

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Programa de Pós-Graduação em Sistemas de
Produção Agrícola Familiar



Dissertação

PRODUÇÃO E QUALIDADE BIOLÓGICA DE HÚMUS DE
MINHOCA PARA USO NA SUPRESSÃO DE *Sclerotium*
***rolfsii* SACC.**

Volnei Knopp Zibetti

Pelotas, 2013

VOLNEI KNOPP ZIBETTI

**PRODUÇÃO E QUALIDADE BIOLÓGICA DE HÚMUS DE MINHOCAS PARA
USO NA SUPRESSÃO DE *Sclerotium rolfsii* SACC.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Sistemas de Produção Agrícola Familiar da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Agronomia.

Orientador: Dr. Gustavo Schiedeck

Coorientadora: Dr^a. Glaucia de Figueiredo Nachtigal

Pelotas, 2013

Dados de catalogação na fonte:
(Marlene Cravo Castillo – CRB-10/744)

Z64p Zibetti, Volnei Knopp

Produção e qualidade biológica de húmus de minhoca para uso na supressão de *Sclerotium rolfsii* Sacc. / Volnei Knopp Zibetti; orientador Gustavo Schiedeck. - Pelotas, 2013. - 82f.: il. - Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Sistemas de Produção Agrícola Familiar. Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel. Universidade Federal de Pelotas. Pelotas, 2013.

1.Minhocultura 2.Húmus líquido 3.Fitossanidade
I.Schiedeck, Gustavo(orientador) II .Título.

Banca examinadora:

Dr. Gustavo Schiedeck – Orientador

Embrapa Clima Temperado – Estação Experimental Cascata

Prof^a. Dr^a. Tânia Beatriz Gamboa Araújo Morselli

PPGSPAF – FAEM – UFPel

Pesquisador Dr. José Ernani Schwengber

Embrapa Clima Temperado – Estação Experimental Cascata

Epígrafe

Cada dia a natureza produz o suficiente para nossa carência. Se cada um tomasse o que lhe fosse necessário, não haveria pobreza no mundo e ninguém morreria de fome.

Mohandas Karamchand Gandhi (Mahatma)

Agradecimentos

Demonstrar meu agradecimento por meio de meras citações nominais considero pouco, em retribuição àqueles que me incentivaram ou serviram de motivação para mais essa etapa alcançada, sem contar as laudas necessárias para inserir os nomes de todos que me auxiliaram – e não foram poucos.

Deixo meu sincero e agradecimento À Essa Força que nos conduz e à minha família (pais, esposa, filha, irmãs, cunhados e cunhadas, sobrinhos e sobrinhas, tios e tias, primos...).

Agradeço ao meu orientador, coorientadora e tantos outros coorientadores, professores, companheiros e colegas de PPG-SPAF, companheiros e colegas da Embrapa Cascata, funcionários da UFPel, da Embrapa Clima Temperado, em especial aos da Estação Experimental Cascata, todos que me auxiliaram e me estimularam no desempenho das tarefas.

Agradeço à Universidade Federal de Pelotas, em especial ao PPG Sistemas de Produção Agrícola Familiar (SPAF) em oportunizar as condições quanto da realização de meu mestrado, à Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa) em dispor sua estrutura para que esse estudo fosse realizado, ao fornecedor de esterco, o Instituto Federal Sul-Rio-grandense (IFRSul) *Campus* Pelotas Visconde da Graça, à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa durante todo o período de realização deste mestrado, e às minhocas e microrganismos, principais adjuvantes deste estudo.

Todos os mencionados não estão em ordem de importância, pois assim como devemos observar os sistemas e seus respectivos funcionamentos, também devemos analisar nossas relações profissionais e pessoais de forma sistêmica, onde cada indivíduo tem real importância em nossas vidas, sem esse ser mais importante do que aquele, mas ambos são importantes, pois estão vivos, entre nós e contribuindo de alguma forma para nossa evolução espiritual, pessoal ou profissional.

Muito obrigado!

Resumo

ZIBETTI, Volnei Knopp. **Produção e qualidade biológica de húmus de minhoca para uso na supressão de *Sclerotium rolfsii* Sacc.** 2013. 82f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Sistemas de Produção Agrícola Familiar. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

A minhocultura corresponde à criação de minhocas destinadas a diferentes fins, como produção de matrizes e casulos, e minhocas destinadas a produção de húmus. O húmus de minhoca, amplamente utilizado como fertilizante na agricultura familiar e sistemas agrícolas de base ecológica, também tem relevante papel como fitoprotetor. O estudo teve por objetivo produzir húmus de minhoca da espécie *Eisenia andrei* Bouché a partir de esterco bovino (EB) e combinações deste com cascas de amendoim (CA), como material estruturante, e borra de café (BC), na qualidade de fonte nutricional, e sua avaliação na forma líquida e aerada na supressividade de *Sclerotium rolfsii* Sacc. O trabalho foi dividido em duas etapas. Na primeira, produziu-se húmus em quatro tratamentos e seis repetições, sendo: H1 – EB 100%; H2 – EB 75% + CA 25%; H3 – EB 75% + BC 25%; H4 – EB 50% + BC 25% + CA 25%. Avaliou-se a biomassa de minhocas, produção de casulos, rendimento de húmus e variáveis microbiológicas e químicas. Os tratamentos H3 e H4 apresentaram maiores índices de biomassa e produção de casulos. Quando avaliadas as densidades de colônias bacterianas e fúngicas, os tratamentos H2 e H4 registraram os maiores índices. Na segunda etapa, foram preparados húmus líquidos aerados a partir das diferentes combinações de húmus, com o objetivo de testar seus efeitos sobre escleródios de *S. rolfsii*. Os húmus foram acondicionados em sachês e mergulhados em água, sendo aerados pelo período de 24 horas. Foram quantificadas as colônias bacterianas e fúngicas presentes nos húmus líquidos (HL), em meios de cultura seletivos. Amostras representativas de HL obtidos de cada um dos quatro tratamentos foram avaliadas no crescimento micelial de *S. rolfsii*, a partir de micélio e escleródio, em duas condições: filtradas e não filtradas. Os HL filtrados não inibiram o crescimento micelial de *S. rolfsii*, em oposição aos HL não filtrados. As colônias de microrganismos oriundas dos tratamentos não filtrados, uma vez isoladas e purificadas, foram pareadas com discos de micélio de *S. rolfsii*, objetivando avaliar o efeito antagônico de fungos e bactérias presentes nos húmus sobre o escleródio. O isolado F3, do HL oriundo do tratamento H2, identificado como pertencente ao gênero *Trichoderma*, foi quem apresentou a maior inibição ao *S. rolfsii*, dentre os demais microrganismos pareados. A produção e o uso de húmus de minhoca na agricultura familiar devem ser estimulados, pois além dos benefícios já consagrados acerca da fertilização em sistemas de cultivo também podem auxiliar no controle de doenças de plantas.

Palavras-chave: Minhocultura. Húmus líquido. Fitossanidade.

Abstract

ZIBETTI, Volnei Knopp. **Production and biological quality of vermicompost for use in the suppression of *Sclerotium rolfsii* Sacc.** 2013. 82f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Sistemas de Produção Agrícola Familiar. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

The earthworm breeding corresponds to the creation of earthworm for different purposes like producing arrays and cocoons and worms for the production of vermicompost. The vermicompost, widely used as a fertilizer in agriculture and family farming systems ecologically based, also has important role as fitoprotetor. The study aimed to produce vermicompost of *Eisenia andrei* Bouché from cattle manure (CM) and combinations of this with peanut husk (PH), as structural materials, and spent coffee grounds (SCG), nutritional qualities of the source, and its evaluation in liquid and aerated form in suppressiveness *Sclerotium rolfsii* Sacc. The work was divided into two stages. At first, vermicompost produced up to four treatments and six replications: H1 – CM 100%; H2 – CM 75% + PH 25%; H3 – CM 75% + SCG 25%; H4 – CM 50% + SCG 25% + PH 25%. We evaluated the biomass of earthworms, cocoon production, yield and vermicompost microbiological and chemical variables. Treatments H3 and H4 had higher biomass and cocoon production. When assessed the density of bacterial colonies and fungal treatments H2 and H4 registered the highest rates. In the second step, vermicompost tea aerated were prepared from different combinations of vermicompost, in order to test their antagonistic effect against *S. rolfsii*. The vermicompost were packed in sachets and immersed in water and aerated for a period of 24 hours. Were quantified bacterial and fungal colonies present in vermicompost tea (VT), in selective culture media. Representative samples of VT obtained from each of the four treatments were evaluated on mycelial growth of *S. rolfsii* from mycelium and sclerotic under two conditions: unfiltered and filtered. The VT filtered did not inhibit mycelial growth of *S. rolfsii*, as opposed to VT unfiltered. Colonies of microorganisms coming from the unfiltered treatments, once isolated and purified, were paired with discs of mycelium of *S. rolfsii*, to evaluate the effect of antagonistic fungi and bacteria present in vermicompost on the sclerotic. The F3 isolated, on VT on treatment H2, identified as belonging to the genus *Trichoderma*, was the one who showed the greatest inhibition to *S. rolfsii*, among other microorganisms matched. The production and use of vermicompost in family farming should be encouraged, because besides the already established benefits of fertilization on cropping systems can also aid in the control of plant diseases.

Key words: Vermicomposting. Vermicompost tea. Crop protection.

Lista de figuras

Figura 1	Organograma da primeira etapa do trabalho. Embrapa Clima Temperado – Estação Experimental Cascata, Pelotas, RS, 2012.....	24
Figura 2	Organograma da segunda etapa do trabalho. Embrapa Clima Temperado – Estação Experimental Cascata, Pelotas, RS, 2012.....	26
Figura 1.1	Resíduos utilizados no experimento: (A) esterco bovino, (B) borra de café e (C) cascas de amendoim. Embrapa Clima Temperado – Estação Experimental Cascata, Pelotas, RS, 2012.....	31
Figura 1.2	Estabilização dos resíduos utilizados no experimento: (A) esterco bovino e (B) borra de café. Embrapa Clima Temperado – Estação Experimental Cascata, Pelotas, RS, 2012.....	32
Figura 1.3	(A) Laboratório destinado à produção de húmus e (B) apresentação do experimento instalado. Embrapa Clima Temperado – Estação Experimental Cascata, Pelotas, RS, 2012.....	32
Figura 1.4	Amostradores instalados nos tratamentos, confeccionados em tubos de PVC: 50 mm (menor) e 100 mm (maior). Embrapa Clima Temperado – Estação Experimental Cascata, Pelotas, RS, 2012.....	34
Figura 1.5	Massa úmida média dos materiais ao longo do experimento. Embrapa Clima Temperado – Estação Experimental Cascata, Pelotas, RS, 2012.....	40
Figura 1.6	Temperatura dos tratamentos ao longo do experimento. Embrapa Clima Temperado – Estação Experimental Cascata, Pelotas, RS, 2012.....	46
Figura 2.1	Produção de húmus líquido aerado: (A) detalhe da colocação do bico aerador no interior de sachê com húmus sólido e (B) aspecto do sachê preparado para imersão no recipiente com água. Embrapa Clima Temperado – Estação Experimental Cascata, Pelotas, RS, 2012.....	50
Figura 2.2	Produção de húmus líquido aerado: (A) bateria de produção, (B) compressor de ar com derivação para os recipientes plásticos e (C) detalhe da imersão do sachê e aeração da solução. Embrapa Clima Temperado – Estação Experimental Cascata, Pelotas, RS, 2012.....	51
Figura 2.3	(A) Produção micelial <i>in vitro</i> de <i>S. rolfsii</i> em meio de cultivo BDA após sete dias de incubação a 25°C e fotoperíodo diário de 12 horas; (B) produção de escleródios <i>in vitro</i> em meio de cultivo BDA após 20 dias de incubação a 25°C e fotoperíodo diário de 12 horas. Embrapa Clima Temperado – Estação Experimental Cascata, Pelotas, RS, 2012.....	53
Figura 2.4	Pareamento de isolados fúngicos de húmus líquido aerado com <i>S. rolfsii</i> para avaliação de antagonismo: (A) gabarito de posicionamento nas placas de Petri e (B) uso do gabarito na disposição dos discos de micélios. Embrapa Clima Temperado – Estação Experimental Cascata, Pelotas, RS, 2012.....	55

Figura 2.5	Pareamento de cepas bacterianas com <i>S. rolfsii</i> para avaliação do antagonismo: (A) gabarito de posicionamento nas placas de Petri e (B) semeio da cepa com potencial antagônico (esquerda) a <i>S. rolfsii</i> (direita). Embrapa Clima Temperado – Estação Experimental Cascata, Pelotas, RS, 2012.....	56
Figura 2.6	Densidades populacionais médias de bactérias em húmus líquidos. Embrapa Clima Temperado – Estação Experimental Cascata, Pelotas, RS, 2012.....	58
Figura 2.7	Densidades populacionais médias de fungos em húmus líquidos. Embrapa Clima Temperado – Estação Experimental Cascata, Pelotas, RS, 2012.....	59
Figura 2.8	Potencial hidrogeniônico (pH) em húmus líquidos. Embrapa Clima Temperado – Estação Experimental Cascata, Pelotas, RS, 2012.....	59
Figura 2.9	Condutividade elétrica em húmus líquidos. Embrapa Clima Temperado – Estação Experimental Cascata, Pelotas, RS, 2012.....	60

Lista de tabelas

Tabela 1.1	Biomassa média individual (g) de minhocas adultas <i>E. andrei</i> . Embrapa Clima Temperado – Estação Experimental Cascata, Pelotas, RS, 2012.....	37
Tabela 1.2	Biomassas total final absoluta (g) e relativa (%) da população de minhocas adultas <i>E. andrei</i> . Embrapa Clima Temperado – Estação Experimental Cascata, Pelotas, RS, 2012.....	38
Tabela 1.3	Número total acumulado e número médio de casulos* produzidos por minhocas <i>E. andrei</i> . Embrapa Clima Temperado – Estação Experimental Cascata, Pelotas, RS, 2012.....	39
Tabela 1.4	Massa seca dos resíduos (MSR), massa seca do húmus de minhoca (MSHM) e rendimento relativo (RR) do processo. Embrapa Clima Temperado – Estação Experimental Cascata, Pelotas, RS, 2012.....	41
Tabela 1.5	Densidades populacionais médias de colônias de bactérias no início e final da produção de húmus de minhocas <i>E. andrei</i> . Embrapa Clima Temperado – Estação Experimental Cascata, Pelotas, RS, 2012.....	41
Tabela 1.6	Densidades populacionais médias de fungos no início e final da produção de húmus de minhocas <i>E. andrei</i> . Embrapa Clima Temperado – Estação Experimental Cascata, Pelotas, RS, 2012.....	42
Tabela 1.7	Variáveis químicas e umidade dos resíduos orgânicos utilizados e dos tratamentos no início (I) e no final (F) do experimento. Embrapa Clima Temperado – Estação Experimental Cascata, Pelotas, RS, 2012.....	44
Tabela 2.1	Crescimento micelial de <i>S. rolfsii</i> sob efeito de bactérias e fungos presentes nos húmus líquidos não filtrados e testemunha, a partir de discos de micélio (72 h) e escleródios (96 h). Embrapa Clima Temperado – Estação Experimental Cascata, Pelotas, RS, 2012.....	61
Tabela 2.2	Produção média de escleródios após 10 dias, em meios seletivos às bactérias (523) e aos fungos (BDA), presentes nos húmus líquidos filtrados, a partir dos inóculos micélio e escleródio de <i>S. rolfsii</i> . Embrapa Clima Temperado – Estação Experimental Cascata, Pelotas, RS, 2012.....	63
Tabela 2.3	Produção média de escleródios* <i>S. rolfsii</i> após 10 dias, a partir dos inóculos micélio e escleródio, em presença de colônias de bactérias e fungos, oriundas de húmus líquidos não filtrados. Embrapa Clima Temperado – Estação Experimental Cascata, Pelotas, RS, 2012.....	64
Tabela 2.4	Crescimento micelial (CM) de <i>S. rolfsii</i> após 96 horas, percentual de inibição de crescimento após 96 horas (I) e taxa de crescimento micelial (TCM) de <i>S. rolfsii</i> em meio contendo isolados de fungos de húmus líquido. Embrapa Clima Temperado – Estação Experimental Cascata, Pelotas, RS, 2012.....	65

Sumário

Introdução geral.....	13
Revisão de literatura.....	14
Agricultura familiar.....	14
Agroecologia.....	17
Minhocas: biologia e ecologia.....	18
Minhocultura e produção de húmus.....	20
Supressão de fitopatógenos a partir do húmus de minhoca.....	22
<i>Sclerotium rolfsii</i> Sacc.....	23
Metodologia geral.....	24
Capítulo 1 Parâmetros biológicos da criação de minhocas e aspectos de rendimento e qualidade do húmus obtido a partir de esterco bovino, casca de amendoim e borra de café.....	28
1.1 Introdução.....	28
1.2 Material e métodos.....	31
1.2.1 Minhocas e resíduos orgânicos.....	31
1.2.2 Tratamentos e sistema de criação.....	32
1.2.3 Avaliações.....	33
1.2.3.1 Biomassa e reprodução de minhocas.....	33
1.2.3.2 Rendimento de húmus.....	34
1.2.3.3 Variáveis microbiológicas.....	35
1.2.3.4 Variáveis químicas, umidade e temperatura.....	35
1.2.3.5 Análise estatística.....	36
1.3 Resultados e discussão.....	36
1.3.1 Biomassa e reprodução de minhocas.....	36
1.3.2 Rendimento de húmus.....	40
1.3.3 Unidades formadoras de colônias (UFC).....	41
1.3.4 Variáveis químicas, umidade e temperatura.....	43
1.4 Conclusões.....	46
Capítulo 2 Avaliação <i>in vitro</i> do potencial do húmus líquido para supressão de <i>Sclerotium rolfsii</i> Sacc.....	47
2.1 Introdução.....	47
2.2 Material e métodos.....	50
2.2.1 Processo de produção do húmus líquidos aerados.....	50
2.2.2 Origem e manutenção dos isolados de <i>S. rolfsii</i>	51

2.2.3 Avaliação do efeito supressor de húmus líquido aerado sobre <i>S. rolfsii</i>	52
2.2.3.1 Quantificação da microbiota viável presente nos húmus líquidos.....	52
2.2.3.2 Avaliação do efeito supressivo dos húmus líquidos sobre o inoculo do patógeno.....	52
2.2.4 Microrganismos antagonistas a <i>S. rolfsii</i> presentes em húmus líquidos aerados.....	54
2.2.4.1 Isolamento de microrganismos.....	54
2.2.4.2 Avaliação do antagonismo <i>in vitro</i>	55
2.2.5 Análise estatística.....	57
2.3 Resultados e discussão.....	57
2.3.1 Densidades populacionais microbianas em húmus líquido aerado.....	57
2.3.2 Influência da microbiota de húmus líquido sobre <i>S. rolfsii</i>	61
2.3.3 Avaliação <i>in vitro</i> de microbiota específica isolada de húmus líquido sobre o crescimento micelial de <i>S. rolfsii</i>	65
2.4 Conclusões.....	66
Considerações finais.....	67
Referências.....	68

Introdução geral

Os principais elementos da minhocultura – a minhoca e o húmus –, em grande parte das citações são lembrados, respectivamente, como produtoras de húmus e meros fertilizantes. Fora da academia e do seio científico, muitos desconhecem os inúmeros benefícios que esses dois elementos trazem ao ambiente e ao próprio ser humano. As minhocas não se limitam apenas à transformação de resíduos orgânicos, mas também atendem ao mercado de iscas vivas, servem como fonte de proteínas para animais e humanos, atuam na descontaminação de resíduos tóxicos através de bioacumulação, são utilizadas como indicadores da qualidade de solos e em ensaios de ecotoxicologia, além de serem objeto de estudo em diversas áreas da medicina moderna e tradicional oriental por sua capacidade regenerativa e de imunidade às doenças.

Em seu hábitat natural, independente da espécie, desempenham importante papel ecológico nos ecossistemas e agroecossistemas, interagindo com outras espécies em diferentes posições na cadeia alimentar, além de sua forte relação com o meio físico, promovendo transformações em diversos estratos e estruturas dos solos, através da construção de sulcos e galerias, facilitando a drenagem, o transporte de nutrientes e a aeração desses sistemas.

Quando criada em cativeiro, sua principal finalidade é a produção de húmus. O húmus de minhoca, além de adubo orgânico, desempenha importante papel na recuperação de solos degradados, preparo de mudas de plantas (substratos), biorremediação (transformação de contaminantes químicos em substâncias inertes), fonte alimentar de peixes e frangos e como fitoprotetor, agindo sobre fitopatógenos causadores de inúmeras doenças.

Por ser um composto vivo, o húmus de minhoca apresenta propriedades físicas (material estruturante), químicas (macro e micronutrientes) e biológicas (biodiversidade em meso e microfauna) que o diferem de quaisquer adubos sintéticos. É justamente essa gama de qualidades que o tornam alvo de novas pesquisas.

Não obstante, apesar das diversas possibilidades que a minhocultura permite, o foco de estudo ainda permanece muito centrado no paradigma da produção de húmus como adubo a ser aplicado em hortas ou vasos de plantas ou flores. Mais recentemente, sua utilização tem sido avaliada como fitoprotetor de diversos cultivos

contra fitopatógenos, como afídeos, coleópteros, ácaros e escleródios. Os escleródios em geral provocam efeitos deletérios em espécies cultivadas, especialmente por serem muito resistentes às variações abióticas, como temperatura e umidade, podendo permanecer no solo por vários anos como estrutura de resistência.

A produção e o emprego do húmus de minhoca na perspectiva da fertilização do agroecossistema vêm ao encontro de um dos princípios básicos da Agroecologia: uso de insumos localmente disponíveis destinados a processos de transição de um modelo produtivo convencional para outro de práticas agrícolas mais sustentáveis. A utilização de insumos orgânicos sejam eles produzidos localmente ou adquiridos de terceiros, aplicados de forma *in natura* ou previamente estabilizados, é comum em propriedades agrícolas familiares e de base ecológica, visando fertilizar solos cultivados em substituição aos adubos sintéticos.

A mudança de paradigma vem como proposta neste trabalho. O agricultor, que historicamente vem utilizando húmus de minhoca como fertilizante em culturas agrícolas, tem a possibilidade de fazer uso desse composto também no manejo fitossanitário, a partir da veiculação de uma ampla biodiversidade de microrganismos presentes no húmus, com potencial ação antagonista, substituindo aplicações massivas de fungicidas, geradores de consequências muitas vezes irreversíveis ao sistema edáfico.

O estudo teve como objetivo geral avaliar os efeitos supressivos de húmus produzidos a partir de diferentes combinações de resíduos orgânicos, em sua forma líquida aerada, sobre o escleródio *Sclerotium rolfsii* Sacc.

Revisão de literatura

Agricultura familiar

A conceituação em torno do termo agricultura familiar é muito vasta, regida por aspectos políticos, culturais, econômicos, sociais e até mesmo regionais. Em um sentido mais amplo, Bittencourt e Bianchini (1996) caracterizam o (a) agricultor (a) familiar como sendo aquele (a) que retira da agricultura sua principal fonte de renda e cuja força de trabalho desenvolvida na propriedade seja realizada pelos membros familiares, sendo permitido o emprego de terceiros apenas em regime temporário,

para auxílio em atividades agrícolas excedentes. Nessa situação, a mão de obra familiar deve ser igual ou superior a 75% do total.

Sunderhus (2008) destaca o conjunto de práticas e técnicas de natureza econômica e socioambientais exercidas pelos agricultores familiares contextualizados em seus sistemas de produção, manejo do solo e com as suas necessidades básicas, para diferenciá-los dos agricultores convencionais.

A agricultura familiar no Brasil passou ter amparo legal a partir de 1996, com a criação do Programa Nacional de Fortalecimento da Agricultura Familiar – PRONAF (BRASIL, 1996), através do Decreto Federal sob nº 1.946, consolidando-se em 2006, através da Lei Federal sob nº 11.326, que estabelece as diretrizes da Política Nacional da Agricultura Familiar e Empreendimentos Rurais (BRASIL, 2006)¹.

Em 2009, o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE divulgou o Censo Agropecuário (BRASIL, 2006)², contemplando a agricultura familiar em capítulos específicos, além de apresentar essa modalidade de agricultura praticada nos diferentes estados federativos. O Ministério do Desenvolvimento Agrário – MDA, através da divulgação do Plano Safra da Agricultura Familiar 2012/2013 (BRASIL, 2012), reitera que a agricultura familiar é responsável pela produção de 70% dos alimentos consumidos pelos brasileiros, respondendo ainda por 38% da renda agropecuária e ocupando 75% da mão de obra no campo. E justamente essa produção de alimentos corresponde à dieta básica do brasileiro, como feijão, milho, aipim, batata, frutas da estação, couve, alface, tomate etc.

Guilhoto et al. (2007) compilaram informações do Instituto Nacional de Colonização e Reforma Agrária – INCRA (BRASIL, 2000) e do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE (BRASIL, 1996; BRASIL, 2003), e apontaram a importância da agricultura familiar em um contexto agropecuário nacional, auxiliando o entendimento quanto a importância estratégica da agricultura familiar, destacando que, além de seu fundamental papel social na mitigação do êxodo rural e das

¹ A Lei Federal de nº 11.326 estabelece as diretrizes acerca da Agricultura Familiar no território brasileiro, está disponível no sítio eletrônico http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2004-2006/2006/lei/l11326.htm.

² O Censo Agropecuário, elaborado em parceria pelo IBGE e Ministério do Desenvolvimento Agrário - MDA, traz informações colhidas durante o ano por recenseadores do IBGE junto aos agricultores e produtores agropecuários, em complemento ao Censo Agropecuário 2006. Apesar de receber a denominação Censo Agropecuário 2006, seus resultados, embora preliminares, foram divulgados somente no ano de 2009. Disponível no sítio eletrônico http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/agropecuaria/censoagro/agri_familiar_2006/familia_censoagro2006.pdf.

desigualdades sociais do campo e das cidades, este setor deve ser encarado como um forte elemento de geração de riqueza, não apenas para o setor agropecuário, mas para a própria economia do país.

A história recente do país não tem sido favorável a essa categoria, quando se priorizava a exportação de grãos visando atender o mercado externo de *commodities*, beneficiando os grandes fazendeiros, sendo a produção de alimentos relegada ao segundo plano (NAVARRO, 2010). Todos os incentivos e investimentos financeiros eram destinados aos grandes produtores. Com a crise social acentuada nas últimas décadas, refletindo-se principalmente nos estratos sociais mais baixos da sociedade brasileira, a modernização da agricultura foi um limitante ao desenvolvimento na agricultura familiar, sendo considerado fator de exclusão social.

Mesmo perdendo um pouco de suas tradições e valores, a agricultura familiar mantém sua capacidade tradicional em produzir alimentos saudáveis, além da garantia de manutenção de empregos, sobretudo para seus membros, além da preservação e manutenção dos recursos naturais (SILVEIRA, 2007).

O crescimento das grandes cidades, favorecido pela economia estabilizada, tem promovido um inchaço demográfico e aumento do cinturão de miséria nas zonas urbanas, em decorrência do êxodo rural. Com isso, torna-se necessário a intervenção do Estado por intermédio de políticas públicas visando promover o planejamento relacionado ao desenvolvimento sustentável nos territórios rurais, buscando o fortalecimento e dinamização da sua economia (FERNANDES; FIÚZA, 2006).

Somente em meados da década de 1990 surgiram políticas públicas voltadas à AF, com o apoio de instituições governamentais (Ministérios, Secretarias Estaduais e até bancos) buscando melhorias quanto a produção, a infraestrutura e a capacitação do agricultor familiar, como o PRONAF. Em nível regional, agricultores familiares contam com o apoio da Associação Riograndense de Empreendimentos de Assistência Técnica e Extensão Rural (EMATER) e Embrapa Clima Temperado, em especial a Estação Experimental Cascata, com o foco voltado a essa categoria.

Ainda em nível regional, os agricultores familiares contam com associações não governamentais, como Associação dos Produtores Agroecológicos da Região Sul (ARPASUL), Cooperativa Sul Ecológica de Agricultores Familiares Ltda. (SULECOLÓGICA) e Centro de Apoio ao Pequeno Agricultor (CAPA). A grande

maioria dos agricultores vinculados a estas associações cultivam alimentos ecológicos e orgânicos, dentro de uma mudança de paradigma, não somente na perspectiva econômica, mas principalmente em relação a melhoria na qualidade de vida – dos agricultores e do agroecossistema – propostos pela Agroecologia.

Silveira (2007) é categórico e, ao mesmo tempo, otimista ao perceber o potencial da agricultura familiar na Agroecologia, através da produção de alimentos baseada nos sistemas complexos de policultivo, além da manutenção em relação aos conhecimentos e valores tradicionais em forma de ajuda mútua, mutirões, permuta de sementes e outros costumes que ainda persistem, mesmo com a modernização na agricultura.

Agroecologia

A Agroecologia traz uma nova abordagem que integra os princípios agrônômicos, ecológicos, culturais e socioeconômicos à compreensão e avaliação do efeito das tecnologias sobre os sistemas agrícolas e a sociedade como um todo. Nesse contexto, utiliza os agroecossistemas como unidade de estudo, ultrapassando a visão unidimensional (ALTIERI, 2004).

Caporal et al. (2006) classificam a Agroecologia como uma ciência basilar de um novo paradigma de desenvolvimento rural, que tem sido construído ao longo das últimas décadas, capaz de apreender e aplicar conhecimentos gerados em diferentes disciplinas científicas, reconhecendo e nutrindo saberes, conhecimentos e experiências dos agricultores, povos indígenas, povos da floresta, pescadores, comunidades quilombolas e tradicionais, bem como dos demais agentes sociais envolvidos, incorporando e aproveitando o potencial endógeno.

O fato da Agroecologia apresentar dimensões sociais, ambientais e econômicas, faz com que se fortaleça a agricultura familiar na busca de agroecossistemas sustentáveis (DENARDI, 2001), incentivando com que os agricultores familiares mantenham a fertilidade do solo ao longo do tempo, sendo um dos propósitos das agriculturas de base ecológica, através do estudo e dos processos que ocorrem no solo (GLIESSMAN, 2000).

Neste contexto, o solo fértil visa, além da produtividade, a permanência da biodiversidade do agroecossistema. Um ambiente relativamente estável proporciona uma boa produção de alimento. E isso é perceptível quando uma propriedade apresenta grande diversidade de plantas – nativas e alimentares – e animais, seja

estes edáficos ou não. Muitos agricultores associam a presença de alguns organismos à qualidade do ambiente ou do solo, como por exemplo, a presença de minhocas, reconhecendo a importância destes organismos aos agroecossistemas com solos férteis e produtivos (ORTIZ et al., 1999; SCHIEDECK et al., 2007).

Minhocas: biologia e ecologia

As minhocas são consideradas “engenheiras dos ecossistemas” (JOUQUET et al., 2006; LAVELLE et al., 2006), pela capacidade de transformação dos solos quanto aos aspectos físicos, químicos e biológicos. Charles Darwin (1881), observando as minhocas, reconheceu a importância desses seres na dinâmica dos solos. As minhocas pertencem ao filo Annelida, classe Oligochaeta e ordem Haplotaxida, destacando-se as superfamílias Glossoscolecoidea, Lumbricoidea e Megascolecoidea (SIMS; GERARD, 1999). Possuem o corpo segmentado em anéis (metâmeros), separados por sulcos transversais, boca localizada no primeiro segmento, recoberta por um pequeno lóbulo (prostômio) e ânus localizado no último segmento (pigídio) com formato de fenda vertical (SOUZA, 2008). Segundo Ruppert et al. (2005), as minhocas possuem amilases, celulasas e quitinases, enzimas secretadas pelo epitélio intestinal, responsáveis em digerir, respectivamente, amidos de alimentos vegetais, parede celular das plantas e parede celular dos fungos.

As minhocas correspondem de 40% a 90% da biomassa de macrofauna edáfica na maioria dos ecossistemas tropicais (FRAGOSO et al., 1999), sendo considerados organismos integradores quanto aos processos físicos, químicos e biológicos do ecossistema edáfico (SHUSTER et al., 2002). A presença de minhocas está relacionada à boa qualidade dos solos (MEINICKE, 1983), desempenhando relevante papel na formação destes, escavando galerias que predominam nos horizontes superficiais, de 0 a 30 cm de profundidade, podendo chegar até partes mais profundas (RIGHI, 1997).

Quanto aos fatores químicos, Lee (1985) destaca a importância das minhocas na ciclagem dos nutrientes, em especial o nitrogênio, a partir da eliminação diária de coprólitos, correspondente a 60% do peso do corpo da *Lumbricus terrestris* e 50% da *Pheretima posthuma*. As minhocas participam da incorporação e decomposição da matéria orgânica presente no solo e influenciam a fauna microbiana. Os coprólitos contêm humato de cálcio, que junto com o cálcio liberado pelas glândulas calcíferas, servem de elemento agregador às partículas do solo (EDWARDS;

BOHLEN, 1996). O muco das minhocas mistura-se ao solo, ajudando na agregação de partículas enquanto os coprólitos, que contêm grandes concentrações de nutrientes, ajudam na formação do húmus e na fertilidade do solo (SHIPITALO; BAYON, 2004). Conforme Ingham (2006), as minhocas também atuam no controle de patógenos e na degradação de poluentes, que podem ser inibidos por produtos de seu metabolismo.

Com relação à ecologia, as interações das minhocas com os microrganismos edáficos são extremamente complexas, fazendo com que afetem a biodiversidade, a biomassa e as suas respectivas distribuições no sistema (BROWN; DOUBE, 2004). A partir da formação de galerias, modificam as propriedades físicas do solo, possibilitando a aeração, a drenagem e o poder de retenção de água e de nutrientes; seus excrementos são convertidos ao húmus, ricos em nutrientes como N, P, K e Ca, fertilizando os solos (MOTTER et al., 1990). Esse sistema de galerias formado pelas minhocas é de extrema importância para a dinâmica do sistema edáfico, auxiliando no trânsito de organismos por meio dos canais formados.

As minhocas participam ativamente na dinâmica edáfica, em interação com outros organismos, que contribuem nos processos de decomposição da matéria orgânica (quimiorganotrofia), ou se utilizam de produtos por elas excretados. A degradação do alimento consumido pelas minhocas estimula o aumento da população microbológica, em razão dos resíduos aumentarem a área de superfície, facilitando a ação destes microrganismos (SEEBER et al., 2008). Knapp et al. (2009) observaram um incremento expressivo de populações microbianas após a finalização do processo de humificação, comparado com o material antes da produção.

Pižl e Zováková (2003) destacam a ação das minhocas sobre os organismos e microrganismos com os quais se relacionam, seja pela competição por alimentos ou sobre coprólitos excretados. Muitos organismos presentes no solo se aproveitam dos resíduos gerados pelas minhocas, mas também o contrário, quando as minhocas se alimentam de materiais orgânicos já estabilizados química e biologicamente por outros organismos. Bonkowski et al. (2000) destacam a competição existente entre minhocas e alguns organismos edáficos pelos mesmos recursos alimentares, caracterizados pelas matérias orgânicas em estágio inicial de decomposição.

Ao se alimentarem de resíduos orgânicos e materiais presentes no solo, as minhocas acabam por digerir também microrganismos associados a estes, assimilando assim mais nutrientes (BROWN; DOUBE, 2004). O húmus produzido a partir de matérias orgânicas resulta da ação das minhocas, dos organismos presentes no próprio resíduo orgânico e também pela ação de microrganismos que vivem no interior de seus intestinos (PIŽL; NOVÁKOVÁ, 2003).

Alguns estudos têm caracterizado as comunidades microbiológicas presentes nos intestinos das minhocas, apontando a presença da bactéria gram-negativa *Aeromonas hydrophila* (TOYOTA; KIMURA, 2000) e bactérias gram-positivas *Clostridium subterminale* (49%), *C. bifermentans* (13%), *C. butyricum* (13%), *C. glycolicum* (5%), *C. celerecrescens* (4%) e *C. lituseburense* (2%) (SHIN et al., 2004), observadas na espécie *Eisenia fetida*.

Apesar do conhecimento tácito dos agricultores sobre as minhocas, sua utilização na transformação de resíduos ainda é recente, pouco explorada pelos agricultores familiares e subutilizada quanto ao seu potencial de uso.

Minhocultura e produção de húmus

A minhocultura, como a criação racional de minhocas para produção de húmus e iscas vivas surgiu nos Estados Unidos a partir da década de 1930 (EDWARDS, 2010). A minhocultura corresponde à criação de minhocas destinadas a diferentes fins, como produção de matrizes e casulos para posterior comercialização, produção de iscas vivas para pesca artesanal e minhocas destinadas a produção de húmus. As espécies mais comumente utilizadas nesse processo são *Eisenia andrei* Bouché (1972), *Eisenia fetida* Savigny (1826), *Eudrilus eugeniae* Kingberg (1867), *Lumbricus rubellus* Hoffmeister (1843) e *Perionyx excavatus* Perrier (1872), cada qual com suas especificidades em relação à eficiência e características em relação aos resíduos utilizados (EMMERLING; PAULSCH, 2001; TOGNETTI et al., 2005; KHWAIRAKPAM; BHARGAVA, 2009).

A espécie *Eisenia andrei* (Vermelha da Califórnia) é a mais utilizada por suas características diferenciadas, tais como a facilidade em adaptação às condições de cativeiro e elevada taxa de multiplicação (BROWN; JAMES, 2007), demonstrando elevada eficiência na conversão de resíduos orgânicos em húmus (EDWARDS; ARANCON, 2004) e aceitação a variadas fontes de alimentos (ATIYEH et al., 2002).

O esterco bovino é o principal alimento ofertado às minhocas da espécie *E. andrei*. Porém outros resíduos podem ser adicionados visando incorporar diferentes características químicas, promover uma melhor aeração do material ou destinar adequadamente rejeitos industriais, agroindustriais ou urbanos. Esses resíduos podem ser provenientes de diferentes fontes, como da indústria têxtil (ROSA et al., 2007), cascas de coco (GALVÃO et al., 2007), destilarias (SUTHAR; SINGH, 2008a), bagaço de uva (DAUDT, 2004), palha de café (SANTOS et al., 2010) e macrófitas aquáticas, provenientes de estações de tratamento de águas (DA SILVA et al., 2011).

Ao mesmo tempo em que podem favorecer a atividade das minhocas e melhorar a qualidade do húmus, a utilização de diferentes resíduos e até mesmo a variação da origem dos resíduos (esterco de animais em sistemas de confinamento ou pastoreio, qualidade de alimentação, manejo do rebanho etc.) são fatores que dificultam a comparação entre os resultados de pesquisa.

O húmus de minhoca é obtido a partir do processo de bio-oxidação e estabilização do resíduo orgânico, através da ação conjunta de minhocas e microrganismos (AIRA; DOMÍNGUEZ, 2009), e provém de materiais originários de plantas e animais que passaram por processo de decomposição, via hidrólise, oxidação, redução e síntese de microrganismos (LANDGRAF et al., 2005). Experimentos mostram que o húmus estimula a nutrição mineral das plantas, o desenvolvimento radicular, os processos metabólicos, a atividade respiratória, o crescimento celular e a formação de flores em certas espécies (SOUZA; RESENDE, 2003).

Uma vez finalizado o processo de produção de húmus, surgem questionamentos acerca da presença de organismos patogênicos nesses materiais, especialmente àqueles provenientes de resíduos de animais, como esterco bovinos, suínos ou equinos (DOMÍNGUEZ, 2004; EDWARDS; ARANCON, 2004). Estudos de Monroy et al. (2008) e Monroy et al. (2009) verificaram a redução de coliformes totais em 85% e 98%, respectivamente, após a produção de húmus provenientes de esterco suínos. Já Mainoo et al. (2009) não perceberam redução significativa de *Escherichia coli* no composto analisado. Novos estudos são necessários para que se consigam resultados convergentes e, para tal, torna-se imprescindível que variáveis diversas sejam consideradas, como origem dos resíduos, condições de produção do húmus, a espécie de minhoca, dentre outras.

A produção de húmus visa atender a demanda por fertilização de baixo custo em sistemas agrícolas, principalmente na agricultura familiar e em agroecossistemas de base ecológica, podendo também servir como fitoprotetor na supressão de doenças em plantas.

Supressão de fitopatógenos a partir do húmus de minhoca

Nas últimas décadas, o húmus de minhoca passou a ser avaliado na supressão de fitopatógenos, tanto na forma sólida (SZCZECH, 1999; EDWARDS, ARACON, 2004) quanto na forma de chá de húmus ou húmus líquido. Nakamura (1996), em experimento com tomateiros, observou a supressão de *Plasmodiophora brassicae*, *Phytophthora nicotianae* e *Fusarium lycopersici*, em presença de tratamentos com húmus de minhoca.

Outros têm corroborado a eficiência do húmus de minhoca na supressão de fitopatógenos, tanto na parte aérea quanto no sistema radicular das plantas, como *Pythium ultimum* (CHEN; NELSON, 2008), *R. solani* (RIVERA et al., 2004), *Fusarium* sp. (SZCZECH, 1999) e *Pythium irregulare* (SCHEUERELL et al., 2005). Porém, mesmo com vários resultados positivos, os resultados obtidos quanto à supressão de doenças por húmus de minhocas são altamente variáveis, uma vez que dependem de diferentes fatores, combinados entre si ou não, como matéria-prima (SZCZECH, 1999; SZCZECH; SMOLINSKA, 2001), patossistemas (SZCZECH et al., 1993; SCHEUERELL et al., 2005) e temperatura (RIVERA et al., 2004).

Húmus líquido também tem sido testado na supressão de fitopatógenos, como *Sclerotinia sclerotiorum*, *Sclerotium rolfsii*, *Rhizoctonia solani* e *Fusarium oxysporum* (NAKASONE et al., 1999) e controle do damping-off, causado por *P. ultimum* em abobrinhas (SCHEUERELL; MAHAFFEE, 2004). Húmus líquido é o extrato aquoso obtido pela mistura de húmus sólido e água, com presença de microrganismos, nutrientes solúveis e outras substâncias benéficas às plantas (SALTER; EDWARDS, 2010; ARTEGA et al., 2007).

A técnica de produção do húmus líquido permite diferentes níveis tecnológicos e a aeração da solução de húmus é uma das utilizadas (SCHEUERELL; MAHAFFEE, 2004). A justificativa para a introdução de ar no processo de produção é estimular a proliferação e sobrevivência de microrganismos aeróbicos presentes na solução, bem como diminuir a população e o desenvolvimento de microrganismos anaeróbicos capazes de produzir metabólicos prejudiciais às plantas.

A disseminação de fitopatógenos em agroecossistemas é um dos maiores problemas enfrentados pelos agricultores familiares e de base ecológica. Como medidas paliativas, vêm fazendo uso de plantas de cobertura, adubação verde e até a técnica de solarização para conter o avanço desses patógenos, dentre eles os escleródios.

***Sclerotium rolfsii* Sacc.**

Com ampla distribuição geográfica, a espécie *S. rolfsii* habita regiões de clima tropical e subtropical, favorecidos pelas condições de temperaturas e umidades, ideais para o crescimento, o desenvolvimento e a sobrevivência do patógeno (PUNJA; RAHE, 1992). Michereff et al. (2005) destacam algumas doenças associadas ao *S. rolfsii*, as quais podem se manifestar de diferentes maneiras a espécie e cultivar, como o tombamento de plântulas (algodão), murcha-de-escleródio (amendoim, feijão, pimentão, soja e tomate), podridão do caule (arroz), podridão do colo (batata-doce, mandioca e inhame), podridão branca (beterraba) e podridão de escleródio.

Uma vez instalados nos agroecossistemas, a supressão dos escleródios torna-se tarefa difícil (PÉREZ SENDÍN et al., 1986), sendo necessárias medidas extremas de controle, como o uso de agrotóxicos (ZAMBOLIM et al., 2008), ou um manejo integrado entre métodos físicos como a solarização (GHINI; BETTIOL, 2005), métodos culturais, como o revolvimento do solo e incorporação de matéria orgânica (MICHEREFF et al., 2001), e métodos biológicos, representados pelo uso de microrganismos – fungos, bactérias e actinobactérias – antagônicos a determinado organismo fitopatógeno (MORANDI; BETTIOL, 2009).

S. rolfsii foi observado pela primeira vez por Peter Henry Rolfs, em 1892, em cultivos de tomates, na Flórida, EUA (AYCOCK, 1966). Por apresentar duas fases distintas – perfeita (sexuada) e imperfeita (assexuada) – sua descrição taxonômica não é bem clara. Agrios (2005) classifica o fungo como pertencente ao Filo Ascomycotes, classe Ascomycetes Filamentosos e grupo Deuteromycetes. Quando o fungo encontra-se na fase sexuada passa a denominação de *Athelia rolfsii* (Curzi) Tu & Kimbrough (PUNJA, 1993).

Na formação micelial, o *S. rolfsii* possui hifas septadas, finas, brancas e ramificadas, observadas entre 24 e 48 horas após a infecção ou inoculação em placas de Petri; após, originam estruturas de resistência chamadas de escleródios ou esclerócios, com colorações em tons de marrom a preto, com tamanhos de 0,5 a 2

mm de diâmetro (PUNJA, 1985; SMITH et al., 1986). Conforme Agrios (2005), o patógeno dissemina-se pela água percolada, transporte de solos infestados, resíduos contaminados em ferramentas, transplante de mudas doentes, legumes e frutas infectadas ou sementes contaminadas pelos escleródios. *S. rolfii* afeta mais de 500 espécies de plantas, entre mono e dicotiledôneas, cultivos de interesse econômico e até mesmo plantas espontâneas (PUNJA; RAHE, 1992; FERREIRA; BOLEY, 2006).

S. rolfii produzem enzimas com elevado potencial em alterar processos nas plantas, seja de natureza fisiológica, metabólica ou estrutural, através de ações enzimáticas, metabólicas (ácidos nucleicos), fotossíntese, metabolismo proteico, crescimento da planta, fluxo de água, permeabilidade de membranas ou induzindo a morte de tecidos e células da planta (PASCHOLATI, 1995).

Metodologia geral

O trabalho foi dividido em duas etapas distintas, representadas em capítulos. O primeiro capítulo, “Parâmetros biológicos da criação de minhocas e aspectos de rendimento e qualidade do húmus obtido a partir de esterco bovino, casca de amendoim e borra de café”, resumido na Figura 1, é dedicado à primeira etapa, detalhando a produção de húmus de minhoca a partir de resíduos orgânicos encontrados com frequência em propriedades de agricultores familiares, como esterco bovino (EB), borra de café (BC) e cascas de amendoim (CA).

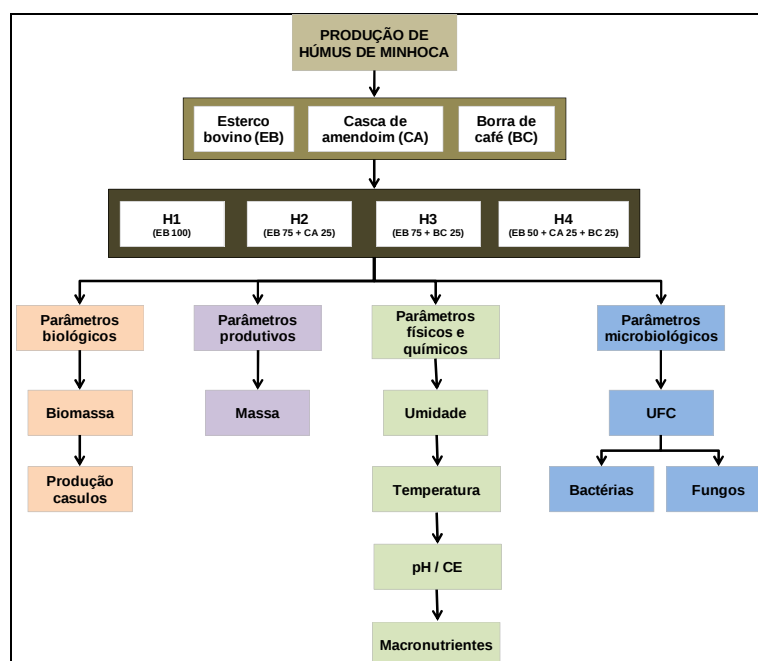


Figura 1 – Organograma da primeira etapa do trabalho. Embrapa Clima Temperado – Estação Experimental Cascata, Pelotas, RS, 2012.

Para a produção do húmus foram utilizadas minhocas da espécie *E. andrei*, obtidas no minhocário da Estação Experimental Cascata. O EB e a BC passaram por um período de estabilização antes de serem ofertados às minhocas. O experimento foi montado no delineamento inteiramente casualizado (DIC), com quatro tratamentos (H1 – EB 100%; H2 – EB 75% + CA 25%; H3 – EB 75% + BC 25%; H4 – EB 50% + BC 25% + CA 25%) e seis repetições. Foram avaliados parâmetros como biomassa de minhocas, produção de casulos, rendimento de húmus, características microbiológicas dos resíduos e dos húmus produzidos e parâmetros físicos e químicos.

Os tratamentos foram avaliados ao longo de 60 dias, sendo utilizados amostradores de PVC inseridos nas caixas. As minhocas adultas cliteladas presentes nos amostradores eram separadas, contadas e pesadas para o cálculo da biomassa individual. Os casulos produzidos também foram contabilizados. Após a avaliação, as minhocas e casulos eram recolocados nos amostradores e estes nas respectivas caixas.

A cada avaliação, as caixas eram pesadas sendo descontados os pesos das caixas e amostradores. O rendimento final de húmus produzido foi obtido comparando-se a massa seca final a massa seca do alimento inicial disponibilizado às minhocas. Os valores de massa seca foram obtidos a partir do desconto dos respectivos teores de umidade dos tratamentos. O húmus produzido foi acondicionado em sacos plásticos e armazenado sob refrigeração a 4°C.

De cada tratamento foram retiradas amostras aos sete dias de instalação do experimento e ao seu final, para avaliar populações de bactérias e fungos, por meio de unidades formadoras de colônias (UFC). Nessa etapa, utilizou-se delineamento inteiramente casualizado (DIC), com quatro tratamentos e seis repetições, sendo cada placa considerada uma unidade experimental.

Amostras dos resíduos utilizados, dos tratamentos no início do experimento e ao final da etapa de produção de húmus foram enviadas para laboratório credenciado, para análises físico-químicas. Análises de condutividade elétrica e pH foram determinadas na EEC, e as temperaturas dos tratamentos foram avaliadas em intervalos regulares, com uso de termômetros introduzidos nos tratamentos.

O segundo capítulo, “Avaliação *in vitro* do potencial do húmus líquido de minhocas *Eisenia andrei* Bouché para supressão de *Sclerotium rolfsii* Sacc.”, resumido na Figura 2, descreve a segunda etapa, onde foi avaliado o potencial de diferentes húmus líquidos produzidos quanto à supressão ao fungo *S. rolfsii*. As avaliações foram realizadas *in vitro*, e procuraram caracterizar a ação da microbiota do húmus sobre o fungo e identificar o mecanismo de ação envolvido. Estes húmus líquidos foram preparados a partir dos tratamentos produzidos na primeira etapa do experimento.

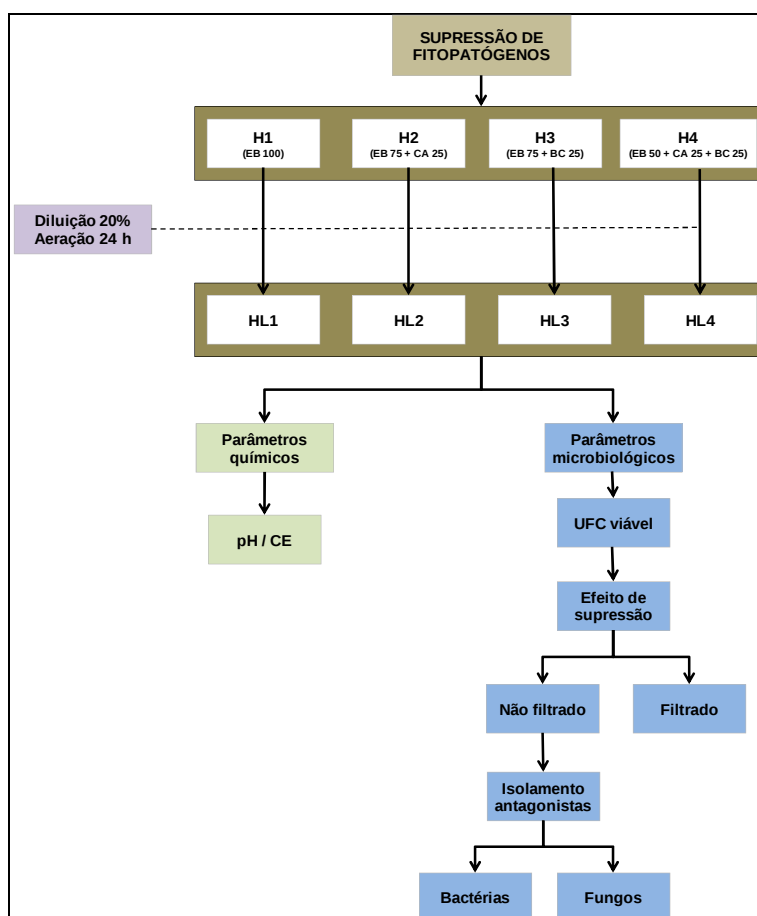


Figura 2 – Organograma da segunda etapa do trabalho. Embrapa Clima Temperado – Estação Experimental Cascata, Pelotas, RS, 2012.

Os húmus sólidos foram colocados em quatro sachês de 30 cm por 40 cm na proporção de 20% do volume total. Os sachês foram mergulhados em recipientes contendo água e aerados pelo período de 24 horas. Após esse período foi determinado o pH e a condutividade elétrica dos diferentes tratamentos e amostras recolhidas em vidros âmbar esterilizados para posterior caracterização microbiológica e realização dos bioensaios.

Para este trabalho procedeu-se ao isolamento de *S. rolfsii* de tomateiros infectados oriundos de cultivos da EEC, devidamente desinfetados e armazenados para posteriores avaliações.

Amostras dos diferentes húmus líquidos aerados foram centrifugadas e avaliadas as densidades populacionais bacterianas e fúngicas. Para avaliação dos efeitos supressivos dos húmus líquidos sobre o *S. rolfsii* foi utilizado delineamento inteiramente casualizado (DIC), com quatro tratamentos mais a testemunha, e com seis repetições.

Os microrganismos oriundos do plaqueamento dos diferentes húmus líquidos foram isolados empregando-se procedimentos distintos para fungos e bactérias. Para avaliar o antagonismo destes isolados a *S. rolfsii* em sua forma micelial e esclerosada utilizou-se a técnica de cultivo pareado em placas de Petri com meio BDA.

Discos de micélio de *S. rolfsii* foram dispostos em meio de cultivo BDA, contido em placas de Petri, em posição diametralmente oposta a disco de micélio do isolado fúngico potencialmente antagonista. O mesmo procedimento metodológico foi empregado no pareamento de cepas bacterianas, diferindo pela semeadura destas pelo método de risca em três estrias paralelas na placa, efetuadas com o auxílio de alça de platina.

A observação do efeito antagônico no crescimento micelial de *S. rolfsii* foi obtido pela medição da distância entre as bordas do crescimento micelial do agente patogênico e do antagonista em potencial, obtidas com o auxílio de régua milimetrada, em intervalos regulares de 24 horas.

Parâmetros biológicos da criação de minhocas e aspectos de rendimento e qualidade do húmus obtido a partir de esterco bovino, casca de amendoim e borra de café

1.1 Introdução

A minhocultura é uma atividade econômica voltada à criação de minhocas, podendo ser utilizadas na transformação de resíduos orgânicos em húmus e também à produção e comercialização de matrizes, iscas vivas, casulos e farinha de minhocas. Existem diversas formas para implantar a criação de minhocas e iniciar a produção de húmus, podendo o minhocário ser construído de alvenaria (SCHIEDECK et al., 2006), de bambu, conhecido como minhocário campeiro (SCHIEDECK et al., 2007a) ou instalado em túnel baixo (SCHIEDECK et al., 2007b), utilizando alguns materiais disponíveis nas propriedades rurais. As espécies de minhocas mais utilizadas em minhocários comerciais são *Eisenia andrei* Bouché (1972), *Eisenia fetida* Savigny (1826), *Eudrilus eugeniae* Kingberg (1867), *Perionyx excavatus* Perrier (1872) e *Lumbricus rubellus* Hoffmeister (1843).

E. andrei é uma espécie epigêica e alimenta-se basicamente de resíduos orgânicos. Popularmente conhecida no Brasil como Vermelha da Califórnia, é uma das espécies exóticas mais empregadas na minhocultura (BROWN; JAMES, 2006), por alimentar-se de diversificadas fontes de resíduos orgânicos, sendo responsáveis pela aceleração dos processos de transformação de resíduos orgânicos em húmus.

Por equívoco, tanto comercialmente quanto na própria literatura, confundem a espécie *E. andrei* com a espécie *E. fetida*. Essa confusão se dá pelo fato de ambas serem similares em sua forma, ciclos de vida e hábitos, além de serem as mais utilizadas na minhocultura (DOMÍNGUEZ, 2004; DOMÍNGUEZ et al., 2005; EDWARDS et al., 2004). Martinez (1998) destaca como principais diferenças entre as duas espécies a aparência tigrada e o mau cheiro exalado pela *E. fetida*. Porém, as duas espécies não devem ser criadas no mesmo ambiente, como recomendam Domínguez et al. (2005), pois diminui significativamente a viabilidade de casulos resultantes do intercruzamento (MARTINEZ, 1998). Já a interação de *E. fetida* com

espécies diferentes de minhocas no mesmo ambiente é recomendada, segundo Suthar e Singh (2008b), que produziram húmus com minhocas das espécies *P. excavatus*, *Lampito mauritiae* e *E. fetida* e observaram que ocorreu aceleração e estabilização dos resíduos, promovendo enriquecimento de nutrientes mineralizados e microrganismos.

Para a produção de húmus de minhoca o alimento comumente utilizado é o esterco bovino, pela ampla aceitação por parte das minhocas, podendo também ser utilizados esterco de outros animais, como de equinos, ovinos, caprinos, equinos e suínos (MARTINEZ, 1998), embora alguns destes devam passar por um processo prévio de estabilização. Estes resíduos orgânicos são frequentemente encontrados em propriedades agrícolas familiares, podendo ser utilizados para a produção de húmus de minhoca.

Outros materiais também podem ser acrescidos aos esterco, como recomenda Migdalski (2001), no intuito de promover um incremento estruturante ao resíduo, facilitando a aeração ou aporte de fontes de carbono e nitrogênio. Domínguez et al. (2000) afirmam que o aporte de materiais estruturantes, como papelão e serragem, potencializam o crescimento e a reprodução das minhocas. Suthar (2006) empregou serragem a um resíduo industrial, para elevar a relação C/N do alimento servido às minhocas, obtendo resultados satisfatórios. Demais resíduos foram testados com esterco, como cana-de-açúcar (SILVA et al., 2002), lodo de esgoto (CORRÊA et al., 2007), papel (GARG et al., 2006; GUPTA; GARG, 2009) e palha de carnaúba (PEREIRA; AZEVEDO, 2005), cujos resultados apresentados corroboraram os benefícios citados, tanto na qualidade do produto final quanto no desenvolvimento das minhocas.

O amendoim (*Arachis hypogaea* L.) é a quarta oleaginosa mais produzida no planeta, ficando atrás apenas das culturas da soja, do algodão e da canola (FREITAS et al., 2005). Parte da produção brasileira de amendoim provém da agricultura familiar, sendo pré-beneficiado na propriedade de cultivo. Suas cascas são incorporadas ao solo, devido aos elevados teores de carbono, podendo também passar por processos prévios de compostagem ou adicionadas a resíduos orgânicos, visando à produção de húmus de minhoca.

O Brasil é o maior produtor mundial de café. Segundo a Associação Brasileira da Indústria de Café (ABIC, 2012), estima-se para a safra de 2012 cerca de 50 milhões de sacas beneficiadas de café, entre as variedades arábica e robusta; o

consumo interno anual é de cerca de 20 milhões de sacas, sendo consumidos *per capita* 6,18 kg de café em grão cru ou 4,94 kg de café torrado, cerca de 83 L para cada brasileiro por ano.

A cultura de café orgânico vem crescendo no território brasileiro nos últimos anos, aumentando as áreas plantadas em sistemas agrícolas familiares (MACEDO; BINSZTOK, 2006), sendo uma parte comercializada e outra consumida pelos próprios agricultores. A borra de café ou pó de café esgotado³, por conter cafeína, polifenóis e taninos, é um resíduo tóxico quando descartado diretamente ao ambiente, necessitando ser estabilizado antes do descarte ao ambiente (VEGRO; CARVALHO, 2006) ou utilizado na produção de húmus de minhoca (CASTILHOS et al., 2008).

A borra de café também apresenta antioxidantes em sua composição, substâncias estas responsáveis em inibir a oxidação de alguns substratos. Segundo Araújo (2004), os antioxidantes estão classificados em primários e sinérgicos. O primeiro grupo compreende os compostos fenólicos poli-hidroxilados e os fenóis com impedimento estrutural, atuando no bloqueio de radicais livres. Os compostos sinérgicos atuam por meio de vários mecanismos e têm como principal característica remover oxigênio do meio em que atua. A ação conjunta entre estes dois grupos de antioxidantes intensifica o controle do processo de oxidação.

Castilhos et al. (2007) produziram húmus a partir de diferentes fontes animais e vegetais, concluindo que húmus originados de borra de café aumentam os teores de nitrogênio mineral quando aplicados ao solo. A borra de café acumulada em propriedades rurais é alternativa ao descarte adequado do resíduo, servindo como aporte de fonte complementar aos esterco, qualificando a produção de húmus e servindo como fonte de nutrientes aos solos.

O objetivo desse trabalho foi avaliar diferentes húmus produzidos a partir de resíduos orgânicos tradicionalmente disponíveis em propriedades rurais de agricultores familiares quanto às respostas biológicas de minhocas, assim como as propriedades químicas e rendimento dos húmus e efeitos destes sobre a comunidade microbiana inicial e final.

³ Na literatura científica, o emprego do termo “borra de café”, que seria o resíduo gerado na indústria, confunde-se com o termo “pó de café esgotado”, parte residual do café passado. Neste estudo foi utilizado o “pó de café esgotado”, porém adotou-se a nomenclatura “borra de café” como padrão a outros estudos.

1.2 Material e métodos

O experimento foi conduzido na Estação Experimental Cascata (EEC), Embrapa Clima Temperado, em Pelotas-RS, entre outubro de 2011 e abril de 2012. A EEC localiza-se a 31°37' S, 052°31' W e a aproximadamente 180 m de altitude.

1.2.1 Minhocas e resíduos orgânicos

Para a produção do húmus foram utilizadas minhocas da espécie *E. andrei*, obtidas no minhocário da EEC. Os indivíduos passaram por um processo de engorda e ao final foram separados de forma manual. Cerca de 80% da biomassa total foi constituída de indivíduos adultos e clitelados, sendo o restante de juvenis.

Os resíduos utilizados para a produção de húmus sólido foram esterco bovino (EB), borra de café (BC) e cascas de amendoim (CA) (Fig. 1.1). O EB utilizado foi oriundo do *Campus* Pelotas Visconde da Graça, Instituto Federal Sul-rio-grandense (IFSUL), proveniente de gado leiteiro e recolhido no estábulo onde ocorre o processo de ordenha. Durante o período em que o material foi separado, o rebanho não recebeu nenhum tratamento veterinário.



Figura 1.1 – Resíduos utilizados no experimento: (A) esterco bovino, (B) borra de café e (C) cascas de amendoim. Embrapa Clima Temperado – Estação Experimental Cascata, Pelotas, RS, 2012.

O EB passou por um processo de estabilização, ficando disposto ao ar e à sombra por um período de 20 dias (Fig. 1.2-A), em razão do elevado teor de umidade. A BC foi proveniente de descarte de um ponto comercial do município de Pelotas e também foi estabilizada à sombra, por um período de 40 dias, devido ao

elevado teor de umidade (Fig. 1.2-B). As CA utilizadas foram obtidas na EEC, oriundas de descarte ao final do processo de secagem e retiradas dos grãos.



Figura 1.2 – Estabilização dos resíduos utilizados no experimento: (A) esterco bovino e (B) borra de café. Embrapa Clima Temperado – Estação Experimental Cascata, Pelotas, RS, 2012.

1.2.2 Tratamentos e sistema de criação

A produção de húmus foi desenvolvida em laboratório (Fig. 1.3-A). O experimento foi montado no delineamento inteiramente casualizado (DIC), com quatro tratamentos e seis repetições (Fig. 1.3-B). As unidades experimentais constaram de caixas plásticas de 20 L (19,5 cm de altura x 28,5 cm de largura x 37 cm de comprimento), com fundo perfurado, preenchidas com os respectivos tratamentos.

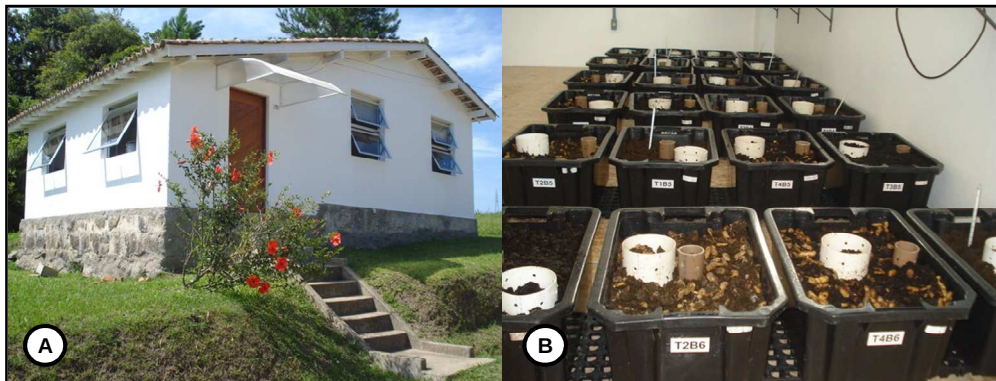


Figura 1.3 – (A) Laboratório destinado à produção de húmus e (B) apresentação do experimento instalado. Embrapa Clima Temperado – Estação Experimental Cascata, Pelotas, RS, 2012.

Os tratamentos foram constituídos de EB e combinações deste com CA, como material estruturante, e BC, na qualidade de fonte nutricional, sendo: H1 – EB 100%; H2 – EB 75% + CA 25%; H3 – EB 75% + BC 25%; H4 – EB 50% + BC 25% + CA 25%. Todas as misturas foram elaboradas na relação volume/volume, com massa média de 10,368 kg, 8,101 kg, 11,663 kg e 9,057 kg, respectivamente para H1, H2, H3 e H4 (Fig. 1.3-B).

Aos tratamentos foram inoculadas minhocas em quantidade proporcional ao volume de alimento digerível de cada mistura (EB e BC), desconsiderando o elemento estruturante (CA). Para tanto foi projetada uma taxa de consumo de um grama de alimento por um grama de biomassa de minhocas ao dia. A taxa de consumo foi determinada como um valor médio entre a maior conversão de alimento em biomassa de minhocas e a maior conversão de alimento em húmus, conforme proposto por Ndegwa et al. (2000). Desta forma, nos tratamentos H1 e H3 foram adicionados 480 g de minhocas, enquanto que os tratamentos H2 e H4 receberam 360 g de minhocas.

1.2.3 Avaliações

1.2.3.1 Biomassa e reprodução de minhocas

Os tratamentos foram avaliados ao longo de 60 dias pela pesagem e contagem de minhocas e contagem de casulos presentes em amostradores dispostos dentro das caixas de criação. As minhocas adultas cliteladas presentes nos amostradores eram separadas, contadas e pesadas para o cálculo da biomassa individual. Após a avaliação, as minhocas e casulos eram recolocados nos amostradores e estes nas respectivas caixas.

Para efeito de comparação de biomassa de minhocas e produção de casulos entre os tratamentos, adotou-se o fator de correção de 0,75 (360 g/480 g) para os valores obtidos nos amostradores dos tratamentos H1 e H3, tornando-os equivalentes.

Foram utilizados dois amostradores de PVC, sendo um menor com volume de 290,44 cm³ (4,3 cm de diâmetro x 20 cm de altura) e 20 furos de oito milímetros, e outro maior, com volume de 1.508,59 cm³ (9,8 cm de diâmetro x 20 cm de altura), com 40 furos de oito milímetros (Fig. 1.4). Ambos tiveram o fundo vedado por um

plástico resistente, fixados por abraçadeiras. Cada tratamento recebeu dois amostradores, sendo um de cada tamanho.



Figura 1.4 – Amostradores instalados nos tratamentos, confeccionados em tubos de PVC: 50 mm (menor) e 100 mm (maior). Embrapa Clima Temperado – Estação Experimental Cascata, Pelotas, RS, 2012.

1.2.3.2 Rendimento de húmus

A cada avaliação as caixas eram pesadas, sendo descontados os pesos das caixas e amostradores. O rendimento final de húmus produzido foi obtido comparando-se a massa seca final e a massa seca do alimento inicial disponibilizado às minhocas. Os valores de massa seca foram obtidos a partir do desconto dos respectivos teores de umidade dos tratamentos. Já o rendimento relativo foi obtido a partir da equação

$$RR = \frac{MSf \times 100}{MSi}$$

onde RR representa o rendimento relativo, MSf a massa seca final (húmus de minhoca) e MSi a massa seca inicial (resíduos).

Os húmus produzidos foram acondicionados em sacos plásticos e armazenados sob refrigeração a 4°C para posteriores análises físico-químicas e avaliações microbiológicas e testes de supressão ao fungo *S. rolfsii*.

1.2.3.3 Variáveis microbiológicas

De cada tratamento foram retiradas amostras aos sete dias de instalação do experimento e ao seu final, para avaliar populações de bactérias e fungos por meio de unidades formadoras de colônias (UFC). Para a contagem destes microrganismos suspendeu-se um grama de amostra de húmus de cada tratamento, mantido sob refrigeração a 4° C, em 10 mL de água destilada estéril.

O material foi agitado com bastão de vidro por dois minutos e logo centrifugado a 1.200 rpm, durante cinco minutos. Após, 1 mL de cada amostra foi submetida à diluição seriada em 9 mL de água estéril, até diluições de 10^{-5} . Alíquotas de 100 µL das diluições foram espalhadas, com o auxílio de alça de Drigalski, na superfície de meio de cultivo BDA acrescido de pentabiótico (penicilina G benzatina, 1.200.000 U; penicilina G procaína, 600.000 U; penicilina G potássica cristalina, 600.000 U; sulfato de diidroestreptomicina, 500 mg; sulfato de estreptomicina, 500 mg) a 50 mg.mL⁻¹, e meio de cultivo 523 (KADO; HESKETT, 1970), respectivamente para a obtenção de colônias fúngicas e bacterianas. As placas de Petri preparadas com meio BDA foram incubadas por sete dias em câmara BOD a 25°C, e placas contendo meio 523 foram incubadas por três dias, em câmara BOD a 28°C no escuro.

Após a incubação, procedeu-se a contagem do número de colônias para fungos e bactérias. Os dados foram expressos como o número de unidades formadoras de colônias por grama de amostra (UFC.g⁻¹), conforme a fórmula de Dubey e Maheshwari (2002)

$$\text{UFC. g}^{-1} = \frac{\text{n}^{\circ} \text{ colônias} \times \text{fator de diluição}}{\text{volume de amostra tomado}}$$

Nessa etapa, utilizou-se delineamento inteiramente casualizado (DIC), com quatro tratamentos e seis repetições, sendo cada placa considerada uma unidade experimental.

1.2.3.4 Variáveis químicas, umidade e temperatura

Amostras dos resíduos utilizados (esterco, borra de café e cascas de amendoim) e dos tratamentos no início do experimento e ao final da etapa de produção de húmus foram enviadas ao Laboratório de Resíduos Orgânicos da

Universidade Federal de Pelotas para análises químicas de macronutrientes e umidade.

A condutividade elétrica (CE) e o pH das amostras foram determinados na EEC, utilizando condutivímetro Digimed[®] DM-32 e peagâmetro Marconi[®] MA-552, conforme metodologias adaptadas de Tedesco et al. (1995). As temperaturas dos tratamentos foram avaliadas em intervalos regulares, com uso de termômetros analógico de álcool introduzido nos tratamentos a 10 cm de profundidade.

1.2.3.5 Análise estatística

Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

1.3 Resultados e discussão

1.3.1 Biomassa e reprodução de minhocas

No segundo dia após a instalação do experimento percebeu-se elevação de temperatura nos tratamentos H3 e H4, atingindo cerca de 35°C e 40°C, respectivamente. Em H1 e H2 a temperatura nesse momento oscilava entre 22°C e 23°C. Ao ser adicionada BC ao EB e com a posterior pulverização de água para aumentar a umidade do alimento, ocorreram reações bioquímicas que elevaram a temperatura do alimento.

Com a elevação das temperaturas nas caixas observou-se fugas de minhocas, sendo contabilizados 124 indivíduos até os oito primeiros dias.

Para contornar o problema de aumento de temperatura nas caixas, foi adicionada água uma vez ao dia aos tratamentos (500 mL no tratamento H3 e 1.000 mL no tratamento H4), até as temperaturas nestes tratamentos estabilizarem em 30°C. O procedimento se repetiu por mais 21 dias, quando as temperaturas se estabilizaram em 30°C. Aos 30 dias adicionou-se 500 mL de água nas repetições do tratamento H2, em razão do ressecamento da superfície do alimento.

Mesmo com as diferenças de temperatura, a biomassa média individual das minhocas adultas não diferiu entre os tratamentos até os 32 dias de condução do experimento, demonstrando que os tratamentos estavam em uma mesma condição de palatabilidade às minhocas.

Após os 46 dias do início dias do experimento, os tratamentos começaram a diferir entre si e aos 60 dias, a biomassa das minhocas em H3 foi similar à verificada em H4, porém superior à dos tratamentos H1 e H2 (Tab. 1.1).

Tabela 1.1 – Biomassa média individual (g) de minhocas adultas *E. andrei*. Embrapa Clima Temperado – Estação Experimental Cascata, Pelotas, RS, 2012.

Tratamento	Inst. (g)	7 d (g)	18 d (g)	32 d (g)	46 d (g)	60 d (g)
H1	0,22 a	0,31 a	0,27 a	0,22 a	0,18 b	0,14 bc
H2	0,21 a	0,28 a	0,25 a	0,22 a	0,18 b	0,13 c
H3	0,26 a	0,28 a	0,31 a	0,27 a	0,23 ab	0,19 a
H4	0,25 a	0,26 a	0,29 a	0,27 a	0,25 a	0,18 ab
P-valor	0,1281	0,5005	0,1388	0,1223	0,0093	0,0013
Teste F	2,13 ^{ns}	0,815 ^{ns}	2,05 ^{ns}	2,18 ^{ns}	5,03 [*]	6,25 [*]
CV (%)	16,14	22,40	17,15	18,62	18,91	17,53

Médias seguidas de letras iguais nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$); Não significativo (ns) e significativo (*) pelo teste F;
H1 (EB 100 %); H2 (EB 75% + CA 25%); H3 (EB 75% + BC 25%); H4 (EB 50% + BC 25% + CA 25%); P-valor (p-valor associado à ANOVA); Teste F (valor do F calculado); CV (coeficiente de variação).

Embora a adição de resíduos estruturantes ao alimento promovam melhorias quanto à aeração e locomoção das minhocas, com reflexos em seu crescimento e reprodução (Domínguez et al., 2000), não se percebeu a contribuição da adição de CA sobre o aumento de biomassa média individual de minhocas adultas, nas proporções adotadas no experimento.

Steffen et al. (2010) verificaram que a adição de casca de arroz bruta também não melhorou a biomassa final de minhocas quando misturada ao EB em proporções de 25% e 50%. Da mesma forma, a mistura de resíduos não recicláveis de papel ao EB em percentuais superiores a 30% provocou redução em todos os parâmetros biológicos quando comparado ao EB sem mistura (GUPTA; GARG, 2009).

Segundo Adi e Noor (2008), a BC, quando utilizada na produção de húmus, é inicialmente decomposta por bactérias e fungos, promovendo sua estabilização. Mesmo com a adição de BC nos tratamentos H3 e H4, o esterco disponível foi suficiente para nutrir as minhocas durante os primeiros 32 dias. Liu e Price (2011) avaliaram diferentes maneiras de produzir húmus de minhoca a partir de BC, concluindo que a utilização de BC sem adição de algum outro resíduo rico em carbono pode provocar altos índices de mortalidade de minhocas por motivos como

alta condutividade elétrica, baixa oxigenação do meio e elevada liberação de amônia e ácidos orgânicos nos estágios iniciais de decomposição.

Rodrigues et al. (2012) avaliaram a densidade de minhocas em tratamentos contendo misturas de solo com BC e solo com EB em diferentes proporções, concluindo que o tratamento contendo 25% de BC apresentou a maior densidade populacional. Mesmo utilizando parâmetro de mensuração diferente ao empregado nesse trabalho, percebe-se que a adição de BC promoveu o aumento, tanto de biomassa quanto da densidade de minhocas.

Huber e Morselli (2011) também utilizaram a densidade populacional como parâmetro de medida, testando várias fontes de resíduos de origens animal e vegetal, em separado, dentre elas EB e BC, registrando duas vezes e meia maior população de minhocas em esterco bovino comparando com BC. A BC devidamente estabilizada e combinada com outras fontes de resíduos orgânicos, como esterco, é excelente alternativa para se produzir húmus de minhoca, como observadas nos tratamentos H3 e H4 deste estudo.

O efeito da BC na biomassa total final (absoluta e relativa) das minhocas adultas também foi sensível ao final do experimento, onde os tratamentos H3 e H4 foram superiores aos demais tratamentos, havendo diferença estatística entre os tratamentos contendo BC em relação àqueles sem adição de BC (Tab. 1.2). A restrição alimentar é um fator relacionado à diminuição da biomassa de minhocas e pode vir a provocar a morte ou fuga de indivíduos (Aquino et al., 1994), o que justifica a queda de biomassa nos tratamentos H1 e H2.

Tabela 1.2 – Biomassas total final absoluta (g) e relativa (%) da população de minhocas adultas *E. andrei*. Embrapa Clima Temperado – Estação Experimental Cascata, Pelotas, RS, 2012.

Tratamento	Biomassa total inicial absoluta (g)	Biomassa total final absoluta (g)	Biomassa total final relativa (%)
H1	480	106,10	29,47 b
H2	360	93,05	25,85 b
H3	480	341,68	94,91 a
H4	360	296,25	82,29 a
P-valor	-	-	0,00
Teste F	-	-	28,60
CV (%)	-	-	28,04

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$);

H1 (EB 100 %); H2 (EB 75% + CA 25%); H3 (EB 75% + BC 25%); H4 (EB 50% + BC 25% + CA 25%); P-valor (p-valor associado à ANOVA); Teste F (valor do F calculado); CV (coeficiente de variação).

De acordo com Mussato et al. (2011), a BC contém açúcares como manose, galactose e arabinose, além de celulose. Alguns destes açúcares estão prontamente disponíveis às minhocas, outros ainda necessitam passar por ações microbiológicas (fungos, enzimas, bactérias, actinobactérias) para que possam servir de alimento às minhocas. Esses compostos podem ter enriquecido o alimento proporcionando às minhocas melhores condições de desenvolvimento em biomassa.

Maiores valores de produção de casulos quanto aos números totais e médios foram registrados nos amostradores dos tratamentos H3 e H4 (Tab. 1.3). Quando comparados os tratamentos com aporte de CA e BC (H2, H3 e H4) ao tratamento somente com EB, percebe-se um aumento elevado no número médio de casulos, não havendo diferença estatística entre estes. Esse fato está relacionado à adição de resíduos com potencial estruturante, como CA, e diferentes fontes de resíduos orgânicos como alimento às minhocas, neste caso a BC.

Tabela 1.3 – Número total acumulado e número médio de casulos* produzidos por minhocas *E. andrei*. Embrapa Clima Temperado – Estação Experimental Cascata, Pelotas, RS, 2012.

Tratamento	Nº total de casulos	Nº médio de casulos
H1	163	27,13 b
H2	328	54,67 ab
H3	881	146,88 a
H4	703	117,17 a
P-valor	-	0,0093
Teste F	-	5,03
CV (%)	-	38,56

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$);

*Dados transformados para $\sqrt{x+1}$;

H1 (EB 100 %); H2 (EB 75% + CA 25%); H3 (EB 75% + BC 25%); H4 (EB 50% + BC 25% + CA 25%); P-valor (p-valor associado à ANOVA); Teste F (valor do F calculado); CV (coeficiente de variação).

A adição de BC ao esterco foi que mais favoreceu a produção de casulos, sendo o tratamento H3 registrando número médio de casulos superior ao tratamento H1, havendo diferença estatística entre eles. Minhocas da espécie *E. andrei* produzem em média um casulo a cada dois dias, eclodindo cerca de dois a três filhotes em 23 dias (DOMÍNGUEZ, 2004).

Huber e Morselli (2011) produziram húmus de minhoca a partir de EB e BC, porém sem misturá-los, alcançando maior produção de casulos em EB (195 casulos) em relação à BC (46 casulos). Schiavon et al. (2007) e Steffen et al. (2010) também

utilizaram material estruturante em adição ao EB, obtendo melhor produção de casulos em tratamentos misturados.

Schiavon et al. (2007) testaram EB misturado a cascas de arroz *in natura* (CAIN), com a produção de casulos mais significativa na mistura de EB com 25% de CAIN (166 casulos), seguido por EB (138 casulos) e EB + CAIN 50% (122 casulos). Steffen et al. (2010) também utilizaram EB combinados com casca de arroz em diferentes proporções, registrando maiores índices de casulos para EB + 25% de casca de arroz.

1.3.2 Rendimento de húmus

Todos os tratamentos apresentaram redução de massa ao longo do experimento (Fig. 1.5). O tratamento H4 apresentou elevação de massa aos sete dias em razão da adição de água, necessária para que houvesse redução da temperatura verificada neste resíduo contendo BC. Adi e Noor (2008) também produziram húmus a partir da combinação de EB com BC, porém realizaram uma estabilização prévia do material a ser oferecido como alimento às minhocas, constatando que a BC enriqueceu o húmus em seu estágio final.

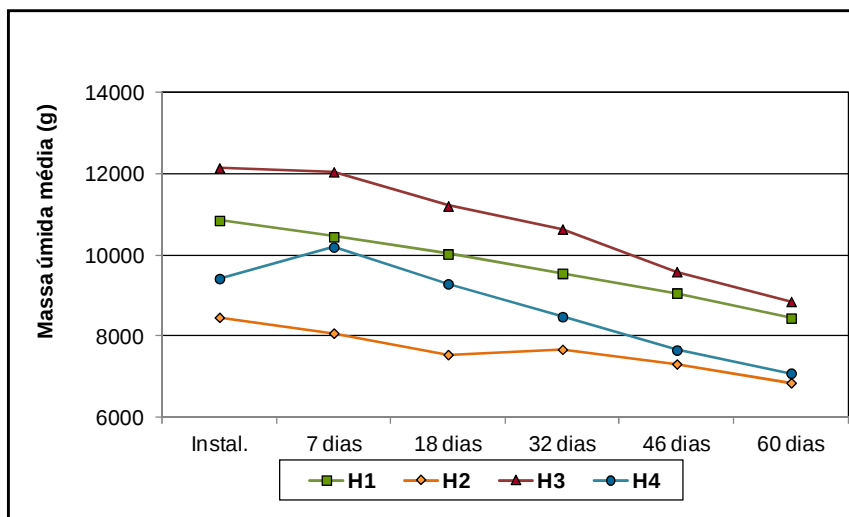


Figura 1.5 – Massa úmida média dos materiais ao longo do experimento. Embrapa Clima Temperado – Estação Experimental Cascata, Pelotas, RS, 2012.

H1 (EB 100 %); H2 (EB 75% + CA 25%); H3 (EB 75% + BC 25%); H4 (EB 50% + BC 25% + CA 25%).

Os tratamentos com CA (H2 e H4) ao final do processo apresentaram massa seca inferior aos tratamentos sem CA (H1 e H3), mantendo um comportamento coerente entre a avaliação inicial e final (Tab. 1.4). Quanto ao rendimento relativo, tratamentos contendo BC apresentaram índices inferiores aos tratamentos com

ausência deste resíduo, porém não ocorreu diferença estatística entre os tratamentos ao final do processo (Tab. 1.4).

Tabela 1.4 – Massa seca dos resíduos (MSR), massa seca do húmus de minhoca (MSHM) e rendimento relativo (RR) do processo. Embrapa Clima Temperado – Estação Experimental Cascata, Pelotas, RS, 2012.

Tratamento	MSR (g)	MSHM (g)	RR (%)
H1	4.143,66 a	3.058,73 a	74,09 a
H2	3.428,56 b	2.562,27 bc	74,87 a
H3	4.407,60 a	2.960,56 ab	67,71 a
H4	3.479,00 b	2.251,46 c	65,00 a
P-valor	0,00	0,0002	0,1348
Teste F	13,00	10,42	2,08
CV (%)	8,56	10,43	10,27

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si, pelo teste de Tukey ($p < 0,05$); H1 (EB 100 %); H2 (EB 75% + CA 25%); H3 (EB 75% + BC 25%); H4 (EB 50% + BC 25% + CA 25%); P-valor (p-valor associado à ANOVA); Teste F (valor do F calculado); CV (coeficiente de variação).

1.3.3 Unidades formadoras de colônias (UFC)

As maiores contagens bacterianas no início do experimento foram observadas nos tratamentos contendo BC (H4 e H3), havendo diferença estatística entre todos os tratamentos (Tab. 1.5). Adi e Noor (2008) afirmam que a BC adicionada a esterco é decomposta por bactérias e fungos. Como ocorreu uma grande oferta de borra comparada ao volume de bactérias presentes, além da falta de competidores de maior porte pelo alimento, é possível que este tenha sido um fator para a alta da população bacteriana.

Tabela 1.5 – Densidades populacionais médias de colônias de bactérias no início e final da produção de húmus de minhocas *E. andrei*. Embrapa Clima Temperado – Estação Experimental Cascata, Pelotas, RS, 2012.

Tratamento	Bactéria Inicial ($\times 10^7$ UFC.g ⁻¹)	Bactéria Final ($\times 10^7$ UFC.g ⁻¹)
H1	1,62 d B	2,52 c A
H2	13,83 c A	5,52 a B
H3	30,00 b A	3,70 b B
H4	56,00 a A	5,12 a B
P-valor	0,00	0,00
Teste F	385,78	50,91
CV (%)	11,56	11,19

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si, pelo teste de Tukey ($p < 0,05$); O valor de CV refere-se apenas aos dados das colunas; H1 (EB 100 %); H2 (EB 75% + CA 25%); H3 (EB 75% + BC 25%); H4 (EB 50% + BC 25% + CA 25%); P-valor (p-valor associado à ANOVA); Teste F (valor do F calculado); CV (coeficiente de variação).

Comparando os tratamentos H1 com H2 e H3 com H4, percebe-se que aqueles contendo CA apresentaram índices maiores que os tratamentos sem CA. O aporte de CA aos tratamentos H2 e H4 promoveu uma estrutura física diferenciada, conforme sugerem Domínguez et al. (2000) e Suthar (2008), possibilitando o aumento da população de bactérias nos resíduos.

Ao final do experimento, maiores taxas populacionais de bactérias foram assinaladas nos tratamentos H2 e H4, ambos com CA, não ocorrendo diferença estatística entre estes, porém se diferenciaram dos demais tratamentos (Tab. 1.5).

O tratamento H1 foi o único a registrar aumento da densidade populacional bacteriana, do princípio ao final do experimento. Lazcano et al. (2008) também registraram decréscimo nas taxas populacionais de microrganismos, incluindo bactérias, fungos, actinobactérias e protozoários, em húmus de minhoca proveniente de EB. A presença de minhocas pode reduzir a biomassa microbiana diretamente, alimentando-se de bactérias e fungos (SCHÖNHOLZER et al., 1999) ou indiretamente, acelerando o esgotamento dos recursos disponíveis para os microrganismos (DOMÍNGUEZ, 2010).

A maior densidade fúngica no princípio do experimento foi assinalada ao tratamento H2, havendo diferença estatística para os demais (Tab. 1.6). Entre os tratamentos H1, H3 e H4 não houve diferença estatística. Quanto à presença de CA, os experimentos H2 e H4 registraram densidades populacionais maiores quando comparadas aos tratamentos sem CA (H1 e H3).

Tabela 1.6 – Densidades populacionais médias de fungos no início e final da produção de húmus de minhocas *E. andrei*. Embrapa Clima Temperado – Estação Experimental Cascata, Pelotas, RS, 2012.

Tratamento	Fungo Inicial (x 10 ³ UFC.g ⁻¹)	Fungo Final (x 10 ³ UFC.g ⁻¹)
H1	12,17 b A	3,70 b B
H2	75,00 a A	28,20 b B
H3	6,67 b B	26,70 b A
H4	21,50 b B	213,30 a A
P-valor	0,00	0,00
Teste F	31,10	209,86
CV (%)	47,80	24,27

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si, pelo teste de Tukey (p<0,05); O valor de CV refere-se apenas aos dados das colunas; H1 (EB 100 %); H2 (EB 75% + CA 25%); H3 (EB 75% + BC 25%); H4 (EB 50% + BC 25% + CA 25%); P-valor (p-valor associado à ANOVA); Teste F (valor do F calculado); CV (coeficiente de variação).

Assim como ocorreu com as bactérias, o material estruturante pode ter beneficiado o crescimento populacional dos fungos no início do processo (Tab. 1.6). Ainda nos estágios iniciais, tratamentos em presença de BC apresentaram populações fúngicas menores, comparadas aos tratamentos sem BC (H1 x H3 e H2 x H4). É provável que compostos presentes na BC tenham inibido o crescimento dos fungos e, quando esses compostos foram estabilizados ou decompostos pelas bactérias, promoveram o crescimento fúngico. Percebe-se isso no aumento da densidade fúngica no estágio final da produção do húmus, com crescimento de H3 em relação a H1, e H4 comparado a H2, ou H3 e H4 do estágio final comparado ao estágio inicial.

A maior densidade de colônias fúngicas no estágio final foi do tratamento H4, sendo este superior estatisticamente aos demais. Houve diferença estatística entre os tratamentos, do início ao fim do processo.

Os resultados encontrados acerca da densidade populacional de bactérias e fungos seguiram a mesma tendência aos resultados de Aira et al. (2006): ao final do processo a população bacteriana diminuiu enquanto que a densidade de fungos aumentou. Domínguez (2010) afirma que esterco constitui grandes densidades microbianas, sendo as bactérias que constituem a maior fração, em razão da presença de umidade e materiais de fácil decomposição. Assim, segundo o mesmo autor, se espera que a atividade de minhocas afete a taxa de crescimento em proporção maior do que a taxa de crescimento do fungo.

1.3.4 Variáveis químicas, umidade e temperatura

Os teores de C e N dos alimentos ofertados às minhocas apresentaram redução em relação ao húmus produzido ao final dos 60 dias (Tab. 1.7). A redução dos níveis de C se dá pela perda de CO₂ pela respiração e oxidação da matéria orgânica promovida por microrganismos (LIMA et al., 2009) enquanto a redução de N deve-se ao processo de volatilização da amônia (MOREIRA; SIQUEIRA, 2002). Outro fator que leva a redução de níveis de carbono em resíduos orgânicos em processo de produção de húmus deve-se a competição pelo recurso entre minhocas e microrganismos (TIUNOV; SCHEU, 2004). Os teores elevados de carbono presentes na BC e CA (Tab. 1.7) contribuíram para a elevação do carbono nos tratamentos H2, H3 e H4, comparando com H1, com apenas EB em sua composição.

Tabela 1.7 – Variáveis químicas e umidade dos resíduos orgânicos utilizados e dos tratamentos no início (I) e no final (F) do experimento. Embrapa Clima Temperado – Estação Experimental Cascata, Pelotas, RS, 2012.

Tratamento		C (%)	N (%)	C/N	Ca (%)	CE (mS cm ⁻¹)	pH	Umidade (%)
BC		34,29	4,19	8:1	0,38	0,675	5,60	7,89
CA		30,30	2,09	14:1	0,02	–	7,05	12,78
H1	I	24,03	3,99	6:1	1,73	2,848	7,6	73,08
	F	16,00	2,20	7:1	1,88	4,560	6,6	65,14
H2	I	27,74	3,71	8:1	1,20	2,961	7,6	69,02
	F	17,33	2,11	8:1	1,62	4,893	6,3	62,02
H3	I	37,33	3,37	11:1	0,94	1,493	7,8	77,99
	F	19,67	2,22	8:1	1,48	2,970	7,0	64,72
H4	I	41,65	3,00	14:1	0,81	1,184	7,8	58,52
	F	22,33	2,55	8:1	1,30	3,057	6,5	66,73

BC (borra de café); CA (casca de amendoim); H1 (EB 100 %); H2 (EB 75% + CA 25%); H3 (EB 75% + BC 25%); H4 (EB 50% + BC 25% + CA 25%); C (carbono); N (nitrogênio); C/N (relação carbono/nitrogênio); Ca (cálcio); CE (condutividade elétrica); pH (potencial hidrogeniônico).

Quanto à relação C/N, do início ao final do processo, não ocorreu mudanças no tratamento H2, e no tratamento H1 a diferença foi mínima, mas houve diminuição desta relação nos tratamentos H3 e H4 (Tab. 1.7). Todos os tratamentos atingiram relação C/N entre sete e oito para um, ao final do processo, próximos aos valores de Amorim et al. (2005), que variaram de 9 a 10 para um, e de Suszek et al. (2007), que utilizaram EB combinados com restos vegetais, alcançando relações C/N que variaram entre 7 e 11 para um.

Huber e Morselli (2011), ao empregarem EB em seu experimento, apontaram 1,16% para N, elevando a relação C/N para 23:1, enquanto que valores de C se equivaleram ao deste estudo. Loureiro et al. (2007) utilizaram EB e resíduos domésticos e observaram redução de teores de C ao final do processo.

Os teores de Ca apresentaram elevação, do início do processo ao produto final (Tab. 1.7). Os coprólitos, segundo Edwards e Bohlen (1996), contêm humato de cálcio, liberado pelas glândulas calcíferas.

A condutividade elétrica – CE (Tab. 1.7) apresentou elevação em todos os tratamentos desde a instalação do experimento. Os tratamentos com BC (H3 e H4) apresentaram valores de CE inferiores aos tratamentos H1 e H2, desde o princípio da produção de húmus, em razão dos baixos valores registrados na BC.

González et al. (2004) consideram valores de pH entre 6,5 e 8,4 como ideais para o desenvolvimento das minhocas, sendo os índices compreendidos entre 6,9 e

7,9 como faixa ótima. Os valores de pH dos tratamentos no início do experimento estavam de acordo com as condições ideais às minhocas, variando de 7,6 a 7,8 (Tab. 1.7). Conforme Tortora et al. (2005), grande parte das bactérias tem seu desenvolvimento ótimo em meio alcalino, tendendo a neutralidade (6,8 a 7,5), enquanto que fungos atingem seu ótimo em meios com pH que variam do neutro ao levemente ácido, ficando ao redor de 6,0. Rodrigues et al. (2006) enfatizam que na faixa de pH compreendida entre 5,5 e 8,5 as enzimas estão em plena atividade, além do desenvolvimento pleno de microrganismos responsáveis pela degradação dos resíduos orgânicos.

Resgatando os índices de densidades populacionais bacterianas (Tab. 1.5), o pH em todos os tratamentos foram favoráveis às bactérias no início do experimento, pois encontravam-se levemente alcalinos. No estágio final, apenas o tratamento H3 encontrava-se favorável (7,0), enquanto os tratamentos H1, H2 e H4 oscilavam para pH tendendo à acidez.

O pH no princípio do experimento, em todos os tratamentos, não estava favorável ao desenvolvimento dos fungos (Tab. 1.6), estando entre 7,6 a 7,8. Porém ao final do processo, em todos os tratamentos as condições foram favoráveis ao crescimento fúngico, em especial aos tratamentos H3 e H4, que aumentaram significativamente suas colônias em relação ao processo inicial.

Os tratamentos H2 e H4 no início do experimento apresentaram teores de umidade inferiores aos verificados em H1 e H3 (Tab. 1.7), possivelmente em razão da adição de CA e BC, mesmo com adição de cerca de 1.000 mL de água por tratamento, na instalação do experimento. O teor de umidade no tratamento H4, no início do experimento registrou 58,52%, valor bem abaixo dos sugeridos por Edwards (1995), que variam entre 80 e 90%, ou por González et al. (2004), que têm como parâmetros valores de umidade entre 75 e 88% para que as minhocas se desenvolvam sem riscos de morte ou fuga.

Os tratamentos apresentaram oscilações diferentes de temperaturas no estágio inicial de produção de húmus, em razão do aquecimento dos alimentos nos tratamentos com BC (Fig. 1.6). Com adição de água, os tratamentos contendo BC estabilizaram abaixo de 32 °C a partir do 14º dia, e se mantiveram próximas aos demais tratamentos a partir do 43º dia, mantendo-se no mesmo padrão até o final do processo.

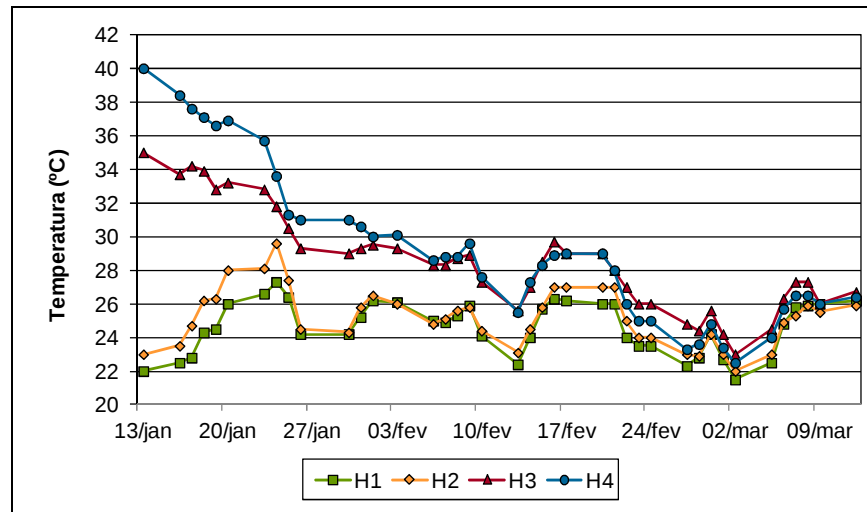


Figura 1.6 – Temperatura dos tratamentos ao longo do experimento. Embrapa Clima Temperado – Estação Experimental Cascata, Pelotas, RS, 2012.

H1 (EB 100 %); H2 (EB 75% + CA 25%); H3 (EB 75% + BC 25%); H4 (EB 50% + BC 25% + CA 25%).

Edwards (1995) alerta sobre sistemas com valores superiores a 35°C podem ocasionar em fuga ou morte de minhocas. Gonzáles et al. (2004) apontam temperaturas na faixa entre 15 e 27°C como ótima para que as minhocas apresentem bom a excelente desenvolvimento, e faixas intermediárias entre 7 e 14°C e 28 e 33°C, também favoráveis aos desenvolvimento das minhocas.

1.4 Conclusões

Nas condições em que o experimento foi conduzido, pode-se concluir que:

1. O uso de casca de amendoim na proporção adotada (25%) não afetou as biomassas individual e total das minhocas;
2. Tratamento contendo cascas de amendoim acrescida ao esterco bovino apresentaram elevação em relação a produção de casulos, porém quando acrescida a borra de café, as cascas de amendoim não afetaram a produção de casulos;
3. A borra de café proporcionou maior biomassa total de minhocas e indica uma tendência de aumento na produção de casulos;
4. Maiores taxas populacionais de bactérias foram percebidas nos tratamentos contendo cascas de amendoim, enquanto que maiores índices de colônias fúngicas foram contabilizados nos tratamentos contendo borra de café e cascas de amendoim.

Avaliação *in vitro* do potencial do húmus líquido para supressão de *Sclerotium rolfsii* Sacc.

2.1 Introdução

O húmus de minhoca, por ser considerado um adubo vivo, não se restringe apenas às suas propriedades físicas, utilizadas no condicionamento de solos ou de substratos para produção de mudas, ou químicas, pelo fornecimento de macro e micronutrientes às plantas. Os fatores bióticos envolvidos em sua composição também merecem destaque. Embora o húmus seja um importante meio de disseminação de microrganismos (KALE et al., 1992), suas características microbiológicas ainda são desconhecidas na plenitude (DOMÍNGUEZ; EDWARDS, 2010).

Afora a comprovação dos efeitos fertilizantes sobre solos, estudos científicos vêm sendo realizados desde a década de 1980 acerca do potencial supressivo dos húmus de minhocas sobre doenças ou organismos deletérios em plantas (HOITINK; FAHY, 1986; WELTZIEN 1989; HOITINK et al., 1991; LITTERICK et al., 2004). Esse efeito supressivo pode se dar a partir do uso de húmus sólido sobre afídeos (ARANCON et al., 2005; ARANCON et al., 2007), coleópteros (YARDIM et al., 2006) e nematóides (SWATHI et al., 1998; SAIKIA et al., 2007; MASHEVA et al., 2009), bem como sob forma líquida sobre afídeos, cochonilhas ou ácaros (EDWARDS et al., 2009) e nematóide *Meloidogyne hapla* (EDWARDS et al., 2010a).

Outros estudos confirmam o efeito do húmus de minhoca obtido a partir de diferentes fontes de resíduos orgânicos na supressão de fungos fitopatógenos, tanto nas estruturas foliares quanto em sistemas radiculares das plantas. Rivera et al. (2004) produziram húmus a partir de esterco bovino e testaram em *Rizoctonia solani*, alcançando resultados significativos, o mesmo ocorrendo com Chaoui et al. (2002), que produziram húmus com resíduos alimentares e testaram sobre *Pythium ultimum*, conseguindo inibir o crescimento do fitopatógeno.

Stone et al. (2004) citaram alguns mecanismos de supressão de fitopatógenos em plantas pela utilização de húmus sólido ou líquido, como destruição dos propágulos do patógeno, prevenção da germinação dos propágulos, antibiose,

hiperparasitismo, competição por nutrientes ou competição por locais de infecção. Não obstante, é difícil determinar os mecanismos exatos de supressão, uma vez que o húmus de minhoca representa uma comunidade microbiana complexa e não apenas uma espécie de organismo (BOULTER et al., 2002).

Essa complexidade pode resultar em respostas distintas conforme a origem do resíduo utilizado (SZCZECH; SMOLINSKA, 2001), o tipo de substrato ao qual o húmus é adicionado (SZCZECH, 1999), os diferentes patossistemas atuantes (SZCZECH et al., 1993; SCHEUERELL et al., 2005), além da temperatura na qual se desenvolve o processo de transformação dos resíduos em húmus (RIVERA et al., 2004).

O húmus de minhoca é produzido em um patamar mesofílico, enquanto a estabilização dos resíduos orgânicos na compostagem conhecida tradicionalmente ocorre em nível termofílico (EDWARDS, 2010b). Nesse processo de elevadas temperaturas ocorre a eliminação de um grande número de microrganismos, patogênicos ou não. Por sua vez, na produção de húmus pelas minhocas, as temperaturas moderadas do processo permitem uma maior biodiversidade no produto final e, conseqüentemente, a possibilidade de manutenção de organismos antagonistas aos fitopatógenos, promovendo ações supressivas aos mesmos.

Vários antagonistas eficazes no controle de doenças de plantas têm sido isolados em húmus de minhoca, incluindo *Trichoderma hamatum*, *Flavobacterium balustinum*, *Pseudomonas aeruginosa*, *P. fluorecens*, *P. putida*, *P. stutzeri*, *Xanthomonas maltophilia*, *Janthinobacterium lividum*, *Enterobacter cloacae*, *E. agglomerans*, *Bacillus cereus*, *B. mycoides*, e *B. subtilis* (HOITINK; FAHY, 1986; DOWLING et al, 1996; O'SULLIVAN; O'GARA, 1992; SHANAHAN et al, 1992), sendo que vários destes podem induzir resistência sistêmica da planta à doença (HAN et al, 2000; KRAUSE et al, 2003).

Nos últimos anos, o húmus líquido vem sendo empregado na agricultura para o controle e supressão de fitopatógenos (SCHEUERELL; MAHAFFEE, 2002; SCHEUERELL; MAHAFFEE, 2004), com resultados em viticultura, horticultura e viveiros em larga escala, variando as proporções, frequência e modos de aplicação, de acordo com o sistema de cultivo e intensidade de doenças (SALTER; EDWARDS, 2010).

O húmus líquido pode ser produzido em grande escala em sistemas mecanizados, por períodos de tempo curtos ou longos, complementados com adição

de ar, nutrientes ou compostos biológicos, com potencial capacidade de aumentar sua atividade biológica (SCHEUERELL; MAHAFFEE, 2004; INGHAM; MILLNER, 2005; NAIDU et al., 2010). Contudo, processos simplificados também podem ser realizados em escala menor, com baixo investimento e grande resultado, por agricultores familiares que produzam húmus de minhocas em suas propriedades.

A introdução de ar no húmus líquido atende a vários propósitos, como estimular a proliferação e a sobrevivência de microrganismos aeróbicos presentes na solução, diminuir o cultivo e o desenvolvimento de microrganismos anaeróbicos que possam produzir metabólitos desfavoráveis ao crescimento de plantas (SALTER; EDWARDS, 2010), atuando também como método de agitação e dissolução da fase sólida para a liberação de nutrientes na solução (EDWARDS et al., 2010c).

A utilização de húmus, tanto em sua forma sólida quanto líquida, tem demonstrado grande potencial em aumentar a atividade microbiológica do solo pela adição de bactérias, fungos, actinomicetos, protozoários e os subprodutos de seus metabolismos, além de ácidos húmicos, fúlvicos e humatos (SALTER; EDWARDS, 2010). Nutrientes solúveis presentes no húmus líquido nutrem as plantas diretamente, bem como potencializam a dinâmica populacional de microrganismos presentes no solo, diferenciando-se do húmus em sua forma sólida.

Dentro desse contexto de potencialidades do uso do húmus líquido, este produto pode ser importante instrumento como meio de supressão ao fungo *Sclerotium rolfsi*. Este fitopatógeno possui ampla distribuição geográfica, habitando regiões de clima tropical e subtropical, favorecido pelas condições de temperatura e umidade ideais para seu crescimento, desenvolvimento e sobrevivência (PUNJA; RAHE, 1992), afetando mais de 500 espécies de plantas, entre mono e dicotiledôneas, cultivos de interesse econômico e até mesmo plantas espontâneas (PUNJA; RAHE, 1992; FERREIRA; BOLEY, 2006).

A doença pode se manifestar como podridão do colo e raízes ou tombamento de mudas, murcha e posterior morte da planta (MICHEREFF et al., 2005). Uma vez presente no solo, o fungo tem capacidade de sobrevivência em condições extremas, como secas e altas temperaturas, por meio da produção de escleródios, suas estruturas de resistência (PUNJA, 1993).

O estudo teve como objetivo avaliar o potencial do húmus líquido aerado produzido a partir de diferentes misturas de resíduos orgânicos na supressão a *S.*

rolfsii com destaque para a verificação do potencial antagônico de microrganismos presentes.

2.2 Material e métodos

O experimento foi conduzido na Estação Experimental Cascata (EEC), Embrapa Clima Temperado, em Pelotas-RS, entre agosto e dezembro de 2012. A EEC localiza-se a 31°37' S, 052°31' W e a aproximadamente 180 m de altitude.

2.2.1 Processo de produção do húmus líquidos aerados⁴

Foram preparados húmus líquidos a partir dos tratamentos produzidos na primeira etapa do experimento: H1 – EB 100%; H2 – EB 75% + CA 25%; H3 – EB 75% + BC 25%; H4 – EB 50% + BC 25% + CA 25%⁵. Seguindo a mesma lógica nominal do húmus de minhoca na fase sólida, os tratamentos de húmus líquido foram definidos como HL1, HL2, HL3 e HL4. Para a produção do húmus líquido foram utilizados recipientes plásticos com capacidade de 30 L e as amostras diluídas a 20% (v/v), de acordo com a recomendação de Edwards et al. (2010c), em água oriunda da EEC. No intuito de recuperar o material sólido ao final do processo, dispensando coar os materiais líquidos, o húmus sólido foi colocado em sachês de 30 cm x 40 cm (Fig. 2.1), confeccionados em tecido "voile".

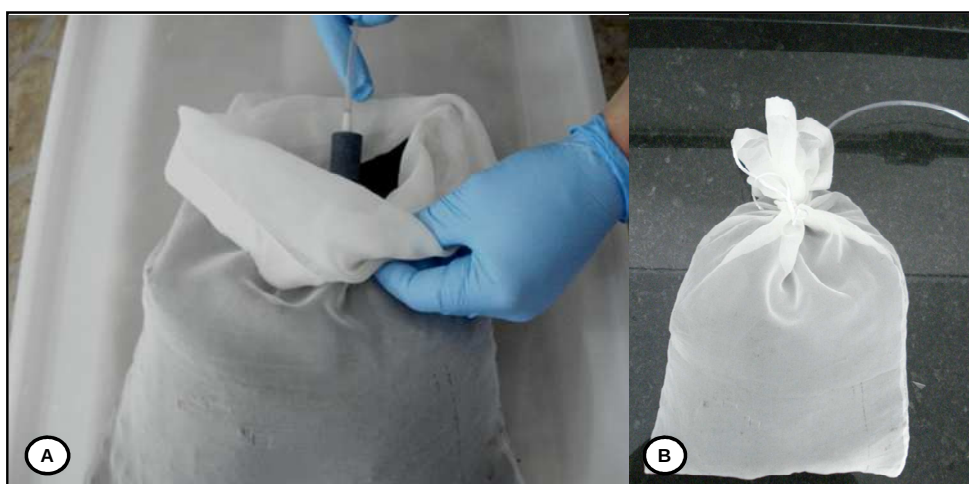


Figura 2.1 – Produção de húmus líquido aerado: (A) detalhe da colocação do bico aerador no interior de sachê com húmus sólido e (B) aspecto do sachê preparado para imersão no recipiente com água. Embrapa Clima Temperado – Estação Experimental Cascata, Pelotas, RS, 2012.

⁴ Húmus líquido aerado e húmus líquido se equivalem neste capítulo.

⁵ EB (esterco bovino); CA (casca de amendoim); BC (borra de café).

A aeração da solução (Fig. 2.2) foi realizada com um compressor de ar marca Resun, modelo ACO-003, com capacidade de injetar 65 L de ar por minuto. No compressor foi adaptado um derivador de ar que distribuiu a vazão para quatro mangueiras, uma para cada amostra (Fig. 2.2-B). Na extremidade das mangueiras foram acoplados registros através dos quais foi uniformizada a vazão de ar em aproximadamente 16,3 L por minuto para cada recipiente.

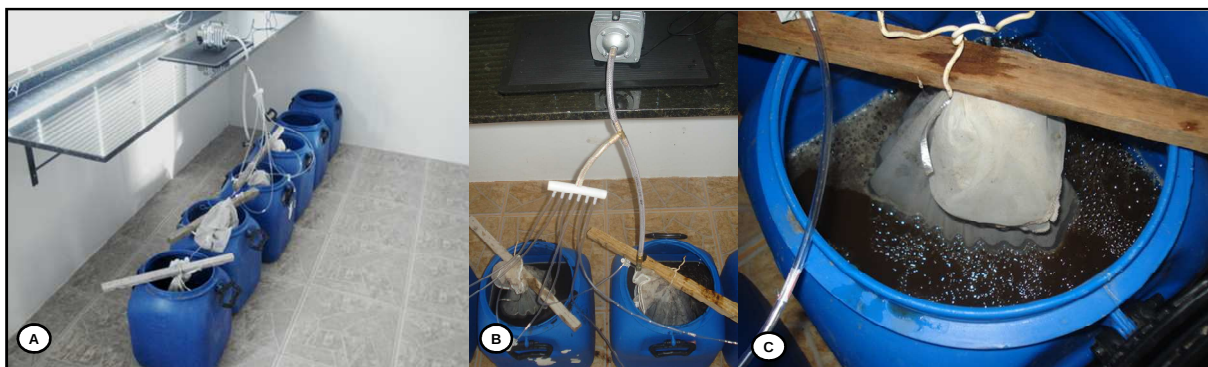


Figura 2.2 – Produção de húmus líquido aerado: (A) bateria de produção, (B) compressor de ar com derivação para os recipientes plásticos e (C) detalhe da imersão do sachê e aeração da solução. Embrapa Clima Temperado – Estação Experimental Cascata, Pelotas, RS, 2012.

A aeração dos húmus líquidos foi realizada de forma ininterrupta por 24 horas, à sombra e sob temperatura ambiente. Após esse período foi determinado o pH e a condutividade elétrica dos diferentes tratamentos e amostras recolhidas em vidros âmbar esterilizados para posterior caracterização microbiológica e realização dos bioensaios. Os resultados foram comparados com análises de condutividade elétrica e pH das amostras. A condutividade elétrica e o pH das amostras foram determinados utilizando condutivímetro Digimed® DM-32 e peagâmetro Marconi® MA-552, conforme metodologias adaptadas de Tedesco et al. (1995).

2.2.2 Origem e manutenção dos isolados de *S. rolfsii*

Para este trabalho procedeu-se ao isolamento de *S. rolfsii* de tomateiros infectados oriundos de cultivos da EEC. Escleródios foram submetidos à desinfecção superficial por imersão em álcool 70% (v/v) durante um minuto, e em hipoclorito de sódio a 2% (v/v) por três minutos, com posterior lavagem em água destilada esterilizada, após secados em toalhas de papel. Estes foram coletados e incorporados à coleção de Microrganismos de Interesse ao Controle Biológico,

mantida na Biofábrica da EEC, Embrapa Clima Temperado. Ao isolado foi atribuído código de identificação referente ao número de acesso Protocolo 57 na citada coleção. A manutenção se deu em refrigerador, sob temperatura de 4°C.

2.2.3 Avaliação do efeito supressor de húmus líquido aerado sobre *S. rolfii*

2.2.3.1 Quantificação da microbiota viável presente nos húmus líquidos

Amostras dos diferentes húmus líquidos aerados foram centrifugadas a 1.200 rpm, durante cinco minutos. Após, 1 mL de cada amostra foi submetida à diluição seriada em 9 mL de água estéril, até diluições de 10^{-5} . Alíquotas de 100 μ L das diluições foram espalhadas, com o auxílio de alça de Drigalski, na superfície de meio de cultivo BDA acrescido de 50 mg de pentabiótico (penicilina G benzatina, 1.200.000 U; penicilina G procaína, 600.000 U; penicilina G potássica cristalina, 600.000 U; sulfato de diidroestreptomicina, 500 mg; sulfato de estreptomicina, 500 mg) e meio de cultivo 523 (KADO; HESKETT, 1970), para a obtenção de colônias fúngicas e bacterianas, respectivamente. As placas de Petri preparadas com meio BDA foram incubadas por sete dias em câmara BOD a 25°C, e placas contendo meio 523 foram incubadas por três dias, em câmara BOD a 28°C no escuro.

Após o período de incubação, procedeu-se a contagem do número de colônias de fungos e bactérias dos quatro tratamentos. Os dados foram expressos como o número de unidades formadoras de colônias por mililitro de amostra (UFC.mL⁻¹), conforme a fórmula de Dubey e Maheshwari (2002)

$$\text{UFC.mL}^{-1} = \frac{\text{n}^{\circ} \text{ colônias} \times \text{fator de diluição}}{\text{volume de amostra tomado}}$$

O experimento foi conduzido conforme delineamento inteiramente casualizado (DIC), com quatro tratamentos e seis repetições, sendo cada placa considerada uma unidade experimental.

2.2.3.2 Avaliação do efeito supressivo dos húmus líquidos sobre o inóculo do patógeno

A efetividade dos diferentes tratamentos sobre o crescimento micelial de *S. rolfii* foi avaliada conforme o delineamento inteiramente casualizado (DIC), sendo quatro tratamentos + testemunha, duas condições de estado do húmus líquido

(filtrado e não filtrado), duas fontes de inóculo (micélios e escleródios) e dois meios seletivos de cultivo (BDA e 523), com seis repetições.

Para a obtenção de inóculos de *S. rolfsii*, escleródios mantidos sob refrigeração na coleção da Biofábrica foram submetidos à desinfecção superficial por imersão em álcool 70% (v/v), durante um minuto, e em hipoclorito de sódio a 2% (v/v) por três minutos, com posterior lavagem em água destilada esterilizada e secagem em toalhas de papel. Em placas de Petri contendo meio de cultivo BDA foram dispostos, ao centro, um escleródio por placa, e as mesmas incubadas em BOD, a 25°C e fotoperíodo de 12 horas, pelo período de sete dias (Fig. 2.3). Para a formação de novos escleródios, utilizou-se o mesmo procedimento, porém o prazo estendeu-se por 20 dias, até que as estruturas apresentassem aparência levemente marrom.

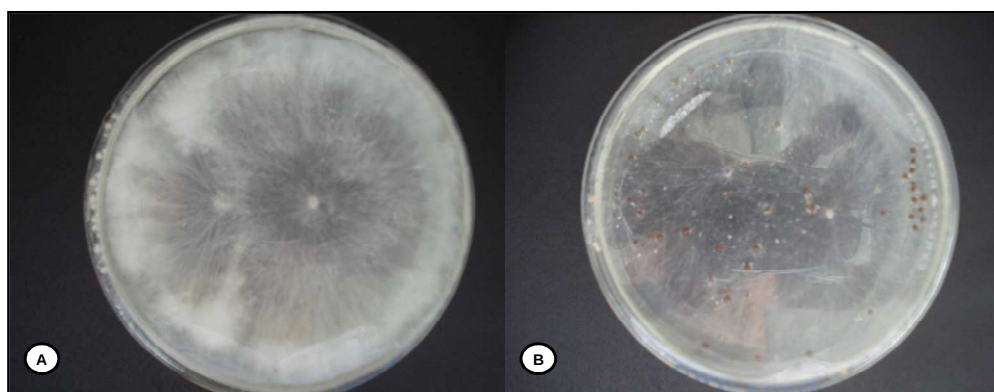


Figura 2.3 – (A) Produção micelial *in vitro* de *S. rolfsii* em meio de cultivo BDA após sete dias de incubação a 25°C e fotoperíodo diário de 12 horas; (B) produção de escleródios *in vitro* em meio de cultivo BDA após 20 dias de incubação a 25°C e fotoperíodo diário de 12 horas. Embrapa Clima Temperado – Estação Experimental Cascata, Pelotas, RS, 2012.

Amostras centrifugadas dos tratamentos HL1, HL2, HL3 e HL4 foram submetidas à filtração em membrana Millipore de 0,22 µm, para tentar isolar o fator de antagonismo biológico como modo de ação na supressão do *S. rolfsii*.

Alíquotas de cada um dos tratamentos foram incorporadas a 500 ppm nos meios seletivos de cultivo fúngico e bacteriano, ambos fundentes. No centro de cada placa foi implantado o inóculo de *S. rolfsii*, separando-se em grupos com disco de micélio e com escleródio. Foram utilizadas quatro testemunhas, apenas com água utilizada nos tratamentos (filtrada e não filtrada) e duas fontes de inóculo (micélio e escleródio). As placas foram incubadas em BOD, a 25°C, com fotoperíodo diário de 12 horas. A avaliação foi efetuada a intervalos regulares de 24 horas, procedendo à

medição do crescimento micelial ortogonal de *S. rolfsii*, por meio de régua milimetrada.

As leituras foram iniciadas 24 horas após a instalação do experimento para crescimento micelial a partir de discos de micélio de *S. rolfsii* e 48 horas para crescimento micelial a partir de escleródios. A avaliação foi finalizada, respectivamente, aos três e quatro dias, quando os crescimentos miceliais nas testemunhas atingiram o limite da placa, em razão dos estágios de crescimento diferenciado entre os dois inóculos. As medições foram realizadas com o auxílio de régua milimetrada, medindo a distância entre as extremidades do disco de micélio e do escleródio e a parte mais externa do crescimento micelial.

Aos dez dias da instalação do experimento, escleródios produzidos sob as condições de húmus líquidos filtrados e não filtrados e a partir dos dois inóculos foram contabilizados com o objetivo de avaliar os efeitos de fungos e bactérias sobre a produção de *S. rolfsii*.

2.2.4 Microrganismos antagonistas a *S. rolfsii* presentes em húmus líquidos aerados

2.2.4.1 Isolamento de microrganismos

Os microrganismos oriundos do plaqueamento dos diferentes húmus líquidos foram isolados empregando-se procedimentos distintos para fungos e bactérias.

Amostras de cada colônia bacteriana foram retiradas pelo toque de alça de platina esterilizada nas colônias e transferidas de forma individual para placas de Petri contendo meio de cultivo 523. Procedeu-se semeio na placa de isolamento pelo método de estrias. As placas foram invertidas e incubadas em BOD, a 28°C no escuro.

Após dois dias, as colônias visualmente distintas entre si quanto à forma, tamanho, cor, brilho, elevação, bordos e opacidade e individualizadas foram submetidas à purificação pelo semeio sucessivo em riscas para confirmação da pureza. As colônias isoladas foram interpretadas como originárias de uma única célula bacteriana e, portanto, mais homogêneas quanto a características genotípicas e fenotípicas da população. Aos dois dias de incubação, as cepas obtidas foram submetidas ao processo de pareamento.

Discos de micélio fúngico de colônias visualmente distintas entre si quanto à forma, esporulação e cor, obtidos por meio de um calador estéril (5 mm de diâmetro)

foram dispostos em placas de Petri contendo BDA com pentabiótico. As placas foram mantidas por sete dias em BOD, a 25°C com fotoperíodo diário de 12 horas e, posteriormente, procedeu-se à repicagem dos fungos para tubos com BDA inclinado e armazenamento a 4°C até o momento de utilização.

2.2.4.2 Avaliação do antagonismo *in vitro*

Para avaliar o antagonismo dos isolados bacterianos e fúngicos a *S. rolfsii* utilizou-se a técnica de cultivo pareado em placas de Petri com meio BDA. Inóculo de *S. rolfsii* foi obtido utilizando o procedimento descrito no item 2.2.3.2.

Quando avaliados os efeitos antagonistas dos isolados fúngicos, disco de micélio de *S. rolfsii* (5 mm de diâmetro) foi disposto em meio de cultivo BDA, contido em placas de Petri de 9 cm de diâmetro, em posição diametralmente oposta a disco de micélio (5 mm de diâmetro) do isolado fúngico potencialmente antagonista (Fig. 2.4). A colocação de ambos os discos de micélio se deu a 20 mm da borda periférica da placa.

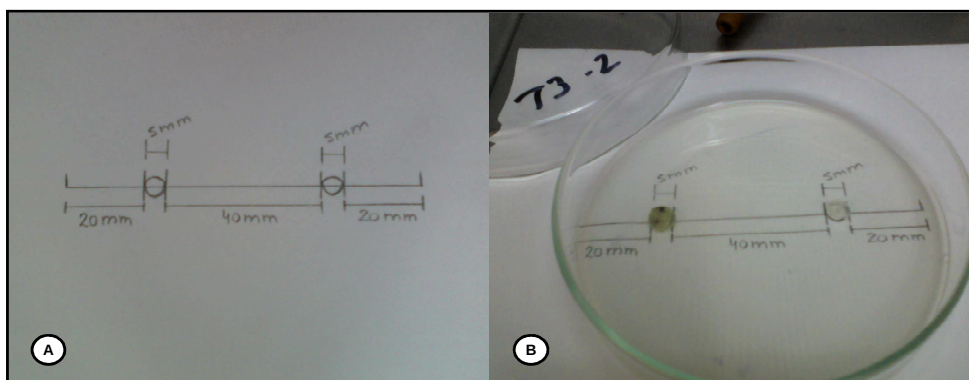


Figura 2.4 – Pareamento de isolados fúngicos de húmus líquido aerado com *S. rolfsii* para avaliação de antagonismo: (A) gabarito de posicionamento nas placas de Petri e (B) uso do gabarito na disposição dos discos miceliais. Embrapa Clima Temperado – Estação Experimental Cascata, Pelotas, RS, 2012.

Quanto à avaliação do antagonismo das cepas bacterianas ao *S. rolfsii*, em uma das extremidades da placa de Petri em meio de cultivo BDA efetuou-se semeadura destas pelo método de risca em três estrias paralelas na placa, obtidas de colônias previamente purificadas (item 2.2.4.1), efetuadas com o auxílio de alça de platina (Fig. 2.5). Na extremidade oposta diametralmente foi disposto disco de micélio de *S. rolfsii* (5 mm de diâmetro). A colocação de ambos os discos de micélio se deu a 20 mm da borda periférica da placa.

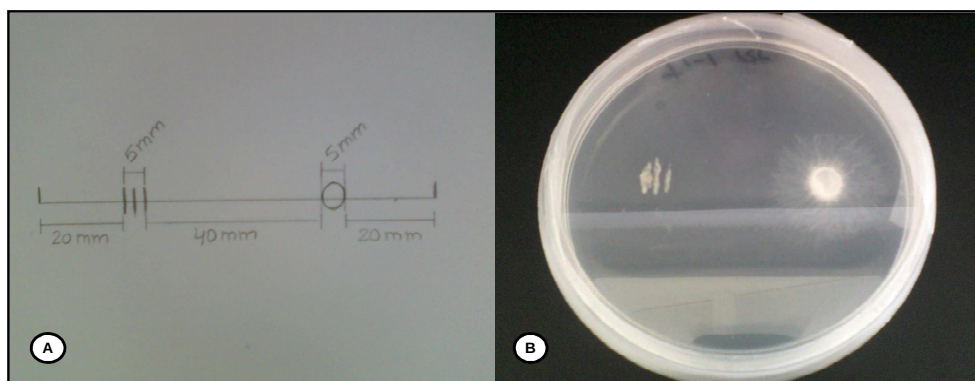


Figura 2.5 – Pareamento de cepas bacterianas com *S. rolfsii* para avaliação do antagonismo: (A) gabarito de posicionamento nas placas de Petri e (B) semeio da cepa com potencial antagônico (esquerda) a *S. rolfsii* (direita). Embrapa Clima Temperado – Estação Experimental Cascata, Pelotas, RS, 2012.

As testemunhas foram constituídas pela deposição de disco com micélio de *S. rolfsii* (5 mm de diâmetro) com disco de BDA (5 mm de diâmetro), representando as placas com presença de colônias fúngicas, e estrias sem os microrganismos potencialmente antagônicos, posicionados a 20 mm da borda periférica da placa, representando as colônias bacterianas. Todas as placas foram incubadas em BOD, a 25°C, com fotoperíodo diário de 12 horas.

A observação do efeito antagônico no crescimento micelial de *S. rolfsii* foi obtido pela medição da distância entre as bordas do crescimento micelial do agente patogênico e do antagonista em potencial, obtidas com o auxílio de régua milimetrada, em intervalos regulares de 24 horas.

Para avaliação do efeito antagonista de colônias bacterianas e fúngicas sobre *S. rolfsii* foi considerada a medição durante quatro dias (96 h) de incubação, do crescimento micelial de *S. rolfsii*, período no qual o crescimento micelial da testemunha cobriu toda a superfície do meio seletivo na placa. Ao término do período de avaliação foram determinados o crescimento micelial e o percentual de inibição de crescimento micelial (I). Este foi calculado utilizando a fórmula descrita por Datta et al. (2004)

$$I (\%) = \frac{(C - T) \times 100}{C}$$

onde I refere-se ao percentual de inibição do crescimento micelial do patógeno por antagonistas, C ao crescimento radial do controle (testemunha) e T ao crescimento radial do tratamento.

Os dados acumulados durante as 96 horas de avaliação dos tratamentos foram comparados quanto às taxas diárias de crescimento micelial. Os valores obtidos por meio dessa taxa possibilita observar o crescimento médio do micélio ao longo de determinado tempo. A observação da taxa de crescimento sugeriu um comportamento linear e, conseqüentemente, um modelo de regressão linear para cada tratamento, que pode ser estimada através da equação

$$Y_{ijk} = \beta_0 + \beta_1 t + e_{(ij)k}$$

onde Y_{ijk} equivale ao valor da taxa diária de crescimento micelial, β_0 ao intersepto do valor da reta que cruza o eixo y, β_1 ao coeficiente angular (crescimento em mm para cada unidade de tempo), t ao período de avaliação e $e_{(ij)k}$ ao erro associado ao i -ésimo nível do fator húmus, j -ésimo nível do fator período e k -ésima observação.

Utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado (DIC), com seis tratamentos para teste em bactérias (testemunha + cinco cepas de bactérias) e 14 para teste em fungos (testemunha + 13 colônias fúngicas), todos com seis repetições. Considerou-se cada isolado de fungo ou bactéria como um tratamento.

2.2.5 Análise estatística

Os dados foram submetidos à análise de variância pelo teste F e as médias comparadas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

2.3 Resultados e discussão

2.3.1 Densidades populacionais microbianas em húmus líquido aerado

O tratamento HL4 (Fig. 2.6) foi o que apresentou a maior densidade populacional de bactérias, diferenciando-se estatisticamente dos demais tratamentos. Domínguez et al. (2000) enfatizaram sobre a importância de aporte de outras fontes de matéria orgânica ao EB, como serragem e papelão, no intuito de estruturar o material e assim promover a aeração no resíduo. Essa prática vai ao encontro dos resultados obtidos, nos quais a população de bactérias foi maior nos tratamentos com a CA quando comparados com equivalentes sem a casca (HL1 x HL2 e HL3 x HL4).

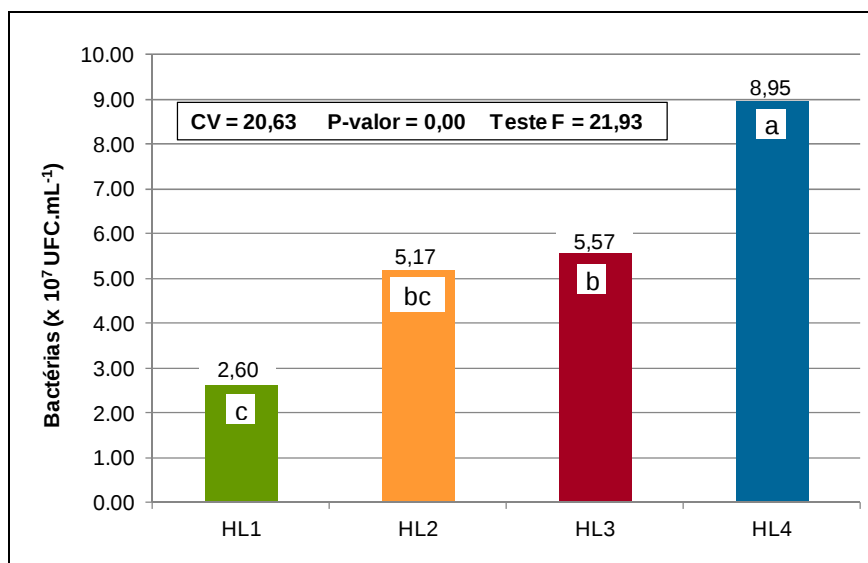


Figura 2.6 – Densidades populacionais médias de bactérias em húmus líquidos. Embrapa Clima Temperado – Estação Experimental Cascata, Pelotas, RS, 2012.

Médias seguidas de letras iguais sobre as colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$); HL1 (húmus líquido a partir do húmus H1 – EB 100%); HL2 (húmus líquido a partir do húmus H2 – EB 75% + CA 25%); HL3 (húmus líquido a partir do húmus H3 – EB 75% + BC 25%); HL4 (húmus líquido a partir do húmus H4 – EB 50% + BC 25% + CA 25%); P-valor (p-valor associado à ANOVA); Teste F (valor do F calculado); CV (coeficiente de variação).

Os benefícios relacionados à combinação de diferentes fontes de resíduos orgânicos visando o incremento da dinâmica populacional microbiana tornam-se mais evidente quando comparados os tratamentos HL1 (EB) e HL4 (EB + CA + BC).

Tiago et al. (2008) também utilizaram materiais misturados e não misturados, porém entre esterco de diferentes origens (bovinos, equino e ovinos), verificando maior valor de UFC totais no tratamento em que ocorreu a mistura de todos os esterco.

Quanto às colônias de fungos (Fig. 2.7), maiores valores foram observados nos tratamentos contendo BC, com potencialização da resposta na presença da CA, com diferença estatística entre todos os tratamentos. A BC apresenta elevados teores de carbono, sendo prontamente disponível apenas para fungos e bactérias (ADI; NOOR, 2008). A ausência de outros competidores pelo recurso carbono nos estágios iniciais de decomposição do alimento contendo BC pode explicar o favorecimento do crescimento de tais microrganismos, ocasionando diversidade e abundância superiores.

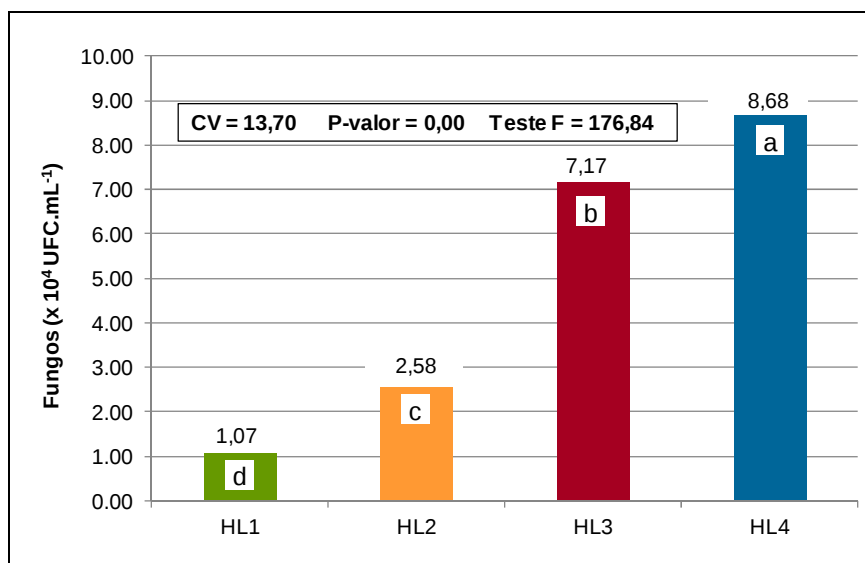


Figura 2.7 – Densidades populacionais médias de fungos em húmus líquidos. Embrapa Clima Temperado – Estação Experimental Cascata, Pelotas, RS, 2012.

Médias seguidas de letras iguais nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$);

HL1 (húmus líquido a partir do húmus H1 – EB 100%); HL2 (húmus líquido a partir do húmus H2 – EB 75% + CA 25%); HL3 (húmus líquido a partir do húmus H3 – EB 75% + BC 25%); HL4 (húmus líquido a partir do húmus H4 – EB 50% + BC 25% + CA 25%); P-valor (p-valor associado à ANOVA); Teste F (valor do F calculado); CV (coeficiente de variação).

O pH em todos os tratamentos mostrou-se levemente alcalino, tendendo à neutralidade (Fig. 2.8). Edwards et al. (2010c) arejaram húmus líquido por 24 horas e os tratamentos apresentaram valores de pH relativamente alcalinos, oscilando entre 7,5 e 7,8.

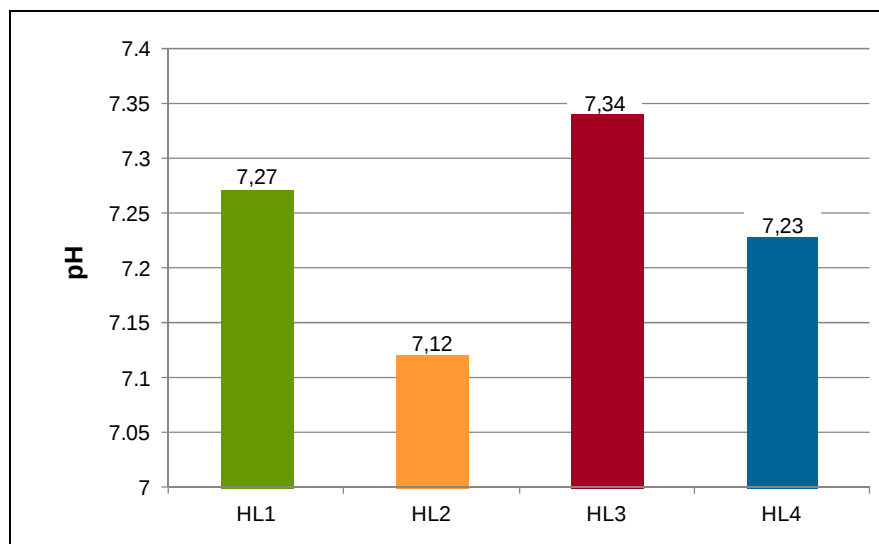


Figura 2.8 – Potencial hidrogeniônico (pH) em húmus líquidos. Embrapa Clima Temperado – Estação Experimental Cascata, Pelotas, RS, 2012.

HL1 (húmus líquido a partir do húmus H1 – húmus de EB 100%); HL2 (húmus líquido a partir do húmus H2 – húmus de EB 75% + CA 25%); HL3 (húmus líquido a partir do húmus H3 – húmus de EB 75% + BC 25%); HL4 (húmus líquido a partir do húmus H4 – húmus de EB 50% + BC 25% + CA 25%).

Segundo Tortora et al. (2005), bactérias se desenvolvem melhor meio alcalino, tendendo a neutralidade (6,8 a 7,5), ao passo que fungos preferem meios que variem do neutro ao levemente ácido (ao redor de 6,0). Isto poderia explicar a maior densidade populacional de bactérias em relação à fúngica. Por outro lado, Rodrigues et al. (2006) constataram que pH entre 5,5 e 8,5 favoreceram microrganismos degradadores da matéria orgânica, um indicativo de que os pHs encontrados para os húmus líquidos aerados avaliados seriam adequados ao desenvolvimento de ambos os microrganismos.

Quanto à condutividade elétrica – CE (Fig. 2.9), os tratamentos contendo BC (HL3 e HL4) registraram valores inferiores àqueles sem adição da BC (H1 e H2). É possível que o baixo valor de CE atribuído a BC antes de ser adicionada aos esterco (0,675 mS cm⁻¹), conforme apontam os resultados obtidos no Capítulo 1, item 1.3.4, tenha contribuído para a redução da variável CE aos alimentos contendo esse material.

Percebe-se também uma tendência de redução nos valores da CE de HL1 até o tratamento HL4. Esse resultado, quando comparado com os obtidos para densidades bacterianas e fúngicas (Fig. 2.6 e Fig. 2.7), aponta para uma relação linear inversamente proporcional, e que precisa ser melhor investigada para ser confirmada.

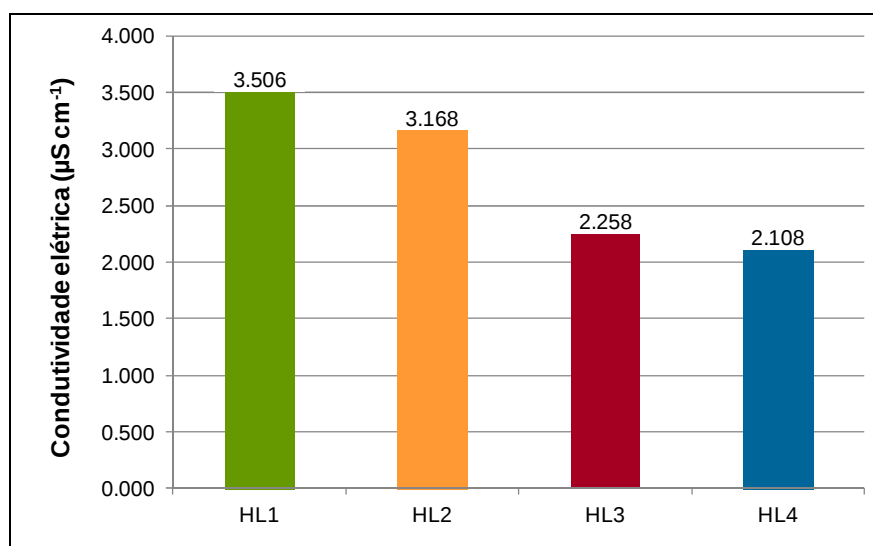


Figura 2.9 – Condutividade elétrica em húmus líquidos. Embrapa Clima Temperado – Estação Experimental Cascata, Pelotas, RS, 2012.

HL1 (húmus líquido a partir do húmus H1 – EB 100%); HL2 (húmus líquido a partir do húmus H2 – EB 75% + CA 25%); HL3 (húmus líquido a partir do húmus H3 – EB 75% + BC 25%); HL4 (húmus líquido a partir do húmus H4 – EB 50% + BC 25% + CA 25%).

2.3.2 Influência da microbiota de húmus líquido sobre *S. rolfsii*

Os tratamentos com húmus líquidos filtrados não inibiram a ação do *S. rolfsii* e o crescimento micelial do patógeno atingiu toda a superfície da placa de Petri (9,00 cm de diâmetro). Uma vez retidos na membrana filtrante, cuja malha tem capacidade de retenção tanto de esporos fúngicos quanto células bacterianas, os agentes presentes nos húmus líquidos tornaram-se indisponíveis para interferir no crescimento micelial do patógeno.

Tabela 2.1 – Crescimento micelial de *S. rolfsii* sob efeito de bactérias e fungos presentes nos húmus líquidos não filtrados e testemunha, a partir de discos de micélio (72 h) e escleródios (96 h). Embrapa Clima Temperado – Estação Experimental Cascata, Pelotas, RS, 2012.

Tratamento	Micélio (72 h)		Escleródio (96 h)	
	Bactérias (cm)	Fungos (cm)	Bactérias (cm)	Fungos (cm)
TEST NF	7,81 a	9,00 a	4,86 a	5,87 a
HL1 NF	4,07 b	3,44 bc	1,03 b	2,41 c
HL2 NF	3,90 b	3,26 c	0,77 b	3,14 b
HL3 NF	2,67 c	3,50 b	0,70 b	2,49 c
HL4 NF	2,14 d	3,32 bc	0,75 b	0,73 d
P-valor	0,00	0,00	0,00	0,00
Teste F	369,79	2.618,49	69,88	176,96
CV (%)	6,86	2,67	32,82	11,75

Médias seguidas de letras iguais nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$);

TEST NF (testemunha); HL1 NF (húmus líquido não filtrado, a partir do húmus H1 – EB 100%); HL2 NF (húmus líquido não filtrado, a partir do húmus H2 – EB 75% + CA 25%); HL3 NF (húmus líquido não filtrado, a partir do húmus H3 – EB 75% + BC 25%); HL4 NF (húmus líquido não filtrado, a partir do húmus H4 – EB 50% + BC 25% + CA 25%); P-valor (p-valor associado à ANOVA); Teste F (valor do F calculado); CV (coeficiente de variação).

Todos os tratamentos com o uso de húmus líquido não filtrado apresentaram potencial de inibição do crescimento micelial de *S. rolfsii* (Tab. 2.1). Este comportamento, detectado para ambas as origens de inóculos e meios seletivos, denota a atuação de agentes bióticos antagônicos, fúngicos ou bacterianos, na interferência do crescimento micelial de *S. rolfsii*.

As colônias de bactérias formadas a partir dos diferentes húmus líquidos inibiram o crescimento do micélio de *S. rolfsii* do inóculo micelial, quando comparados com a testemunha, sendo o tratamento HL4 estatisticamente superior aos demais. Também se percebe uma tendência de microrganismos advindos de tratamentos contendo BC (HL4 e HL3) produzirem interferências mais intensas do que aqueles presentes em húmus produzidos sem esse resíduo. Aventa-se a possibilidade de que a elevada densidade de bactérias nesses tratamentos possa ter

atuado por meio de mecanismos de competição por espaço ou nutrientes com o fitopatógeno.

Duffy et al. (2003) afirmaram que a população de bactérias cresce em razão da disponibilidade de nutrientes no meio; organismos com essas características apresentam taxas de crescimento populacional mais elevadas, sendo capazes de utilizar uma quantidade maior de nutrientes disponíveis, aumentando suas chances de sobrevivência, levando assim vantagem sobre seus eventuais competidores. Conforme Romeiro (2007), a competição por nutrientes é uma das formas mais básicas do antagonismo.

Colônias fúngicas apresentaram comportamento semelhante de inibição ao crescimento micelial (Tab. 2.1), não havendo diferença estatística entre os tratamentos HL1, HL2 e HL4, porém foram estatisticamente superiores à testemunha. Dentre a grande biodiversidade de bactérias e fungos presentes em húmus de minhoca, vários podem suprimir patógenos (EDWARDS et al. 2010b). Alguns mecanismos de ação produzidos por estes microrganismos incluem a secreção de enzimas líticas que atacam as membranas do patógeno (e.g. protease, quitinase, β -1,3, glucanase), além da produção de sideróforos, eficientes quelantes que limitam a disponibilidade de ferro para o crescimento de patógenos (MAZZOLA, 2002).

Quanto ao desenvolvimento micelial de *S. rolfsii* a partir de escleródios em meio contendo colônias bacterianas (Fig. 2.1), todos os tratamentos foram altamente eficazes na inibição do crescimento, sem diferença estatística entre si, diferindo-se apenas da testemunha. Tal resposta sobre os escleródios foi mais efetiva que a verificada pelas colônias bacterianas frente ao inóculo micelial.

Ao considerar escleródios como fonte de inóculo de *S. rolfsii*, verificou-se que os húmus líquidos avaliados não interferiram na sua germinação, mas sim no crescimento micelial avaliado, tanto para fungos quanto para bactérias, como inferior àquele originário a partir de micélio. Em hipótese, o processo de germinação dos escleródios consome um tempo extra, possibilitando aos microrganismos maior chance de crescerem e colonizarem os espaços disponíveis. O elevado crescimento populacional de células bacterianas no período de 48 horas seguramente garantiu a rápida colonização do meio de cultivo e, conforme verificado (Tab. 2.1), a maior interferência no crescimento do fitopatógeno em relação àquela proporcionada pelos fungos.

Estudos de Nakasone et al. (1999) verificaram que o uso de húmus líquido também suprimiu crescimentos miceliais de *Sclerotinium cinerea*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *S. rolfsii*, *R. solani* e *Fusarium oxysporum*. Respostas semelhantes foram obtidas por Scheuerell e Mahaffee (2004), que conseguiram controlar *P. ultimum*, e por Edwards et al. (2010b) com *S. rolfsii*, ambos no cultivo de pepino.

A supressão de fitopatógenos foi verificada por Scheuerell et al. (2005), porém em sua forma sólida, que produziram húmus a partir de esterco combinados com diferentes fontes de resíduos orgânicos, como restos de alimentos, papéis, palha e cascas de ovos, supressivos contra *Pythium irregulare*, *P. ultimum* e *Rhizoctonia solani*. Igualmente, Sahni et al. (2008), conseguiram suprimir os efeitos de *S. rolfsii* pela combinação de húmus produzido com restos vegetais e serrapilheira.

Após a última avaliação de crescimento micelial de *S. rolfsii* a partir de inóculo micelial (72 h) e escleródio (96 h), as placas retornaram às câmaras BOD. Aos 10 dias da instalação, observou-se produção de escleródios em todos os tratamentos contendo húmus líquido filtrado (Tab. 2.2). Esse estímulo de produção está associado à ausência dos agentes fúngicos e bacterianos, retidos no processo de filtragem. Essa ausência de microrganismos demonstra que os efeitos de supressão do húmus de minhoca ao *S. rolfsii* estejam relacionados à biota oriunda do húmus.

Tabela 2.2 – Produção média de escleródios após 10 dias, em meios seletivos às bactérias (523) e aos fungos (BDA), presentes nos húmus líquidos filtrados, a partir dos inóculos micélio e escleródio de *S. rolfsii*. Embrapa Clima Temperado – Estação Experimental Cascata, Pelotas, RS, 2012.

Tratamento	Micélio		Escleródio	
	523	BDA	523	BDA
TEST F	187,5 a	90,0 a	66,5 d	54,3 d
HL1 F	161,7 b	86,8 a	111,3 c	144,5 c
HL2 F	155,2 b	81,8 a	142,8 b	160,3 b
HL3 F	183,1 a	15,5 b	131,2 bc	148,2 bc
HL4 F	114,0 c	13,67 b	177,2 a	180,1 a
P-valor	0,00	0,00	0,00	0,00
Teste F	76,88	249,63	29,96	169,52
CV (%)	5,10	10,60	14,54	6,64

Médias seguidas de letras iguais nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$); TEST F (testemunha); HL1 F (húmus líquido não filtrado, a partir do húmus H1 – EB 100%); HL2 F (húmus líquido não filtrado, a partir do húmus H2 – EB 75% + CA 25%); HL3 F (húmus líquido não filtrado, a partir do húmus H3 – EB 75% + BC 25%); HL4 F (húmus líquido não filtrado, a partir do húmus H4 – EB 50% + BC 25% + CA 25%); P-valor (p-valor associado à ANOVA); Teste F (valor do F calculado); CV (coeficiente de variação).

Diferentemente ao resultado encontrado quanto ao crescimento micelial de *S. rolfsii*, quando todos os tratamentos foram tomados pelo micélio do patógeno em sua totalidade, obedecendo assim um mesmo padrão, a produção de escleródios não apresentou padrão de crescimento, dificultando a compreensão de qual tratamento, mesmo com ausência de microrganismos, pudesse ter tido algum efeito ou estímulo sobre a produção de escleródios.

Em relação à produção de escleródios em meios seletivos contendo húmus líquidos não filtrados (Tab. 2.3), independente da fonte de inóculo, verificou-se ausência de escleródios do patógeno em presença de células bacterianas. A maior interferência das bactérias no crescimento micelial do patógeno pode ter contribuído para esse desempenho negativo na produção de escleródios. A produção deste tipo de inóculo do patógeno se dá à custa do enovelamento de hifas, o que se refletiu na ausência (em presença de bactérias) ou menor número (em presença de fungos) produzido nos tratamentos com presença de microrganismos, devido ao menor crescimento micelial. Em presença de fungos, ocorreu formação de escleródios em alguns dos tratamentos sob diferentes condições de inóculos, porém nos tratamentos HL4 (micélio) e HL3 e HL4 (escleródio) não houve produção de escleródios, diferenciando-se dos demais tratamentos.

Tabela 2.3 – Produção média de escleródios* *S. rolfsii* após 10 dias, a partir dos inóculos micélio e escleródio, em presença de colônias de bactérias e fungos, oriundas de húmus líquidos não filtrados. Embrapa Clima Temperado – Estação Experimental Cascata, Pelotas, RS, 2012.

Tratamento	Micélio		Escleródio	
	Bactérias	Fungos	Bactérias	Fungos
TEST NF	61,0 a	50,7 a	40,5 a	37,67 a
HL1 NF	0,0 b	39,8 b	0,0 b	14,7 c
HL2 NF	0,0 b	53,8 a	0,0 b	24,3 b
HL3 NF	0,0 b	17,7 c	0,0 b	0,0 d
HL4 NF	0,0 b	0,0 d	0,0 b	0,0 d
P-valor	0,00	0,00	0,00	0,00
Teste F	2.093,24	294,13	1.396,53	313,39
CV (%)	6,93	7,26	7,63	9,52

Médias seguidas de letras iguais nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$);

*Dados transformados para $\sqrt{x+1}$;

TEST NF (testemunha); HL1 NF (húmus líquido não filtrado, a partir do húmus H1 – EB 100%); HL2 NF (húmus líquido não filtrado, a partir do húmus H2 – EB 75% + CA 25%); HL3 NF (húmus líquido não filtrado, a partir do húmus H3 – EB 75% + BC 25%); HL4 NF (húmus líquido não filtrado, a partir do húmus H4 – EB 50% + BC 25% + CA 25%); P-valor (p-valor associado à ANOVA); Teste F (valor do F calculado); CV (coeficiente de variação).

Há de se considerar que a ausência ou diminuição da produção de escleródios tem grande importância no manejo do patógeno, por se tratar de estruturas de resistência, que desempenham papel relevante na sobrevivência do patógeno a campo, especialmente em condições desfavoráveis ou de estresse, como longos períodos de estiagem, ocasionando em solos com déficit hídrico, altas temperaturas da atmosfera e posterior elevação das temperaturas nos solos, das camadas superficiais até onde encontram-se instalados os escleródios, dentre outros fatores.

2.3.3 Avaliação *in vitro* de microbiota específica isolada de húmus líquido sobre o crescimento micelial de *S. rolfsii*

Efeitos antagônicos diferenciados foram observados com 13 isolados fúngicos avaliados (Tab. 2.4), 96 horas após cultivo pareado com o patógeno. O isolado Fungo 3 do tratamento HL2 foi que apresentou o maior potencial de supressão a *S. rolfsii*, sendo estatisticamente superior aos demais isolados, inibindo em até 75,33% o crescimento micelial do patógeno.

Tabela 2.4 – Crescimento micelial (CM) de *S. rolfsii* após 96 horas, percentual de inibição de crescimento após 96 horas (I) e taxa de crescimento micelial (TCM) de *S. rolfsii* em meio contendo isolados de fungos de húmus líquido. Embrapa Clima Temperado – Estação Experimental Cascata, Pelotas, RS, 2012.

Tratamentos	CM - 96 h (cm)	I - 96 h (%)	TCM (cm/dia)
TEST	6,00 a	–	1,4439 ± 0,0040 a
Fungo 3 - HL3	6,00 a	0,00	1,4311 ± 0,0185 a
Fungo 3 - HL4	5,68 ab	5,33	1,3406 ± 0,0244 ab
Fungo 1 - HL2	5,65 ab	5,83	1,4039 ± 0,0210 ab
Fungo 2 - HL4	5,52 ab	8,00	1,3189 ± 0,0244 ab
Fungo 2 - HL3	5,45 ab	9,17	1,2983 ± 0,0810 ab
Fungo 1 - HL1	5,18 b	13,67	1,2506 ± 0,0118 b
Fungo 2 - HL1	5,17 b	13,83	1,2506 ± 0,0118 b
Fungo 2 - HL2	4,37 c	27,17	1,0272 ± 0,0737 b
Fungo 4 - HL4	3,77 cd	37,17	0,9806 ± 0,0174 bc
Fungo 1 - HL4	3,68 cd	38,67	0,9443 ± 0,0339 bc
Fungo 5 - HL4	3,60 d	40,00	0,9400 ± 0,0325 c
Fungo 1 - HL3	2,48 e	58,67	0,7922 ± 0,0462 d
Fungo 3 - HL2	1,48 f	75,33	0,4711 ± 0,0161 e
P-valor	0,00	-	0,00
Teste F	97,94	-	58,35
CV (%)	7,55	-	25,10

Médias seguidas de letras iguais nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$);

I (inibição de crescimento); TCM (Taxa de crescimento micelial);

TEST (testemunha); HL1 (húmus líquido a partir do húmus H1 – EB 100%); HL2 (húmus líquido a partir do húmus H2 – EB 75% + CA 25%); HL3 (húmus líquido a partir do húmus H3 – EB 75% + BC 25%); HL4 (húmus líquido a partir do húmus H4 – EB 50% + BC 25% + CA 25%); P-valor (p-valor associado à ANOVA); Teste F (valor do F calculado); CV (coeficiente de variação).

A análise da morfologia de conídios e conidióforos, ao microscópio ótico, possibilitou sua identificação taxonômica como *Trichoderma* sp. Este isolado apresentou a maior taxa diária de crescimento dentre todos os demais fungos pareados com *S. rolfsii*, conforme análise de TCM (Tab. 2.4), que mensura o crescimento micelial ao longo do período de avaliação.

Apesar dos poucos estudos acerca da presença de fungos do gênero *Trichoderma* em húmus líquidos, o efeito supressor deste fungo sobre fitopatógenos é bastante conhecido. Sabe-se que *Trichoderma* sp. restringe o crescimento de vários microrganismos por meio da competição por espaço, água e nutrientes (MELLO, 1996), podendo também agir diretamente sobre fungos fitopatogênicos por micoparasitismo (LIMA et al., 1998). Da mesma forma, grande maioria de fungos do gênero *Trichoderma* produzem metabólitos secundários que inibem o crescimento e desenvolvimento de fitopatógenos (GHISALBERTI; ROWLAND, 1993), processo esse conhecido como antibiose.

Vários estudos comprovam o efeito antagônico de fungos do gênero *Trichoderma* sobre o patógeno *S. rolfsii*. Mishra et al. (2011) testaram a eficiência de isolados de *Trichoderma viride* em feijão infectado por *R. solani*, *S. rolfsii*, *Alternaria alternata* e *Fusarium solani*. Jegathambigai et al. (2010) realizaram testes *in vitro* de *T. viride* e *T. harzianum* como antagonistas a *S. rolfsii*. Mesmo sob diferentes condições, todos os isolados de *Trichoderma spp.* promoveram efeitos antagônicos ao fungo *S. rolfsii*, comprovando sua eficiência ao controle de doenças ocasionadas pelo fitopatógeno.

Foram observadas cinco diferentes cepas bacterianas nos quatro tratamentos avaliados, sem atividades antagônicas destas ao *S. rolfsii*. O crescimento micelial do patógeno atingiu seis centímetros (6,00 cm) em todas as placas, alcançando a outra extremidade, igualando-se à testemunha.

2.4 Conclusões

Nas condições em que o experimento foi desenvolvido, pode-se concluir que:

1. A presença de cascas de amendoim e borra de café elevou as densidades populacionais de fungos e bactérias;
2. O húmus líquido filtrado foi inócuo ao fungo *S. rolfsii*, evidenciando a atuação de componentes bióticos na supressão de húmus líquido não filtrado;

3. Todos os tratamentos com o uso de húmus líquido não filtrado foram eficientes na redução do crescimento micelial de *S. rolfsii* a partir das duas fontes de inóculo – micélio e escleródio –, tanto pela exposição às colônias de bactérias quanto de fungos;

4. Diversos dos isolados fúngicos obtidos dos tratamentos testados apresentaram efeito antagônico sobre *S. rolfsii* em diferentes níveis, sendo o mais eficiente quanto à supressão do crescimento micelial o isolado pertencente ao gênero *Trichoderma*.

Considerações finais

O aporte de borra de café ao esterco bovino promoveu aumento na biomassa de minhocas repercutindo positivamente nas taxas reprodutivas. A adição de diferentes resíduos orgânicos aos estercos, como apontam vários estudos, é uma alternativa aos agricultores que mantém minhocários em suas propriedades, porém com dificuldades em obter estercos de qualidade adequada a ser ofertada como alimento às minhocas.

A adição de materiais estruturantes, como cascas de amendoim utilizadas neste estudo, promove aumento de populações microbianas, em especial às bacterianas e fúngicas, em húmus de minhoca. Essa elevação de taxas populacionais pode repercutir de maneira positiva em sistemas de cultivo, quando o húmus for incorporado aos canteiros.

Recomenda-se o preparo e uso de húmus líquido em propriedades agrícolas familiares, pela facilidade de preparo bem como os efeitos positivos que promovem em sistemas de cultivo, não apenas visando fertilizar solos, mas também na possibilidade de suprimir doenças veiculadas por fitopatógenos, como alguns escleródios (e.g. *Sclerotium rolfsii*), responsáveis em promover inúmeras doenças. Um dos agentes com potencial antagônico aos fitopatógenos presentes em húmus de minhoca é o *Trichoderma* sp., mas a presença deste fungo depende da qualidade e origem dos estercos, dentre outros fatores.

A presença de microrganismos presentes nos compostos avaliados foi determinante para que houvesse efeito de inibição do húmus líquido sobre o escleródio. Os resultados dos ensaios também revelam que os microrganismos têm efeitos diferenciados em relação aos dois estágios do fitopatógeno, podendo o

agricultor mitigar o avanço dos escleródios, buscando estratégias diferenciadas de manejo ao controle.

O *Trichoderma* sp., oriundo do esterco bovino, mesmo passando pelo processo de humificação, sob ação de microrganismos e minhocas, e também pelo processo de adição de água e aeração pelo período de 24 horas, conseguiu se manter e permanecer em condições de provocar efeito antagônico ao *S. Rolfsii*. Esse fato surge como possibilidade a ser explorada pelos agricultores familiares e de base ecológica, que já tem por hábito adicionar húmus de minhoca aos solos, visando a melhoria de fertilidade dos sistemas.

O húmus de minhoca, na qualidade de veículo propagador de *Trichoderma* sp., tem reais condições de se firmar como elemento fitoprotetor, em substituição aos fungicidas disponíveis no mercado. Cabe ressaltar que, além do *Trichoderma* sp., outros microrganismos com potenciais efeitos supressivos aos diferentes fitopatógenos que acometem os cultivos agrícolas podem estar presentes nos húmus de minhoca, dependendo de fatores diversos, entre eles a origem e características dos resíduos orgânicos utilizados. Se estes resíduos forem provenientes de sistemas que já adotem práticas agroecológicas, já é um facilitador, por apresentar grande biodiversidade em seus sistemas.

É imprescindível a realização de novos estudos, buscando justificar as lacunas relacionadas aos diferentes padrões acerca da produção de escleródios em húmus líquidos filtrados.

Referências

ABIC – Associação Brasileira da Indústria de Café. **Indicadores da indústria de café no Brasil – 2012**. Disponível em: <<http://www.abic.com.br/publique/cgi/cgilua.exe/sys/start.htm?sid=61#1389>>. Acesso em: 6 dez. 2012.

ADI, A.J.; NOOR, Z.M. Waste recycling: Utilization of coffee grounds and kitchen waste in vermicomposting. **Bioresource Technology**, Essex, v.100, n.2, p.1027-1030, 2008.

AGRIOS, G.N. **Plant Pathology**. 5.ed. San Diego: Elsevier, 2005. 922p.

AIRA, M.; MONROY, F.; DOMÍNGUEZ, J. Changes in microbial biomass and microbial activity of pig slurry after the transit through the gut of the earthworm *Eudrilus eugeniae* (Kinberg, 1867). **Biol. Fertil. Soils**, v.42, p.371-376, 2006.

AIRA, M.; DOMÍNGUEZ, J. Microbial and nutrient stabilization of two animal manures after the transit through the gut of the earthworm *Eisenia fetida* (Savigny, 1826). **J. Harz. Mater**, v.161, p.1234-1238, 2009.

ALTIERI, M. **Agroecologia**: a dinâmica produtiva da agricultura sustentável. 4.ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS, 2004. 120p.

AMORIM, A.C.; LUCAS JÚNIOR. J. de; RESENDE, K.T. de. Compostagem e vermicompostagem de dejetos de caprinos: efeito das estações do ano. **Eng. Agríc.**, Jaboticabal, v.25, n.1, p.57-66, 2005.

AQUINO, A.M. de; ALMEIDA, D.L. de; FREIRE, L.R.; DE-POLLI, H. Reprodução de minhocas (*Oligochaeta*) em esterco bovino e bagaço de cana-de-açúcar. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.29, p.161-168, 1994.

ARANCON, N.Q.; EDWARDS, C.A.; OLIVER, T.J.; BYRNE, R.J. Suppression of two-spotted spider mite (*Tetranychus urticae*) mealy bugs (*Pseudococcus* spp) and aphid (*Myzus persicae*) populations and damage by vermicomposts. **Crop. Prot.**, v.26, p.26-39, 2007.

ARANCON, N.Q.; EDWARDS, C.A.; BIERMAN, P.; METZGER, J.D.; LUCHT, C. Effects of vermicomposts produced from cattle manure, food waste and paper waste on the growth and yields of peppers in the field. **Pedobiologia**, v.49, p.297-306, 2005.

ARAÚJO, J.M.A. **Química de alimentos**: teoria e prática. 4.ed. Belo Horizonte: Editora UFV - Universidade Federal de Viçosa, 2004. 415p.

ARTEAGA, M.; GARCÉS, N.; NOVO, R.; GURIDI, F.; PINO, J.A.; ACOSTA, M.; PASOS, M.; BESÚ, D. Influencia de la aplicación foliar del bioestimulante Liplant sobre algunos indicadores biológicos del suelo. **Revista de Protección Vegetal**, La Habana, v. 22, n.2, p.110-117, 2007.

ATIYEH, R.M.; LEE, S.; EDWARDS, C.A.; ARANCON, N.Q.; METZGER, J.D. The influence of humic acids derived from earthworm-processed organic wastes on plant growth. **Bioresource Technology**, v.84, n.1, p.7-14, 2002.

AYCOCK, R. Stem rot and other diseases caused by *Sclerotium rolfsii*. North Caroline: Agricultural Experiment Station Tech, 1966. 174p.

BITTENCOURT, G.A.; BIANCHINI, V. **Agricultura familiar na região sul do Brasil**. Consultoria UTF/036-FAO/INCRA, 1996.

BOULTER, J.I.; TREVORS, J.T.; BOLAND, G.J. Microbial studies of compost: bacterial identification and their potential for turfgrass pathogen suppression. **World J. Microbiol. Biotechnol.**, v.18, p.661-671, 2002.

BONKOWSKI, M.; GRIFFITHS, B.S.; RITZ, K. Food preferences of earthworms, soil fungi. **Pedobiol.**, v.44, p.666-676, 2000.

BRASIL. Ministério do Planejamento, Orçamento e Gestão. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). **Matriz insumo-produto**: 1996. Brasília: IBGE, 1996.

_____. **Sistema de contas nacionais – Brasil**: 1996-2003. Brasília: IBGE, 2003.

BRASIL. **Decreto nº 1.946, de 28 de junho de 1996**. Cria o Programa Nacional de Fortalecimento da Agricultura Familiar - PRONAF, e dá outras providências. Disponível em: < http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/decreto/D1946.htm>. Acesso em: 14 mar. 2013.

BRASIL. Ministério do Desenvolvimento Agrário. Instituto Nacional de Colonização e reforma Agrária (INCRA). **Novo retrato da agricultura familiar**: o Brasil redescoberto - Projeto de Cooperação Técnica. Brasília: INCRA/FAO, 2000.

BRASIL, **Lei nº 11.326, de 24 de julho de 2006**. Estabelece as diretrizes para a formulação da Política Nacional da Agricultura Familiar e Empreendimentos Familiares Rurais. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2004-2006/2006/lei/l11326.htm>. Acesso em: 18 nov.. 2012.

BRASIL. Ministério do Desenvolvimento Agrário; Ministério do Planejamento, Orçamento e Gestão. **Censo Agropecuário 2006**: Agricultura familiar, primeiros resultados. Brasil, grandes regiões e Unidades da Federação. Rio de Janeiro: IBGE, 2006. 267p.

BRASIL. Ministério do Desenvolvimento Agrário. **Plano Safra da Agricultura Familiar 2012/2013**. Disponível em: < http://www.mda.gov.br/plano-safra/arquivos/view/Cartilha_Plano_Safra.pdf>. Acesso em: 20 nov. 2012.

BROWN, G.G.; DOUBE, B.M. Functional interactions between earthworms, microorganisms, organic matter, and plants. In: EDWARDS, C.A. (Ed.) **Earthworm ecology**. Boca Raton: CRC Press, 2004. p. 213-239.

BROWN, G.G.; JAMES, S.W. Earthworm biodiversity in São Paulo state, Brasil. **European Journal of Soil Biology**, Montrouge, v.42, supplements 1, p.145-149, 2006.

_____. Ecologia, biodiversidade e biogeografia das minhocas no Brasil. In: BROWN, G.G.; FRAGOSO, C. **Minhocas na América Latina**: Biodiversidade e ecologia. Londrina: Embrapa Soja, 2007. 545 p.

CAPORAL, F.R.; COSTABEBER, J.A.; PAULUS, G. **Agroecologia**: matriz disciplinar ou novo paradigma para o desenvolvimento rural sustentável. 2006. Disponível em: <<http://www.agroeco.org/socla/archivospdf/Agroecologia%20%20Novo%20Paradigma%2002052006-ltima%20Verso1.pdf>>. Acesso em: 29 jul. 2012.

CASTILHOS, D.D.; SOUZA, L.M.; MORSELLI, T.B.G.A. Produção de alface e alterações químicas do solo decorrentes da adubação orgânica e química. **Rev. Ciên. Agrária**, Belém, n.48, p.131-142, 2007.

CASTILHOS, R.M.V.; DICK, D.P.; CASTILHOS, D.D.; MORSELLI, T.B.A.G.; COSTA, P.F.P. da; CASAGRANDE, W.B.; ROSA, C.M. da. Distribuição e caracterização de substâncias húmicas em vermicompostos de origem animal e vegetal. **R. Bras. Ci. Solo**, Viçosa, v.32, p.2669-2675, 2008.

CHAOUI, H.I.; EDWARDS, C.A.; BRICKNER, A.; LEE, S.S.; ARANCON, N.Q. Suppression of the plant diseases, *Pythium* (damping-off), *Rhizoctonia* (root rot) and *Verticillium* (wilt) by vermicomposts. **Proceedings of Brighton Crop Protection Conference – Pests and Diseases**, v.2, n.8B-3, p.711-716, 2002.

CHEN, M.H.; NELSON, E.B. Seed-colonizing microbes from municipal biosolids compost suppress *Pythium ultimum* damping-off on different plant species. **Phytopathology**, v.98, n.9, p.1012-1018, 2008.

CORRÊA, R.S.; FONSECA, Y.M.F.; CORRÊA, A.S. Produção de biossólido agrícola por meio da compostagem e vermicompostagem de lodo de esgoto **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v.11, n.4, p.420-426, 2007.

DARWIN, C. **The formation of vegetable mould, through the action of worms, with observations on their habits**. London: William Clowes and Sons Limited, 1881.

DA SILVA, J.V.H.; BORGES, A.K.P.; MORAIS, P.B. de.; PICANÇO, A.P. Compostagem das macrófitas aquáticas: *Salvinia auriculata* e *Eichhornia crassipes* retiradas do reservatório da UHE Luis Eduardo Magalhães, Tocantins. **Engenharia Ambiental**, v.8, n.2, p.074-086, abr. /jun. 2011.

DAUDT, C.E.; DUTRA, L.C.; FOGAÇA, A. Vermicompostagem e compostagem do bagaço de uvas. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v.18, n.118, p.31-37, 2004.

DATTA, B.S.; DAS, A.K.; GHOSH, S.N. Fungal antagonists of some plant pathogens. **Mycopathology**, v.1, p.15-17, 2004.

DENARDI, R.A. Agricultura familiar e políticas públicas: alguns dilemas e desafios para o desenvolvimento rural sustentável. **Agroecologia e Desenvolvimento Rural Sustentável**, Porto Alegre, v.2, n.3, p. 56-62, 2001.

DOMÍNGUEZ, J. State of the art and new perspectives on vermicomposting Research. In: EDWARDS, C.A. (Ed.). **Earthworm ecology**. 2.ed. Boca Raton: CRC Press, 2004. p.401-424.

_____. Microbiology of vermicomposting. In: EDWARDS, C.A.; ARACON, N.Q.; SHERMAN, R. (Ed.). **Vermiculture technology: earthworms, organic wastes, and environmental management**. Boca Raton: CRC Press, 2010. p.53-66.

DOMÍNGUEZ, J.; EDWARDS, C.A.; WEBSTER, M. Vermicomposting of sewage sludge: effect of bulking materials on the growth and reproduction of the earthworm *Eisenia andrei*. **Pedobiologia**, Jena, v.44, p.24-32, 2000.

DOMÍNGUEZ, J.; VELANDO, A.; FERREIRO, A. Are *Eisenia fetida* (Savigny, 1826) and *Eisenia andrei* Bouché (1972) (Oligochaeta, Lubricidae) different biological species? **Pedobiologia**, Jena, v. 49, p. 81-87, 2005.

DOMÍNGUEZ, J.; EDWARDS, C.A. Biology and ecology of earthworm species used for vermicomposting. In: EDWARDS, C.A.; ARACON, N.Q.; SHERMAN, R. (Ed.). **Vermiculture technology: earthworms, organic wastes, and environmental management**. Boca Raton: CRC Press, 2010. p.27-40.

DOWLING, D.N.; SEXTON, R.; FENTON, A.; DELANY, I.; FEDI, S.; McHUGH, B.; CALLANAN, M.; MOËNNE-LOCCOZ, Y.; O'GARA, F. Iron regulation in plant-associated *Pseudomonas fluorescens* M114: Implications for biological control. In: NAKAZAWA, K.; FURUKAWA, K.; HAAS, D.; SILVER, S. (Eds.). **Molecular biology of pseudomonads**. Washington, DC: ASM Press, 1996. p.502-511.

DUBEY, R.C., MAHESHWARI, D.K. **Practical Microbiology**, 2.ed., New Delhi: S. Chand and company Ltd., 2002.

DUFFY, B.; SCHOUTEN, A.; RAAIJMAKERS, J.M. Pathogen self-defense: mechanisms to counteract microbial antagonism. **Annual Review Phytopathology**, v.41, p.501-538, 2003.

EDWARDS, C.A. Historical overview of vermicomposting. **BioCycle**, v.36, n.6, p.56-58, 1995.

_____. Introduction, history and potential of vermicomposting technology. In: EDWARDS, C.A.; ARACON, N.Q.; SHERMAN, R. (ed.) **Vermiculture technology: earthworms, organic wastes, and environmental management**. Boca Raton: CRC Press, 2010. p.1-10.

EDWARDS, C.A.; BOHLEN, P.J. **Biology and ecology of earthworm**. 3.ed. London: Chapman and Hill, 1996, p.181-195.

EDWARDS, C.A.; ARANCON, N.Q. The use of earthworms in the breakdown of organic wastes to produce vermicomposts and animal feed protein. In: EDWARDS, C.A. (Ed.). **Earthworm ecology**. 2.ed. Boca Raton: CRC Press, 2004. p.345-379.

EDWARDS, C.A.; ARANCON, N.Q.; VASKO-BENNETT, M.A.; ASKAR, A.M.; KEENEY, G.; LITTLE, B. Suppression of green peach aphid (*Myzus persicae*) (Sulz.), citrus mealy bugs (*Planococcus citri*) (Risso), and two spotted spider mite (*Tetranychus urticae*) (Koch) attacks on tomatoes and cucumbers by aqueous extracts from vermicomposts. **Crop. Prot.**, v.29, p.80-93, 2009.

EDWARDS, C.A.; ASKAR, A.M.; VASKO-BENNETT, M.A.; ARANCON, N.Q. Suppression of arthropod pests and plant parasitic nematodes by vermicomposts and aqueous extracts from vermicomposts. In: EDWARDS, C.A.; ARACON, N.Q.; SHERMAN, R. (Ed.). **Vermiculture technology: earthworms, organic wastes, and environmental management**. Boca Raton: CRC Press, 2010a. p.209-233.

_____. Use of aqueous extracts from vermicomposts or teas in suppression of plant pathogens. In: EDWARDS, C.A.; ARAÇON, N.Q.; SHERMAN, R. (Ed.).

Vermiculture technology: earthworms, organic wastes, and environmental management. Boca Raton: CRC Press, 2010b. p.183-207.

_____. The use and effects of aqueous extracts from vermicomposts or teas on plant growth and yields. In: EDWARDS, C.A.; ARAÇON, N.Q.; SHERMAN, R. (Ed.).

Vermiculture technology: earthworms, organic wastes, and environmental management. Boca Raton: CRC Press, 2010c. p.235-248.

EMMERLING, C.; PAULSCH, D. Improvement of earthworm (lumbriidae) community and activity in mine soils from open-cast coal mining by the application of different organic waste materials. **Pedobiologia**, v.45, p.396-407, 2001.

FERNANDES, M.L.D.; FIÚZA, A.L. de C. Territórios rurais: uma abordagem para o desenvolvimento. In: **Processos de construção social e implantação do território da Serra do Brigadeiro**. Viçosa, 2006. Disponível

em: <<http://www.rimisp.org/seminariotrm/doc/MARIA-LUISA-DIEZ.pdf>>.

Acesso em: 28 jan. 2013.

FERREIRA, A.S.; BOLEY, R.A. **Sclerotium rolfsii**. Crop Knowledge Master, 2006. Disponível em:

<<http://bishopmuseum.org/botany/taro/key/HawaiianKalo/Media/Html/adobe/dryrot.pdf>>.

Acesso em: 23 nov. 2012.

FRAGOSO, C.; LAVELLE, P.; BLANCHART, E.; SENAPATI, B.K.; JIMÉNEZ, J.J.; MARTÍNEZ, M.A.; DECAËNS, T. Earthworm communities of tropical agroecosystems: Earthworm communities of tropical agroecosystems: origin, structure and influence of management practices. In: P. Lavelle, L. Brussaard and P.F. Hendrix (Eds).

Earthworm management in tropical agroecosystems: CABI, Wallingford. 1999. p. 27-55.

FREITAS, S.M. de; MARTINS, S.S.; NOMI, A.K.; CAMPOS, A.F. Evolução do mercado brasileiro de amendoim. In: SANTOS, R.C. dos. (Ed.) **O Agronegócio do Amendoim no Brasil**. Ed. Campina Grande-PB: EMBRAPA, 2005, p.16-44.

GALVÃO, R. de O.; ARAÚJO NETO, S.E. de; SANTOS, F.C.B. dos; S.S.S. da. Desempenho de mudas de mamoeiro cv. sunrise solo sob diferentes substratos orgânicos. **Revista Caatinga**, Mossoró, v.20, n.3, p.144-150, 2007.

GARG, P.; GUPTA, A.; SATYA, S. Vermicomposting of different types of waste using *Eisenia foetida*: A comparative study. **Bioresource Tec.**, Essex, v.97, p.391-395, 2006.

GHINI, R.; BETTIOL, W. Controle físico de doenças radiculares. In: MICHEREFF, S.J.; ANDRADE D.E.G.T.; MENEZES, M. **Ecologia e manejo de patógenos radiculares em solos tropicais**. Recife: UFRPE, Imprensa Universitária, 2005. cap.13, p.323-344.

GHISALBERTI, E.L.; ROWLAND, C.Y. Antifungal metabolites from *Trichoderma harzianum*. **Journal of Natural Products**, Cincinnati, v.56, n.10, p.1799-1804, 1993.

GLIESSMAN, S.R. **Agroecologia**: processos ecológicos em agricultura sustentável. Porto Alegre: Ed. Universidade/UFRGS, 2000. 653p.

GONZÁLEZ, P.J.; RAMÍREZ, J.F.; VIEITO, E.L. Lombricultura: una alternativa para la conversión de los desechos orgánicos em recursos. In: FUNES- MONZOTE, F.; MONZOTE, M. **Abonos orgánicos**: compost, lombricultura y abonos verdes. La Habana: IIPF-MINAG, 2004. 51 p.

GUILHOTO, J.J.M.; ICHIHARA, S.M.; SILVEIRA, F.G.; DINIZ, B.P.C.; AZZONI, C.R.; MOREIRA, G.R.C. **A importância da agricultura familiar no Brasil e em seus estados**. 2007. Disponível em: <<http://www.anpec.org.br/encontro2007/artigos/A07A089.pdf>>. Acesso em: 27 jul. 2012.

GUPTA, R.; GARG, V.K. Vermiremediation and nutrient recovery of non-recyclable paper waste employing *Eisenia foetida*. **Journal of Hazardous Materials**, Amsterdam, v.162, p.430-439, 2009.

HAN, D.Y.; COPLIN, D.L.; BAUER, W.D.; HOITINK, H.A.J. A rapid bioassay for screening rhizosphere microorganisms for their ability to induce systemic resistance. **Phytopathology**, v.90, p.327-332, 2000.

HOITINK, H.A.J.; FAHY, P. Basis for the control of soilborne plant pathogens with composts. **Ann. Rev. Phytopathol.**, v. 24, p. 93-114, 1986.

HOITINK, H.A.J.; INBAR, Y.; BOEHM, M.J. Status of compost-amended potting mixes naturally suppressive to soilborne diseases of floricultural crops. **Plant. Dis.**, v.75, n.9, p.869-873, 1991.

HUBER, A.C.K.; MORSELLI, T.B.G.A. Densidade populacional e número de casulos de *Eisenia foetida* em processo de vermicompostagem sob resíduos de origem vegetal e animal. **Revista da FZVA**, Uruguaiana, v.18, n.2, p.21-29, 2011.

INGRAM, D.T.; MILLNER, P.D. Factors affecting compost tea as a potential source of *Escherichia coli* and *Salmonella* on fresh produce. **J. Food Prot.**, v.70, n.4, p.828-834, 2007.

JEGATHAMBIGAI, V.; WIJERATNAN, R.S.W.; WIJESUNDERA, R.L.C. Effect of *Trichoderma* sp. on *Sclerotium rolfsii*, the causative agent of collar rot on *Zamioculcas zamiifolia* and an on farm method to mass produce *Trichoderma* species. **Plant Pathology Journal**, v.9, n.2, p.47-55, 2010.

JOUQUET, P.; DAUBER, J.; LAGERLO, J.; LAVELLE, P.; LEPAGE, M. Soil invertebrates as ecosystem engineers: intended and accidental effects on soil and feedback loops. **Applied Soil Ecology**, v.32, p.153-164, 2006.

KADO, E.I.; HESKETT, M.G. Selective media for isolation of *Agrobacterium*, *Corynebacterium*, *Erwinia*, *Pseudomonas* and *Xanthomonas*. **Phytopathology**, v.60, n.6, p.969-976, 1970.

KALE, R.D.; MALLESH, B.C.; BANO, K.; BAGYARAY, D.J. Influence of vermicompost application on the available macronutrients and selected microbial populations in paddy field. **Soil Biology and Biochemistry**, v.24, p.1317-1320, 1992.

KHWAIRAKPAM, M.; BHARGAVA, R. Vermitechnology for sewage sludge recycling. **Journal of Hazardous Materials**, v.161, p.948-954, 2009.

KNAPP, B.A.; PODMIRSEG, S.M.; SEEGER, J.; MEYER, E.; INSAN, H. Diet-related composition of the gut microbiota of *Lumbricus rubellus* as revealed by a molecular finger printing technique and cloning. **Soil Biology Biochemistry**, v.41, p.2299-2307, 2009.

KRAUSE, M.S.; DE CEUSTER, T.J.J.; TIQUIA, S.M.; MICHEL JUNIOR, F.C.; MADDEN, L.V.; HOITINK, H.A.J. Isolation and characterization of rhizobacteria from compost that suppress the severity of bacterial leaf spot of radish. **Phytopathology**, v.93, p.1292-1300, 2003.

LANDGRAF, M.D.; MESSIAS, R.A.; REZENDE, M.O.O. **A importância ambiental da vermicompostagem: vantagens e aplicações**. São Carlos: RiMa, 2005. 106p.

LAVELLE, P.; DECAËNS, T.; AUBERT, M.; BAROT, S.; BLOUIN, M.; BUREAU, F.; MARGERIE, P.; MORA, P.; ROSSI, J.-P. Soil invertebrates and ecosystem services. **European Journal of Soil Biology**, v.42, p.S3–S15, 2006.

LAZCANO, C.; GÓMEZ-BRANDÓN, M.; DOMÍNGUEZ, J. Comparison of the effectiveness of composting and vermicomposting for the biological stabilization of cattle manure. **Chemosphere**, v.72, p.1013-1019, 2008.

LEE, K.E. **Earthworms: their ecology and relationships with soil and land use**. New York: Academic Press, 1985. 411p.

LIMA, L.H.C.; DE MARCO, J.L.; FELIX, C.R. Enzimas hidrolíticas envolvidas no controle biológico por micoparasitismo. In: MELO, I.S.; AZEVEDO, J.L. (Org.). **Controle biológico**. Jaguariúna, SP: Embrapa Meio Ambiente, 1998.

LIMA, C.C.; MENDONÇA, E.S.; SILVA, I.R.; SILVA, L.H.M.; ROIG, A. Caracterização química de resíduos da produção de biodiesel compostados com adição mineral. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campinas, v.13, n.3, p.334-340, 2009.

LITTERICK, A.M.; HARRIER, L.; WALLACE, P.; WATSON, C.A.; WOOD, M. The role of uncomposted materials, composts, manures, and compost extracts in reducing pest and disease incidence and severity in sustainable temperate agricultural and horticultural crop production – a review. **Crit. Rev. Plant Sci.**, v.23, n.6, p.453-479, 2004.

LIU, K.; PRICE, G.W. Evaluation of three composting systems for the management of spent coffee grounds. **Bioresource Technology**, Essex, v.102, n.2, p.7966-7974, 2011.

LOUREIRO, D.C.; AQUINO, A.M. de; ZONTA, E.; LIMA, E. Compostagem e vermicompostagem de resíduos domiciliares com esterco bovino para a produção de insumo orgânico. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.42, n.7, p.1043-1048, 2007.

MACEDO, G.R.; BINSZTOK, J. Associações dos agricultores familiares, cafeicultura orgânica e comércio justo na Amazônia: dilemas e perspectivas. **Revista NERA** (UNESP, Online), v.10, p.37-56, 2006.

MAINOO, N.O.K.; BARRINGTON, S.; WHALEN, J.K.; SAMPEDRO, L. Pilot-scale vermicomposting of pineapple wastes with earthworms native to Accra, Ghana. **Bioresour. Technol.**, v.100, p.5872-5875, 2009.

MARTINEZ, Â.A. **A grande e poderosa minhoca**: manual prático do minhocultor. 4.ed. Jaboticabal: Funesp, 1998. 148p.

MASHEVA, S.; YANKOVA, V.; TRINGOVSKA, I.; KANAZIRSKA, V. Application of some bio-products for improvement and protection of greenhouse tomato from soil pests. **Acta Hortic.**, v.807, n.2, p.765-770, 2009.

MAZZOLA, M. Mechanisms of natural soil suppressiveness to soil-borne diseases. **Antonie van Leeuwenhoek**, v.81, p.557-564, 2002.

MEINICKE, A.C. **As minhocas**. Ponta Grossa: Coopersul, 1983.

MELO, I.S. *Trichoderma* e *Gliocladium* como bioprotetores de plantas. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, v.4, p.261-295, 1996.

MICHEREFF, S.J.; PERUCH, L.A.M.; ANDRADE, D.E.G.T. Manejo sustentável de doenças radiculares em solos tropicais. In: MICHEREFF, S.J.; BARROS, R. **Proteção de plantas na agricultura sustentável**. Recife: UFRPE, Imprensa Universitária, 2001. p. 38-39.

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. (Eds.) **Ecologia e manejo de patógenos radiculares em solos tropicais**. Recife : UFRPE, Imprensa Universitária, 2005. p.1-18.

MIGDALSKI, M.C. **Criação de minhocas**. Viçosa: Aprenda Fácil, 2001. 118p.

MISHRA, B.K.; MISHRA, R.K.; MISHRA, R.C.; TIWARI, A.K.; SINGH, R. Biocontrol efficacy of *Trichoderma viride* isolates against fungal plant pathogens causing disease in *Vigna radiata* L. **Archives of Applied Science Research**, v.3, n.2, p.361-369, 2011.

MONROY, F.; AIRA, M.; DOMÍNGUEZ, J. Changes in density of nematodes, protozoa and total coliforms after transit through the gut of four epigeic earthworms (*Oligochaeta*). **Appl. Soil Ecol.**, v.39, p.127-132, 2008.

_____. Reduction of total coliform numbers during vermicomposting is caused by short-term direct effects of earthworms on microorganisms and depends on the dose of application of pig slurry. **Sci. Total Environ.**, v.407, p.5411-5416, 2009.

MORANDI, M.A.B.; BETTIOL, W. Controle biológico de doenças de plantas no Brasil. In: BETTIOL, W.; MORANDI, M.A.B. **Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2009. p. 7-14.

MOREIRA, F.M.S.; SIQUEIRA, J.O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. Lavras: UFLA, 2002.

MOTTER, O.F.; KIEHL, E.J.; KAWAI, H.; MEDEL, L.E.; YOSHIMOTO, H. **Utilização de minhocas na produção de composto orgânico**. São Paulo: CETESB, 1990. 28p.

MUSSATTO, S.I.; CARNEIRO, L.M.; SILVA, J.P.A.; ROBERTO, I.C.; TEIXEIRA, J.A. A study on chemical constituents and sugars extraction from spent coffee grounds. **Carbohydrate Polymers**, v.83, p.368-374, 2011.

NAKAMURA, Y. Interactions between earthworms and microorganisms in biological control of plant root pathogens. **Far. Jpn.**, v.30, p.37-43, 1996.

NAKASONE, A.K.; BETTIOL, W.; SPUZA, R.M. The effect of water extracts of organic matter on plant pathogens. **Summa Phytopathol.**, v.25, p.330-335, 1999.

NAIDU, Y.; MEON, S.; KADIR, J.; SIDDIQUI, Y. Microbial starter for the enhancement of biological activity of compost tea. **Int. J. Agric. Biol.**, v.12, p.51-56, 2010.

NAVARRO, Z. **A agricultura familiar no Brasil: entre a política e as transformações da vida econômica**. In: GASQUEZ, J.G.; VIEIRA FILHO, J.E.R.; NAVARRO, Z. **A agricultura brasileira: desempenho, desafios e perspectivas**. Brasília: IPEA, 2010. p.185-209.

NDEGWA, P.M.; THOMPSON, S.A.; DAS, K.C. Effects of stocking density and feeding rate on vermicomposting of biosolids. **Bioresource Technology**, v.71, n.1, p.5-12, 2000.

ORTIZ, B.; FRAGOSO, C.; M'BOUKO, I. PASHANASI, B.; SENAPATI, B.K.; CONTRERAS, A. Perception and use of earthworms in tropical farming systems. In: LAVALLE, P.; BRUSSAARD, L.; HENDRIX, P. (ed.). **Earthworm management in tropical agroecosystems**. Oxon: CABI Publishing, 1999. p.239-252.

O'SULLIVAN, D.J.; O'GARA, F. Traits of fluorescent *Pseudomonas* spp. involved in suppression of plant root pathogens. **Microbiol. Rev.**, v.56, p.662-676, 1992.

PASCHOLATI, S.F. Fitopatógenos: arsenal enzimático. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (Eds.). Manual de fitopatologia: princípios e conceitos. 3.ed. São Paulo: Ceres, 1995. v.1, p.343-364.

PEREIRA, E.W.L.; AZEVEDO, C.M.S.B. Produção de vermicomposto em diferentes proporções de esterco bovino e palha de carnaúba. **Caatinga**, Mossoró, v.18, p.112-116, abr./jun. 2005.

PÉREZ SENDÍN, M.A.; GÓMEZ, I.G.; GONZÁLEZ, B.J. Aspectos biológicos del hongo *Sclerotium rolfsii* en Cuba. **Ciencias de la Agricultura**, v.27, p.12-17, 1986.

PIŽL, V.; NOVÁKOVÁ, A. Interactions between microfungi and *Eisenia Andrei* (Oligochaeta) during cattle manure vermicomposting. **Pedobil.**, v.47, p.895-899, 2003.

PUNJA, Z.K. The biology, ecology, and control of *Sclerotium rolfsii*. **Annual Review of Phytopathology**, v.23, p.97-127, 1985.

_____. Ecology and infection behavior of *Sclerotium rolfsii* Sacc. In: LYDA, S.D.; KENERLE Y, C.M. **Biology of sclerotial-forming fungi**. Texas: The Texas Agricultural Experiment Station, 1993. p.131-145.

PUNJA, Z.K.; RAHE, J.E. *Sclerotium*. In: Singleton, L.L., Mihail, J.D.; Rush, C.M. (Eds.). **Methods for Research on Soilborne Phytopathogenic Fungi**. St, Paul: APS Press, 1992. p.166-170.

RIGHI, G. **Minhocas da América Latina**: diversidade, função e valor. São Paulo: Departamento de Zoologia. Instituto de Biociência. Universidade de São Paulo, 1997.

RIVERA, M.C.; E.R. WRIGHT; M.V. LOPEZ; M.C. FABRIZIO. Temperature and dosage dependent suppression of damping-off caused by *Rhizoctonia solani* in vermicompost amended nurseries of white pumpkin. YTON: Int. J. Bot., v.73, p.131-136, 2004.

RODRIGUES, M.S.; SILVA, F.C. da; BARREIRA, L.P.; KOVACS, A. Compostagem: reciclagem de resíduos sólidos orgânicos. In: Rodrigues, M.S.; SILVA, F.C. da; BARREIRA, L.P.; KOVACS, A. (Orgs.). **Gestão de Resíduos na Agricultura e Agroindústria**. 1.ed. Botucatu: FEPAF, v.1, p.63-94, 2006.

RODRIGUES, R.F.; LACERDA, P.M. de; ARAÚJO, F.G. de; MALAFAIA, G.; RODRIGUES, A.S. de L. Densidade populacional de *Eisenia foetida* (Savigny, 1826) em processo de vermicompostagem de substratos a base de borra de café e de esterco bovino. **Enciclopédia Biosfera**, Goiânia, v.8, n.14, p.294-301, 2012.

ROMEIRO, R. da S. Interações microbianas e antagonismo. In: ROMEIRO, R. da S. **Controle biológico de enfermidades em plantas**: fundamentos. Viçosa: Ed. UFV, 2007. p.15-37.

ROSA, E.V.; GIURADELLI, T.M.; CORRÊA, A.X.; RÖRIGAND, L.R.; SCHWINGEL, P.R.; RESGALLA, C. Ecotoxicological evaluation of the short term effects of fresh and stabilized textil esludges before application in forest soil restoration.

Environmental Pollution, v.146, p.463-469, 2007.

RUPPERT, E.E.; FOX, R.S.; BARNES, R.D. **Zoologia de Invertebrados**. 7.ed. São Paulo: Roca, 2005. 1168p.

SAHNI, S.; SARMA, B.K.; SINGH, D.P.; SINGH, H.B.; SINGH, K.P. Vermicompost enhances performance of plant growth-promoting rhizobacteria in *Cicer arietinum* rhizosphere against *Sclerotium rolfsii*. **Crop. Prot.**, v.27, n.3-5, p.369-376, 2008.

SAIKIA, J.; APARAJITA, B.; BORA, B. Efficacy of organic amendments in combination with the nematicide for management of *Meloidogyne incognita* in Brinjal. **Indian J. Nematol.**, v.37, n.2, p.179-181, 2007.

SALTER, C.E.; EDWARDS, C.A. The production of vermicompost aqueous solutions or teas. In: EDWARDS, C.A.; ARACON, N.Q.; SHERMAN, R. (ed.) **Vermiculture technology**: earthworms, organic wastes, and environmental management. Boca Raton: CRC Press, 2010. p.153-163.

SANTOS, M.R. dos; SEDIYAMA, M.A.N.; VIDIGAL, S.M. Desenvolvimento de mudas de quiabeiro em função da qualidade do substrato. **Horti. Brasil.**, v.28, n.2, p.2787-2795, julho, 2010.

SCHEURELL, S.; MAHAFFEE, W. Compost tea as a container medium drench for suppressing seedling damping-off caused by *Pythium ultimum*. **Phytopathology**, v.9, n.11, p.1156-1163, 2004.

SCHEURELL, S.; SULLIVAN, D.M.; MAHAFFEE, W. Compost "teas": principles and prospects for plant disease control. **Compost Sci. Util.**, v.10, n.4, p.313-335, 2002.

_____. Suppression of seedling damping-off caused by *Pythium ultimum*, *Pythium irregulare* and *Rhizoctonia solani* in container media amended with a diverse range of Pacific Northwest compost sources. **Phytopathology**, v.95, p.306-315, 2005.

SCHIAVON, G. de A.; SCHIEDECK, G.; ARAÚJO, J.M.G.; SCHWENGBER, J.E. Efeito da casca de arroz no crescimento e reprodução de minhocas. **Revista Brasileira de Agroecologia**, Porto Alegre, v.2, n.2, p.995-999, outubro 2007.

SCHIEDECK, G.; GONÇALVES, M. de M.; SCHWENGBER, J.E. **Minhocultura e produção de húmus para a agricultura familiar**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2006. 11p. (Embrapa Clima Temperado. Circular Técnica, 57).

SCHIEDECK, G.; SCHIAVON, G. de A.; MAYER, F.A.; LIMA, A.C.R. de. Percepção de agricultores sobre o papel das minhocas em agroecossistemas. **Rev. Bras. Agroecol.**, v.4, p.856-859, 2007a.

SCHIEDECK, G.; SCHWENGBER, J.E.; GONÇALVES, M. de M.; SCHIAVON, G. de A.; CARDOSO, J.H. **Minhocário campeão de baixo custo para a agricultura familiar**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2007b. 4p. (Embrapa Clima Temperado. Circular Técnica, 171).

SCHIEDECK, G.; SCHWENGBER, J.E.; GONÇALVES, M. de M.; SCHIAVON, G. de A.; WOLF, L.F. **Minhocário em túnel baixo**: alternativa barata para a produção de húmus. 2007c. 5p. (Embrapa Clima Temperado. Circular Técnica, 175).

SCHÖNHOLZER, F.; DITTMAR, H.; ZEYER, J. Origins and fate of fungi and bacteria in the gut of *Lumbricus terrestris* L. studied by image analysis. **FEMS Microbiol. Ecol.**, v.28, p.235–248, 1999.

SEEBER, J.; SEEBER, G.U.H.; LANGEL, R.; SCHEU, S.; MEYER, E. The effect of macroinvertebrates and plant litter of different quality on the release of N from litter to plant on alpine pastureland. **Biology Fertility Soils**, v.44, p.783-790, 2008.

SHANAHAN, P.; O'SULLIVAN, D.J.; SIMPSON, P.; GLENNON, J.D.; O'GARA, F. Isolation of 2,4-diacetylphloroglucinol from a fluorescent pseudomonad and investigation of physiological parameters influencing its production. **Appl. Environ. Microbiol.**, v.58, p.353-358, 1992.

SHIN, K.H.; YI, H.; CHUN, J.; CHA, C.J.; KIM, I.S.; HUR, H.G. Analysis of the anaerobic bacterial community in the earthworm (*Eisenia fetida*) intestine. **Agric. Chem. Biotechnol.**, v.47, p.147-152, 2004.

SHIPITALO, M.J.; BAYON, E.L. Quantifying the effects of earthworms on soil aggregation and porosity. In: EDWARDS, C.A. (Ed.). **Earthworm Ecology**. Boca Raton: CRC Press, 2004. p.183-200.

SHUSTER, W.D.; SUBLER, S.; McCOY, E.L. The influence of earthworm community structure on the distribution and movement of solutes in a chisel-tilled soil. **Applied Soil Ecology**, v.21, p.159-167, 2002.

SILVA, C. D. da; COSTA, L.M. da; MATOS, A.T. de; CECON, P.R.; SILVA, D.D. Vermicompostagem de lodo de esgoto urbano e bagaço de cana-de-açúcar. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola Ambiental**, Campina Grande, v.6, n.3, p.487-491, set./dez, 2002.

SILVEIRA, M.Â. **Agricultura familiar**. 2007. Disponível em: <http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/agricultura_e_meio_ambiente/arvore/CONTAG01_18_299200692526.html>. Acesso em: 28 jan. 2013.

SIMS, R.W.; GERARD, B.M. **Earthworms**. London: Field Studies Council, 1999. 172p.

SMITH, V.L.; PUNJA, Z.K.; JENKINS, F. A histological study of infection of host tissue by *Sclerotium rolfsii*. **Phytopathology**, v.76, p.755-759, 1986.

SOUZA, J.L. de; RESENDE, P. **Manual de Horticultura Orgânica**. Viçosa: Aprenda Fácil, 2003. 564p.

SOUZA, V.C.E. de. **Construção e manejo do minhocário, colheita do húmus e comercialização**. Brasília: Lk Editora, 2008. 88p.

SOUZA, J.L.; RESENDE, P. **Manual de horticultura orgânica**. Viçosa: Aprenda Fácil, 2003.

STEFFEN, G.P.K.; ANTONIOLLI, Z.I.; STEFFEN, R.B.; MACHADO, R.G. Casca de arroz e esterco bovino como substratos para a multiplicação de minhocas e produção de mudas de tomate e alface. **Acta Zoológica Mexicana**, v.26, n.2, p.333-343, 2010.

STONE, A.G., SCHEUERELL, S.J., DARBY, J.M. Suppression of soilborne diseases in field agricultural systems: organic matter management, cover cropping and other cultural practices. In: MAGDOFF, F., WEIL, R. (Eds.). **Soil organic matter in sustainable agriculture**. Boca Raton: CRC Press. 2004. p. 131-177.

SUNDERHUS, A.B. **Agricultura familiar**: desafiando um paradigma social e política para a sustentabilidade. Alegre/ES: Ed. Instituto Capixaba de Pesquisa e Assistência técnica e Extensão Rural, 2008. p.6.

SUSZEK, M.; SAMPAIO, S.C.; SUSZEK, F.L.; MALLMANN, L.S.; SILVESTRO, M.G. Aspectos físicos e químicos de vermicompostos produzidos a partir de esterco bovino e compostos de resíduos verdes urbanos. **Engenharia na Agricultura**, Viçosa, v.15, n.1, p.39-44, 2007.

SUTHAR, S. Potential utilization of guar gum industrial waste in vermicompost production. **Bioresource Technology**, Essex, v.97, p.2474-2477, 2006.

_____. Vermistabilization of municipal sewage sludge amended with sugarcane trash using epigeic *Eisenia fetida* (Oligochaeta). **Journal of Hazardous Materials**, Amsterdam, v.163, n.1, p.199-206, 2008.

SUTHAR, S.; SINGH, S. Feasibility of vermicomposting in biostabilization of sludge from a distillery industry. **Science of the Total Environment**, v.394, p. 237-243, 2008a.

_____. Comparison of some novel polyculture and traditional monoculture vermicomposting reactors to decompose organic wastes. **Ecological Engineering**, Oxford, v. 33, p.210-219, 2008b.

SZCZECH, M.; W. RONDONANSKI; M.W. BRZESKI; U. SMOLINSKA; J.F. KOTOWSKI. Suppressive effect of a commercial earthworm compost on some root infecting pathogens of cabbage and tomato. *Biol. Agric. Hortic.*, v.10, p.47-52, 1993.

SZCZECH, M.M. Suppressiveness of vermicompost against *Fusarium* wilt of tomato. *J. Phytopathol.*, v.147, p.155-161, 1999.

SZCEZECH, M.; SMOLINSKA, U. Comparison of suppressiveness of vermicompost produced from animal manures and sewage sludge against *Phytophthora nicotinae* Breda de Hann var. *nicotinae*. **J. Phytopathol.**, v.149, p.77-82, 2001.

SWATHI, P.; RAO, K.T.; RAO, P.A. Studies on controlo f root-knot nematode *Meloidogyne incognita* in tobacco miniseries. **Tobacco Research**, v.1, p.26-30, 1998.

TEDESCO, M.J.; GIANELLO, C; BISSANI, C.A; BOHNEN, H.; VOLKWEISS, S.J. **Análise de solo, plantas e outros materiais**. Porto Alegre: Editora UFRGS, 1995. 174p.

TIAGO, P.V.; MELZ, E.M.; SCHIEDECK, G. Comunidade de bactérias e fungos de esterco antes e após vermicompostagem e no substrato hortícola após uso de vermicomposto. **Rev. Ciênc. Agron.**, Fortaleza, v.39, n.2, p.187-192, 2008.

TIUNOV, A.V.; SCHEU, S. Carbon availability controls the growth of detritivores (Lumbricidae) and their effect on nitrogen mineralization. **Oecologia**, v.138, p.83–90, 2004.

TOGNETTI, C.; LAOS, F.; MAZZARINO, M.J.; HERNANDES, M.T. Composting vs. vermicomposting: a comparison of end product quality. **Compost Science & Utilization**, v.13, p.6-13, 2005.

TORTORA, G.J.; FUNKE, B.R.; CASE, C.L. **Microbiologia**. Tradução de Agnes K. Casali, Ane R. Bolner, Gertrudes Corção, Henrique B. Ferreira, Irene S. Schrank, Luciane M. P. Passaglia, Maurício Reis Bogo e Sandra E. Farias. 8.ed. Porto Alegre: Artes Médicas Sul, 2005, 920p.

TOYOTA, K.; KIMURA, M. Microbial community indigenous to the earthworm *Eisenia fetida*. **Biol. Fertil. Soils.**, v.31, p.187-190, 2000.

VEGRO, C.L.R.; CARVALHO, F.C. Disponibilidade e utilização de resíduos gerados no processamento agroindustrial do café. **Inf. Econ.**, v.24, p.9-16, 2006.

WELTZIEN, H.C. Some effects of composted organic materials on plant health. **Agric. Ecosyst. Environ.**, v.27, n.1-4, p.439-446, 1989.

YARDIM, E.N.; ARANCON, N.Q.; EDWARDS, C.A.; OLIVER, T.J.; BYRNE, R.J. Suppression by vermicomposts of tomato hornworm (*Manduca quinquemaculata*) and cucumber beetle (*Acalymma vittatum*) populations and damage. **Pedobiologia**, v.31, p.324-329, 2006.

ZAMBOLIM, L.; CONCEIÇÃO, M.Z.; SANTIAGO, T. 3.ed. **O que os Engenheiros Agrônomos devem saber para orientar o uso de produtos fitossanitários**. Viçosa, UFV/DFP, 2008. 464p.