

Adriane Theodoro Santos Alfaro  
Daiane Garabeli Trojan  
(orgs)

# Descobertas das Ciências Agrárias e Ambientais 2



**Adriane Theodoro Santos Alfaro  
Daiane Garabeli Trojan  
(Organizadoras)**

## **DESCOBERTAS DAS CIÊNCIAS AGRÁRIAS E AMBIENTAIS 2**

---

Atena Editora  
2017

2017 by Adriane Theodoro Santos Alfaro e Daiane Garabeli Trojan

Copyright © da Atena Editora

**Editora Chefe:** Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira

**Edição de Arte e Capa:** Geraldo Alves

**Revisão:** Os autores

#### **Conselho Editorial**

Prof. Dr. Álvaro Augusto de Borba Barreto (UFPEL)

Prof. Dr. Antonio Isidro-Filho (UnB)

Prof. Dr. Carlos Javier Mosquera Suárez (UDISTRITAL/Bogotá-Colombia)

Prof. Dr. Constantino Ribeiro de Oliveira Junior (UEPG)

Prof. Dr. Gilmei Francisco Fleck (UNIOESTE)

Prof. Dr. Ronilson Freitas de Souza (UEPA)

Prof. Dr. Takeshy Tachizawa (FACCAMP)

Prof. Dr. Valdemar Antonio Paffaro Junior (UFAL)

Profª Drª Adriana Regina Redivo (UNEMAT)

Profª Drª Deusilene Souza Vieira Dall'Acqua (UNIR)

Prof. Dr. Antonio Carlos Frasson (UTFPR)

Profª Drª Ivone Goulart Lopes (Istituto Internazionale delle Figlie de Maria Ausiliatric)

Profª Drª Lina Maria Gonçalves (UFT)

Profª Drª Vanessa Bordin Viera (IFAP)

<b>Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) (eDOC BRASIL, Belo Horizonte/MG)</b>
---

D448

Descobertas das ciências agrárias e ambientais 2 / Organizadoras Adriane Theodoro Santos Alfaro, Daiane Garabeli Trojan. – Ponta Grossa (PR): Atena Editora, 2017.  
328 p. : il. ; 10.233 kbytes

Formato: PDF

ISBN 978-85-93243-35-6

DOI 10.22533/at.ed.3562508

Inclui bibliografia

1. Agricultura. 2. Ciências ambientais. 3. Pesquisa agrária - Brasil. I. Alfaro, Adriane Theodoro Santos. II. Trojan, Daiane Garabeli. III. Título.

CDD-630

O conteúdo dos artigos e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos seus respectivos autores.

2017

Proibida a reprodução parcial ou total desta obra sem autorização da Atena Editora

[www.atenaeditora.com.br](http://www.atenaeditora.com.br)

E-mail: [contato@atenaeditora.com.br](mailto: contato@atenaeditora.com.br)

## Apresentação

Descobertas das Ciências Agrárias e Ambientais – Vol. 2 aborda os desafios para a sociedade em relação aos problemas ambientais que se inter relacionam com a questão econômica.

Mesmo a agricultura sendo uma ciência milenar, com ensinamentos passados entre gerações, movedora de inúmeros artigos acadêmicos, sendo estudada permanentemente entre as mais notórias instituições no mundo inteiro, nos parece que isso tudo ainda é insuficiente.

Quando alguns profissionais pensam que detém todo o conhecimento necessário para domar os seus fundamentos, vem a agricultura e muda o jogo, e faz seus profissionais buscarem outros e novos caminhos, para solucionar seus problemas, para potencializar suas ações.

O que esta edição se propõe é demonstrar para nossos leitores a grandeza da agricultura e faze-los enxergar soluções inovadoras, que resolvam problemas, dores latentes na cadeia agrícola, substituindo soluções fracassadas, equivocadas ou ineficientes.

Entendemos que temos como princípio oferecer oportunidades melhores, do que as que recebemos quando nós sentamos nos bancos escolares. E pensamos assim porque sabemos que está em nossas mãos criar informações que a agricultura e que o mercado agrícola precisa e merece ter.

E para isso ficar recebendo informações mastigas não é suficiente. Nunca foi. Precisamos aprender a buscar alimento na forma de informação. Precisamos saber transformar informação em resultado. Precisam transformar problemas em soluções. Precisam ser *high stakes*. E é essa proposta de valor que queremos compartilhar nessa edição.

O país trilha rumo ao progresso e tem que passar obrigatoriamente pelo desenvolvimento sustentável. Neste contexto, esta obra reúne o trabalho árduo de pesquisadores que buscam a transformação do século XXI, pois apresentam alternativas analíticas e estratégicas para um novo cenário sócio econômico ambiental.

Assim, esperamos que esta obra possa colaborar e estimular mais pesquisadores a transformar o século XXI através de um aparato científico-tecnológico que possa dar suporte ao nosso estilo de vida, com alto nível de conforto e com comprometimento da qualidade ambiental do nosso planeta.

*Adriane Theodoro Santos Alfaro*

*Daiane Garabeli Trojan*

## SUMÁRIO

Apresentação.....	03
<b><u>CAPÍTULO I</u></b>	
A APLICAÇÃO DE GESSO NO SOLO E A APLICAÇÃO DE K, S E MO FOLIAR NA CULTURA DO MILHO <i>Eloisa Lorenzetti, Juliano Tartaro, Vanessa de Oliveira Faria, Alfredo Alves Neto, Danielle Mattei e Nicanor Pilarski Henkemeier.....</i>	08
<b><u>CAPÍTULO II</u></b>	
ADAPTAÇÃO DE UMA SEMEADORA-ADUBADORA PARA CAPTAÇÃO DE ÁGUA <i>IN SITU</i> NO SEMIÁRIDO BRASILEIRO <i>Marcelo Queiroz Amorim, Carlos Alessandro Chioderoli, Elivânia Maria Sousa Nascimento, Jean Lucas Pereira Oliveira, Daniel Albiero e José Evanaldo Lima Lopes.....</i>	28
<b><u>CAPÍTULO III</u></b>	
ADUBAÇÃO NITROGENADA EM SOJA: UM ESTUDO SOBRE POTENCIAL FISIOLÓGICO DE SEMENTES <i>Artur Sousa Silva, Larisse Pinheiro Schmid, Jeissica Taline Prochnow, Lariza Lustosa de Oliveira e Thiago Henrique Gurgel Martins.....</i>	39
<b><u>CAPÍTULO IV</u></b>	
AVALIAÇÃO DA PRODUÇÃO DE ENZIMAS EXTRACELULARES POR ISOLADOS DO FUNGO PYCNOPORUS SANGUINEUS EM DIFERENTES MEIOS DE CULTIVO <i>Omari Dangelo Forlin Dildey, Simone Castagna Angelim Costa, Irineia Paulina Baretta, Aline Maiara Lorenzetti, Bruna Broti Rissato, Cristiane Cláudia Meinerz e Roberto Luiz Portz.....</i>	47
<b><u>CAPÍTULO V</u></b>	
AVALIAÇÃO DE UM MODELO DE COLETOR SOLAR CONSTRUÍDO COM GARRAFAS PET PARA SECAGEM DE PRODUTOS AGRÍCOLAS <i>Arlindo Fabrício Corrêia, Armin Feiden, Antônio Cesar Godoy, Jair Antonio Cruz Siqueira e Carlos Eduardo Camargo Nogueira.....</i>	57
<b><u>CAPÍTULO VI</u></b>	
BACTÉRIAS FITOPATOGÊNICAS: MEMBRANA E SISTEMAS DE SECREÇÃO <i>Eloisa Lorenzetti, Eliana Peliçon Pereira Figueira, Maria Cristina Copello Rotili, Anderson Luis Heling, Jeferson Carlos Carvalho e Odair José Kuhn.....</i>	72

## CAPÍTULO VII

COINOCULAÇÃO DE *Rhizobium tropici* E *Azospirillum brasiliense* VISANDO A SUSTENTABILIDADE DA PRODUÇÃO DO FEIJÓEIRO EM SOLO ARENOSO DO CERRADO

Fábio Steiner, Alan Mario Zuffo, Arnaldo Cintra Limede e Carlos Eduardo da Silva Oliveira.....86

## CAPÍTULO VIII

CONCENTRAÇÕES DOS ÍONS AMÔNIO E NITRATO NO CRESCIMENTO INICIAL DE PLANTAS

Janderson do Carmo Lima, Uasley Caldas de Oliveira, Aline dos Anjos Souza, Mariana Nogueira Bezerra e Anacleto Ranulfo dos Santos.....105

## CAPÍTULO IX

CONTROLE DE DOENÇAS EM VIVEIRO FLORESTAL POR RIZOBACTÉRIAS E RESIDENTES DE FILOPLANO

Ana Claudia Spassin, Alexandre Techy de Almeida Garrett e Flávio Augusto de Oliveira Garcia.....116

## CAPÍTULO X

CONTROLE *IN VITRO* DE *PHYTOPHTHORA CITRICOLA* POR DIFERENTES ISOLADOS DE *TRICHODERMA* spp.

Omari Dangelo Forlin Dildey, Karen Cristine Backes Barichello, Cristiane Cláudia Meinerz, Bruna Broti Rissato, Nicanor Pilarski Henkemeier, Laline Broetto, Odair José Kuhn e Claudio Yuji Tsutsumi.....135

## CAPÍTULO XI

CONTROLE *IN VITRO*, *IN VIVO* E PÓS COLHEITA DA ANTRACNOSE EM MORANGUEIRO

Lana Paola da Silva Chidichima, Eduardo Fernandes Polvani, Marlon Akiyama Ribas, Márcia de Holanda Nozaki, Camila Hendges e Maria José Biudes Rodrigues.....147

## CAPÍTULO XII

EFEITO ALELOPÁTICO DE EXTRATOS AQUOSOS DE CRAMBE (*Crambe abyssinica*) SOBRE O DESENVOLVIMENTO INICIAL DE PICÃO- PRETO (*Bidens pilosa*).

Silene Tais Brondani e Ana Paula Moraes Mourão Simonetti.....161

## CAPÍTULO XIII

ÉPOCAS DE SEMEADURA DE GENÓTIPOS DE CANOLA (*Brassica napus* L. var. oleifera) EM TRÊS ANOS DE CULTIVO NO ESTADO DA PARAÍBA

Roberto Wagner Cavalcanti Raposo, Gilberto Omar Tomm, Samuel Inocêncio Alves da Silva e Annie Evelyn Souto Raposo.....169

## CAPÍTULO XIV

ESTIMATIVA DE EVAPOTRANSPIRAÇÃO NO TOMATEIRO TIPO GRAPE

*Gabriel Siqueira Tavares Fernandes , Edivania de Araujo Lima, Joana D'arc Mendes Vieira , Daniela Vieira Chaves, Lucas Carvalho Soares e Poline Sena Almeida.....176*

## CAPÍTULO XV

EXTRATO DE SEMENTE DO ABACATE PARA INDUÇÃO DA FITOALEXINA GLICEOLINA EM COTILÉDONES DE SOJA

*Vanessa de Oliveira Faria, José Renato Stangarlin, Eloisa Lorenzetti, Jonathan Fernando Varoni, Carla Rosane Kosmann, Juliana Yuriko Habtzreuter Fujimoto, Sidiane Coltro-Roncato e Omari Dangelo Forlin Dildey.....183*

## CAPÍTULO XVI

FERTILIZANTE ORGANOMINERAL NO DESEMPENHO AGRONÔMICO E PRODUTIVIDADE DE FEIJÃO APLICADO NO SULCO DE PLANTIO

*Eli Carlos de Oliveira, José Roberto Pinto de Souza, Luiz Henrique Campos de Almeida e Adilson Luiz Seifert.....190*

## CAPÍTULO XVII

FLAGELO BACTERIANO

*Anderson Luis Heling, Jeferson Carlos Carvalho, Eloisa Lorenzetti, Odair José Kuhn, Eliana Peliçon Pereira Figueira e Maria Cristina Copello Rotili.....198*

## CAPÍTULO XVIII

INDUÇÃO DE FITOALEXINA EM FEIJOEIRO PELAS SOLUÇÕES HOMEOPÁTICAS PHOSPHORUS E CALCAREA CARBONICA

*Bruna Broti Rissato, Omari Dangelo Forlin Dildey, Edilaine Della Valentina Gonçalves-Trevisoli, Laline Broetto, Sidiane Coltro-Roncato e José Renato Stangarlin.....206*

## CAPÍTULO XIX

INOCULAÇÃO E APLICAÇÃO FOLIAR DE MOLIBDÊNIO EM AMENDOIM CULTIVADO EM ÁREA DE PASTAGEM DEGRADADA

*Mateus Vieira Trevisan, Fábio Steiner, Alan Mario Zuffo, Arnaldo Cintra Limede e Carlos Eduardo da Silva Oliveira.....214*

## CAPÍTULO XX

METODOLOGIA PARA DELIMITAÇÃO DE ÁREAS DE PRESERVAÇÃO PERMANENTE (APP) DE ENCOSTAS EM UMA BACIA HIDROGRÁFICA

*Luciano Cavalcante de Jesus França, João Batista Lopes da Silva, Danielle Piuzana Mucida, Gerson dos Santos Lisboa, José Wellington Batista Lopes, Samuel José Silva Soares da Rocha e Vicente Toledo Machado de Moraes Júnior.....234*

## CAPÍTULO XXI

MODELO DESCRIPTIVO DA RELAÇÃO ENTRE O PIB E A PRODUÇÃO DE SOJA NO ESTADO DO PARANÁ

*Genilso Gomes de Proença, Matheus de Lima Goedert, Ivan Coltro e Silvana Ligia Vincenzi e Carla Adriana Pizarro Schmidt.....* 248

## CAPÍTULO XXII

RELAÇÃO DA TEMPERATURA DO AR COM O TEOR DE CLOROFILA NO TOMATEIRO

*Gabriel Siqueira Tavares Fernandes , Edivania de Araujo Lima , Joana D'arc Mendes Vieira , Daniela Vieira Chaves , Adalberto Carvalho Trindade e Victor Alves Brito.....* 258

## CAPÍTULO XXIII

Trichoderma sp. COMO BIOPROTECTOR DE SEMENTES E PLÂNTULAS DE FEIJÃO (*Phaseolus vulgaris L.*) CULTIVADAS EM SOLO INFESTADOS COM *Macrophomina phaseolina*

*Laline Broetto, Omari Dangelo Forlin Dildey, Sidiane Coltro-Roncato, Bruna Broti Rissato, Alice Jacobus de Moraes e Odair José Kuhn.....* 264

## CAPÍTULO XXIV

VARIABILIDADE ESPACIAL DOS ATRIBUTOS QUÍMICOS DO SOLO E RECOMENDAÇÃO DE CALAGEM EM TAXA FIXA E VARIÁVEL

*João Henrique Gerardi Pereira, Douglas Wrubleski de Carvalho, Arlindo Fabrício Corrêia, Gustavo Ferreira Coelho, André Luis Piccin e Arlen Roberto Bassi.....* 274

## CAPÍTULO XXV

APLICAÇÃO DE ENSAIOS ECOTOXICOLÓGICOS E GENOTOXICOLÓGICOS UTILIZANDO *Daphnia magna* E *Eisenia andrei* COMO BIOINDICADORES EM SOLOS DE CULTIVO DE TABACO ORGÂNICO E CONVENCIONAL, MUNICÍPIO DE SANTA CRUZ DO SUL, RS, BRASIL

*Daiane Cristina de Moura, Alexandre Rieger e Eduardo Alcayaga Lobo.....* 288

*Sobre as organizadoras.....* 309

*Sobre os autores.....* 310

## **CAPÍTULO XI**

### **CONTROLE *IN VITRO*, *IN VIVO* E PÓS COLHEITA DA ANTRACNOSE EM MORANGUEIRO**

---

Lana Paola da Silva Chidichima  
Eduardo Fernandes Polvani  
Marlon Akiyama Ribas  
Márcia de Holanda Nozaki  
Camila Hendges  
Maria José Biudes Rodrigues

## **CONTROLE *IN VITRO*, *IN VIVO* E PÓS COLHEITA DA ANTRACNOSE EM MORANGUEIRO**

**Lana Paola da Silva Chidichima**

Graduanda de Agronomia, Pontifícia Universidade Católica do Paraná

Toledo – PR

**Eduardo Fernandes Polvani**

Graduando de Agronomia, Pontifícia Universidade Católica do Paraná

Toledo – PR

**Marlon Akiyama Ribas**

Graduando de Agronomia, Pontifícia Universidade Católica do Paraná

Toledo – PR

**Márcia de Holanda Nozaki**

Professora de Agronomia, Pontifícia Universidade Católica do Paraná

Toledo – PR

**Camila Henges**

Mestranda em Produção Vegetal, Universidade Estadual do Oeste do Paraná

Toledo – PR

**Maria José Biudes Rodrigues**

Graduanda de Agronomia, Pontifícia Universidade Católica do Paraná

Toledo – PR

**RESUMO:** A produção de morango é de grande importância a nível nacional, justificando a grande preocupação em relação às doenças, destacando-se a antracnose causada pelo fungo *Colletotrichum acutatum* como a mais prejudicial. O objetivo deste trabalho foi avaliar o controle da antracnose do morangueiro através do uso de diferentes produtos *in vitro*, *in vivo* e pós colheita. Foram realizados três ensaios separadamente, nas localidades da PUC-PR campus Toledo sendo realizados em laboratório de fitopatologia, em casa de vegetação e em frutos. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, constituídos pelos mesmos tratamentos sendo: 1) testemunha; 2) fungicida tiofanato metílico; 3) ácido acetilsalicílico; 4) *Saccharomyces cerevisiae* e 5) óleo de alecrim, com repetições variando para cada ensaio. Em laboratório foram realizadas avaliações *in vitro* e em frutos de crescimento micelial e esporulação. Para o ensaio *in vivo* realizou-se o controle nas mudas de morango em casa de vegetação, em que se avaliou o índice de severidade com uso da escala diagramática. O controle com fungicida não apresentou resultados satisfatórios *in vitro* e em pós colheita não diferindo estatisticamente da testemunha. Em todos os ensaios, o óleo de alecrim apresentou-se como o melhor tratamento, justificando uma boa alternativa ao controle químico.

**PALAVRAS-CHAVE:** *Colletotrichum acutatum*, sanidade de frutos, *Fragaria x ananassa*.

## 1. INTRODUÇÃO

A cultura do morangueiro desempenha hoje uma importante fonte de renda e mão de obra principalmente para pequenos produtores, sendo uma cultura sensível, exigindo cuidados durante todo o seu ciclo, principalmente após a colheita. No Brasil, as perdas estão na casa dos 39% das frutas comercializadas destacando assim o papel primordial dos cuidados com manuseio e conservação na colheita e pós colheita (Soares, 2009).

O morango destaca-se entre as frutas pequenas com maior produção a nível nacional, sendo consumido ao natural ou processado na forma de polpas, sorvetes, geleias, compotas e sucos, gerando um alto potencial rentável da cultura e aceitabilidade pelo mercado consumidor (Fachinello et al., 2011).

Dentre os patógenos que limitam o cultivo do morangueiro (*Fragaria X ananassa Duch.*) destaca-se *Colletotrichum* sp. principal agente causal do complexo antracnose do morangueiro no Brasil. A doença manifesta-se por diferentes espécies como *C.gloesporioides*, *C. acutatum* e *C. fragariae*, os mesmos produzem lesões e estrangulamento nos estolões, pecíolos, frutos e coroa da planta causando manchas escuras ou marrom clara que podem ocasionar morte da planta. Seus sintomas são bastante conhecidos como flor preta e encontra-se disseminada em diversas regiões do planeta principalmente nas regiões produtoras (Smith, 2013).

Visando a diminuição do uso de agrotóxicos e seus impactos ambientais, e ainda diminuindo o risco de surgimento de patógenos resistentes, algumas alternativas se fazem necessárias como o manejo de doenças baseado em modos preventivos como, controles culturais, utilização de mudas sadias e variedades resistentes, rotação de culturas, drenagem de solo adequada, desfavorecendo o ambiente para os patógenos (Reis; Costa, 2011)

Por ser um fruto altamente sensível e perecível, existe grande preocupação em manter sua cor, textura e aroma a um padrão aceitável para o mercado consumidor. O controle alternativo possibilita ótimos resultados sem afetar negativamente a produção dos morangos e ajuda na comercialização diante uma população cada vez mais exigente (Hernández-Muñoz et al., 2008).

Visando uma agricultura sustentável e objetivando a redução de efeitos negativos promovido pelos agrotóxicos, a busca por novas formas de proteção das plantas se faz necessário. O emprego de extratos vegetais, óleos essenciais, hidrolatos e biofertilizante são classificados como inibidores de crescimento micelial (Stangarlin, 2007; Boff, 2008).

O objetivo deste trabalho foi avaliar o controle da antracnose do morangueiro *in vitro*, *in vivo* e pós colheita, através do uso de diferentes produtos.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado em três etapas, visando o controle alternativo do

*Colletotrichum acutatum*. A primeira e segunda etapas, constituídas pelos controles alternativo *in vitro* e *in vivo* respectivamente, no laboratório de Fitopatologia da PUCPR, Campus Toledo. O terceiro experimento de controle foi realizado em casa de vegetação localizada na estação experimental da Pontifícia Universidade Católica do Paraná, Campus Toledo.

Para obtenção dos isolados de *Colletotrichum acutatum*, agente causador da antracnose no morango, folhas com sintomas da doença instalada no morangueiro (*Fragaria x ananassa*) foram coletadas de cultivos domésticos na cidade de Toledo-Paraná. Para o isolamento do fungo foi utilizado a metodologia de Alfenas e Mafia (2007a) em que pequenos fragmentos foram separados do tecido doente com auxílio de uma lâmina de corte. Os fragmentos de tecido foram submetidos a uma desinfecção prévia, primeiramente, em álcool 70 % por 30 segundos e, posteriormente, em hipoclorito de sódio 1% por 1 minuto. Após a assepsia, os fragmentos foram transferidos para placas de Petri contendo meio de cultura batata-dextrose-ágar, sendo armazenada em câmara B.O.D a 25°C por 7 dias.

#### **Ensaio 1: Controle *in vitro* de *Colletotrichum acutatum***

Foi utilizado um delineamento inteiramente casualizado, com cinco tratamentos e sete repetições cada. Os tratamentos utilizados foram: 1) Testemunha (sem nenhum controle); 2) Fungicida (Tiofanato metílico, na dose de 0,014 g em 20 mL de água); 3) Ácido Acetilsalicílico (0,04 g em 20 mL); 4) *Saccharomyces cerevisiae* (10 g em 20 mL); 5) Óleo essencial de alecrim (*Rosmarinus officinalis*, 1mL em 100 mL de água).

O meio utilizado foi BDA (batata-dextrose-ágar), previamente autoclavado (121°C/ 20 min) e transferidos para placas de Petri de 9 cm de diâmetro. Após solidificação do meio, discos miceliais de aproximadamente 5 mm de diâmetro obtidos de colônias puras do fungo, confeccionados com auxílio de um vazador de metal, foram depositados no centro de cada placa.

Os tratamentos foram dissolvidos em 20 mL de água deionizada e previamente autoclavados (121°C/ 20 min), com exceção do óleo essencial. Com auxílio de uma alça de platina foram depositadas estrias de cada tratamento na parte inferior das tampas das placas de Petri. O mesmo ocorreu com o óleo essencial, porém o mesmo não foi diluído em água como os demais. Para a testemunha, não se utilizou nenhuma forma de controle.

As placas foram vedadas, mantidas em temperatura ambiente e fotoperíodo alternado até que o crescimento micelial de um dos tratamentos completa-se toda a placa.

As avaliações de crescimento micelial ocorreram diariamente (mm/dia) no sentido diametricamente oposto das placas de Petri com auxílio de uma régua graduada, até que o micélio do fungo atingisse as bordas da placa, cobrindo a área total da placa.

Ao fim, realizou-se a contagem de esporos com auxílio da câmara de

Neubauer (hemacitômetro), onde foi preparado uma solução de esporos para cada tratamento. A solução foi preparada através da adição de 10 mL de água esterilizada em cada placa e realizada raspagem superficial do meio contendo a colônia do patógeno com ajuda de uma espátula de metal, separando os esporos do fungo do meio de cultura. Posteriormente a solução de esporos foi filtrada com auxílio de uma gaze e retirada em um bêquer de 100 mL. Para a contagem do número de esporos produzidos em cada tratamento, foi coletada 1 mL da solução, a qual foi depositada sobre a câmara de Neubauer (hemacitômetro).

### **Ensaio 2: Controle *in vivo* de *Colletotrichum acutatum* em mudas de morango**

Foram utilizadas mudas de morangueiro da variedade Camarosa obtida diretamente do produtor da cidade de Toledo-Paraná, cultivadas em bandejas de poliestireno com substrato Plantmax® em ambiente controlado sob irrigação por aspersão três vezes ao dia.

Foi adotado o delineamento em blocos casualizados com os seguintes tratamentos: 1) Testemunha (sem nenhum controle); 2) Fungicida (Tiofanato metílico, na dose de 0,014 g em 20 mL de água); 3) Ácido Acetilsalicílico (0,04 g em 20 mL); 4) *Saccharomyces cerevisiae* (10 g em 20 mL); 5) Óleo essencial de *Rosmarinus officinalis* (1mL em 100mL de água), com 10 repetições cada. Cada parcela foi constituída por uma muda de morango.

Para o preparo da suspensão de esporos utilizou-se 10 mL de água desionizada depositada sobre as colônias esporuladas e com auxílio de uma alça de platina foi raspado a colônia separando os esporos do micélio, posteriormente filtrado com uma gaze a suspensão a fim de remover os fragmentos de micélio, obtendo uma suspensão de esporos como inóculo (Alfenas & Mafia, 2007b).

As folhas de morango foram devidamente feridas com auxílio de uma alça de platina para ajudar na penetração do patógeno e pulverizadas com os tratamentos a uma hora antes da inoculação do *Colletotrichum acutatum*. Posterior a inoculação, as mudas foram submetidas à câmara úmida com sacos plásticos por 24 horas para manter a umidade propícia a germinação e penetração nos tecidos da folha (Alfenas & Mafia, 2007b).

As avaliações de severidade foram realizadas aos 3, 6, 9 e 12 dias após inoculação (D.A.I.) com auxílio da escala diagramática expressa em porcentagem de área foliar lesionada (Azevedo, 1997). Sendo avaliado o trifólio com maior incidência do fungo.

### **Ensaio 3: Controle pós colheita de *Colletotrichum acutatum*.**

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com cinco tratamentos e oito repetições. Cada repetição constituída por 8 frutos de tamanho uniforme e sem ferimentos físicos para cada recipiente, sendo estes

adquiridos diretamente do produtor. Os tratamentos foram: 1) Testemunha (sem nenhum controle); 2) Fungicida (Tiofanato metílico, na dose de 0,014 g em 20 mL de água); 3) Ácido Acetilsalicílico (0,04 g em 20 mL); 4) *Saccharomyces cerevisiae* (10 g em 20 mL); 5) Óleo essencial de *Rosmarinus officinalis* (1mL em 100 mL de água).

A coleta dos frutos de morangos foi realizada 24 horas antes da aplicação dos isolados de antracnose, e mantidos sob temperatura de 15° C, para manter sua viabilidade.

Os frutos de morango passaram por uma desinfecção prévia através da imersão em solução de hipoclorito de sódio (0,1% cloro ativo) durante 30 segundos, procedendo-se à lavagem em água destilada e esterilizada, e secagem sob temperatura ambiente durante 10 minutos. Os frutos foram depositados em um recipiente plástico de 20 x 5 cm com tampa, realizando inoculação do patógeno 1 hora após a aplicação dos tratamentos. Para o tratamento testemunha foi aplicado água destilada e para os demais tratamentos foram inoculadas dois discos miceliais de *Colletotrichum acutatum* obtido através de colônias puras do fungo com 20 dias de cultivo. Com auxílio de um vazador de metal de 5 mm de diâmetro foram obtidos os discos, sendo depositado no fruto com auxílio de uma alça de platina. Os recipientes foram mantidos sob temperatura ambiente de 25 °C ± 5 °C durante o período de 5 dias de avaliação.

O crescimento micelial da colônia sobre os frutos foi avaliado diariamente, com auxílio de uma régua graduada de 30 cm, sendo medidas os sentidos diametricamente opostos aos frutos, até que em algum dos tratamentos, a colônia completasse todo o diâmetro do fruto.

## Análise estatística

Os dados coletados foram submetidos ao teste de comparação de médias Tukey ao nível de 5% de probabilidade, com auxílio de programa estatístico SISVAR (Ferreira, 2011).

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Ensaio 1: Controle *in vitro* de *Colletotrichum acutatum*

A avaliação do crescimento micelial para o ensaio findou ao 11º dia após a instalação do experimento, quando a colônia do tratamento com ácido acetilsalicílico atingiu o crescimento por toda área da placa de Petri.

Para o crescimento micelial e números de esporos do *C. acutatum*, a análise de variância revelou diferenças significativas ( $P<0,05$ ) em função dos diferentes tratamentos nos quais foram submetidos.

Quando avaliado crescimento micelial, o tratamento 5 (óleo essencial de

alecrim) se destacou dos demais tratamentos apresentando um menor crescimento do patógeno. Enquanto que o tratamento 4 (*Saccharomyces cerevisiae*) observou-se uma menor eficiência na supressão do crescimento micelial do fungo, sendo semelhante ao ácido acetilsalicílico, conforme demonstra a Tabela 1.

**Tabela 1.** Crescimento micelial (cm) e número de esporos *Colletotrichum acutatum* submetido a diferentes tratamentos de controle *in vitro*.

TRATAMENTOS	CRESCIMENTO MICELIAL (CM)	NÚMERO DE ESPOROS
1) Testemunha	3,29 b	88,00 b
2) Fungicida (Tiofanato metílico)	3,69 bc	61,50 ab
3) Ácido Acetilsalicílico	4,62 cd	31,25 a
4) <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	4,93 d	46,25 a
5) Óleo essencial de alecrim	0,14 a	30,00 a
MÉDIA	3,34	51,40
CV (%)	80,68	32,35

Fonte: O autor, 2017

\*Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Para números de esporos, o tratamento 3 (Ácido Acetilsalicílico), o 4 (*Saccharomyces cerevisiae*) e 5 (óleo de alecrim), apresentaram menor número de esporos, sendo, porém semelhante ao fungicida. A testemunha sem tratamento apresentou maior esporulação.

No tratamento com óleo de alecrim, houve uma inibição completa até o 8º dia de avaliação, onde se observa a partir de então o início do crescimento micelial. Por se tratar de um óleo volátil, mesmo *in vitro* a redução da inibição se deve a volatilização de seus constituintes ou a modificação da atmosfera inicial podendo ser as alterações de luminosidade, calor, ar, umidade e metais, conforme relatam (Simões; Spitzer, 2000).

Extratos vegetais e óleos essenciais tem obtido ênfase no uso de controle alternativo de fitopatógenos, se revelando um potente biofungicida. Isso se dá por conter em sua composição aliados que atuam na parede celular dos fungos, comprometendo a membrana celular devido ao extravasamento do seu líquido, reduzindo assim, o crescimento micelial ou até mesmo inibindo totalmente seu crescimento (Pereira, 2011; Amaral; Bara, 2005).

Segundo Félix-Silva et al. (2012) e Batista et al. (2013), o alecrim possui metabólitos secundários de grande importância, tais como os fenóis (flavonoides, taninos condensados e as saponinas) e o terpenos, que conferem uma proteção extra as plantas ou até mesmo permitir que haja interações com o meio em que estão inseridas.

Em trabalho similar Itako et al. (2009), obtiveram resultados significativos com o uso de extrato bruto aquoso de alecrim comprovando os efeitos satisfatórios

na inibição do crescimento micelial, esporulação e germinação *in vitro* de esporos de *C. gloesporioides*, corroborando com os resultados do trabalho em questão.

Tavares et al. (2005), observaram resultados semelhantes ao detectar em estudos a baixa atuação do fungicida tiofanato metílico em relação à testemunha no controle *in vitro*, concluindo-se que pelo grande desenvolvimento micelial perante o tratamento comprova a presença de resistência cruzada para este grupo de fungicida sendo o fungo *C. gloesporioides* insensível ao mesmo.

## Ensaio 2: Controle *in vivo* de *Colletotrichum acutatum* em mudas de morango

A avaliação do índice de severidade do fungo *Colletotrichum acutatum* nas mudas de morango, findou-se ao 12º dia após a instalação do experimento.

Para o índice de severidade (%) de *C. acutatum*, a análise de variância revelou diferenças significativas ( $P<0,05$ ) em função dos diferentes tratamentos nos quais foram submetidos.

Quando avaliado o índice da doença, o tratamento com óleo de alecrim (*Rosmarinus officinalis*) se destacou dos demais tratamentos apresentando uma menor incidência do patógeno nas mudas do morangueiro. O tratamento 3 (Ácido Acetilsalicílico) obteve resultado semelhante ao 1 (óleo de alecrim) porém sendo semelhante aos tratamentos 2 (fungicida) e 4 (*Saccharomyces cerevisiae*) (Tabela 2).

Tabela 2. Índice de severidade (%) de *Colletotrichum acutatum* em folhas de mudas de morango submetidos a diferentes formas de controle.

TRATAMENTOS	ÍNDICE DE SEVERIDADE (%)
1)Testemunha	16,27c
2)Fungicida (Tiofanato metílico)	8,95b
3)Ácido Acetilsalicílico	6,025ab
4) <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	9,82b
5)Óleo essencial de alecrim	2,12a
MÉDIA	8,68
CV (%)	112,66

Fonte: O autor, 2017

\*Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Em trabalho similar, Arieira et al. (2010) obteve bons resultados com o uso de óleos essenciais no controle do *Colletotrichum acutatum* no morangueiro, onde utilizou-se o óleo de nim (*Azadirachta incica*) e (*Eucalyptus citriodora*) em que ambos reduziram o desenvolvimento do patógeno nas plantas, resultados estes similares aos obtidos no presente trabalho, porém com o uso de óleo de alecrim.

Itako et al. (2008) verificaram que os extratos brutos aquosos de alecrim (*Rosmarinus officinalis*) reduziram a esporulação e germinação de esporos de *Alternaria solani*, observando-se que nas plantas de tomateiro, verificou-se uma

diminuição na incidência das lesões nas folhas em relação à testemunha, corroborando com o presente estudo em que o óleo de alecrim apresentou eficiente na redução de lesões fúngicas nas folhas de morango.

Alguns estudos mostram a ação *in vivo* de extratos e óleos essenciais sobre outras espécies do gênero *Colletotrichum*. Carvalho et al. (2008) avaliando o efeito curativo dos extratos aquosos de capim-limão em antracnose do pimentão, causada pelos fungos *Colletotrichum martinii* e *C. gloeosporioides*, observaram que o extrato aquoso não foi eficiente na redução da doença. Estudando extrato aquoso de eucalipto (*Eucalyptus citriodora*) reduziu o número de lesões em folhas de pepino, inoculadas com *C. lagenarium* (Bonaldo et al., 2004), onde no presente trabalho o resultado foi satisfatório utilizando óleo de alecrim (*Rosmarinus officinalis*) no controle de *C. acutatum* em folhas de mudas de morango.

Nascimento et al. (2008), corroborando com os resultados do presente estudo, utilizando Agro-mos® (mananoligossacarídeo fosforilado derivado da parede da levedura *Saccharomyces cerevisiae*) observou que este, não gerou resultados expressivos e consistentes, se diferindo apenas até o terceiro dia de avaliação da testemunha que foi o pior tratamento. Resultados semelhantes foram observados no presente trabalho com o uso de *Saccharomyces cerevisiae* em que o tratamento não obteve diferença estatística sobre a testemunha em mudas de morango.

### Ensaio 3: Controle pós colheita de *Colletotrichum acutatum*

A avaliação do crescimento micelial de *Colletotrichum acutatum* para diferentes controles findou aos 5 dias, período em que o tratamento *Saccharomyces cerevisiae* teve seu crescimento micelial sobre toda a placa de Petri.

A análise de variância para o crescimento micelial revelou diferenças significativas ( $P<0,05$ ) em função dos diferentes controles em frutos pós-colheita.

Para a avaliação de crescimento micelial, o óleo de alecrim se destacou dos demais tratamentos apresentando menor crescimento do patógeno. Porém, o tratamento com *Saccharomyces cerevisiae* obteve uma menor eficiência na supressão do crescimento micelial do fungo, sendo este semelhante ao tratamento fungicida, entretanto inferior quando comparado aos demais tratamentos, conforme apresentado na Tabela 3.

**Tabela 3. Crescimento micelial (cm) de *Colletotrichum acutatum* em frutos de morango submetidos a diferentes formas de controle.**

TRATAMENTOS	CRESCIMENTO MICELIAL(cm)
1)Testemunha	1,66c
2)Fungicida (Tiofanato metílico)	1,50bc
3)Ácido Acetilsalicílico	1,17ab

4) <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	1,64c
5) Óleo essencial de alecrim	0,78a
MÉDIA	1,35
CV (%)	49,77

Fonte: O autor, 2017

\*Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Aquino et al. (2014) em estudo no maracujazeiro-amarelo, envolvendo antracnose em pós-colheita, o patógeno *Colletotrichum* foi considerado como um dos mais resistentes com crescimento rápido em frutos maduros. Porém obteve resultados eficazes com utilização dos óleos medicinais destacando-se o óleo de alecrim (*Rosmarinus officinalis*), que se mostrou eficaz no controle do patógeno *Colletotrichum* spp., resultado este semelhante ao encontrado no presente trabalho.

O Ácido acetilsalicílico apresentou-se como o segundo melhor tratamento sendo ainda semelhante ao óleo de alecrim, porém superior ao tratamento com *Saccharomyces cerevisiae* e a testemunha. Isso se deve a grande quantidade de reações metabólicas destacando-se o papel primordial na defesa da planta contra estresses abióticos e bióticos, assim contribuindo para o aumento do tempo de pós-colheita. (Asghari; Aghdam, 2010).

Zhu e Tian (2012) obtiveram ótimos resultados com a utilização de ácido acetilsalicílico em seus estudos, observando a diminuição efetiva do crescimento micelial de *Colletotrichum gloesporioides*. Resultados similares foram obtidos no presente estudo com utilização de *Colletotrichum acutatum*, onde observou a supressão do patógeno no fruto.

Para o tratamento com fungicida, houve um resultado insatisfatório por não se diferir da testemunha, uma vez sendo este um produto comercial.

Segundo resultados obtidos por outros autores (Fancelli; Kimati, 1991; Igarashi, 1984; Sinigaglia, 1996; Tanaka et al., 1997), o grupo Tiofanato metílico não controlou com eficiência a flor preta do morangueiro, principalmente quando aplicados após o início da epidemia, justificando a baixa eficiência do fungicida no trabalho em questão.

Resultados similares foram observados por Gouvea et al. (2009) ao utilizar *Saccharomyces cerevisiae* no controle de *Colletotrichum acutatum* obtendo resultados satisfatórios, sendo estes inferiores à testemunha. Isto ocorre provavelmente porque a planta deixa de expressar a resistência pela não continuidade do estímulo necessário à síntese de proteína lítica, não conseguindo identificar a presença do patógeno e por consequência não ativando os mecanismos de resistência.

#### 4. CONCLUSÕES

O óleo de alecrim apresentou-se como melhor tratamento em todos os

ensaios, sendo esta uma alternativa ao uso de agroquímicos.

O tratamento químico a base de Tiofanato metílico não realizou o controle e supressão sobre o fungo *Colletotrichum acutatum* de forma satisfatória, portanto, não é uma boa alternativa para o controle do fungo em questão.

## REFERÊNCIAS

- ALFENAS, A. C.; MAFIA, R. G. **Métodos em fitopatologia**. Viçosa: Ed. UFV, 2007. 382.
- AMARAL, M. F.Z. J.; BARA, M. T. F. Avaliação da atividade antifúngica de extratos de plantas sobre o crescimento de fitopatógenos. **Revista Eletrônica de Farmácia**, São Paulo, v.2, n.2, p.5-8, jun./dez. 2005.
- AQUINO, C. F.; SALES, N. L. P.; SOARES, E. P. S.; MARTINS, E. R.; COSTA, C. A. Composição química e atividade *in vitro* de três óleos essenciais sobre *Colletotrichum gloeosporioides* do maracujazeiro. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Campinas, v.16, n.2, supl. I, p.329-336, 2014.
- ARIEIRA, C. R. D.; FERREIRA, L. R. da; ARIEIRA, J. O. de.; MIGUEL, E. G.; DONEGA, M. A.; RIBEIRO, R. C. F. Atividade do óleo de *Eucalyptus citriodora* e *Azadirachta indica* no controle de *Colletotrichum acutatum* em morangueiro. **Summa phytopathol.** vol.36 no.3 Botucatu July/Sept. 2010.
- ASGHARI, M.; AGHDAM, M. S. Impact of salicylic acid on post-harvest physiology of horticultural crops. **Trends in Food Science & Technology**. v. 21, p. 502 – 509, 2010.
- AZEVEDO, L. A. S. **Manual de quantificação de doenças de plantas**. São Paulo: LASA, 1997.
- BATISTA, L. C. S. O. de.; COELHO, C. N.; SILVA, A. F. da.; CID, Y. P.; MAGALHÃES, V. S. de.; CHAVES, D. S. A. de.; COUMENDOUROS, K. *Rosmarinus officinalis* (Lamiaceae): atividade *in vitro* frente a ectoparasitos de importância veterinária. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v.35, Supl.2, p.119-125, 2013.
- BOFF, P. Agropecuária saudável: da prevenção de doenças, pragas e parasitas à terapêutica não residual. Lages: Epagri/ Udesc, 2008. 80p.
- BONALDO, S. M.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; STANGARLIN, J. R.; TESSMANN, D. J. SCAPIM, C. A. Fungitoxicidade, atividade elicitora de fitoalexinas e proteção de pepino contra *Colletotrichum lagenarium*, pelo extrato aquoso de *Eucalyptus*

*citriodora*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 29, n. 2, p. 128-134, 2004.

CARVALHO, J. B.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; BONALDO, S. M.; CRUZ, M. E. S.; CARLOS, M. M.; STANGARLIN, J. R. Fungitoxicidade de *Cymbopogon citratus* e *Cymbopogon martinii* a *Colletotrichum gloeosporioides* em frutos de pimentão. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Botucatu, v.10, n.1, p.88-93, 2008.

FACHINELLO, J. C.; PASA, M. S. da.; SCHMTIZ, J. D.; BETEMPS, D. L. Situação e perspectivas da fruticultura de clima temperado no Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Volume Especial, E. 109-120, Outubro 2011.

FANCELLI, M.I., KIMATI, H. Sensibilidade “*in vitro*” de *Colletotrichum acutatum* a novos fungicidas. **Summa Phytopathol.**, v.17, n.1, p 21, 1991.

FÉLIX-SILVA, J.; TOMAZ, I. M.; SILVA, M. G.; SANTOS, K. S. C. R.; SILVA-JÚNIOR, A. A.; CARVALHO, M. C. R. D.; SOARES, L. A. L.; FERNANDES-PEDROSA, M. F. Identificação botânica e química de espécies vegetais de uso popular no Rio Grande do Norte, Brasil. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v.14, n.3, p.548-555, 2012.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, v.35, n.6, p.1039-1042, 2011.

GOUVEA, A.; KUHN, O. J.; MAZARO, S. M.; MIO, L. L. M.; DESCHAMPS, C.; BIASI, L. A.; FONSECA, V. C. Controle de doenças foliares e de flores e qualidade pós-colheita do morangueiro tratado com *Saccharomyces cerevisiae*. **Hortic. Bras.** vol.27 no.4 Brasília Oct./Dec. 2009.

HERNANDEZ-MUNOZ, P.; ALMENAR, E.; DEL VALLE, V.; VELEZ, D.; GALVARA, R. Effect of chitosan coating combined with postharvest calcium treatment on strawberry (*Fragaria ananassa*) quality during refrigerated storage. **Food Chemistry** v.110, p. 428-435, 2008.

IGARASHI, S. **Sensibilidade a fungicidas e caracterização morfológica, patogênica e serológica de *Colletotrichum* spp. do morango (*Fragaria* spp.)**. Piracicaba: 1984. 57p. Dissertação (Mestrado)-Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.

ITAKO, A. T.; KÁTIA, R. F.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; TOLENTINO JUNIOR, J.; STARLING, J. R.; SILVA CRUZ, M. E. Atividade antifúngica e proteção do tomateiro por extratos de plantas medicinais. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, DF, v. 33, n. 3, p. 241-244, maio-jun. 2008.

ITAKO, A. T.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; STANGARLIN, J. R. , TOLENTINO JÚNIOR, J. B.; CRUZ, M. E. S. Controle de *Cladosporium fulvum* em tomateiro por extratos de plantas medicinais. *Arquivos do Instituto Biológico*, Arq. Inst. Biol., São Paulo, v.76, n.1, p.75-83, jan./mar., 2009.

NASCIMENTO, L. C. do; NERY, A. R.; RODRIGUES, L. N. Controle de *Colletotrichum gloeosporioides* em mamoeiro, utilizando em mamoeiro, utilizando extratos vegetais, indutores de resistência e fungicida. *Acta Scientiarum. Agronomy*. Maringá, v. 30, n. 3, p. 313-319, 2008.

PEREIRA, R. B.; LUCAS, G. C.; PERINA, F. J.; RESENDE, M. L. V.; ALVES, E. Potential of essential oils for the control of Brown eye spot in coffee plants. *Ciência e Agrotecnologia*, Lavras, v.35, n.1, p.115-23, 2011.

REIS, A.; COSTA, H. Principais doenças do morangueiro no Brasil e seu controle. Embrapa. Circular técnica n. 96 Brasília, DF Dezembro, 2011.

SIMÕES, C. M. O.; SPITZER, V. Óleos voláteis. *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. Porto Alegre/Florianópolis: UFRGS/UFSC, 2000. Cap.18.

SINIGAGLIA, C. Efeito de fungicidas no controle da antracnose do morangueiro (*Fragaria x ananassa Duch.*) In: **CONGRESSO PAULISTA DE FITOPATOLOGIA**, 19., 1996, Campinas, SP. Resumos. Campinas:1996. p. 107.

SMITH, B. J. Strawberry Anthracnose: Progress toward Control through Science. *International Journal of Food Science*, v.13, p.91-102, 2013.

SOARES, A. G. Perdas pós-colheita de frutas e hortaliças. *Fórum de Agronegócio da Unicamp – Qualidade e Segurança de Alimentos*. Campinas, 2009.

STANGARLIN, J. R. Uso de extratos e óleos essenciais no controle de doenças de plantas - **Fitopatologia Brasileira**, Maringá, v. 32 suplemento, ago 2007, p. s94-s96.

STANGARLIN, J. R.; CRUZ, M. E. da S. Atividade antifúngica e proteção do tomateiro por extratos de plantas medicinais. *Tropical Plant Pathology*, Brasília, v. 33, n. 3, p. 241-244, 2008.

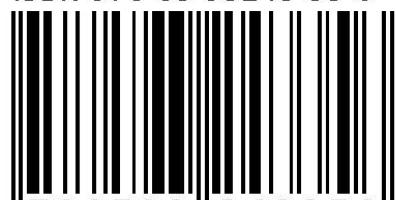
TANAKA, M. A. S.; PASSOS, F. A.; BETTY, J. A. Resistência de *Colletotrichum fragariae* e *Colletotrichum acutatum* a benomyl na cultura do morango no Estado de São Paulo. *Sci. Agric.*, Piracicaba, v.54, n.3, p.139-146, 1997.

TAVARES, G. M.; SOUZA, P. E. Efeito de fungicidas no controle *in vitro* de *Colletotrichum gloeosporioides*, agente etiológico da Antracnose do Mamoeiro (*Carica papaya* L.). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.29, n.1, p.52-59, jan./fev. 2005.

ZHU, Z.; TIAN, S. Resistant responses of tomato fruit treated with exogenous methyl jasmonate to *Botrytis cinerea* infection. **Scientia Horticulturae**. v. 142, p. 38 – 43, july, 2012.

Agência Brasileira do ISBN

ISBN 978-85-93243-35-6



9 788593 243356