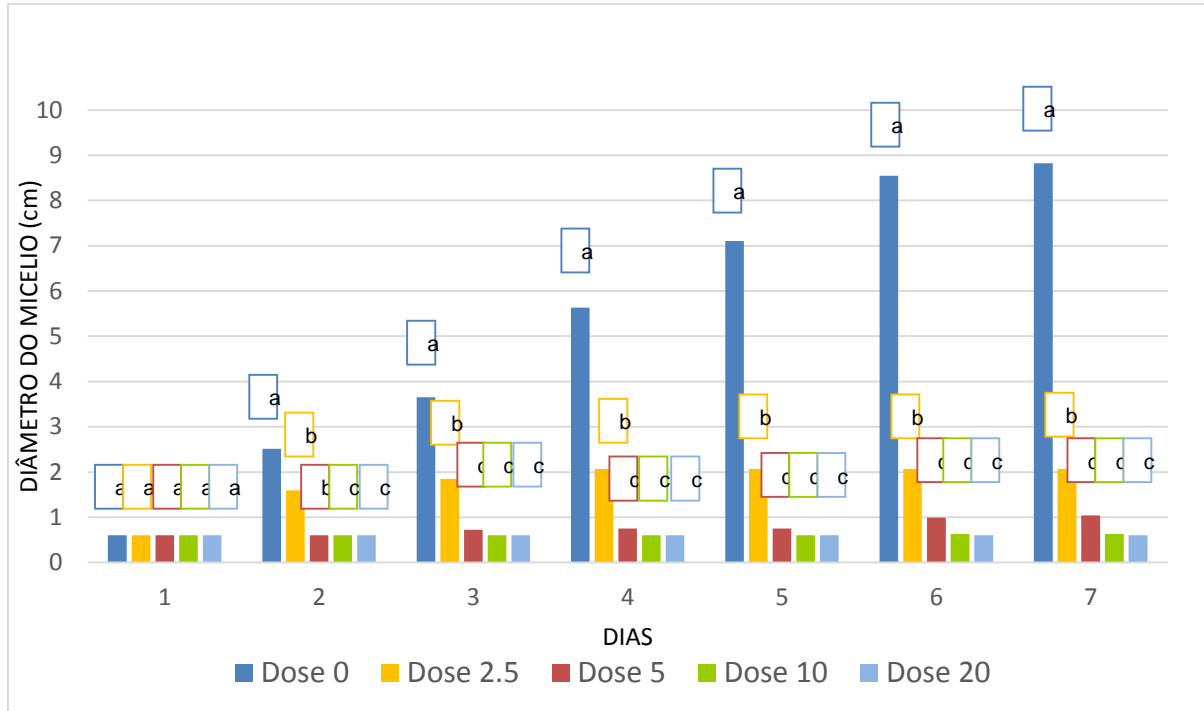
FONTE: O autor, 2017

4.2 EFEITO DA ARS NO CRESCIMENTO MICELIAL

4.2.1 *Sclerotinia sclerotiorum*

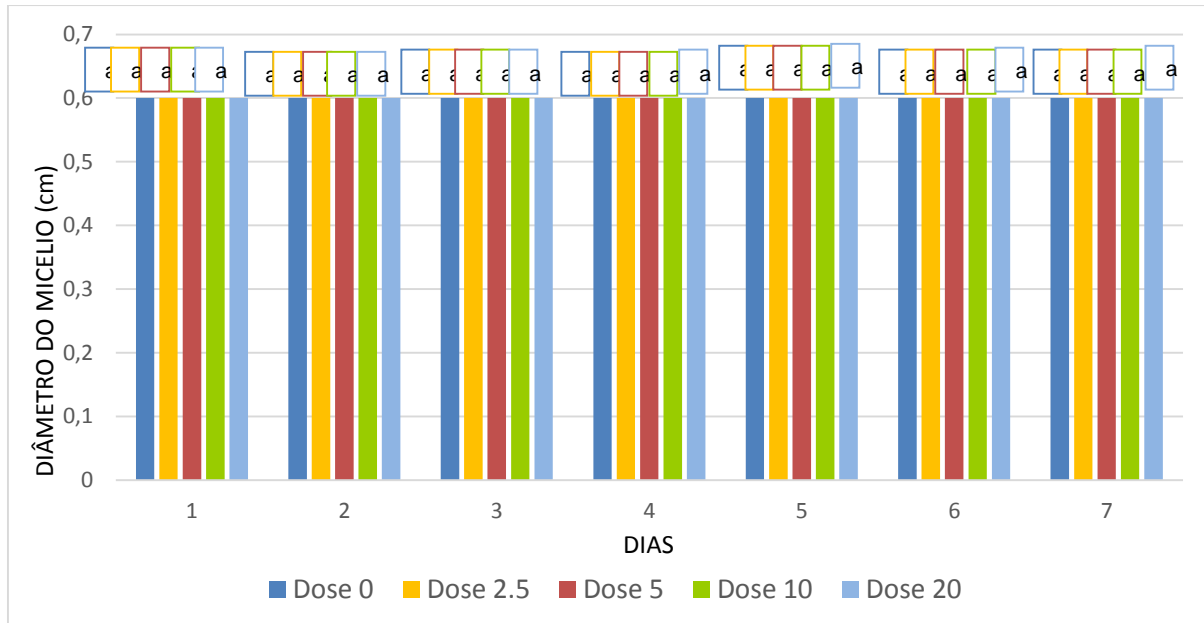
Resultados demonstram que o crescimento micelial dos patógenos apresentou um comportamento diferenciado quando submetidos ao solo com ARS, com ou sem autoclavagem. Através das observações do gráfico 01 o patógeno *Sclerotinia sclerotiorum* no solo autoclavado apresentou um crescimento linear conforme os dias e decrescendo de acordo com as doses maiores. Nas doses de 10 e 20 mL não houve crescimento, se mantendo estável ao longo dos dias. Enquanto o mesmo fitopatógeno teve um alto nível de inibição em solo não autoclavado, ou seja, não houve crescimento algum em nenhuma dosagem, o que pode-se entender é que o solo já possuía uma certa supressividade natural, pois o mesmo não deixou o patógeno se desenvolver nem mesmo na testemunha onde não possuía a incorporação da ARS (GRÁFICO 02).

GRÁFICO 1 - MÉDIA DA INIBIÇÃO DO CRESCIMENTO MICELIAL DO PATÓGENO *SCLEROTINIA SCLEROTIORUM* EM SOLO AUTOCLAVADO COM A INCORPORAÇÃO DE DIFERENTES DOSAGENS DE ÁGUA RESIDUÁRIA DE SUÍNOS.



* Médias seguidas de letras diferentes, diferem estatisticamente pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

GRÁFICO 2 - MÉDIA DA INIBIÇÃO DO CRESCIMENTO MICELIAL DO PATÓGENO *SCLEROTINIA SCLEROTIORUM* EM SOLO NÃO AUTOCLAVADO COM A INCORPORAÇÃO DE DIFERENTES DOSAGENS DE ÁGUA RESIDUÁRIA DE SUÍNOS.

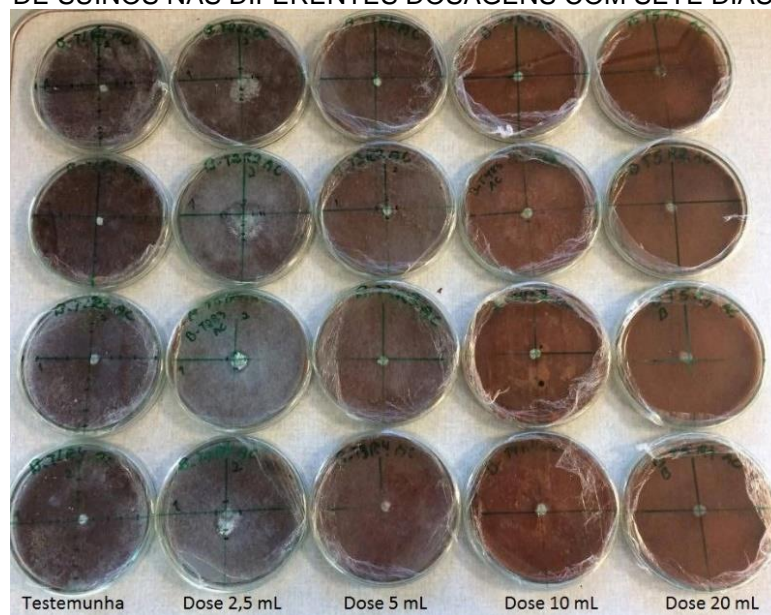


* Médias seguidas de letras diferentes, diferem estatisticamente pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Foi observado que o micélio do patógeno iniciou seu crescimento no solo autoclavado a partir do segundo dia nas doses de 2,5 mL de ARS e na testemunha, podendo-se observar um crescimento disseminados das hifas de forma circular sobre o AA.

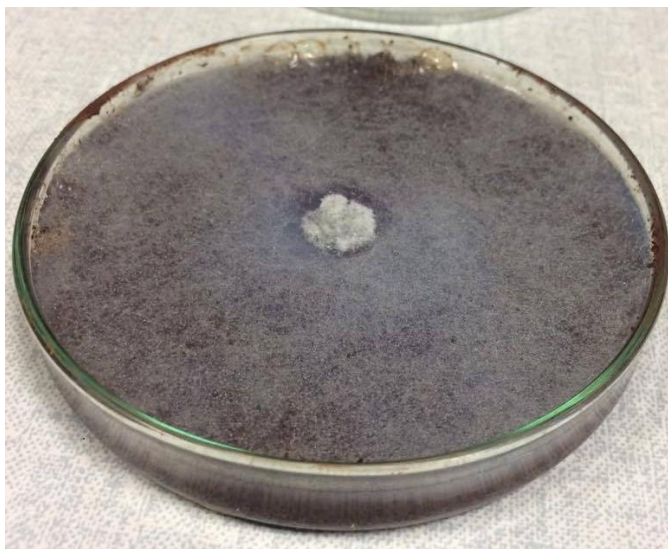
Nas doses de 5 mL apresentou um pequeno crescimento no terceiro dia e se manteve constante, para as doses de 10 e 20 mL não ocorreu o crescimento do micélio. Nas doses de 2,5 mL e 5 mL o crescimento se manteve constante a partir do terceiro dia podendo ser justificado com o crescimento de outros fungos que foram estimulados pela ARS, que acabaram inibindo o crescimento dos fitopatógenos testemunha (FIGURA 03 e 04).

FIGURA 3 - PLACAS DE *SCLEROTINIA SCLEROTIORUM* COM ADIÇÃO DE AGUA RESIDUÁRIA DE SUÍNOS NAS DIFERENTES DOSAGENS COM SETE DIAS.



FONTE: O autor, 2017

FIGURA 4 - INIBIÇÃO DO CRESCIMENTO MICELIAL DE *SCLEROTINIA SCLEROTIORUM* PELO ESTÍMULO DA COMUNIDADE MICROBIANA DA ÁGUA RESIDUÁRIA DE SUÍNO, NA DOSE DE 2,5 ML EM SOLO AUTOCLAVADO COM SETE DIAS.



FONTE: O autor, 2017

Segundo Santos *et al*, (2001), os substratos esterilizados perdem o fator biológico, antagônico aos fitopatógenos. Porém a inibição dos fitopatógenos nem sempre é proporcionado pelo controle biológico com a matéria orgânica. Conforme Pereira *et al* (1996), a produção de compostos químicos também pode estimular a ação de compostos orgânicos nos fitopatógenos.

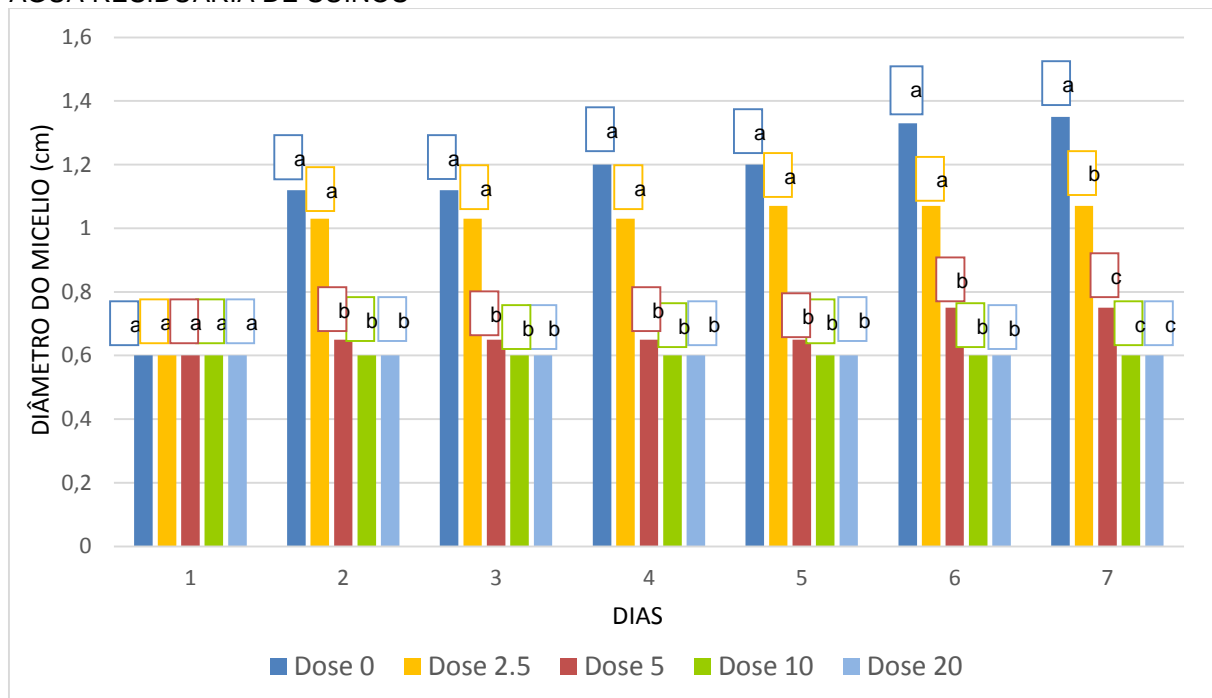
Chen *et al*, (1987) em um trabalho analisando o efeito do lodo de esgoto para inibição da ocorrência de *Pythium ultimum* relatou que a presença do lodo aumentou a atividade microbiana no solo e a própria microbiota presente no material orgânico, inibindo o crescimento do patógeno. O mesmo pode estar relacionado com a inibição do crescimento de *Sclerotinia sclerotiorum* quando adicionados ao solo a ARS nas doses de 5 a 20 mL.

A inibição do crescimento de *S.sclerotiorum* observada no solo não autoclavado está provavelmente associada pelo grande potencial da ativação da microbiota presente no solo, o que resultou na competição dos patógenos já presente no solo (SANTOS, 2001).

4.2.2 *Sclerotium rolfsii*

A incorporação da ARS em solo autoclavado, em diferentes dosagens afetaram a taxa de crescimento micelial do fitopatógeno *Sclerotium rolfsii*, apresentando uma redução na taxa de crescimento com o aumento da concentração de ARS. De modo geral pode se afirmar que em concentrações entre 10 e 20 mL ocorreu a inibição total do crescimento do fitopatógeno (GRÁFICO 03).

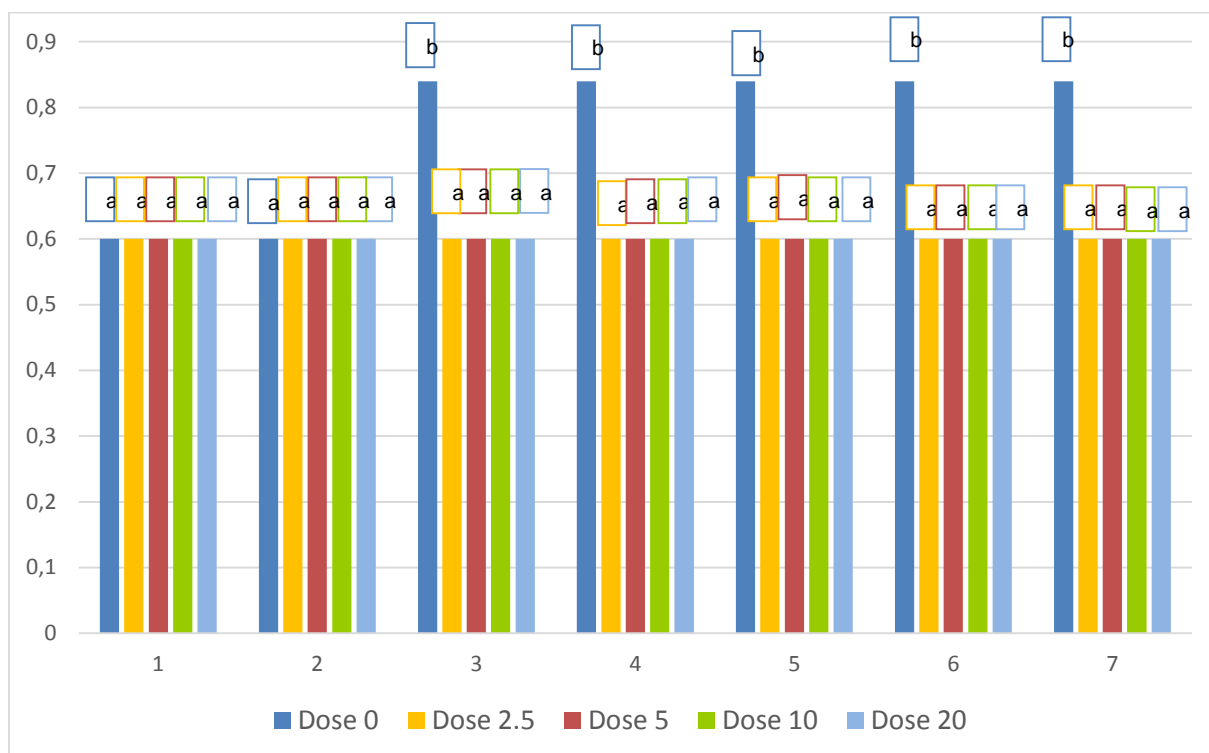
GRÁFICO 3 - MÉDIA DA INIBIÇÃO DO CRESCIMENTO MICELIAL DO PATÓGENO *SCLEROTIUM ROLFSII* EM SOLO AUTOCLAVADO, COM A INCORPORAÇÃO DE DIFERENTES DOSAGENS DE ÁGUA RESIDUÁRIA DE SUÍNOS



*Médias seguidas de letras diferentes, diferem estatisticamente pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Já para solo não autoclavado o mesmo não teve variação de crescimento em nenhuma dosagem somente na testemunha onde apresentou o crescimento micelial do patógeno, o que pode ser explicado é que o solo não estava supressivo suficiente para a inibição do estabelecimento e desenvolvimento do patógeno, mas com a adição da ARS o mesmo tornou-se supressivo inibindo o desenvolvimento do patógeno (GRAFICO 04).

GRÁFICO 4 - MÉDIA DA INIBIÇÃO DO CRESCIMENTO MICELIAL DO PATÓGENO *SCLEROTIUM ROLFSII* EM SOLO NÃO AUTOCLAVADO COM A INCORPORAÇÃO DE DIFERENTES DOSAGENS DE ÁGUA RESIDUÁRIA DE SUÍNOS.

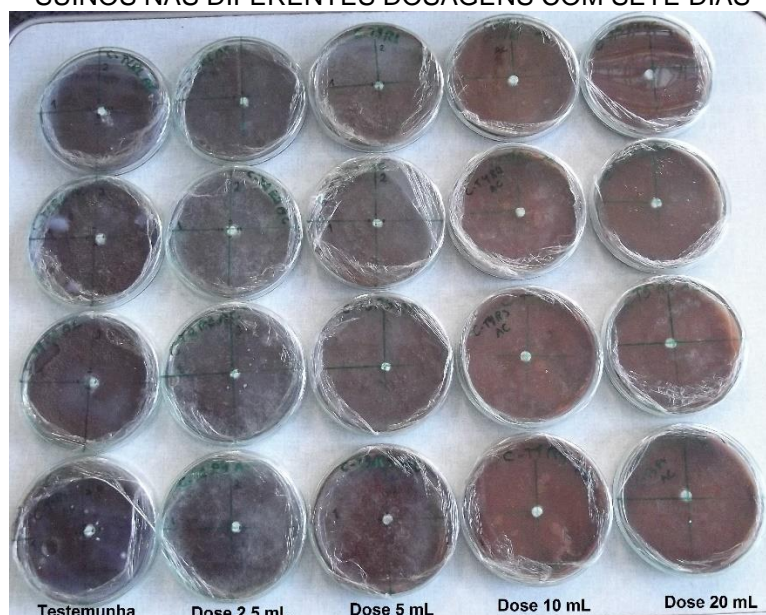


*Médias seguidas de letras diferentes, diferem estatisticamente pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Pode-se observar no gráfico 03 que o crescimento do micélio teve início a partir do segundo dia para as dose de 2,5 mL, 5 mL e testemunha.

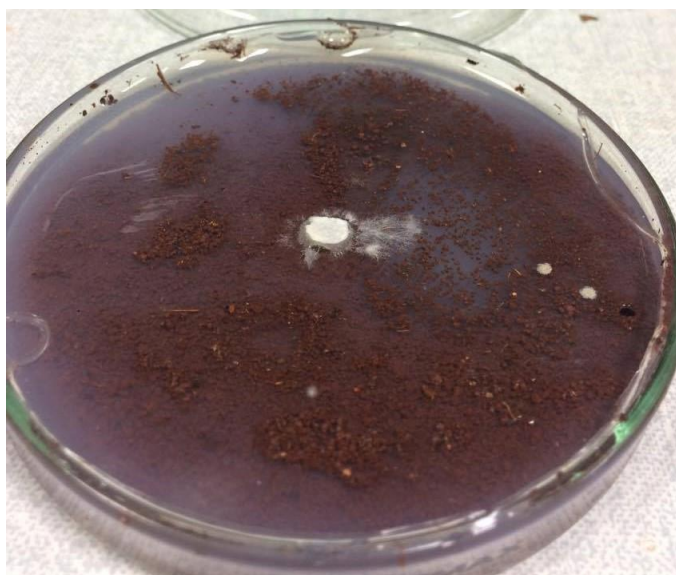
Nas dosagens de 2,5 mL e 5 mL o crescimento se manteve constante no terceiro dia. Já para a testemunha seu crescimento foi constante, atingindo um diâmetro de 1,3 cm para o ultimo dia. Para as doses de 2,5 mL, 5 mL e testemunha ocorreu o crescimento de alguns outros fungos e algumas bactérias que podem ter sido estimulado pela incorporação da ARS no solo, mas os mesmos não influenciaram no crescimento do *S. rolfsii* (FIGURA 05).

FIGURA 5 - PLACAS DE *SCLEROTIUM ROLFSII* COM ADIÇÃO DE ÁGUA RESIDUÁRIA DE SUÍNOS NAS DIFERENTES DOSAGENS COM SETE DIAS



FONTE: O autor, 2017

FIGURA 6 - INIBIÇÃO DO CRESCIMENTO MICELIAL DE *SCLEROTIUM ROLFSII* PELO ESTÍMULO DA COMUNIDADE MICROBIANA DA ÁGUA RESIDUÁRIA DE SUÍNO, NA DOSE DE 2,5 ML AUTOCLAVADO COM SETE DIAS.



FONTE: O autor, 2017

Resultados demonstram que a incorporação de ARS foi eficiente na inibição do crescimento do fitopatógeno em solo autoclavado e não autoclavado.

Conclusões parecidas foram obtidas por MORALES, *et al* (2007), onde avaliaram o efeito do chorume líquido de suínos na podridão do colo e tombamento de plântulas de feijoeiro causadas por *Sclerotium rolfsii* e observaram que com o

aumento das doses houve uma maior atividade microbiana no solo, sendo este um dos principais fatores limitantes para o crescimento do fitopatógeno.

Em um trabalho realizado por TENUTA, *et al* (2002) a concentração e a composição química do chorume líquido de suínos influenciaram na liberação de compostos químicos no solo, dentre eles amônia e ácidos graxos voláteis, sendo estes tóxicos aos microesclerodios de *Verticillium dahliae*.

Outro fato a ser discutido é o pH do solo, que segundo TENUTA, *et al* (2002) a acidez do solo tem controle direto sobre alguns fitopatógenos. Além de que, há uma redução do pH do solo com a aplicação de chorume de suíno, devido ao aumento de ácidos orgânicos potencializando o efeito (MANTELI, 2010).

4.2.3 PORCENTAGEM DE INIBIÇÃO

A avaliação de percentagem de inibição do crescimento micelial em relação a testemunha foi realizada utilizando a formula **% Red = (D test – D dose / D test) x 100**. Onde % Red = percentagem de redução; D test = Diâmetro da testemunha e D dose = diâmetro da dose.

Resultados indicam que para o fungo *Sclerotinia sclerotiorum* em condição de solo autoclavado houve uma percentagem de redução de 76,56% para a dose de 2,5 mL já para a maior dose obteve uma percentagem de redução de 93,19%. Para o fungo *Sclerotium rolfsii* a percentagem de redução de crescimento foi 20,74 % para a menor dose, e de 55,55% para as duas últimas doses (TABELA 1). Para o solo não autoclavado, como não houve variação de crescimento a percentagem de redução foi de 100% para *S. sclerotiorum* e 28,57% para *S. rolfsii* (TABELA 2).

TABELA 1 - PORCENTAGEM DE REDUÇÃO DOS FITOPATÓGENOS *SCLEROTINIA SCLEROTIORUM* E *SCLEROTIUM ROLFSII* EM SOLO AUTOCLAVADO COM A ADIÇÃO DE ÁGUA RESIDUÁRIA DE SUÍNOS EM DIFERENTES DOSAGENS.

	Solo autoclavado	
	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	<i>Sclerotium rolfsii</i>
Dose 2,5 mL	76,53 % a	20,74 % a
Dose 05 mL	88,15 % b	44,44 % b
Dose 10 mL	92,85 % c	55,55 % c
Dose 20 mL	93,19 % d	55,55 % c

*Letras minúsculas diferem na coluna sendo que letras iguais mostram os tratamentos em que não houve diferença significativa, pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

TABELA 2 - PORCENTAGEM DE REDUÇÃO DOS FITOPATÓGENOS *SCLEROTINIA SCLEROTIORUM* E *SCLEROTIUM ROLFSII* EM SOLO NÃO AUTOCLAVADO COM A ADIÇÃO DE ÁGUA RESIDUÁRIA DE SUÍNOS EM DIFERENTES DOSAGENS.

	Solo NÃO autoclavado	
	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	<i>Sclerotium rolfsii</i>
Dose 2,5 mL	100 % a	28,57 % a
Dose 05 mL	100 % a	28,57 % a
Dose 10 mL	100 % a	28,57 % a
Dose 20 mL	100 % a	28,57 % a

*Letras minúsculas diferem na coluna sendo que letras iguais mostram os tratamentos em que não houve diferença significativa, pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

CRAFT *et al* (1996), verificou que a capacidade do patógeno em causar doença de alguma forma foi reduzida, quando utilizado lodo de esgoto. O principal fator de indução de supressividade é através do aumento da atividade microbiana no solo, induzindo a competição, antibiose e predação. Isto pode ser aplicado ao presente trabalho.

5 CONCLUSÕES

A incorporação da água residuária de suínos reduz o crescimento micelial dos patógenos *S. sclerotiorum* e *S. rolfsii* em solo autoclavado e não autoclavado. Sendo que na proporção de 40 m³ de ARS por hectare proporcionou a redução do crescimento e na proporção de 80 e 160 m³ de ARS por hectare teve a inibição total do crescimento micelial de ambos fitopatógenos em solo autoclavado.

O aumento da atividade microbiana do solo é o principal mecanismo provável da redução do crescimento. Experimentos a campo podem ser executados para corroborar essa análise.

6 REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, A. M. R.; FERREIRA, L. P.; YORINORI, J. T.; SILVA, J. F. V.; HENNING, A. A. Doenças da Soja. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A.; REZENDE, J. A. M. **Manual de fitopatologia, Volume 2: Doenças das plantas Cultivadas**. São Paulo, Sp, Editora Agronômica Ceres, 1997. p. 607-608.
- ALMEIDA, A. P.; SABINO, M.; FONSECA, H.; CORRÊA, B. Milho recém-colhido no Brasil: interação da microbiota fúngica, fatores abióticos e ocorrência de fumonisinas. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**. Piracicaba, SP, Vol. 64, Nº 01, p. 01-09, 2005.
- BETTIOL, W.; RAQUEL, G. Solos Supressivos. In: MICHEREFF, S. J.; ANDRADE, D. E. G. T.; MENEZES, M. **Ecologia e Manejo de Patógenos Radiculares em Solos Tropicais**. Recife, PE, UFRPE, Imprensa Universitária, 2005. p. 125-142.
- BETTIOL, W.; GHINI, R.; MARIANO, R. R. L.; MICHEREFF, S. J.; MATTOS, L. P. V.; ALVARADO, I. C. M.; PINTO, Z. V. Supressividade a fitopatógenos habitantes do solo. In: BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. B. **Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas**. Jaguariúna, SP, Ed. Embrapa Meio Ambiente, 2009, p. 187-203.
- CAMARGO, A. O.; SANTOS, G. A.; GUERRA, J. G. M. Macromoléculas e Substâncias Húmicas. In: Santos, G. A.; Camargo, F. A. O. **Fundamentos da matéria orgânica do solo ecossistemas tropicais e subtropicais**. Porto Alegre, Ed. Genesis.1999, p. 49.
- CHEN, W.; HOITINK, H. A. J.; SCHMITTHENNER, A. F. Factors affecting suppression of *Pythium Damping-off* in container media amended with composts. **The American Phytopathological Society**. V. 77, Nº 05, p. 755-760, 1987.
- CRAFT, C. M.; NELSON, E. B. Microbial Properties of Composts That Suppress Damping-Off and Root Rot of Creeping Bentgrass Caused by *Pythium graminicola*. **Applied Andenvironmental Microbiology**. V. 62, Nº 05, p. 1550 – 1557, May 1996.
- DIESEL, R.; MIRANDA, C. R.; PERDOMO, C. C. Boletim Informativo de Pesquisa - Embrapa Suínos e Aves e Extensão - EMATER/RS. **Coletânea de tecnologias sobre dejetos suínos**. Porto Alegre, RS, 2002.
- ERTHAL, V. J. T.; FERREIRA, P. A.; MATOS, A. T.; PEREIRA, O. G. Alterações físicas e químicas de um Argissolo pela aplicação de água residuária de bovinocultura. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**. Campina Grande, PB, V. 14, Nº 05, p. 467–477, 2010.
- FERREIRA, D. F. **SISVAR - Sistema de análise de variância**. Versão 5.4, Build 80. Lavras-MG: UFLA, 2010

GODOY, L. V.; ALMEIDA, A. M. R.; SOARES, R. M.; SEIXAS, C. D. S.; DIAS, W. P.; MEYER, M. C.; COSTAMILAN, L. M.; HENNING, A. A. **Doenças da Soja**. Sociedade brasileira de fitopatologia (sbf), 2014. Disponível em < <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/1018297/1/DoencasdaSoja.pdf> > Acessado em: 15/03/2017.

HENNING, A. A.; ALMEIDA, A. M. R.; GODOY, C. V.; SEIXAS, C. D. S.; YORINORI, J. T.; COSTAMILAN, L. M.; FERREIRA, L. P.; MEYER, M. C.; SOARES, R. M.; DIAS, W. P. **Manual de identificação de doenças de soja**. 5ª edição. Londrina, PR: Embrapa Soja, 2014.

HOELTZ, M. **Caracterização da contaminação fúngica e por micotoxinas em diferentes fases da cultura do amendoim (*Arachis hypogaea* L.) produzido no Rio Grande do Sul, Brasil**. 122 f. Tese (Doutorado em Microbiologia Agrícola e do Ambiente) – Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2009.

HOWELL, C. R. Mechanisms Employed by Trichoderma Species in the Biological Control of Plant Diseases: The History and Evolution of Current Concepts. **Plant Disease**. V. 87, Nº 01, p. 04–10, 2003.

KUNZ, A.; HIGARASHI, M. M.; OLIVEIRA, P. A. Tecnologias de manejo e tratamento de dejetos de suínos estudadas no Brasil. **Cadernos de Ciência & Tecnologia**. Brasília, V. 22, Nº 03, p. 651-665, Set./Dez. 2005.

KUNZ, A.; STEINMETZ, R. L. R.; RAMME, M. A.; COLDEBELLA, A. Effect of storage time on swine manure solid separation efficiency by screening. **Bioresource Technology**. Concórdia, SC, V. 100, p. 1815–1818, 2009.

LEITE, R. M. V. B. C. **Ocorrência de doenças causadas por *Sclerotinia sclerotiorum* em girassol e soja**. Londrina: Embrapa Soja, Mar/2005. Comunicado Técnico. Disponível em < <https://www.embrapa.br/soja/busca-de-publicacoes/-/publicacao/467525/ocorrencia-de-doencas-causadas-por-sclerotinia-sclerotiorum-em-girassol-e-soja> > Acessado em: 02/05/2017.

MANTELI, C. **Efeito do chorume de suínos e do pH do solo sobre o tombamento de pepino causado por *Pythium* sp.** 70 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia, Linha de Pesquisa – Sistemas de Produção Vegetal) - Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Área de Concentração: Produção vegetal) da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Pato Branco, 2010.

MARIANO, R. L. R.; SILVEIRA, E. B.; GOMES, A. M. A. Controle Biológico de Doenças Radiculares. In. MICHEREFF, S. J.; ANDRADE, D. E. G. T.; MENEZES, M. **Ecologia e Manejo de Patógenos Radiculares em Solos Tropicais**. Recife, PE, UFRPE, Imprensa Universitária, 2005. p. 303-320.

MICHEREFF, S. J.; ANDRADE, D. E. G. T.; PERUCH, L. A. M.; MENEZES, M. Importância dos Patógenos e das Doenças Radiculares em Solos Tropicais. In. MICHEREFF, S. J.; ANDRADE, D. E. G. T.; MENEZES, M. **Ecologia e Manejo de Patógenos Radiculares em Solos Tropicais**. Recife, PE, UFRPE, Imprensa Universitária, 2005. p. 1-17.

MORALES, R. G. F.; SANTOS, I.; DANNER, M. A.; Efeito do chorume líquido de suínos na podridão do colo e tombamento de plântulas de feijoeiro causadas por *Sclerotium rolfsii*. **Revista Fitopatologia Brasileira**. V. 32, Nº 05, p. 429 – 433, 2007.

PEREIRA, J. C. R.; ZAMBOLIM, L.; VALE, F. X. R.; CHAVES, G. M.; Compostos orgânicos no controle de doenças de plantas. **Relatório de Atividades Potencialmente Poluidoras e Utilizadoras de Recursos Ambientais (RAPP)**. V. 4, p. 353 – 379, 1996.

PERDOMO, C. C.; OLIVEIRA, P. A. V.; KUNZ, A. MAPA- Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Metodologia Sugerida para Estimar o Volume e a Carga de Poluentes Gerados em uma Granja de Suínos**. Concórdia, SC, 2003.

REIS, J. G. M.; VENDRAMETTO, O.; NAAS, I. A.; COSTABILE, L. T.; MACHADO, S. T. Avaliação das estratégias de comercialização do milho em ms aplicando o Analytic Hierarchy Process (AHP). **Revista de Economia e Sociologia Rural**. Piracicaba-SP, Vol. 54, Nº 01, p. 131-146, Jan./Mar. 2016.

SANTOS, I.; BETTIOL, W. Efeito do lodo de esgoto no crescimento micelial de fitopatógenos habitantes do solo e na podridão do colo de plântulas de feijoeiro, causada por *Sclerotium rolfsii*, em condições controladas. **Revista Ecosystema**. V. 26, Nº 02, p. 159-161, 2001.

SMANHOTTO, A.; SOUSA, A. P.; SAMPAIO, S. C.; NÓBREGA, L. H. P.; PRIOR, M. Cobre e zinco no material percolado e no solo com a aplicação de água residuária de suinocultura em solo cultivado com soja. **Revista Engenharia Agrícola**. Jaboticabal, SP, V. 30, Nº 02, p. 346-357, Mar./Abr. 2010.

TENUTA, M.; CONN, K. L.; LAZAROVITS, G. Volatile Fatty Acids in Liquid Swine Manure Can Kill Microsclerotia of *Verticillium dahliae*. **Revista Phytopathology**. V. 92, Nº 05, p. 548 – 552, 2002.

UNITED NATIONS, DEPARTMENT OF ECONOMIC AND SOCIAL AFFAIRS, POPULATION DIVISION. **World Population Prospects: The 2015 Revision, Key Findings and Advance**. United Nations New York, 2015.