

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CAMPUS DE BOTUCATU

**EFEITO DO LODO DE ESGOTO SOBRE A ATIVIDADE
MICROBIANA E FITOPATÓGENOS HABITANTES DO SOLO**

IDALMIR DOS SANTOS

Orientador: Prof. Dr. Wagner Bettiol

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agronômicas
- UNESP, Campus de Botucatu, para obtenção do Título
de Doutor em Agronomia - Área de Concentração
Proteção de Plantas.

BOTUCATU - SP
Dezembro – 2001

AGRADECIMENTOS

Ao Centro Federal de Educação Tecnológica do Paraná, Unidade de Pato Branco (CEFET/PR-UNED PB), pelo consentimento e apoio financeiro para o curso de doutorado.

À Embrapa Meio Ambiente, pela infra-estrutura oferecida e apoio na execução dos experimentos.

Ao pesquisador da Embrapa Meio Ambiente, Prof. Dr. Wagner Bettiol, pela orientação nos trabalhos desta tese.

À colega e esposa, Andréa Iruzun Linhares, com carinho, por toda dedicação e colaboração durante o curso, pelo apoio afetivo e pelo auxílio nos trabalhos.

Aos professores e funcionários do Departamento de Produção Vegetal, setor de Defesa Fitossanitária, FCA, UNESP, pela receptividade e disponibilidade em auxiliar.

Aos pesquisadores, funcionários e colegas estagiários do Laboratório de Microbiologia e Fitopatologia da Embrapa Meio Ambiente, pelo apoio nos trabalhos e amizade.

SUMÁRIO

	Página
1 RESUMO	1
2 SUMMARY	3
3 INTRODUÇÃO	6
4 REVISÃO DE LITERATURA	10
4.1 Aspectos gerais sobre o lodo de esgoto	10
4.1.1 Conceito e origem do lodo de esgoto.....	10
4.1.2 Composição do esgoto e sistemas de tratamento	11
4.1.3 Nutrientes minerais contidos no lodo de esgoto	11
4.2 Efeito do lodo de esgoto em doenças causadas por fungos habitantes do solo	13
4.3 Efeito do lodo de esgoto sobre nematóides	21
4.4 Efeito do lodo de esgoto em doenças causadas por bactérias.....	21
4.5 Efeito do lodo de esgoto em doenças da parte aérea das plantas.....	23
4.6 Mecanismos envolvidos no controle das doenças	23
4.7 Presença de fitopatógenos no lodo de esgoto	26
5 MATERIAL E MÉTODOS	28
5.1 Origem e características do lodo de esgoto	28
5.2 Local dos trabalhos e características do solo	30
5.3 Origem e características dos fitopatógenos	30
5.4 Efeito de lodo de esgoto sobre o crescimento micelial de fitopatógenos habitantes do solo.....	31
5.5 Efeito do lodo de esgoto no tombamento de plântulas de pepino causado por <i>Pythium aphanidermatum</i>	32
5.6 Efeito do lodo de esgoto na podridão do colo e tombamento de plântulas de feijoeiro causados por <i>Sclerotium rolfsii</i> e na sobrevivência dos escleródios do fungo	34
5.6.1 Indução de supressividade de solo com lodo de esgoto avaliada pela sobrevivência dos escleródios	34
5.6.2 Indução da supressividade do solo com lodo de esgoto avaliada pela severidade da doença em condições controladas.....	36

	Página
5.6.3 Indução da supressividade do solo com lodo de esgoto avaliada pela severidade da doença em condições de campo.....	37
6 RESULTADOS E DISCUSSÃO	40
6.1 Efeito de lodo de esgoto sobre o crescimento micelial de fitopatógenos habitantes do solo.....	40
6.2 Efeito do lodo de esgoto no tombamento de plântulas de pepino causado por <i>Pythium aphanidermatum</i>	46
6.3 Efeito do lodo de esgoto na podridão do colo e tombamento de plântulas de feijoeiro causados por <i>Sclerotium rolfsii</i> e na sobrevivência dos escleródios do fungo	57
6.3.1 Indução de supressividade de solo com lodo de esgoto avaliada pela sobrevivência dos escleródios	57
6.3.2 Indução da supressividade do solo com lodo de esgoto avaliada pela severidade da doença em condições controladas.....	58
6.3.3 Indução da supressividade do solo com lodo de esgoto avaliada pela intensidade da doença em condições de campo	60
7 CONCLUSÕES	70
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	71

LISTA DE QUADROS

Quadro	Página
1 Características químicas dos lodos de esgotos de Franca (SP) e Barueri (SP) e concentrações limites permitidas de metais para uso agrícola	29
2 Resultados de análises químicas de terra para fins de fertilidade	30
3 Efeito do lodo de esgoto autoclavado e solo na taxa de crescimento micelial (mm/dia) de fitopatógenos habitantes do solo.....	41
4 Efeito do lodo de esgoto não autoclavado e solo na taxa de crescimento micelial (mm/dia) de fitopatógenos habitantes do solo	42
5 Coeficiente de correlação entre a severidade da doença causada por <i>Pythium aphanidermatum</i> em plântulas de pepino e o pH, condutividade elétrica e atividade microbiana do solo contendo doses de lodo de esgoto, no segundo cultivo do primeiro teste	51
6 Coeficiente de correlação entre a severidade da doença causada por <i>Pythium aphanidermatum</i> em plântulas de pepino e o pH, condutividade elétrica e atividade microbiana do solo contendo lodo de esgoto, no segundo e terceiro cultivos do segundo teste	51
7 Porcentagem de escleródios de <i>Sclerotium rolfsii</i> viáveis e submetidos a diferentes concentrações de lodo de esgoto em quanto épocas de avaliação	58
8 Efeito do lodo de esgoto na severidade da doenças causada por <i>Sclerotium rolfsii</i> em feijoeiro tipo carioquinha em vaso	59
9 Efeito do lodo de esgoto sobre o pH e a condutividade elétrica do solo, emergência, estande e a severidade da doença causada por <i>Sclerotium rolfsii</i> em plantas de feijoeiro (tipo carioquinha), no 1º cultivo após a incorporação do lodo	61
10 Efeito do lodo de esgoto sobre o pH e a condutividade elétrica do solo, emergência, estande e a severidade da doença causada por <i>Sclerotium rolfsii</i> em plantas de feijoeiro (tipo carioquinha), no 2º cultivo após a incorporação do lodo	62
11 Efeito do lodo de esgoto sobre o pH e a condutividade elétrica do solo, emergência, estande e a severidade da doença causada por <i>Sclerotium rolfsii</i> em plantas de feijoeiro (tipo carioquinha), no 3º cultivo após a incorporação do lodo	63

Página

12	Coeficiente de correlação entre a intensidade das doenças causada por <i>Sclerotium rolfsii</i> em feijoeiro e o pH, condutividade elétrica e atividade microbiana do solo contendo lodo de esgoto, em três cultivos.....	66
13	Efeito do lodo de esgoto na sobrevivência de esclerodios de <i>Sclerotium rolfsii</i> e no peso da matéria seca das plantas de feijoeiro (tipo carioquinha).....	69

LISTA DE FIGURAS

Figura	Página
1 Efeito do lodo de esgoto na severidade da doença causada por <i>Pythium aphanidermatum</i> em plântulas de pepino, nos cultivos do primeiro (A) e do segundo teste (B), nos tratamentos com fertilizantes.....	47
2 Efeito do lodo de esgoto na severidade da doença causada por <i>Pythium aphanidermatum</i> em plântulas de pepino, nos cultivos do primeiro (A) e do segundo teste (B), nos tratamentos sem fertilizantes.....	48
3 Efeito do lodo de esgoto na atividade microbiana do solo, medida por hidrólise de diacetato de fluoresceína (FDA) no segundo cultivo do primeiro teste (A) e no terceiro cultivo do segundo teste (B).....	50
4 Efeito do lodo de esgoto na condutividade elétrica (ds/m) do substrato, no primeiro (A) e no segundo (B) teste, nos tratamentos com fertilizante	53
5 Efeito do lodo de esgoto na condutividade elétrica (ds/m) do substrato, no primeiro (A) e no segundo (B) teste, nos tratamentos sem fertilizante	53
6 Efeito do lodo de esgoto no pH do substrato, no primeiro (A) e no segundo teste, nos tratamentos com fertilizante	54
7 Efeito do lodo de esgoto no pH do substrato, no primeiro (A) e no segundo teste, nos tratamentos sem fertilizante	54
8 Efeito do lodo de esgoto no peso de matéria verde (g) de plântulas de pepino, no primeiro (A) e no segundo teste (B), nos tratamentos com fertilizante	56
9 Efeito do lodo de esgoto no peso de matéria verde (g) de plântulas de pepino, no primeiro (A) e no segundo teste (B), nos tratamentos sem fertilizante	56

1 RESUMO

O presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito dos lodos de esgotos (LE) produzidos nas Estações de Tratamento de Esgoto (ETEs) de Franca (F) e de Barueri (B), SP, sobre fitopatógenos habitantes do solo. *In vitro*, o LE nas doses de 0, 5, 10, 15, 20 e 25% foi testado, na forma esterilizada ou não, contra *Rhizoctonia solani*, *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Sclerotium rolfsii* e *Pythium aphanidermatum*. O LE esterilizado inibiu o crescimento micelial dos fungos entre 35% e 100%, com exceção de *F. oxysporum*. Para o lodo não esterilizado o resultado foi inverso, sendo que apenas *F. oxysporum* foi inibido. Em casa de vegetação foi avaliado o efeito do LE sobre o tombamento causado por *P. aphanidermatum* em pepino. Para tanto, o LE foi misturado ao solo nas concentrações de 0, 10, 20, 30, 40 e 50%, com e sem a adição de 5g de fertilizante (4-14-8) por litro. Os substratos foram infestados com 10g L⁻¹ de inóculo de *Pythium*, sete dias antes da semeadura do pepino. Dois testes foram realizados, sendo o mesmo substrato cultivado por duas e três vezes, respectivamente. Os resultados do segundo cultivo, do primeiro teste e do terceiro cultivo do segundo, indicaram o bom desempenho do LE no controle do tombamento pós-emergência. Também em casa de vegetação, o LE misturado ao solo nas concentrações de 0; 2,5; 5; 7,5; 10 e 12,5 % e infestado com 10g L⁻¹ de inóculo de *S. rolfsii* controlou o tombamento em três cultivos sucessivos de feijão. Em casa de vegetação foi determinada a sobrevivência de escleródios de *S. rolfsii*, incorporados aos solos coletados em um experimento de campo, com os seguintes tratamentos: adubação mineral recomendada para a cultura do milho e LE originários das ETEs de Franca e Barueri, SP, nas concentrações de 0, 1, 2, 4 e 8 vezes a dose de nitrogênio recomendada para a cultura. O solo de

cada parcela foi distribuído em vasos com seis litros de capacidade, sendo que em cada vaso foram colocados aproximadamente 50 escleródios. O LE de Franca e de Barueri, bem como o fertilizante mineral (NPK), não tiveram influência na sobrevivência dos escleródios ao longo de 120 dias. Em campo foi testado o efeito do LE (F) sobre as doenças do feijoeiro causadas por *S. rolfisii*. Para tanto, em parcelas de 1m² foram incorporados o adubo mineral (N - 50 Kg/ha, P - 60 Kg/ha, K - 50 Kg/ha) e o LE a 0, 1, 2, 3 e 4 vezes a dose de nitrogênio necessária para a cultura. O solo foi infestado dois meses antes da aplicação do LE, com 100g por parcela do substrato (arroz em casca) contendo o patógeno. A semeadura foi realizada após uma semana da aplicação do LE, com dois cultivos sucessivos de feijão. Uma segunda aplicação de LE foi realizada nas mesmas parcelas, sendo efetuado um cultivo. A redução da doença foi observada pelo aumento da emergência e do estande final do feijoeiro e pela redução da severidade da doença nos tratamentos com lodo, o que não ocorreu com a adubação mineral. O LE (F) aumentou a condutividade elétrica e a atividade microbiana do solo, sendo esses fatores relacionados com a redução da intensidade das doenças.

2 SUMMARY

Effect of sewage sludge on the microbial activity and soil-borne plant pathogens. Botucatu, 2001.

Xxp. Tese (Doutorado em Agronomia/Proteção de Plantas) - Faculdade de ciências agrônômicas, Universidade Estadual Paulista.

Author: Idalmir dos Santos

Adviser: Wagner Bettiol

This work was aimed at evaluating the effect of sewage sludge (SS) produced at Sewage Treatment Stations (STS) in Franca (F) and Barueri (B), in the State of São Paulo, Brazil, on soil-borne plant pathogens. The SS was tested *in vitro* at the rates of 0; 5; 10; 15; 20; and, 25%, either in the sterilized form or not, against *Rhizoctonia solani*, *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Sclerotium rolfsii* and *Pythium aphanidermatum*. The sterilized SS inhibited the mycelial growth of the fungi between 35% and 100%, except for *F. oxysporum*. For non-sterilized sludge the result was inverted, with *F. oxysporum* alone being inhibited. The effect of LE on damping-off caused by *P. aphanidermatum* in cucumbers was evaluated in a greenhouse. For this purpose, the SS was mixed to the soil at concentrations of 0; 10; 20; 30; 40; and, 50%, with and without the addition of 5g fertilizer (4-14-8) per liter. The substrates were infested with 10g L⁻¹ *Pythium* inoculum, seven days before cucumber seeding. Two tests were carried out, with the same substrate being cultivated twice and three times, respectively. Results obtained in the second cropping period on the first test, and in the third cropping period on the second, indicated a good performance of the SS in controlling post-emergence damping-off. Also, in

the greenhouse, the SS mixed to the soil at concentrations of 0; 2,5; 5; 7,5; 10; and, 12,5 %, infested with 10g L⁻¹ of a *S. rolfsii* inoculum controlled damping-off on three successive bean crops. Survival of *S. rolfsii* sclerotia incorporated to soils collected from a field experiment was determined in the greenhouse, with the following treatments: mineral fertilization recommended for corn and SS derived from the Franca and Barueri, SP STS, at concentrations of 0; 1; 2; 4; and, 8-fold the nitrogen rate recommended for the crop. The soil from each plot was distributed among 6-liter-capacity planting pots, with approximately 50 sclerotia per pot. The LE from Franca and Barueri, as well as the mineral fertilizer (NPK), did not influence sclerotia survival during a 120-day period. The effect of SS (F) on bean diseases caused by *S. rolfsii* was tested in the field. For this purpose, the mineral fertilizer (50 Kg/ha N, 60 Kg/ha P, 50 Kg/ha K) and the SS at 0; 1; 2; 3; and 4-fold the necessary nitrogen rate for the crop were incorporated in 1m² plots. Two months before applying the SS the soil was infested with 100g per plot of the substrate (rice hull) containing the pathogen. Sowing was carried out one week after applying the SS, with two successive bean crops. A second SS application was made on the same plots, with one cropping period. A reduction in the occurrence of the disease was detected based on the increase in emergence and final stand of bean plants and on the severity of the disease in treatments containing mud, which did not occur in treatments with mineral fertilization. The SS (F) increased the soil's electric conductivity and microbial activity, these factors being related to the decrease in disease intensity.

Keywords: *Rhizoctonia solani*, *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Sclerotium rolfsii*, *Pythium aphanidermatum*, sewage sludge, cucumber, bean.

3 INTRODUÇÃO

A geração de resíduos está relacionada com as atividades humanas, bem como com o seu crescimento populacional, sendo a do esgoto uma das mais prejudiciais ao ambiente. Na maioria das cidades brasileiras, o esgoto produzido é lançado diretamente nos cursos d'água. Para reduzir a poluição dos rios, há necessidade de se realizar o tratamento do esgoto, processo no qual é gerado o lodo de esgoto (LE) ou biossólido. Portanto, lodo de esgoto é uma denominação para o resíduo gerado pelos sistemas de tratamento de águas residuais.

As Estações de Tratamento de Esgotos estão se multiplicando pelo país e com isso aumentando a produção de lodo de esgoto. Sendo a produção do lodo de esgoto inevitável e crescente, as preocupações estão voltadas para o seu destino final. A grande quantidade de lodo produzida, principalmente nas grandes cidades, acarreta dificuldades ambientais e econômicas na sua disposição final, a qual representa de 30 a 50% das despesas operacionais das Estações de Tratamento de Esgoto (Vesilind, 1974; Bettiol & Camargo, 2000).

O uso agrícola do lodo de esgoto é uma das alternativas mais interessantes, pois combina disposição com reciclagem (Bettioli & Camargo, 2000). De um modo geral, o lodo gerado no Brasil está dentro dos níveis tolerados para ser utilizado na agricultura, considerando as normas P 4.230 da CETESB e a 40 CFR 503 da EPA (U.S.EPA, 1996; CETESB, 1999). No entanto, devido aos componentes poluentes que o constituem, a utilização agrícola deve ser criteriosa e valer-se da tecnologia existente. Neste sentido dois fatores podem ser prejudiciais, um é a presença de microrganismos patogênicos ao homem, tais como: *Salmonella*, *Streptococcus fecalis*, *Coliformes*, *Enterovírus* e outros (CETESB, 1987) e às plantas, como: *Fusarium*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Verticillium* e *Cephalosporium* (Gambale et al., 1987), o outro fator é a presença de metais pesados (Mortvedt, 1996).

Sob o ponto de vista ambiental, a reciclagem agrícola do lodo de esgoto é a alternativa de menor impacto para a sua disposição final, propiciando também economia de energia e de reservas naturais, na medida em que diminui as necessidades de fertilização mineral. Além do ponto de vista ambiental e econômico, a sua utilização na agricultura é vantajosa, devido à importância do mesmo, como fonte de matéria orgânica, micro e macronutrientes, conferindo ao solo maior capacidade de retenção de água, maior resistência à erosão, efeito residual utilizável para culturas subsequentes e possivelmente induzindo a supressividade dos solos aos fitopatógenos. Utilizar o lodo de esgoto na agricultura, de forma adequada, poderá significar menores quantidades de agrotóxicos e fertilizantes sintéticos, menor poluição ambiental no meio rural e urbano, melhor saúde dos agricultores e consumidores e redução de custos de produção.

O efeito do lodo de esgoto nas plantas relacionado à nutrição possui seus estudos adiantados e está bem documentado na literatura (Guimarães et al., 1982; Gushi et al.,

1982; Bettioli et al., 1983; Berton et al., 1989; Silva, 1995; Melo & Marques, 2000). No entanto, em relação ao efeito sobre as doenças de plantas, existe ainda uma carência de trabalhos e resultados, principalmente em nosso país, que gerem um conhecimento mais aprofundado sobre o tema. Por ser rico em matéria orgânica, o lodo poderá colaborar no controle de doenças de plantas, principalmente no controle de doenças causadas por patógenos habitantes do solo (PHS), que ocasionam tombamento e lesões de raízes e de colo de plantas. A possibilidade do lodo de esgoto controlar os patógenos habitantes do solo é de extrema importância para agricultura, devido à dificuldade de controle desses fitopatógenos. O uso de fungicidas nas sementes não é totalmente eficiente e no solo, além da baixa eficiência e ou alta toxicidade, na maioria dos casos é inviável economicamente. O controle genético é eficiente em casos específicos e nem sempre existe disponibilidade de sementes. A rotação de culturas é de difícil adoção, pela capacidade de sobrevivência dos fungos e pela resistência dos agricultores. A solarização, apesar de eficiente, é restrita às pequenas áreas e exige ausência de cultivo na área por determinado período. Os agentes de controle biológico não estão disponíveis no mercado. Portanto, além da integração dos métodos de controle aplicáveis a cada caso é importante estimular a supressividade dos solos aos patógenos aumentando o teor de matéria orgânica dos solos. Assim sendo, o lodo de esgoto surge como uma alternativa, com a possibilidade de tornar o solo supressivo para alguns fungos habitantes do solo. A indução de supressividade do solo pelo lodo de esgoto está relacionada com as alterações no pH, condutividade elétrica e, principalmente, devido à sua capacidade em ativar a microbiota do solo. Entretanto, há necessidade de se verificar se o lodo é realmente efetivo sobre os fitopatógenos, nas condições de solo e clima do Brasil, haja vista que existem informações na literatura de controle efetivo, neutralidade e de aumento de doenças (McIlveen & Cole, 1977; Millner et al., 1982;

Utkhede, 1984; Chen et al., 1987; Kuter et al., 1988; Chellemi et al., 1992; Craft & Nelson, 1996; Ferrara et al., 1996; Kim et al., 1997; Dissanayaque & Hoy, 1999).

Dessa forma, o presente trabalho teve por objetivos avaliar o efeito do lodo de esgoto sobre o crescimento micelial dos fungos *Rhizoctonia solani*, *Fusarium oxysporum* f.sp. *phaseoli*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Sclerotium rolfsii* e *Pythium aphanidermatum*; e sobre a ocorrência de doenças induzidas por *Sclerotium rolfsii*, em feijoeiro, e por *Pythium aphanidermatum*, em pepino.

4 REVISÃO DE LITERATURA

4.1 Aspectos gerais sobre o lodo de esgoto

4.1.1 Conceito e origem do lodo de esgoto

O lodo de esgoto é o resíduo que se obtém após o tratamento das águas servidas (esgotos), com a finalidade de torná-las o menos poluídas possível, de modo a permitir seu retorno ao ambiente sem que sejam agentes de poluição (Melo e Marques, 2000). Ludovice (2000) considera ainda que o conceito moderno de saneamento ambiental, adotado nos chamados países desenvolvidos, incorpora os princípios do desenvolvimento sustentável e considera o lodo oriundo das estações de tratamento de esgotos como um insumo em potencial e não como um simples resíduo necessitando de pronta disposição. Conforme o mesmo autor, faz parte deste novo enfoque a denominação de biossólido para o lodo de esgoto que se encontra em condições de ser utilizado na agricultura, como condicionador de solo e fonte suplementar de nutrientes e matéria orgânica.

4.1.2 Composição do esgoto e sistemas de tratamento

A composição média do esgoto aponta para uma mistura de água (99,9%) e sólidos (0,1%), sendo que do total de sólidos, 70% são orgânicos (proteínas, carboidratos e gorduras) e 30% inorgânicos (areia, sais, metais etc...) (Fernandes 2000).

Conforme Melo e Marques (2000) durante o processo de tratamento, ocorre a separação das frações sólidas e líquidas. A fração sólida, que encerra na sua composição componentes orgânicos e inorgânicos, é submetida a um processo de digestão e desidratação. Parte da fração mineral e da fração orgânica, aquela solúvel em água, permanece na fração líquida, enquanto a areia, os sais e a fração orgânica, insolúveis em água, permanece na fração sólida. Na fração orgânica encontram-se biomoléculas como carboidratos, proteínas e lipídeos que se constituem em fonte de carbono e de energia para os organismos heterotróficos, e cujo metabolismo conduz à liberação de gás carbônico, fosfatos, nitratos e outros íons.

A maioria das Estações de Tratamento de Esgoto (ETEs) sanitário faz uso de processos biológicos, cujos objetivos são coagular e remover colóides não sedimentáveis e degradar parcialmente ou estabilizar a matéria orgânica remanescente no esgoto após o tratamento. A matéria orgânica é, portanto, transformada por meio do metabolismo celular (Fernandes, 2000). O mesmo autor afirma que nos sistemas convencionais de tratamento o esgoto passa por um decantador primário, seguido de tanque de aeração e decantador secundário, onde há geração de lodo primário, constituído por material de sedimentação altamente instável, e de lodo secundário, também denominado lodo ativado, que é instável e necessita passar por processos de suplementares de estabilização. Por outro lado, as tecnologias mais recentes, principalmente, as desenvolvidas no

Brasil, que fazem uso de reatores anaeróbios de fluxo ascendente, tipo UASB (Upflow Anaerobic Sludge Blanket), retém o lodo dentro do reator por três meses em média, realizando assim a sua estabilização. Mesmo quando os reatores tipo UASB são seguidos por pós-tratamento aeróbio, o lodo produzido pode retornar ao reator anaeróbio e ser digerido. Portanto nestes casos, o próprio sistema de tratamento de esgotos realiza a estabilização do lodo.

Conforme Ludovice (2000), existem basicamente três tipos de lodos oriundos do tratamento de esgotos: primário, ativado e digerido, cada um com características e propriedades distintas. O lodo bruto é produzido nos decantadores primários das ETEs, apresentando coloração acinzentada, aspecto pegajoso e odor ofensivo, sendo facilmente fermentável. O lodo ativado é produzido nos reatores biológicos de ETEs que se utilizam de processos biológicos para o tratamento dos efluentes, tem aparência floculenta, coloração marrom e odor pouco ofensivo, quando mantido em condições aeróbias. Chama-se de lodo digerido a qualquer lodo que tenha sofrido processo de estabilização biológica. O lodo digerido anaerobiamente tem coloração preta enquanto o lodo digerido aerobiamente apresenta coloração marrom. O lodo estabilizado (digerido) não possui odor ofensivo.

4.1.3. Nutrientes minerais contidos no lodo de esgoto

O lodo de esgoto contém todos os macro e micronutrientes essenciais para as plantas, sendo que muitos desses elementos estão nas formas assimiláveis pelos vegetais. I USDA (1980) considera um lodo de esgoto típico como contendo 40% de matéria orgânica, 4% de nitrogênio, 2% de fósforo e 0,4% de potássio. Entretanto, dependendo da origem dos esgotos e do

sistema de tratamento utilizado, a composição do lodo pode variar consideravelmente. Melo e Marques (2000), Silva et al. (2000) e Gonçalves et al. (2000) discutem amplamente os potenciais nutricionais do lodo de esgoto para diversas culturas.

Poggiani et al. (2000), em extensa revisão da caracterização química de biossólidos utilizados em experimentos no Brasil e no exterior, concluíram que o mesmo pode fornecer nitrogênio às plantas de *Eucalyptus* em quantidades satisfatórias, além de outros elementos como fósforo, cálcio, magnésio, zinco, cálcio, cobre e manganês. Observaram ainda que, o biossólido é bastante deficiente em potássio.

4.2 Efeito do lodo de esgoto em doenças causadas por fungos habitantes do solo

A utilização do lodo de esgoto (LE) para controle de doenças de plantas é um estudo ainda carente de resultados consistentes ao nível mundial e com um número de trabalhos ainda pequeno, principalmente, ao nível nacional. O mais comum é o relato de trabalhos sobre controle de doenças de plantas induzidas por patógenos veiculados pelo solo, com o uso de compostos orgânicos provenientes de várias fontes, sendo o LE em número reduzido.

As primeiras citações envolvendo o LE para o controle de fitopatógenos surgiram por volta da década de 1950 com Davis & Engel, citados por Cook et al. (1964). Os primeiros autores observaram redução de mancha marrom em *Agrostis* sp. quando adubado com lodo ativado, em comparação a um fertilizante contendo nitrogênio, fósforo e potássio. O segundo autor reportou que centeio adubado com altas taxas

de lodo ativado apresentou menores danos de *Pythium* do que quando adubado com outras fontes de nitrogênio orgânico e inorgânico.

Baseado nesses trabalhos iniciais, Cook et al. (1964) usaram três fontes insolúveis de nitrogênio (LE ativado, “process tankage” e na forma de uréia) e três fontes solúveis (uréia, nitrato de amônio, sulfato de amônio), que foram aplicadas em várias taxas em gramados para determinar os seus efeitos na incidência de *Sclerotinia homeocarpa*. As parcelas tratadas com o LE ativado mostraram reduções significativas na incidência da doença.

Outro trabalho pioneiro foi o de Markland et al., citados por Liu et al. (1995), os quais testaram vários fertilizantes nitrogenados e concluíram que os fertilizantes nitrogenados inorgânicos não reduziram *S. homeocarpa* em *Agrostis palustris*, mas que a doença foi reduzida com aplicação de materiais compostados, como o LE.

Desde o início dos trabalhos, até os tempos atuais, a utilização do LE em gramados parece ser uma boa alternativa com duplo propósito, fertilização e controle de doenças. O'Neill, citado por Nelson & Craft (1992), observou que o LE compostado foi supressivo à mancha marrom em capim-do-prado. Nelson & Craft (1992) indicaram que aplicação de compostos de mistura de esterco de aves, bovinos e de LE foram consistentemente supressivos à “dollar spot” em gramados de campo de golfe. Resultados positivos também foram conseguidos no controle de doenças em *Agrostis palustris* causadas por *Pythium graminicola* (Craft & Nelson, 1996). Neste caso, um composto de LE foi consistentemente supressivo aos sintomas foliares e à podridão de raiz a campo e, em experimentos de laboratório, tornou-se supressivo ao tombamento. A supressão das doenças teve uma forte relação com a alta atividade microbiana induzida pelo composto.

O gênero *Sclerotinia* parece ser um bom exemplo de controle com o uso do LE, em gramados e alface como hospedeiros. Lumsden et al. (1983) observaram uma redução significativa do mofo branco da alface causada por *Sclerotinia minor*. Em trabalho posterior, a incidência da mesma doença em alface foi reduzida significativamente por um período de quatro anos, sendo que o LE compostado foi adicionado ao solo nos dois primeiros anos com efeito residual por mais dois anos de estudo (Lumsden et al., 1986). Nos dois trabalhos a sobrevivência do patógeno não foi afetada pelo composto mas sim a sua atividade.

Sucesso no controle do gênero *Sclerotinia* também foi alcançado por Millner et al. (1982) que utilizaram LE em experimentos em casa de vegetação e em campo, conseguindo reduzir o mofo branco em alface causado por *S. minor*, por três estações de cultivo. No mesmo trabalho, em casa de vegetação, o LE misturado ao solo na concentração de 10% (base seca) reduziu a podridão de raiz e o tombamento de feijoeiro, de algodoeiro e de rabanete, causados por *R. solani*; a podridão de raiz em ervilha, causada por *Aphanomyces euteiches*; a podridão de raiz de pimenteira, causada por *Phytophthora capsici*; aumentou, as doenças de ervilha, feijoeiro e algodoeiro causadas por *Pythium ultimum* e *Thielaviopsis basicola*; e não apresentou efeito sobre as doenças de ervilha e feijoeiro causadas por *Fusarium solani* e *P. aphanidermatum*. Sob condições de campo, somente após o segundo cultivo, o controle pelo composto de LE foi efetivo para o tombamento causado por *Pythium* e *Rhizoctonia* em ervilha, porém a mesma doença não foi controlada na cultura do algodoeiro.

O efeito do LE é dependente da cultura, do patógeno em questão e do ambiente local. Este fato é ratificado pelo trabalho em que a adição de LE no solo causou um aumento na incidência da podridão do colo da macieira causada por *Phytophthora cactorum*

(Utkhede, 1984). O autor concluiu que a porcentagem de plantas de maçã com podridão do colo foi positivamente correlacionada com a quantidade de nitrogênio aplicada e não foi correlacionada com a sua origem orgânica ou inorgânica. Em outro trabalho com o gênero *Phytophthora*, Kim et al. (1997) realizaram testes em três campos, na Florida entre 1992 - 1995, para avaliar vários compostos orgânicos no controle das podridões da raiz e do colo causadas por *Phytophthora capsici*, em pimenta e verificaram que o LE, juntamente com cascas de madeira, não reduziu a população do patógeno, nem os sintomas da doença.

McIlveen & Cole (1977) investigaram a influência de LE em taxas de 11, 22 e 44 t/ha e esterco de bovino a 11 t/ha na microbiota do solo de um campo de milho e na incidência de doenças. Áreas de parcelas não fertilizadas e fertilizadas quimicamente foram usadas para comparação. A incidência da podridão de *Gibberela* na espiga foi diretamente correlacionada com o aumento da aplicação de lodo. Houve também uma tendência no aumento da severidade da podridão da espiga nos tratamentos com lodo e esterco. Uma possível explicação para esses resultados foi a umidade prolongada nos cabelos da espiga do milho, proporcionada pelo maior desenvolvimento foliar da planta e o efeito da quantidade de N contido no lodo e no esterco. No mesmo trabalho, a incidência de acamamento foi reduzida com o aumento na quantidade de lodo aplicada.

Um fator dependente para o sucesso do controle de algumas doenças, particularmente induzidas por *Pythium* e *Rhizoctonia*, é o tempo transcorrido entre a incorporação do LE no solo e o plantio da cultura. Em experimento a campo, somente após o segundo cultivo o controle pelo composto foi efetivo para o tombamento causado por *Pythium* e *Rhizoctonia* em ervilha (Millner et al., 1982). Compostos preparados com LE foram inicialmente conducentes ao

tombamento do pepino causado por *Pythium* e *Rhizoctonia*; e tornaram-se supressivos após um período de incubação, sendo maior para *Rhizoctonia* (Kuter et al., 1988). Em experimentos de laboratório a supressividade ao tombamento em *Agrostis palustris*, causadas por *P. graminicola*, somente foi alcançada com o composto de LE mais envelhecido (Craft & Nelson, 1996). O maior tempo entre a adição do composto de lodo no solo e o plantio aumentou a supressão das doenças causadas por *Pythium* sp. e *Rhizoctonia* sp. (Lumsden et al., 1983). Testando o LE, em casa de vegetação, para o controle da podridão de raiz em ervilha (*Aphanomyces*); da podridão da raiz do algodoeiro, feijoeiro e rabanete (*Rhizoctonia*); da podridão da alface (*Sclerotinia*); da murcha de fusarium em pepino, e da podridão do colo em pimenteira (*Phytophthora*), Lumsden et al. (1983) verificaram significativas reduções destas doenças, por meio da adição de 10% (base seca) do composto no solo. No entanto, tombamento em ervilha e feijão causado por *Pythium*; podridão da raiz de ervilha por *Fusarium*; e podridão da raiz de feijoeiro e algodoeiro por *Thielaviopsis* não foram afetadas pelo composto.

Certamente o fitopatógeno mais estudado em solos incorporados com LE é o *Pythium*, e na maioria das vezes, acompanhado por *Rhizoctonia*. Lewis et al. (1992), em parcelas a campo onde foi aplicado composto de LE nas concentrações de 7 a 10 t/ha (base seca) verificaram redução na incidência de tombamento em ervilhas causado, principalmente, por *R. solani* e *P. ultimum*. Isso ocorreu nos plantios de primavera, por dois anos, e nos plantios de outono, nos dois anos seguintes. Nos meses de verão, o estande de algodão foi melhorado em três dos quatro anos pelo composto. O efeito benéfico do composto de LE no estande de ervilha e de algodão pode ser atribuído à indução da supressividade nos solos.

Efeito positivo do LE no controle de tombamento causado por *P. ultimum* também foi observado em plântulas de pepino (Chen et al., 1987). Nesse trabalho, o substrato para a produção de mudas, produzido com casca de madeira ou de LE compostados, removidos da superfície de pilhas da compostagem, portanto com baixa temperatura, com quatro meses ou mais, foi supressivo ao tombamento de *Pythium*. Esses mesmos materiais, com amostras retiradas do centro das mesmas pilhas com alta temperatura (>60°C) foram conducentes à doença. Os autores demonstraram que a supressividade foi por componentes biológicos, pois foi eliminada com o calor (60°C, cinco dias) e a incorporação de pequenos volumes (10% v/v) de composto supressivo, no substrato conducente, restaurou essa característica. No meio supressivo a população de *P. ultimum* foi controlada.

No trabalho de Kuter et al. (1988), substratos preparados com compostos de LE, inicialmente foram conducentes ao tombamento causado por *Pythium* e *Rhizoctonia*, em pepino e rabanete, respectivamente. Após serem curtidados por quatro meses, quando temperaturas no centro das pilhas dos compostos foram < 60 °C, consistentemente suprimiram o tombamento por *Pythium*, mas não o de *Rhizoctonia*. Em adição, armazenamento do substrato à base de composto de lodo (com quatro meses de curtimento) por um período de quatro semanas, induziu a supressividade a ambas as doenças. Os autores também demonstraram que, os níveis de supressividade, induzidos com a incorporação de 25% (v/v) de composto de lodo no substrato, foram adequados para evitar perdas nas plantas causadas por *R. solani* ou *Pythium* spp. em casa de vegetação e em viveiros acima de cinco meses e dois anos, respectivamente, para plantas ornamentais. Os autores verificaram que a microbiota presente durante a compostagem e o processo de curtimento para o lodo estão envolvidos na supressão do tombamento. Dissanayaque & Hoy

(1999), trabalhando com *P. aphanidermatum* em cana-de-açúcar, verificaram que alguns compostos orgânicos, entre eles o LE, quando adicionados no solo, em vasos, (10% v/v) na forma não esterilizada, suprimiram a doença causada pelo patógeno e aumentaram o crescimento da planta, porém essa habilidade foi reduzida após a desinfestação, por vapor, dos compostos. O nível de atividade microbiana do material foi um indicador do potencial para a supressão da doença. Análises de correlação indicaram que a severidade da podridão de raiz foi negativamente correlacionada com a atividade microbiana. O solo, onde o LE foi misturado, teve a maior atividade microbiana, maior quantidade de total de bactérias e a segunda maior comunidade de actinomicetos. A comunidade microbiana, associada com LE e outros materiais orgânicos, foi capaz de suprimir ou reduzir a doença e ainda aumentar o crescimento das plantas.

P. ultimum em pepino, beterraba e *Impatiens* foi controlado por um substrato produzido com composto de LE e de casca de árvores. O mesmo substrato reduziu os danos de *F. oxysporum* em basílico e de *R. solani* em basílico e feijão. O fungo *Trichoderma* isolado do composto reduziu os danos causados por *P. ultimum* em pepino (Ferrara et al., 1996).

Em testes *in vitro* sobre o efeito supressivo de LE a quatro fungos fitopatogênicos, Phae et al. (1990) verificaram que os compostos contendo LE não apresentaram halo de inibição aos patógenos *F. oxysporum* f. sp. *cucumerinum*, *P. ultimum*, *Verticillium dahliae* e *R. solani*.

No Brasil, foram realizados poucos trabalhos avaliando a influência do LE para o controle de doenças de plantas. O mais antigo foi realizado por Bettiol & Krüger (1984). Nesse trabalho, o LE, incorporado ao solo nas concentrações de 5, 10 e 15 % (v/v) reduziu a severidade da podridão de raiz em plantas de sorgo, cultivadas em vasos contendo solo previamente

infestado com *Pythium arrhenomanes*, especialmente nas maiores concentrações. O LE também estimulou o crescimento das plantas, tanto na ausência, como na presença do patógeno. Em um ensaio de campo Bettiol (2000) avaliou: a adubação mineral recomendada para a cultura do milho e cinco concentrações (0, 1, 2, 4 e 8 vezes a dose de lodo para fornecer a quantidade de nitrogênio recomendado para a cultura) dos lodos de esgoto gerados nas Estações de Tratamento de Esgoto (ETE) de Franca e de Barueri, SP. Após 100 dias da semeadura, a incidência da podridão do colmo do milho, causada por *Fusarium*, por parcela, foi de 1,6; 2,1; 3,0; 6,4; 13,3 e 21,4% para a adubação mineral e doses de 0; 3,5; 7; 14 e 28 toneladas de LE da ETE de Franca por ha, respectivamente. Para o LE da ETE de Barueri, a incidência foi de 2,3; 1,1; 4,1; 4,9; 7,9 e 17,1%, para a adubação mineral e doses de 0, 4, 8, 16 e 32 t/ha, respectivamente. O desenvolvimento das plantas foi diretamente proporcional à concentração de LE incorporada ao solo.

A solarização do solo, associada à incorporação de LE, cama-de-frango e casca de *Pinus* (relação C/N = 7, 15, 50, respectivamente) foi testada por Schoenmaker & Ghini (2000) para o controle de *Pythium* spp. em pepino. Os autores verificaram que atividade microbiana do solo, avaliada após a retirada do plástico por meio da hidrólise de diacetato de fluoresceína (FDA) e do desprendimento de CO₂, foi maior com a incorporação de cama-de-frango, do que com as demais fontes de matéria orgânica. Os tratamentos solarizados apresentaram, em média, em quatro semeaduras, 86% de emergência, enquanto os não solarizados, 19,2%. Dos tratamentos solarizados, os que receberam a incorporação de cama-de-frango, seguidos pelos tratamentos com LE, apresentaram os melhores resultados. As plantas de pepino serviram de indicadoras do controle da doença, já que a norma P4230 da CETESB não recomenda o uso de LE em hortaliças.

Em trabalho realizado *in vitro*, o LE misturado ao solo numa dose equivalente a 30 t/ha, inibiu o crescimento micelial de *R. solani* em 100% (Fortes et al., 2000).

4.3 Efeito do lodo de esgoto sobre nematóides

Outro grupo de fitopatógeno com grande potencial de controle por matéria orgânica, mas ainda pouco estudado quanto à sua sensibilidade ao lodo de esgoto (LE) é o dos nematóides. Castagnone-Sereno et al. (1988) testaram em vasos os efeitos de LE cru, de origem urbana, no parasitismo de *Meloidogyne incognita* em plantas de tomate. Os autores verificaram que o principal efeito foi uma forte redução no número de massas de ovos encontrados nas raízes e uma ligeira redução do número de ovos por massa de ovos. Esses resultados sugerem que o crescimento do tomateiro, em solo misturado com LE, pode torná-lo menos suscetível como hospedeiro para *M. incognita*, induzindo uma redução no potencial reprodutivo das fêmeas. Castagnone-Sereno & Kermarrec (1991) em outro experimento, verificaram que houve menor penetração de larvas juvenis nas raízes das plantas cultivadas no solo com lodo, do que na testemunha. Em ambos os experimentos, as raízes foram severamente atacadas, apesar de uma significativa redução na taxa de galhas nas plantas cultivadas em solo com LE, em comparação às do solo testemunha. A produção de ovos no solo tratado foi menor do que nas testemunhas. Nos solos tratados, valores do número de ovos final/número de ovos inoculados, foram fortemente reduzidos.

4.4 Efeito do lodo de esgoto em doenças causadas por bactérias

O efeito de lodo de esgoto (LE) sobre bactérias fitopatogênicas foi menos estudado do que para fungos. No entanto, assim como para fungos os resultados são dependentes da interação patógeno-hospedeiro e do ambiente. Um dos primeiros trabalhos testando a interação LE com doença bacteriana foi realizado por McIlveen & Cole (1977) na cultura do milho. Os autores concluíram que os tratamentos com LE em taxas de 11, 22 e 44 toneladas por hectare e esterco bovino a 11 toneladas por hectare não afetaram a incidência da murcha bacteriana de Stewart, em condições de campo.

Por outro lado, Prior & Bérarnis (1990) verificaram que em solo infestado com *Ralstonia solanacearum* a mortalidade de tomateiro devido à murcha bacteriana aumentou regularmente (14, 24 e 43%), em três cultivos sucessivos. Entretanto, quando o solo foi melhorado com as matérias orgânicas farelo de soja e, particularmente, com LE, nenhuma planta morreu no segundo e terceiro plantio. Esses resultados não se confirmaram no trabalho de Chellemi et al. (1992), onde o LE, compostado com cascas de madeira, não reduziu a incidência da murcha bacteriana do tomateiro em solos onde naturalmente estava presente o patógeno.

O controle de doenças bacterianas por LE pode estar relacionado com a dose aplicada. Observações a campo tem indicado uma redução marcante de galha da coroa, causada por *Agrobacterium tumefaciens*, em plantas de framboesa cultivadas em solo com alta aplicação de LE (Moore et al., citados por Utkhede & Smith, 1993). Em contraste com esses resultados, quando o LE foi aplicado na dose de 130 g por planta de macieira, não controlou a galha da coroa nos testes a campo (Utkhede & Smith, 1993). Somente na dose de 260 g de LE aplicado por pé de macieira, ocorreu a redução da galha da coroa, porém nessa concentração foi fitotóxico para as plantas jovens.

4.5 Efeito do lodo de esgoto em doenças da parte aérea das plantas

A influência do lodo de esgoto (LE) sempre foi estudada para doenças induzidas por fungos essencialmente veiculadas pelo solo. No entanto, foi verificada uma considerável redução na infecção de *Cercospora* (*Pseudocercospora*) *herpotrichoides* em trigo, com incorporação de 9 kg de LE por m² (Seifert, citado por Bettiol & Krüger, 1984). Outra exceção é feita para a investigação realizada por Stone & Powers (1989), onde a adubação de *Pinus* com LE aumentou o peso, o diâmetro e o volume do caule e diminuiu significativamente a incidência da ferrugem causada por *Cronartium quercuum*. Entretanto, essa é uma linha de pesquisa que somente mais recentemente vem despertando interesse da comunidade fitopatológica.

4.6 Mecanismos envolvidos no controle das doenças

O modo pelo qual o LE reduz a severidade das doenças, conforme está relatado na maioria dos trabalhos, parece estar relacionado principalmente com o aumento da atividade microbiana no solo e à própria microbiota contida no material orgânico (Chen et al., 1987; Kuter et al., 1988; Ferrara et al., 1996; Craft & Nelson, 1996; Dissanayake & Hoy, 1999). Foi verificado que materiais compostados, tais como casca de madeira e LE, que induziram maiores aumentos na biomassa e atividade microbiana, também reduziram a severidade da doença causada

por *P. ultimum* em plântulas de pepino (Chen et al., 1988). Lumsden et al. (1983) concluíram que a sobrevivência de *S. minor*, *R. solani* e *Pythium* spp. não foi reduzida pelo lodo, porém a atividade desses patógenos no solo foi afetada devido ao aumento na atividade microbiana estimulada pela adição do lodo ao solo. O aumento da atividade microbiana no solo, após a adição do LE, pode ser estimulada por desidrogenase, nitrogênio total, fósforo, magnésio, cálcio e matéria orgânica no solo (Lumsden et al., 1986). A atividade microbiana do solo é aumentada durante a decomposição da matéria orgânica, presente em diversos compostos, sendo que essa atividade microbiana se traduz em ação antagônica entre os microrganismos sendo elas antibiose, competição e parasitismo (Millner et al., 1982). Hoitink et al. (1997) acrescentam ainda a predação e a indução de resistência como modos de ação estimulados por matérias orgânicas compostadas em geral. Por outro lado, a supressão da mancha marrom, em capim-do-prado, com LE compostado, persistiu mesmo quando o produto foi esterilizado por autoclavagem, sugerindo o não envolvimento de um componente microbiano na supressão da doença (O'Neill, citado por Nelson & Craft, 1992). O LE, juntamente com cascas de árvores, apesar de aumentar a atividade microbiana total e as populações de alguns grupos funcionais de microrganismos do solo, alguns dos quais foram negativamente correlacionados com a incidência e a severidade das doenças em pimenta causada por *Phytophthora capsici*, não foram capazes de reduzir a população do patógeno, nem os sintomas das doenças (Kim et al., 1997).

Hoitink et al. (1997) relatam que já está estabelecido que compostos e suas infusões ativam genes de resistência a doenças em plantas, afetando tanto doenças do sistema radicular, como da parte aérea. Prior & Béramis (1990) atribuíram à indução de resistência,

originada pelo tratamento com LE, como responsável por evitar a morte de plantas de tomateiro em solo infestado por *R. solanacearum*.

A quantidade e a forma dos nutrientes contidos no LE podem interferir no efeito deste sobre as doenças de plantas. Na ausência de dados mais concretos, os autores especulam que a maior resistência do milho ao acamamento pode estar associada ao efeito da fertilização nitrogenada, através do N contido no lodo e no esterco aplicado (McIlveen & Cole, 1977). A principal razão para a menor infecção do tomate por *M. incognita* nas parcelas tratadas com LE e conseqüentes efeitos tóxicos observados no parasita podem estar relacionadas com o nitrogênio amoniacal liberado no solo durante os sete dias após o tratamento (Castagnone-Sereno & Kermarrec, 1991). No trabalho de Dissanayaque & Hoy (1999), o grupo de materiais (na forma não esterilizada), entre eles o LE, que mais suprimiu a podridão de raiz causada por *P. arrhenomanes* em cana-de-açúcar e aumentou o crescimento da planta, possuía algumas propriedades químicas semelhantes, tais como: alto nível de N; baixa relação C:N; e alto nível de nutrientes solúveis, incluindo P, K, Ca e Mn.

A mudança do pH em solos incorporados com LE também pode ser responsável pela supressividade para algumas doenças. A elevação do pH induzida pelo LE foi responsável pela neutralização do crescimento do fungo *R. solani* em placas de Petri (Fortes et al., 2000).

Referindo-se a compostos orgânicos em geral, Pereira et al. (1996) dizem que nenhuma generalização pode ser feita sobre o efeito dos mesmos sobre as doenças de plantas, pois embora a atuação nos fitopatógenos possa ser diretamente pela produção de compostos

químicos ou favorecendo o aumento da população dos antagonistas, estes efeitos podem variar de acordo com a interação patógeno-hospedeiro e com o tipo e origem do composto.

4.7 Presença de fitopatógenos no lodo de esgoto

Um cuidado que deve haver, em alguns casos, com a utilização do lodo de esgoto (LE) cru, é a possível presença de fitopatógenos. Por outro lado, nesse mesmo material é normal a presença de microrganismos antagonistas aos fitopatógenos.

Numerosos microrganismos estão presentes em grande número no LE ou no solo corrigido com lodo. Vários fungos isolados desses substratos são reconhecidamente patogênicos às plantas (Cooke, 1956; Gangawane & Kulkarni, 1985; Abdel-Hafez & El-Sharouny, 1990). Numa revisão sobre o assunto foi verificado que várias investigações têm sido realizadas na microbiota do solo que recebeu lodo em diferentes partes no mundo (Cooke & Pipes; Diener et al.; Elland; Larry & Wanger; citados por Abdel-Hafez & El-Sharouny, 1990) e numerosos fungos foram encontrados tais como *Aspergillus*, *Fusarium*, *Mucor* e *Penicillium*. No Egito, as espécies que prevaleceram foram *Acremonium strictum*, *Aspergillus fumigatus*, *A. niger*, *A. sydowii*, *Chaetomium globosum*, *F. solani*, *Mucor hiemalis*, *Penicillium chrysogenum* e *Stachybotrys chartarum* (Abdel-Hafez & El-Sharouny, 1987). Resultados semelhantes foram encontrados no trabalho de Abdel-Hafez & El-Sharouny (1990), onde foram isolados fungos com potencial de

fitopatogenicidade, tais como *F. solani*, *F. oxysporum*, *F. moniliforme*, *Alternaria alternata* e os gêneros *Aspergillus* e *Penicillium*.

No Brasil, alguns microrganismos patogênicos às plantas, como: *Fusarium*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Verticillium* e *Cephalosporium* também foram encontrados (Gambale et al., 1987).

Para solucionar o problema de microrganismos indesejáveis em resíduos orgânicos, a compostagem tem sido apontada como uma boa alternativa (Hoitink e Fahy, 1986). A erradicação de fitopatógenos durante a compostagem pode ser decorrente da inativação térmica, por efeito de produtos tóxicos, como exemplo os ácidos húmicos liberados durante a compostagem ou amônia após a estabilização, ou por microbiostase (Pereira et al., 1996). A maioria dos fitopatógenos pode ser eliminada pela exposição às temperaturas em torno de 55 °C, como por exemplo, 65 °C a 70 °C, nas primeiras 48 horas da compostagem (Hoitink & Fahy, 1986).

5 MATERIAL E MÉTODOS

5.1 Origem e características dos lodos de esgoto

Os lodos de esgoto (LE) foram obtidos nas Estações de Tratamento de Esgotos de Franca e de Barueri, do estado de São Paulo. O lodo de Franca é essencialmente originado do tratamento de esgoto doméstico e o de Barueri de origem industrial e doméstica. Sendo que o processo de tratamento destes esgotos consta basicamente de desarenação, decantação primária, digestão aeróbia, seguido de decantação secundária, digestão anaeróbia, condicionamento com polieletrólitos e desaguamento.

A composição do LE utilizado nos trabalhos respeitou as normas para sua utilização na agricultura, adotadas pela CETESB, por meio da norma P 4230, como demonstra a análise química completa (Quadro 1).

Quadro 1. Características químicas dos lodos de esgotos de Franca (SP) e Barueri (SP) e concentrações limites permitidas de metais em lodo para uso agrícola.

Atributo	2- IAC		Teor aceitável de metais em lodo (base seca) ¹
	Lodo Franca	Lodo Barueri	
pH em água	6,4	6,4	
Umidade (65°C)	52,1	53,3	
C, g kg ⁻¹	374,4	271,9	
N Kjeldahl g.kg ⁻¹	50,8	26,4	
N-amoniaco; mg.kg ⁻¹	119,5	156,1	
N-Nitrato-Nitrito; mg.kg ⁻¹	54,8	106,6	
P; g kg ⁻¹	21,3	31,2	
K; g kg ⁻¹	0,99	1,97	
Ca; g kg ⁻¹	16,8	22,8	
Mg; g kg ⁻¹	2,5	3,7	
S; g kg ⁻¹	13,3	10,8	
Mo, mg kg ⁻¹	<1	<1	
B; mg/kg	7,1	11,2	
Na; g/kg	0,6	0,6	
Cr, mg kg ⁻¹	1325	1071	
Mn, mg kg ⁻¹	267,4	335,4	
Fe, mg kg ⁻¹	31706	32517	
Co, mg kg ⁻¹			
Ni, mg kg ⁻¹	74,7	483,1	420
Cu, mg kg ⁻¹	359,2	1046	1500
Zn, mg kg ⁻¹	1590	3335	2800
Al, mg kg ⁻¹	33550	25233	39
Cd, mg kg ⁻¹	2	9	300
Pb, mg kg ⁻¹	118,8	233,7	
Ar.; mg/kg	<1	<1	
Se; mg/kg	0	0	
Hg; mg/kg	<1	<1	

¹Fonte: CETESB (1999).

Os valores de concentração são dados com base na matéria seca.

Os valores de concentração para o nitrogênio nas formas amoniaco e nitrato foram determinados na amostra nas condições originais.

5.2 Local dos trabalhos e características do solo

A condução dos trabalhos foi realizada nos laboratórios e no campo experimental da Embrapa Meio Ambiente, no município de Jaguariúna, SP, Brasil, latitude 22° 41' sul, longitude 47° W. Gr. e altitude 570 m.

O solo utilizado nos experimentos de laboratório e casa de vegetação, e o solo do campo experimental é do tipo Latossolo amarelo. O solo utilizado nos trabalhos de laboratório e de casa de vegetação foram coletados de local não utilizado para cultivo.

Antes da instalação dos ensaios de campo foi realizada a análise do solo na profundidade de 0 - 20 cm (Quadro 2).

Quadro 2. Resultados de análises químicas de terra para fins de fertilidade.

SN ¹	pH	%	P (ppm)			mEq/100 ml TFSA					
	CaCl ₂ água	M.O	*	**	K**	Ca	Mg	(Al + H)	CTC	V%	
	5,4	6,0	2,2	4,0	7,1	0,15	4,4	1,1	2,8	8,5	66,9
SI ²	pH	g/dm ³	P (mg/dm ³)			mmolc/dm ³					
	CaCl ₂ água	M.O	*	**	K**	Ca	Mg	(Al + H)	CTC	V%	
	5,4	6,0	22	4,0	7,1	1,54	44	11	28	84,5	66,9

¹ Sistema normal

² Sistema internacional

* Mehlich

** Resina aniônica

5.3 Origem e características dos fitopatógenos

Os fitopatógenos utilizados neste estudo foram os seguintes: *R. solani*, *F. oxysporum* f.sp. *phaseoli*, *S. sclerotiorum*, *S. rolfsii* e *P. aphanidermatum*. Os isolados foram obtidos na coleção de fungos do Laboratório de Fitopatologia da Embrapa Meio Ambiente, com exceção do *P. aphanidermatum*, fornecido pelo Instituto Biológico. Os fitopatógenos foram multiplicados em BDA (batata, dextrose e ágar) e preservados em água destilada esterilizada (Figueredo, 1967).

5.4 Efeito de lodo de esgoto sobre o crescimento micelial de fitopatógenos habitantes do solo

Avaliou-se o efeito do lodo de esgoto (LE), no crescimento micelial dos fungos *R. solani*, *F. oxysporum* f.sp. *phaseoli*, *S. sclerotiorum*, *S. rolfsii* e *P. aphanidermatum*.

O estudo foi constituído de seis tratamentos com LE (86% de umidade) misturado ao solo nas seguintes concentrações: 0, 5, 10, 15, 20 e 25%. Os substratos obtidos foram colocados em placas de Petri e recobertos por uma camada de ágar-água e outra de papel celofane esterilizado em formol. No centro de cada placa, sobre o papel celofane, foi colocado um disco de BDA de 5 mm de diâmetro contendo os patógenos. Para cada patógeno foram realizados dois ensaios: um, com os substratos submetidos a autoclavagem a 120°C, durante uma hora, em dois dias consecutivos; e o outro sem autoclavagem dos substratos. Para todos os ensaios, a incubação foi em condições ambiente de luminosidade e com temperatura de 24°C ± 2.

O crescimento micelial das colônias dos patógenos foi avaliado diariamente medindo-se o diâmetro da colônia em duas perpendiculares traçadas no fundo das placas.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado com três repetições. Os dados de crescimento micelial dos fungos foram submetidos a análise de variância e a regressão polinomial. Os fungos que não apresentaram crescimento, não foram submetidos a análise estatística.

O LE utilizado no experimento foi obtido na Estação de Tratamento de Esgoto de Franca.

5.5 Efeito do lodo de esgoto no tombamento de plântulas de pepino causado por *Pythium aphanidermatum*

Em meio contendo 200 g de areia lavada, 40 g de quirera de milho e 60 ml de água destilada, esterilizado a 121°C e 1 atm por 1 hora, em dois dias consecutivos, foram colocados 10 discos de 6 mm de diâmetro de uma cultura de *P. aphanidermatum* cultivado em BDA. O material foi incubado durante sete dias, a $\pm 24^{\circ}\text{C}$, com 12 horas luz.

O lodo de esgoto (LE) obtido na Estação de Tratamento de Esgoto de Franca, SP, foi seco em estufa a $\pm 40^{\circ}\text{C}$, moído e passado em peneira com malha de 4,75 mm. Posteriormente, o LE foi misturado ao solo nas concentrações de 0, 10, 20, 30, 40 e 50%; com e sem a adição de 5 g de fertilizante (4-14-8) por litro; e distribuído em quatro vasos com 500 ml de capacidade para cada concentração. Os substratos foram infestados, individualmente por vaso, com 10gL^{-1} do inóculo de *P. aphanidermatum*, sete dias antes da semeadura de 10 sementes de pepino

(variedade Safira) por vaso. Como controle manteve-se os mesmos tratamentos sem a infestação com o patógeno. Após o primeiro cultivo os substratos foram revolvidos em bandejas e recolocados nos vasos onde realizou-se um novo cultivo. Um segundo teste foi realizado com nova incorporação de LE com os mesmos tratamentos, sendo realizados 3 cultivos no mesmo substrato e com o mesmo procedimento do primeiro teste. A duração de cada cultivo foi de 15 dias nos dois testes. Os tratamentos com alta concentração de LE foram incluídos com o propósito de utilização como substrato para sementeira.

A severidade da doença, o pH, a condutividade elétrica (CE), o peso de matéria fresca (PF) e o peso de matéria seca (PS) foram avaliados em todos os cultivos de cada teste e a atividade microbiana, por meio de hidrólise de diacetato de fluoresceína (FDA), no último cultivo de cada teste.

A severidade da doença foi obtida pela porcentagem de tombamento pós-emergência em função do número de plântulas emergidas.

Para medir o pH foi pesado 10 g de substrato dos vasos, cujos tratamentos continham o patógeno, em um recipiente de vidro de 50 ml de capacidade e adicionado 25 ml de água destilada e deionizada, submetendo o conjunto à agitação a 120 rpm durante 15 minutos. Após a medição do pH e decantação por 30 minutos, foi retirada uma alíquota de 10 ml, com auxílio de uma pipeta de Pasteur, e transferida para um recipiente de vidro (snap de 15 ml), no qual foi realizada a medição da condutividade elétrica.

A metodologia utilizada para a determinação da hidrólise de FDA foi baseada na descrita por Boehm & Hoitink (1992). Em frascos de Erlenmeyer (125 ml), pesou-se 5 g de solo, com quatro repetições, adicionando-se 20 ml de tampão fosfato de potássio 60 mM (8,7

g de K_2HPO_4 e 1,3 g de KH_2PO_4 / L de água destilada), com pH 7,6. Após, foi colocado 200 μ L de solução estoque de FDA (2 mg.mL^{-1} de acetona) e o material incubado por 20 minutos em agitador (120 rpm) a 25°C. Imediatamente após a retirada das amostras do agitador, a reação foi interrompida com a adição de 20 mL de acetona e as mesmas submetidas a filtração em filtro Whatman nº 1. Os filtrados foram utilizados para leitura da absorbância em espectrofômetro ajustado a 490 nm. Para obter a quantidade de FDA hidrolizado foi determinada uma curva padrão, adicionando-se em tubos de ensaio, 5 mL de tampão fosfato e 0, 100, 200, 300 e 400 μ L de FDA, em duas repetições, para cada concentração, por tratamento. Posteriormente os tubos foram tampados e submetidos em banho-maria com água fervente por uma hora, para hidrolizar o FDA. Após resfriada, a solução com o FDA hidrolizado foi colocada em Erlenmeyers, contendo 5 g de solo e 15 mL de tampão fosfato, em duas repetições para cada concentração por tratamento. Seguiu-se a mesma metodologia descrita para incubação, filtração e leitura de absorbância das amostras. Com a equação da reta da curva padrão obtida pela regressão linear entre o FDA hidrolizado e a absorbância foi possível calcular o FDA hidrolizado pelos microrganismos nos tratamentos.

5.6 Efeito do lodo de esgoto na podridão do colo e tombamento de plântulas de feijoeiro causados por *Sclerotium rolfsii* e na sobrevivência dos escleródios do fungo

5.6.1 Indução de supressividade de solo com lodo de esgoto avaliada pela sobrevivência dos escleródios

O solo utilizado neste teste foi coletado de um experimento à campo e casualizado em blocos, com três repetições, em parcelas de 200 m², em Latossolo amarelo, com os seguintes tratamentos: adubação mineral recomendada para a cultura do milho e LE nas doses de 0; 6,5; 13; 22 e 60 t/ha para o lodo de esgoto (LE) gerado na ETE de Franca, SP; e doses de 0, 12, 24, 148 e 96 t/ha para o LE gerado na ETE de Barueri, SP. As doses foram determinadas com base no teor de nitrogênio (BN) fornecido pelo LE, considerando 0, 1, 2, 4 e 8 vezes a necessidade da cultura. Essas doses foram aplicadas ao solo uma semana antes do cultivo, tendo sido realizado dois cultivos, sempre após as aplicações de LE. A coleta das amostras de solo foi realizada em cinco pontos de cada parcela, numa profundidade de 0 a 20 cm, durante o segundo cultivo da cultura do milho, na fase de pendramento. Após a homogeneização, o solo coletado, de cada parcela, foi peneirado e distribuído em dois vasos com seis litros de capacidade, mantidos em casa de vegetação. Em cada vaso, numa profundidade de cinco cm foram colocados quatro saquinhos confeccionados com meias de nylon, contendo aproximadamente 50 escleródios misturados a 50 ml de solo do próprio vaso e fechados com atilho. O solo dos vasos foram irrigados a cada sete dias. Os escleródios foram produzidos em meio BDA contido em placas de Petri, transferindo-se um disco contendo micélio do fungo para o centro da placa e incubando a $25 \pm 2^\circ\text{C}$ por 10 dias.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado com seis repetições para cada tipo de LE (gerado na ETE de Franca e de Barueri).

As avaliações da sobrevivência dos escleródios foram realizadas aos 30, 60, 90 e 120 dias após a colocação dos mesmos no solo. A cada avaliação coletou-se um saquinho de nylon e o seu conteúdo foi distribuído em uma folha de papel ofício branca. Com o auxílio de uma pinça coletou-se 20 escleródios ao acaso, os quais após a desinfestação superficial em

hipoclorito de sódio a 0,5%, durante três minutos, foram plaqueados em meio ágar-água e acondicionados em sala de crescimento a $25^{\circ}\text{C} \pm 2$. Após 30 horas fez-se a contagem do número de escleródios germinados. Os dados foram submetidos à análise de variância, análise de regressão linear e ao teste de Duncan a 5 %.

5.6.2 Indução da supressividade do solo com lodo de esgoto avaliada pela severidade da doença em condições controladas

O lodo de esgoto (LE), obtido na ETE de Franca, S.P, foi seco em estufa a 40°C por 72 horas, moído e passado em peneira com malha de 4,75 mm. Posteriormente o LE foi misturado ao solo (Latosolo amarelo) nas concentrações de 0; 2,5; 5; 7,5; 10 e 12,5 %; e distribuído em quatro vasos com 500 ml de capacidade para cada concentração. Em outro tratamento foi adicionado 2,5 g de fertilizante (4-14-8) por vaso. Os substratos foram infestados com 10gL^{-1} do inóculo de *S. rolfsii* sete dias antes da semeadura de 10 sementes de feijão (tipo carioquinha) por vaso. O isolado de *S. rolfsii*, utilizado neste estudo, foi multiplicado colocando-se 10 discos de BDA, de 6 mm de diâmetro, colonizados pelo fungo, em fracos de 1 litro, com substrato previamente autoclavados por uma hora em dois dias consecutivos, contendo: 100 g de arroz em casca e 150 ml de água destilada. O substrato foi incubado durante 10 dias, com temperatura de $25^{\circ}\text{C} \pm 2$ e doze horas luz. Como controle de possíveis efeitos fitotóxicos dos tratamentos, manteve-se quatro vasos sem infestação com o patógeno e sem aplicação de LE ou fertilizante. Efetuou-se três cultivos sucessivos de feijão no mesmo substrato, com duração

aproximada de 20 dias, sendo o segundo cultivo realizado sete dias após o término do primeiro e o terceiro 60 dias em relação ao segundo.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado com quatro repetições.

A severidade da doença, considerando a porcentagem de tecido lesionado no colo da planta, foi avaliada nos três cultivos, utilizando a seguinte escala de notas: 1 = plantas sem sintomas visíveis; 2 = plantas com aproximadamente 10% do hipocótilo e/ou raízes cobertos com lesões; 5 = aproximadamente 25% do hipocótilo e/ou raízes cobertos com lesões, mas os tecidos do hipocótilo permanecem firmes, com deterioração do sistema radicular, e a descoloração das folhas é evidente; 7 = aproximadamente 50% hipocótilo e/ou raízes cobertos com lesões e severo apodrecimento do sistema radicular; e 9 = aproximadamente 75% ou mais dos tecidos cobertos com lesões, em avançado estado de apodrecimento, com severa redução do sistema radicular (Schoonhoven & Pastor-Corrales, 1987).

Os dados foram submetidos a análise de variância, análise de regressão polinomial e a comparação de médias foi realizada pelo teste de Duncan a 5%.

5.6.3 Indução da supressividade do solo com lodo de esgoto avaliada pela severidade da doença em condições de campo

Em parcelas de 1 m² e delimitadas por telhas de argila justapostas foram incorporados o adubo mineral na dose recomendada (Raij et al., 1996) (N - 50 Kg/ha, P - 60 Kg/ha, K - 50 Kg/ha) para a cultura do feijoeiro e 0, 1, 2, 3 e 4 (0, 12,4 t/ha, 24,8 t/ha, 37,2 t/ha,

49,6 t/ha, respectivamente) vezes a dose de nitrogênio necessária para a cultura e fornecidas pelo lodo de esgoto (LE) produzido na ETE de Franca. O LE foi utilizado com 86% de umidade. Os tratamentos com LE determinados com base na dose de nitrogênio utilizada, serão denominados de 0, 1, 2, 3 e 4 BN (base nitrogenada).

O solo foi infestado dois meses antes da aplicação do LE, com 100 g por parcela do substrato (arroz em casca) contendo o patógeno, realizando-se dois cultivos preliminares para certificação da ocorrência e homogeneidade da doença nas parcelas. A semeadura, de 80 sementes de feijão tipo carioquinha por parcela, foi realizada após uma semana da aplicação do LE, em dois cultivos sucessivos. Uma segunda aplicação de LE, nove meses após a primeira e nas mesmas concentrações anteriores, foi realizada, sendo efetuado um cultivo.

A intensidade da doença, o pH, a condutividade elétrica (CE) e o peso da matéria seca das plantas foram avaliados nos três cultivos e a atividade microbiana, por meio da hidrólise de diacetato de fluoresceína (FDA) e do desprendimento de CO₂, no terceiro. A emergência, o estande final e a severidade, utilizando a escala de notas de Schoonhoven & Pastor-Corrales (1987), foram utilizadas para avaliar a intensidade da doença, em todos os cultivos.

As metodologias utilizadas para avaliar o pH, a CE e o FDA estão descritas no item 4.5. Para avaliação do desprendimento de CO₂ coletou-se, em seis pontos diferentes de cada parcela, amostras de solo totalizando 100 g, sendo homogeneizadas e peneiradas (4 mm). As amostras coletadas foram incubadas em recipientes hermeticamente fechados, com volume de 2 L, contendo a tampa de uma placa de Petri com 10 ml de KOH a 0,5 N, no escuro a 20°C. Dois outros recipientes, contendo apenas 10 ml de KOH a 0,5 N nas placas de Petri, foram

mantidas como controle. Após 15 dias de incubação, o KOH foi titulado com HCl, conforme método descrito por Grisi (1978).

Outro fator avaliado foi a sobrevivência dos escleródios do patógeno no primeiro e no terceiro cultivo. Para avaliar a sobrevivência dos escleródios coletou-se em seis pontos de cada parcela, na profundidade de 0 - 10 cm, uma amostra de terra totalizando 500 g. Após a homogeneização, retirou-se uma alíquota de 50 g de cada amostra, a qual foi peneirada com um jogo de cinco peneiras com aberturas de 4,75 mm, 2,36 mm, 1,00 mm, 0,053 mm e 0,037 mm, submetida a pressão da água de torneira. As três peneiras, com as menores aberturas, foram mergulhadas em uma bacia branca com água, para retirar os escleródios que boiavam com o auxílio de uma pinça. Os escleródios foram submetidos a uma desinfestação superficial em hipoclorito de sódio a 2%, durante três minutos e plaqueados em placas de Petri contendo meio ágar-água. Após 24 horas em sala de crescimento, com temperatura de $25^{\circ}\text{C} \pm 2$, avaliou-se a viabilidade contando-se os escleródios germinados.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância, análise de regressão polinomial e comparação de médias pelo teste de Duncan a 5%.

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 Efeito de lodo de esgoto sobre o crescimento micelial de fitopatógenos habitantes do solo

Ficou evidenciado o comportamento diferenciado no crescimento dos fitopatógenos quando submetidos ao substrato com lodo de esgoto (LE), com e sem autoclavagem (Quadro 3 e 4).

O LE autoclavado apresentou alto índice de inibição no crescimento micelial diário para a maioria dos patógenos testados, destacando-se o efeito sobre *S. sclerotiorum* e *S. rolfsii*, os quais tiveram seus crescimentos totalmente inibidos em todas as concentrações de LE, enquanto que os mesmos fungos atingiram um crescimento micelial diário de 0,8 e 3,3 mm, respectivamente, no solo sem LE. Para *R. solani* a inibição total de seu crescimento ocorreu a partir da concentração de 10% de LE autoclavado no substrato, sendo que na concentração de 5% a média de crescimento diário foi de 1,7 mm com uma

Quadro 3. Efeito do lodo de esgoto autoclavado e solo na taxa de crescimento micelial (mm/dia) de fitopatógenos habitantes do solo.

Tratamento	<i>Rhizoctonia solani</i>		<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>		<i>Sclerotium rolfsii</i>		<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>phaseoli</i>		<i>Pythium aphanidermatum</i>	
	CRESC. ¹	P.I.	CRESC. ¹	P.I.	CRESC. ¹	P.I.	CRESC. ¹	P.I.	CRESC. ¹	P.I.
Solo	4,00		0,90		3,30		3,40		3,16	
Lodo 5%	1,70	57,50	0	100	0	100	2,66	21,70	2,06	35,00
Lodo 10%	0	100	0	100	0	100	2,16	36,00	0,65	79,40
Lodo 15%	0	100	0	100	0	100	2,66	21,70	0,87	72,50
Lodo 20%	0	100	0	100	0	100	1,83	46,10	0,87	72,50
Lodo 25%	0	100	0	100	0	100	2,00	41,10	0,51	84,00
R²							NS		0,72	
CV (%)									13,60	

¹Média de três repetições.

P.I. = Porcentagem de inibição do crescimento micelial dos fitopatógenos.

NS = Não significativo pelo teste F e R².

Para os fungos *R. solani*, *S. sclerotiorum* e *S. rolfsii* não foi realizada análise de variância e regressão polinomial.

Quadro 4. Efeito do lodo de esgoto não autoclavado e solo na taxa de crescimento micelial (mm/dia) de fitopatógenos habitantes do solo.

Tratamento	<i>Rhizoctonia solani</i>		<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>		<i>Sclerotium rolfsii</i>		<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>phaseoli</i>		<i>Pythium aphanidermatum</i>	
	CRESC. ¹	P.I.	CRES. ¹	P.I.	CRESC. ¹	P.I.	CRESC. ¹	P.I.	CRESC. ¹	P.I.
Solo	4,80		1,33		4,50		3,40		1,33	
Lodo 5%	2,20	54,00	1,60	-	4,50	-	2,70	20,60	2,30	-
Lodo 10%	2,50	48,00	0,53	60,00	1,70	62,00	2,60	23,50	2,60	-
Lodo 15%	3,60	25,00	1,80	-	3,20	29,00	2,40	29,40	2,06	-
Lodo 20%	3,80	20,80	1,30	-	2,00	55,00	2,30	32,30	2,06	-
Lodo 25%	3,40	29,00	1,06	20,30	1,10	75,50	1,90	44,00	1,43	-
R ²	NS		NS		0,69		0,92		NS	
CV (%)					6,40		7,55			

¹Média de três repetições.

P.I. = Porcentagem de inibição do crescimento micelial dos fitopatógenos.

NS = Não significativo pelo teste F e R².

inibição de 57,5%, quando comparado à média diária de crescimento no solo testemunha que foi de 4 mm. Para *P. aphanidermatum*, embora, a redução do crescimento micelial não tenha sido total para nenhuma das concentrações de LE, a inibição foi significativa e com R^2 de 0,72, sendo que a porcentagem de inibição variou entre 35% para a concentração de 5% de LE, até 84 % para concentração mais alta de LE, quando comparado com o crescimento do fungo no solo. Ao contrário do que ocorreu com a maioria dos patógenos, o efeito de inibição do LE autoclavado sobre *F. oxysporum* f.sp. *phaseoli* não foi estatisticamente significativo. Isto leva a crer que o referido patógeno, de forma diferenciada dos demais, não foi sensível ao fator químico que inibiu o crescimento dos outros patógenos (Quadro 3).

O fator biológico, potencialmente antagonico aos fitopatógenos, foi eliminado dos substratos esterilizados. No entanto, nem sempre o controle biológico proporcionado pela matéria orgânica é o único responsável pela inibição dos fitopatógenos. Conforme Perelra et al. (1996), a ação dos compostos orgânicos nos fitopatógenos pode também ser diretamente pela produção de compostos químicos. Embora se tratando de experimento a campo a supressão do LE compostado à mancha marrom em capim-do-prado persistiu mesmo quando o composto foi esterilizado por autoclavagem, sugerindo que um componente microbiano não foi responsável pelas propriedades de supressão da doença (O'Neill, citado por Nelson & Craft, 1992). Em outro trabalho o LE juntamente com casca de madeira, apesar de aumentarem a atividade microbiana total e populações no solo de alguns grupos funcionais, alguns dos quais foram negativamente correlacionado com a incidência e a severidade das doença em pimenta causada por *Phytophthora capsici*, não foi capaz de reduzir a população do patógeno, nem os sintomas das doenças (Kim et al., 1997). A mudança do pH do meio por interferência do LE é outro fator não biológico que pode

ter influenciado no crescimento de fungos. Isto foi comprovado pelo trabalho de Fortes et al. (2000) onde a elevação do pH induzida pelo LE foi responsável pela neutralização do crescimento do fungo *R. solani* em placas de Petri com meio BDA.

A hipótese mais provável para a eficiência do LE autoclavado, na redução do crescimento micelial da maioria dos patógenos testados no presente trabalho, foi a formação e ou liberação de substâncias fungitóxicas, voláteis ou não, em quantidade expressiva, por ocasião da autoclavagem.

O LE não autoclavado, ao contrário do autoclavado, não inibiu significativamente o crescimento micelial da maioria dos fitopatógenos e quando a inibição ocorreu, não foi tão eficiente quanto no autoclavado, quando comparado com a testemunha. No entanto, com as doses crescentes de LE verificou-se redução significativa do crescimento micelial dos fungos *F. oxysporum* f.sp. *phaseoli* e *S. rolfsii* ($R^2 = 0,92$ e $0,69$, respectivamente). Para o *S. rolfsii* a inibição ocorreu a partir da concentração de 10% de LE com 62% de inibição e 75,5% para dose mais alta (25%) de LE, considerando que a taxa de crescimento micelial diário na testemunha foi de 4,5 mm por dia, contra um crescimento de 1,1 mm por dia na maior concentração de LE. Para o fungo *F. oxysporum* f.sp. *phaseoli* a porcentagem de inibição do crescimento micelial atingiu índices menores do que para *S. rolfsii*. No entanto, a inibição começou a partir de 5% de LE com 20,6% até 44% de inibição na dose mais alta e a redução do crescimento teve uma melhor linearidade com o aumento nas doses de LE. Os demais fungos não tiveram reduções do crescimento micelial, sendo que *P. aphanidermatum* não foi inibido em seu crescimento em nenhuma das doses de LE (Quadro 4).

A mistura de LE e solo não autoclavados possui grande potencial para ativação da microbiota presente nesses substratos e conseqüente competição com os patógenos

habitantes do solo. O modo pelo qual o LE reduziu a severidade das doenças, conforme está relatado na maioria dos trabalhos, parece estar relacionado principalmente com o aumento da atividade microbiana no solo e a própria microbiota contida no material orgânico (Chen et al. 1987; Kuter et al., 1988; Ferrara et al., 1996; Craft & Nelson, 1996; Dissanayaque & Hoy, 1999). No entanto, ficou evidenciada uma baixa eficiência na inibição do crescimento micelial dos patógenos testados, por parte do LE não autoclavado, quando comparado ao autoclavado. Estes resultados são comparáveis com outro teste *in vitro*, onde compostos contendo LE também não foram eficazes contra o crescimento de alguns fitopatógenos, não apresentando halo de inibição a *F. oxysporum* f. sp. *cucumerinum*, *P. ultimum*, *Verticillium dahliae* e *R. solani* (Phae et al., 1990). A baixa eficiência de inibição dos fungos por parte do LE não autoclavado pode estar relacionado com a dificuldade de manifestação antagônica da microbiota contra fitopatógenos, devido à metodologia utilizada neste trabalho. Cobrindo o substrato orgânico com meio de cultura e papel celofane, o contato direto do LE com o patógeno é evitado. Com isso, a microbiota presente no substrato só poderia agir por meio da antibiose, descartando qualquer outro modo de ação envolvido no controle biológico. No entanto, embora, a difusão de substâncias no meio de cultura e celofane tenha sido possível, o processo não contribuiu para uma inibição eficiente de todos os patógenos testados. As limitações da metodologia apresentada no presente trabalho, não invalida os resultados, principalmente os que foram obtidos com o substrato autoclavado. No entanto, em trabalhos futuros o contato direto do patógeno com o substrato, em recipientes maiores, favorecerá avaliações num período superior a 15 dias, monitorando o crescimento do patógeno e permitindo avaliar o potencial supressivo do substrato com maior confiabilidade. Em recipientes ermeticamente

fechados, contendo substrato e patógeno, poderá ser avaliado de forma isolada o efeito de substâncias voláteis.

6.2 Efeito do lodo de esgoto no tombamento de plântulas de pepino causado por *Pythium aphanidermatum*

O efeito do lodo de esgoto (LE) no tombamento de plântulas de pepino, causado por *P. aphanidermatum*, foi variável entre os cultivos realizados nos dois testes.

No primeiro cultivo dos dois testes (T1/C1 e T2/C1) realizados, o efeito do LE no tombamento de plântulas não foi estatisticamente significativo nos tratamentos com e sem a adição de fertilizante mineral. No entanto, ocorreu uma tendência de aumento da doença nas doses mais baixas de LE e um controle total ou próximo do total na dose mais alta (Figuras 1 e 2, T1/C1 e T2/C1).

A partir do 2º cultivo, nos dois testes realizados ocorreu redução significativa no tombamento de plântulas, conforme aumentou a dose de LE (Figuras 1AB e 2AB, T1/C2 , T2/C2 e T2/C3).

No segundo cultivo do primeiro teste (T1/C2) a redução no tombamento de plântulas promovida pelas doses de LE foi significativa tanto nos tratamentos com fertilizante (Figura 1A) quanto nos tratamentos sem fertilizante (Figura 2A) ($R^2 = 0,71$ e $R^2 = 0,94$, respectivamente). Nos tratamentos com fertilizante, do primeiro teste, o controle da doença foi de 100% a partir da dose de 30% de LE, enquanto que nos tratamentos sem fertilizante, o controle total da doença foi a partir da dose de 20%.

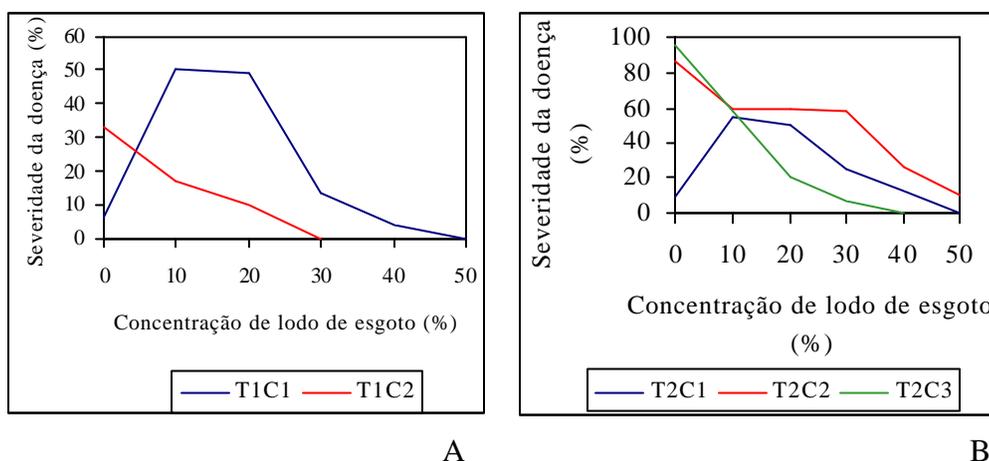


Figura 1. Efeito do lodo de esgoto na severidade da doença causada por *Pythium aphanidermatum* em plântulas de pepino, nos cultivos do primeiro (A) e do segundo teste (B), nos tratamentos com fertilizantes. (A) T1/C1 = Teste 1, 1º cultivo (NS*); T1/C2 = Teste 1, 2º cultivo ($R^2 = 0,71$); (B) T2/C1 = Teste 2, 1º cultivo (NS*), T2/C2 = Teste 2, 2º cultivo ($R^2 = 0,74$); e T2/C3 = Teste 2, 3º cultivo ($R^2 = 0,95$). * Não significativo.

O maior tempo transcorrido entre a mistura do LE ao solo e a semeadura, parece ter contribuído para o controle da doença somente a partir do segundo cultivo, nos dois testes realizados neste trabalho (Figuras 1 e 2).

O pouco tempo transcorrido entre a incorporação do LE no solo e a semeadura da cultura no primeiro cultivo foi fator de insucesso por parte do LE no controle de doenças induzidas por *Pythium* e *Rhizoctonia*, em outros trabalhos. Em experimento a campo, somente após o segundo cultivo o controle pelo composto foi efetivo para “damping-off” causado por *Pythium* e *Rhizoctonia* em ervilha (Millner et al., 1982). Compostos preparados com lodo

municipal, inicialmente foram conducentes a tombamento causado por *Pythium* e *Rhizoctonia* e tornaram-se supressivos às doenças após um período de curtimento, sendo maior para *Rhizoctonia* (Kuter et al., 1988). Em experimentos de laboratório a supressividade ao “damping-off” em *Agrostis palustris* causadas por *P. graminicola*, somente foi alcançada com o composto de LE mais envelhecido (Craft & Nelson, 1996). O maior tempo entre a adição do composto de lodo no solo e o plantio aumentou a supressão das doenças causadas por *Pythium* e *Rhizoctonia* (Lumsden et al., 1983).

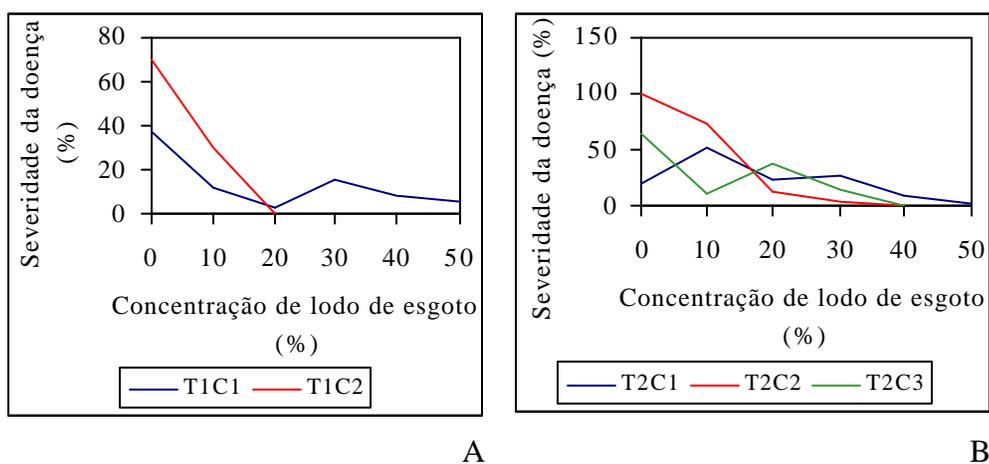


Figura 2. Efeito do lodo de esgoto na severidade da doença causada por *Pythium aphanidermatum* em plântulas de pepino, nos cultivos do primeiro (A) e do segundo teste (B), nos tratamentos sem fertilizantes. (A) T1/C1 = Teste 1, 1º cultivo (NS*); T1/C2 = Teste 1, 2º cultivo ($R^2 = 0,94$); (B) T2/C1 = Teste 2, 1º cultivo (NS*), T2/C2 = Teste 2, 2º cultivo ($R^2 = 0,94$); e T2/C3 = Teste 2, 3º cultivo ($R^2 = 0,75$). * Não significativo.

Com base nos resultados do segundo cultivo, dos dois testes, e o terceiro cultivo, do segundo teste, fica evidenciado o bom desempenho do LE no controle do tombamento pós-emergência causado por *P. aphanidermatum*. Sendo que todas as doses de LE reduziram a doença em relação a testemunha, nos tratamentos com e sem fertilizante, e na maioria das vezes as doses de 40% e 50% de LE tiveram controle total sobre a doença. Este fato sugere a possibilidade do lodo ser usado como substrato de duplo propósito em solo de sementeiras, onde haja necessidade de fornecer nutrientes e controlar doenças induzidas por *P. aphanidermatum*. Em outros trabalhos o LE também foi capaz de reduzir os danos de doenças causadas por fungos do gênero *Pythium*, como por exemplo *P. arrhenomanes*, em sorgo (Bettiol & Krügner, 1984); *P. ultimum*, em ervilhas (Lewis et al., 1992); *P. ultimum*, em pepino (Chen et al., 1987; Ferrara et al., 1996) e *P. aphanidermatum*, em cana-de-açúcar (Dissanayaque & Hoy, 1999). Por outro lado, “damping off” em ervilha e feijão causado por *Pythium* sp., não foi afetado pelo composto de LE (Lumsden et al., 1983).

A atividade microbiana, medida pela hidrólise de FDA, teve um aumento significativo com as doses crescentes de LE, nos dois testes onde foi avaliada, tanto nos tratamentos com fertilizante ($R^2=0,94$ e $R^2=0,92$) como nos sem fertilizante ($R^2 = 0,97$ e $R^2 = 0,98$) (Figura 3). Considerando os cultivos dos dois testes onde foi avaliada, o aumento da atividade microbiana explicou de 86% a 96% a redução da severidade da doença, pela análise de correlação (Quadros 5 e 6).

A maior atividade microbiana representa uma microbiota em maior número, competindo com o agente causal da doença (*P. aphanidermatum*), e podendo agir sobre este, também por antibiose, parasitismo e predação. Em outros trabalhos, o aumento da atividade

microbiana induzido pelo LE, foi citado como o principal fator de redução das atividades do gênero *Pythium* ou das doenças causadas por fungos deste gênero (Chen et al., 1988; Lumsden et al., 1983 e Dissanayaque & Hoy, 1999). O aumento da atividade microbiana no solo, após a adição do LE, pode ser estimulada por desidrogenase, nitrogênio total, fósforo, magnésio, cálcio e matéria orgânica no solo (Lumsden et al., 1986).

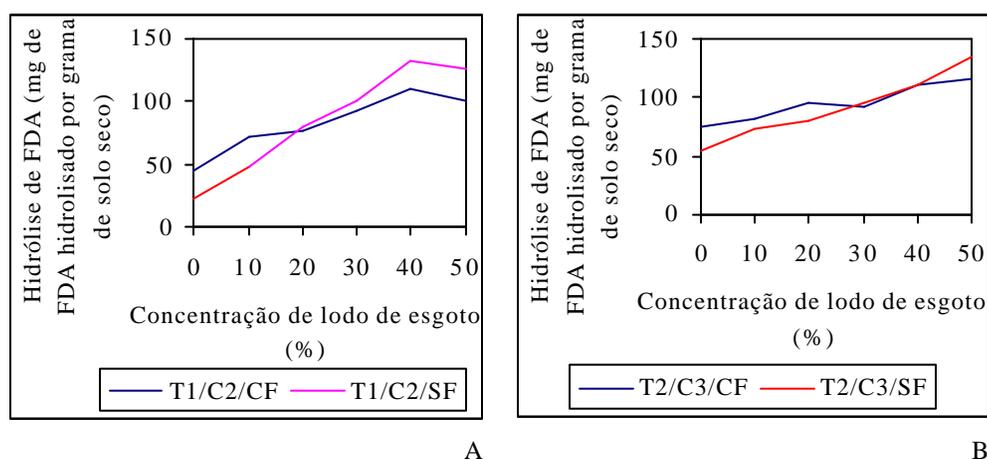


Figura 3. Efeito do lodo de esgoto na atividade microbiana do solo, medida por hidrólise de diacetato de fluoresceína (FDA) no segundo cultivo do primeiro teste (A) e no terceiro cultivo do segundo teste (B). (A) T1/C2/CF* = Teste 1, 2º cultivo, com fertilizante ($R^2 = 0,94$); T1/C2/SF* = Teste 1, 2º cultivo, sem fertilizante ($R^2 = 0,97$); (B) T2/C3/CF = Teste 2, 3º cultivo, com fertilizante ($R^2 = 0,92$); e T2/C3/SF = Teste 2, 3º cultivo, sem fertilizante ($R^2 = 0,98$). CF = com fertilizante; SF = sem fertilizante

A condutividade elétrica (CE) é outro fator que pode ter contribuído para a redução da severidade da doença. Houve um aumento significativo da CE em todos os cultivos dos dois testes realizados, induzido pelas doses crescentes de LE nos tratamentos com e sem fertilizante

(Figuras 4 e 5). O aumento da CE explicou de 87% a 96% a redução da severidade da doença, pela análise de correlação (Quadros 5 e 6).

Na maioria dos tratamentos testemunha sem fertilizante, a CE foi sempre mais baixa quando comparada á testemunha com fertilizante (Figuras 4 e 5). Ocorre o

Quadro 5. Coeficiente de correlação entre a severidade da doença causada por *Pythium aphanidermatum* em plântulas de pepino e o pH, condutividade elétrica e atividade microbiana do solo contendo doses de lodo de esgoto, no segundo cultivo do primeiro teste.

	Severidade	
	Tratamentos com fertilizante	Tratamentos sem fertilizante
pH	0,20	0,79
CE	-0,90	-0,92
FDA	-0,96	-0,94

CE= Condutividade elétrica. FDA= Hidrólise de diacetato de fluoresceína , utilizada para avaliar a atividade microbiana do solo.

Quadro 6. Coeficiente de correlação entre a severidade da doença causada por *Pythium aphanidermatum* em plântulas de pepino e o pH, condutividade elétrica e atividade microbiana do solo contendo bdo de esgoto, no segundo e terceiro cultivos do segundo teste.

	Severidade			
	2º Cultivo		3º Cultivo	
	Tratamentos CF	Tratamentos SF	Tratamentos CF	Tratamentos SF
pH	-0.6	0,52	-0,80	0,67

CE	-0,90	-0,87	-0,93	-0,91
FDA			-0,87	-0,86

CF= Com fertilizante. SF= Sem fertilizante. CE= Condutividade elétrica. FDA= Hidrólise de diacetato de fluoresceína, utilizada para avaliar a atividade microbiana do solo.

inverso quando se trata da severidade da doença, pois na maioria dos tratamentos testemunha sem fertilizante, a severidade da doença foi maior do que nos tratamentos com fertilizante. A única exceção ocorreu no 2º cultivo do 2º teste, onde a severidade foi próxima entre os tratamentos testemunha com e sem fertilizante (Figuras 1B e 2B). Justamente no referido cultivo a CE da testemunha sem fertilizante foi a maior dos tratamentos sem fertilizante e da testemunha com fertilizante foi a menor dos tratamentos com fertilizante, de todos os cultivos.

Os valores de pH normalmente tendem a diminuir com o uso de compostos orgânicos no solo. No entanto, no presente trabalho a influência do LE sobre o pH do solo foi variável. No primeiro cultivo, dos dois testes, o aumento das doses de LE, com e sem fertilizante, provocou um aumento de pH (Figuras 6 e 7). Nos demais cultivos dos dois testes não ocorreu linearidade na redução ou aumento de pH em função do aumento das doses de LE. (Figuras 6 e 7) O pH de valor mais alto, no primeiro cultivo dos dois testes, pode ter favorecido o patógeno e dificultado o controle da doença. Segundo Lumsden et al. (1975), o tombamento de plântulas causado por *P. ultimum* é sempre severo em solos neutros ou alcalinos, saturados de água e em temperaturas amenas. É provável que *P. aphanidermatum* seja favorecido pelas mesmas condições citadas pelos autores, as quais ocorreram nos tratamentos do primeiro cultivo, com exceção dos tratamentos testemunha, onde o pH foi mais baixo. Nos demais cultivos, embora a redução do pH

não tenha se dado de forma linear em função das doses de LE, o pH foi menor nos tratamentos com LE, quando comparado com o primeiro cultivo.

A variação dos coeficientes de correlação entre a severidade e o pH indicam que o mesmo não influenciou na redução da doença (Quadros 5 e 6).

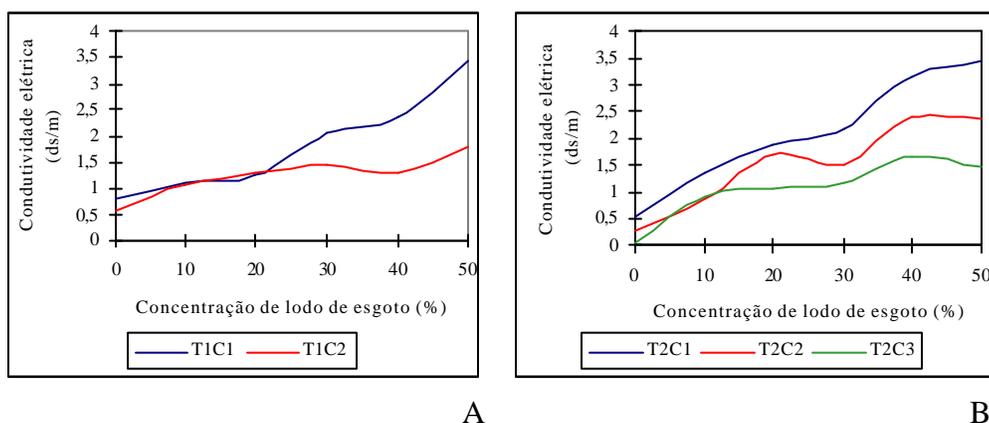
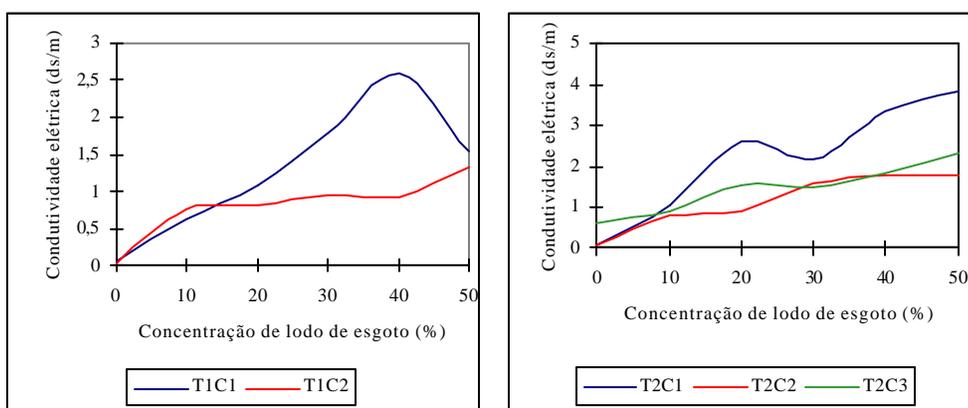


Figura 4. Efeito do lodo de esgoto na condutividade elétrica (ds/m) do substrato, no primeiro (A) e segundo teste (B), nos tratamentos com fertilizante. (A) T1/C1 = Teste 1, 1º cultivo ($R^2 = 0,92$); T1/C2 = Teste 1, 2º cultivo ($R^2 = 0,81$); (B) T2/C1 = Teste 2, 1º cultivo ($R^2 = 0,97$); T2/C2 = Teste 2, 2º cultivo ($R^2 = 0,89$); T2/C3 = Teste 2, 3º cultivo ($R^2 =$

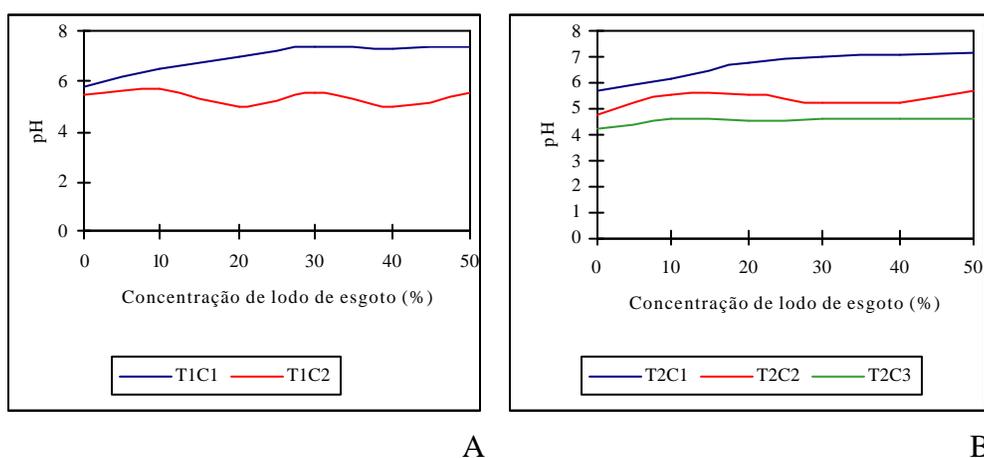


0,98).

A

B

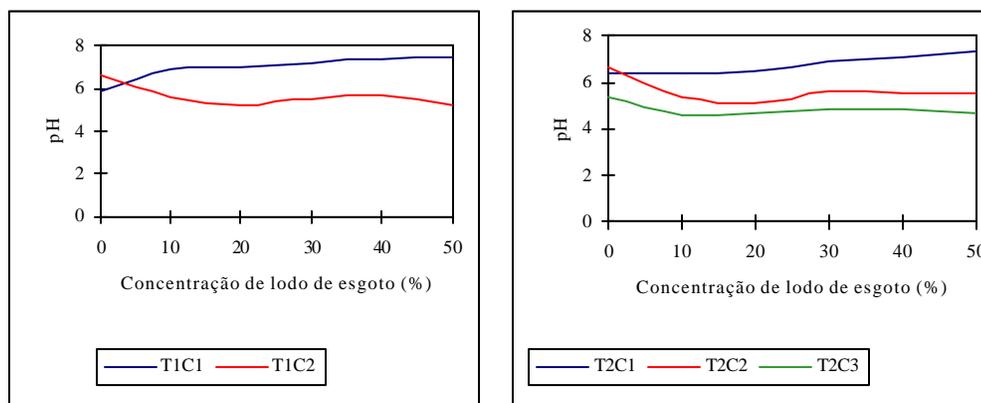
Figura 5. Efeito do lodo de esgoto na condutividade elétrica (ds/m) do substrato, no primeiro (A) e segundo teste (B), nos tratamentos sem fertilizante. (A) T1/C1 = Teste 1, 1º cultivo ($R^2 = 0,99$); T1/C2 = Teste 1, 2º cultivo ($R^2 = 0,83$); (B) T2/C1 = Teste 2, 1º cultivo ($R^2 = 0,97$), T2/C2 = Teste 2, 2º cultivo ($R^2 = 0,96$); e T2/C3 = Teste 2, 3º cultivo ($R^2 = 0,94$).



A

B

Figura 6. Efeito do lodo de esgoto no pH do substrato, no primeiro (A) e segundo teste (B), nos tratamentos com fertilizante. (A) T1/C1 = Teste 1, 1º cultivo ($R^2 = 0,98$); T1/C2 = Teste 1, 2º cultivo ($R^2 = NS^*$); (B) T2/C1 = Teste 2, 1º cultivo ($R^2 = 0,91$); T2/C2 = Teste 2, 2º cultivo ($R^2 = 0,37$); e T2/C3 = Teste 2, 3º cultivo ($R^2 = 0,5$). * Não



significativo.

A

B

Figura 7. Efeito do lodo de esgoto no pH do substrato, no primeiro (A) e segundo teste (B), nos tratamentos sem fertilizante. (A) T1/C1 = Teste 1, 1º cultivo ($R^2 = 0,94$); T1/C2 = Teste 1, 2º cultivo ($R^2 = 0,49$); (B) T2/C1 = Teste 2, 1º cultivo ($R^2 = 0,8$) T2/C2 = Teste 2, 2º cultivo ($R^2 = 0,57$); e T2/C3 = Teste 2, 3º cultivo ($R^2 = 0,34$).

O peso de matéria verde das plântulas de pepino que se desenvolveram em diferentes doses de LE, sofreu variação ao longo dos cultivos dos dois testes realizados e juntamente com o aspecto visual das plântulas indicou efeito fitotóxico do LE nas plântulas de pepino. O peso da matéria verde reduziu de forma linear pelos valores de R^2 , conforme aumentou as doses de LE, nos dois primeiros cultivos, nos tratamentos com e sem a adição de fertilizante, dos dois testes realizados (Figuras 8 e 9). Nos tratamentos sem fertilizante a redução dos valores da matéria verde foi a partir da dose de 10% de LE. O efeito fitotóxico nas plântulas de pepino não foi observado no terceiro cultivo do segundo teste nos tratamentos com e sem a adição de fertilizante, onde ao contrário dos outros cultivos, o peso da matéria verde aumentou, estimulada pelo o aumento das doses de LE (Figuras 8B e 9B). O aspecto visual que refletiu o efeito fitotóxico do LE nas plântulas de pepino, foi observado de forma intensa nas doses mais altas do LE (40% e 50%) no primeiro cultivo, reduziu no segundo cultivo e desapareceu no terceiro cultivo, foi caracterizado por plântula com menor crescimento, verde mais intenso, folhas retorcidas e mais espessas.

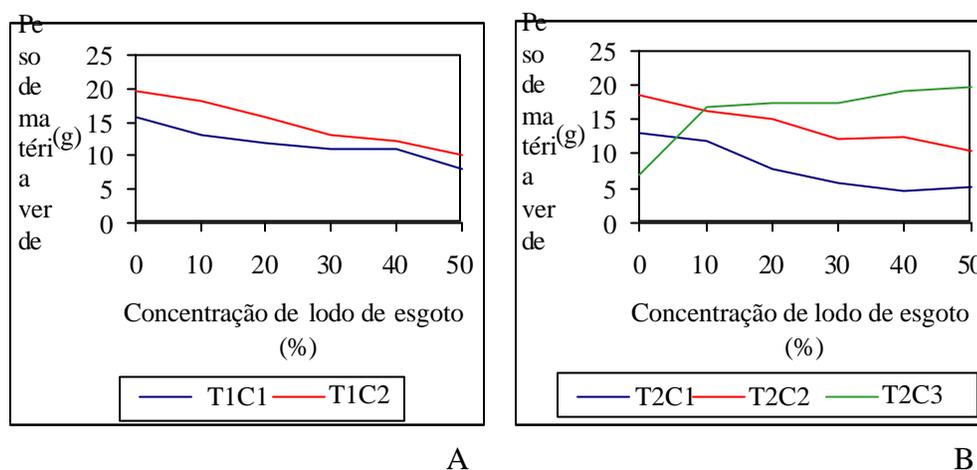


Figura 8. Efeito do lodo de esgoto no peso de matéria verde (g) de plântulas de pepino, no primeiro (A) e no segundo teste (B), nos tratamentos com fertilizante. (A) T1/C1 = Teste 1, 1º cultivo ($R^2 = 0,9$); T1/C2 = Teste 1, 2º cultivo ($R^2 = 0,8$); (B) T2/C1 = Teste 2, 1º cultivo ($R^2 = 0,72$); T2/C2 = Teste 2, 2º cultivo ($R^2 = 0,78$); e T2/C3 = Teste 2, 3º cultivo ($R^2 = 0,76$).

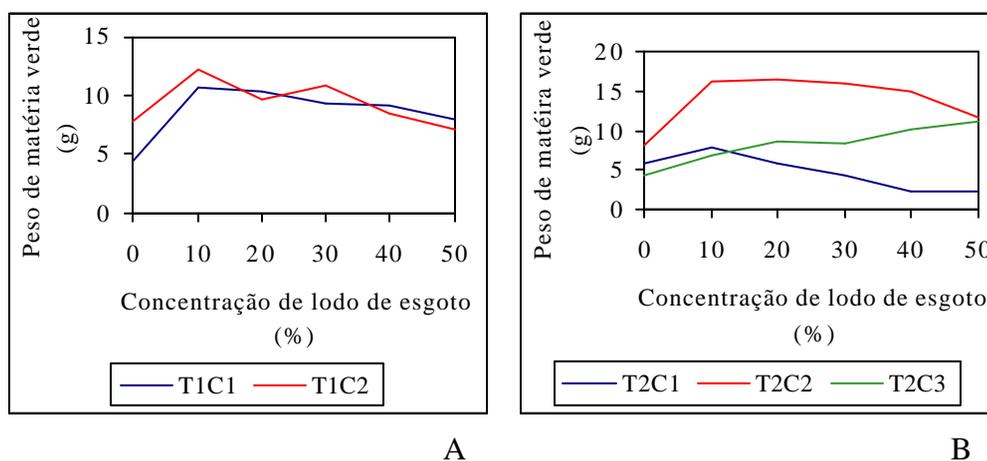


Figura 9. Efeito do lodo de esgoto no peso de matéria verde (g) de plântulas de pepino, no primeiro (A) e no segundo teste (B), nos tratamentos sem fertilizante. (A) T1/C1 = Teste 1, 1º cultivo ($R^2 = 0,74$); T1/C2 = Teste 1, 2º cultivo ($R^2 = 0,7$); (B) T2/C1 = Teste 2, 1º

cultivo ($R^2 = 0,71$); T2/C2 = Teste 2, 2º cultivo ($R^2 = 0,72$); e T2/C3 = Teste 2, 3º cultivo ($R^2 = 0,78$).

6.3 Efeito do lodo de esgoto na podridão do colo e tombamento de plântulas de feijoeiro causados por *Sclerotium rolfsii* e na sobrevivência de escleródios do fungo

6.3.1 Indução de supressividade de solo com lodo de esgoto avaliada pela sobrevivência dos escleródios

As doses crescentes de lodo de esgoto (LE), produzidos tanto na ETE de Franca, quanto na de Barueri, não tiveram influência na sobrevivência dos escleródios de *S. rolfsii* ao longo de 120 dias (Quadro 7). O tratamento com fertilizante mineral (NPK), não diferiu dos demais quanto à sobrevivência dos escleródios (Quadro 7). Na maioria das parcelas, em todos os períodos de avaliação, a viabilidade dos escleródios foi de 100%. A inviabilidade de alguns escleródios foi provocada pelo ataque de fungos, principalmente do gênero *Aspergillus*. No entanto, a contaminação por parte dos fungos foi de forma casual nas parcelas e sem interferência dos tratamentos.

O fato de uma matéria orgânica não agir deletariamente sobre as estruturas de sobrevivência de patógenos, não está necessariamente relacionada com a capacidade dessa matéria orgânica influenciar na intensidade das doenças causadas pelos patógenos. Os resultados obtidos nesse trabalho ratificam aqueles obtidos por Lumsden et al. (1983) e Lumsden et al. (1986), onde a sobrevivência de *S. minor*, *R. solani* e *Pythium* spp. não foi reduzida pelo lodo, porém a atividade desses patógenos no solo foi afetada devido ao aumento na atividade microbiana

estimulada pela adição do LE. Em outro trabalho, o LE juntamente com cascas de madeira, não foi capaz de reduzir a população de *Phytophthora capsici*, nem os sintomas das doenças causadas pelo patógeno em pimenta (KIM et al., 1997).

Quadro 7. Porcentagem de escleródios de *Sclerotium rolfsii* viáveis e submetidos a diferentes concentrações de lodo de esgoto em quatro épocas de avaliação.

Tratamento	30 dias		60 dias		90 dias		120 dias	
	F	B	F	B	F	B	F	B
0	100	100	85	100	100	90	100	100
1BN	100	90	80	80	100	100	100	100
2 BN	100	100	90	85	85	100	100	90
4 BN	100	100	100	100	100	100	100	100
8 BN	100	95	90	90	100	100	90	100
NPK*	100	100	100	85	95	100	100	100
R ²	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS

T = Tratamentos com doses de LE determinadas com base no teor de nitrogênio (BN) fornecido pelo LE, considerando 0, 1, 2, 4 e 8 vezes a necessidade da cultura e NPK (dose recomendada para cultura). *Os dados do NPK não fazem parte da análise de regressão e foram incluídos junto com os demais no teste de Duncan a 5%. Os dados são médias de 6 repetições. F= Franca e B= Barueri.

6.3.2 Indução da supressividade do solo com lodo de esgoto avaliada pela severidade da doença em condições controladas

O lodo de esgoto (LE) apresentou um efeito positivo no controle da podridão do colo, induzida por *S. rolfsii*, reduzindo a porcentagem de tecido do colo do feijoeiro com lesões. No entanto, a redução da severidade da doença não ocorreu de forma linear conforme

o aumento das doses de LE. O tratamento NPK não teve efeito na redução da severidade da doença, quando comparado com a testemunha nos três cultivos. O destaque no controle da doença ficou para a maior dose de LE (12,5%) que manteve a severidade da doença em níveis baixos em todos os cultivos, quando comparada com a testemunha (Quadro 8). A dose de 12,5% de LE foi elevada, considerando condições de cultivo a campo. No entanto, a possibilidade da utilização do LE em substratos para produção de mudas, considerando o controle de doenças induzidas por *S. rolfsii*, pode ser uma alternativa viável. Embora a concentração de 12,5% de LE tenha controlado a doença, um fator que deve ser observado é a fitotoxicidade produzida por essa concentração no primeiro cultivo.

Quadro 8. Efeito do lodo de esgoto na severidade da doença causada por *Sclerotium rolfsii* em feijoeiro tipo carioquinha, em vaso.

Concentração de lodo (%)	1ª Semeadura	2ª Semeadura	3ª Semeadura
0	4,4ab	7,7a	7,1ab
2,5	3,8ab	4,3b	5,6b
5	3,0b	5,6ab	6,2ab
7,5	2,3bc	4,4b	5,9ab
10	1,1c	5,0ab	7,8a
12,5	1,1c	1,1c	3,2c
NPK	5,8a	7,5a	6ab
R ²	0,29	0,61	0,23
C.V.	18,8	16,1	8,9

Os dados do NPK (2,5 g/500 ml de solo) não fazem parte da análise de regressão. Médias seguidas por letras distintas diferem entre si (Duncan 5%). Severidade da doença – notas de 1 a 9 (média de 4 repetições).

Os resultados na sobrevivência do escleródio de *S. rolfsii*, indicaram que o LE não interferiu diretamente sobre o escleródio (Quadro 7). No entanto, os resultados do teste em vaso indicaram que, de alguma forma, o LE reduz a ação do patógeno na sua capacidade de causar doença. Algumas possibilidades de ação do LE para reduzir a intensidade de doenças foram avaliadas a campo. Esse fato pode indicar que o lodo induz a supressividade do solo à doença e não ao patógeno.

6.3.3 Indução da supressividade do solo com lodo de esgoto avaliada pela intensidade da doença em condições de campo

Com as doses crescentes de lodo de esgoto (LE) verificou-se redução da intensidade da doença e nos valores de pH em todos os cultivos e aumento da CE do solo e da atividade microbiana em todas as avaliações. A redução da intensidade da doença foi observada pelo aumento da emergência e do estande final do feijoeiro em todos os cultivos e pela redução da severidade da doença. A adubação mineral aumentou a CE, reduziu o pH e não teve efeito significativo sobre a doença e na atividade microbiana, quando comparada com a testemunha (Quadros 9, 10 e 11).

Entre os fatores relacionados diretamente com o efeito do LE sobre a doença induzida pelo patógeno no feijoeiro, destaca-se o estande final de plantas. O número de plantas nos tratamentos até o momento da avaliação teve um aumento significativo conforme o aumento das doses de LE nos três cultivos ($R^2=0,86$; $R^2=0,99$; $R^2=0,7$, respectivamente) (Quadros 9, 10 e 11). Os resultados indicam que, quanto maior o “damping-off” de pré e de pós- emergência,

reduzindo o número de plantas por parcela, mais se destacou o efeito do LE no controle da doença. No primeiro cultivo, onde a média do número de plantas na testemunha foi de 9,3, o incremento do número de plantas, variou de 50,5% na menor dose de lodo até 201% na maior dose. No segundo cultivo, a média do número de plantas na testemunha aumentou para 15 e a variação do incremento do número de plantas foi de 25% para 140%, entre a menor e a maior dose de LE. No terceiro cultivo, a média do número de plantas na testemunha aumentou para 36,7 e a variação do incremento do número de plantas foi de 39% para 53,4% entre a menor e a maior dose de LE. Salienta-se que, mesmo na maior dose de LE onde obteve-se a maior proteção das plantas contra o fitopatógeno, o número de plantas ficou abaixo do número de sementes semeadas. Foram semeadas 80 sementes por parcela e a maior média de plantas obtidas foi de 53,4 na maior dose de LE no terceiro cultivo. Esse fato pode ser explicado pelo potencial de inóculo existente do patógeno no experimento que foi extremamente alto, situação não encontrada em condições normais de cultivo de campo. Isso indica que os resultados obtidos com a aplicação do LE no solo para a proteção das plantas contra o patógeno, são altamente promissores.

Quadro 9. Efeito do lodo de esgoto sobre o pH e a condutividade elétrica do solo, emergência, estande e severidade da doença em plantas de feijoeiro (tipo carioquinha) causada por *Sclerotium rolfsii*, no 1º cultivo após a incorporação do lodo.

T	EM	IEM	ET	I.ET	SEV	pH	CE
0	16,0d	-	9,3b	-	5,3ab	7,0a	48,3c
1BN	21,5cd	34	14,0b	50,5	5,1ab	6,5b	59,7b
2BN	30,3ab	89	25,6a	175,0	5,8a	6,3bc	60,2b
3BN	34,4a	114	27,0a	190,0	5,1ab	6,3bc	82,0a

4BN	35,0a	118	28,0a	201,0	5b	6,1c	84,6a
NPK*	25bc	12,5	11b	18	5,1ab	6,4b	80a
R ²	0,91		0,86		NS	0,84	0,84
C.V.	7,7		13,5		8,6	1,0	4,4

T = Tratamentos com doses de LE determinadas com base no teor de nitrogênio (BN) fornecido pelo LE, considerando 0, 1, 2, 3 e 4 vezes a necessidade da cultura e NPK (50 kg/ha, 60 kg/ha e 50 kg/ha). EM = Emergência; IEM = % de incremento da emergência; ET = Estande final; I.ET = % de incremento do estande; Sev = Severidade da doença (notas: 1 - 9); CE = Condutividade elétrica ($\mu\text{s/cm}$). * Os dados do NPK não fazem parte da análise de regressão. Os dados dos tratamentos 1BN e 4BN são médias de 4 repetições e os demais de 3 repetições. Médias seguidas por letras distintas diferem entre si (Duncan 5%).

Quadro 10. Efeito do lodo de esgoto sobre o pH e a condutividade elétrica do solo, emergência, estande e a severidade da doença causada por *Sclerotium rolfsii* em plantas de feijoeiro (tipo carioquinha), no 2º cultivo após a incorporação do lodo.

T	EM	IEM	ET	I.ET	SEV	pH	CE
0	39,3c	-	15b	-	7a	6,9a	110,5d
1BN	39,5c	-	18,7b	25	5,7ab	6,6b	140,9cd
2BN	48,6abc	23,6	24,6ab	64	5,5ab	6,4bc	142,7cd
3BN	51,3ab	30,5	31,6a	110,6	5,4ab	6,4bc	188,5ab
4BN	56,2a	43	36a	140	5,1b	6,1c	224,2a
NPK	39bc	-	15b	-	6,3ab	6,4bc	176,5bc
R ²	0,93		0,99		NS	0,89	0,81
C.V.	6,8		13,3		15,2	1,1	6,7

T = Tratamentos com doses de LE determinadas com base no teor de nitrogênio (BN) fornecido pelo LE, considerando 0, 1, 2, 3 e 4 vezes a necessidade da cultura e NPK (50 kg/ha, 60 kg/ha e 50 kg/ha). EM = Emergência; IEM = % de incremento da emergência; ET = Estande final; I.ET = % de incremento do estande; Sev = Severidade da doença (notas: 1 - 9); CE = Condutividade elétrica ($\mu\text{s/cm}$). * Os dados do NPK não fazem parte da análise de regressão. Os dados dos

tratamentos 1BN e 4BN são médias de 4 repetições e os demais de 3 repetições. Médias seguidas por letras distintas diferem entre si (Duncan 5%).

Outro fator importante, que evidencia o efeito positivo do LE na proteção do feijoeiro contra o patógeno em questão é a porcentagem de emergência. O incremento da emergência nas parcelas tratadas com lodo, teve maior destaque no primeiro cultivo, onde o efeito do patógeno foi mais drástico. A média de emergência foi de 16 no tratamento testemunha e teve um incremento de 34% na menor dose de LE até 118% na maior dose. No segundo e terceiro cultivos o efeito das doses de LE foi menor, onde o máximo de aumento na emergência foi próximo a 43%. Portanto o aumento da emergência induzido pela inibição do patógeno em função da adição do LE ao solo, foi significativo e numa condição de lavoura reverteria em um aumento de estande. O efeito do LE no aumento do estande final da cultura foi sempre melhor do que na emergência em todos cultivos, evitando portanto, maior “damping off” de pós emergência do que de pré emergência. No entanto, o somatório do efeito do LE contra *S. rolfsii*, induzindo aumento na emergência e estande final da cultura resulta, em um provável, aumento de produtividade.

Quadro 11. Efeito do lodo de esgoto sobre o pH e a condutividade elétrica do solo, emergência, estande e a severidade da doença causada por *Sclerotium rolfsii* em plantas de feijoeiro (tipo carioquinha), no 3º cultivo após a incorporação do lodo.

T	EM	LEM	ST	I.ST	SEV	pH	CE	FDA	CO ₂
0	46c	-	36,7d	-	5,7a	6,67a	103,7d	10,64d	30,7c
1BN	59,5ab	29,3	51ab	39	5,5ab	6,47a	231,2c	15,28d	55,3b
2BN	54bc	17,4	45b	23	5,3ab	6,18b	381,6b	19,28c	88,3a

3BN	63a	37	54a	47,2	4,3bc	6,11b	462,6ab	22,77b	106a
4BN	66a	43,5	56,3a	53,4	3,6c	5,85c	482,5a	28,34a	115a
NPK	49,6c	7,8	39cd	6,2	6,2a	6,4a	190,3c	13,6d	36,7b
									c
R ²	0,74		0,7		0,89	0,9	0,92	0,93	0,34
C.V.	7,5		4,1		4,1	0,8	8,05	4,1	10,9

T = Tratamentos com doses de LE determinadas com base no teor de nitrogênio (BN) fornecido pelo LE, considerando 0, 1, 2, 3 e 4 vezes a necessidade da cultura e NPK (50 kg/ha, 60 kg/ha e 50 kg/ha). EM = Emergência. I.EM = % de incremento da emergência. ET = Estande final; I.ET = % de incremento do estande; Sev = Severidade da doença (notas: 1 - 9); CE = Condutividade elétrica ($\mu\text{s}/\text{cm}$); FDA = hidrólise de diacetato de fluoresceína (μg FDA/g solo seco); CO₂ = mg de CO₂/100 g de solo seco. * Os dados do NPK não fazem parte da análise de regressão. Os dados tratamentos 1BN e 4BN são médias de 4 repetições e os demais de 3 repetições. Médias seguidas por letras distintas diferem entre si (Duncan 5%).

O efeito positivo do LE avaliado pela severidade da doença, ao contrário da emergência e do estande final, teve seus resultados mais significativos no terceiro cultivo. No primeiro e segundo cultivos, onde provavelmente, o potencial de inóculo do fitopatógeno era maior e o ataque do mesmo foi mais drástico, o LE conseguiu promover um aumento significativo da emergência e do estande final, mas ficou limitado, para evitar a lesão na planta de maneira muito diferenciada da testemunha. No terceiro cultivo o ataque do patógeno não foi tão drástico, quanto no primeiro cultivo. Isso deve ter contribuído para que as doses de LE induzissem uma redução da severidade da doença, promovendo um controle significativo ($R^2 = 0,89$) da mesma.

Portanto, ficou evidenciado o bom desempenho do LE no controle das doenças induzidas por *S. rolfisii*, devido ao incremento na emergência e no estande final de plantas e na redução da severidade da doença, observados nos três cultivos do feijoeiro.

Um aspecto importante desse trabalho é que o efeito positivo do LE no controle de doenças em feijão foi obtido a campo, sendo que a maioria dos trabalhos relatados com sucesso foram conduzidos em vasos ou sob condições controladas em casa de vegetação. O controle de doenças causadas por *S. rolfsii* em feijoeiro, devido à utilização de LE no solo, parece estar sendo relatado pela primeira vez. Por outro lado, existem vários relatos do efeito positivo de LE no controle de doenças induzidas por outros fitopatógenos. *Sclerotinia* em gramados e alface (Lumsden et al., 1983), *R. solani* em feijão, algodão e rabanete, *Aphanomyces euteiches* em ervilha (Millner et al., 1982), *R. solani* e *P. ultimum* em ervilha (Lewis et al., 1992), são alguns dos exemplos de sucesso.

Na maioria dos trabalhos encontrados na literatura, nos quais o LE induziu controle de doenças de plantas, os autores indicaram que o aumento da atividade microbiana provocada pela aplicação do LE ao solo e a própria microbiota contida no material orgânico, foram as responsáveis pelo controle das doenças (Chen et al., 1987; Kuter et al., 1988; Ferrara et al., 1996; Craft & Nelson, 1996; Dissanayaque & Hoy, 1999). A atividade microbiana do solo é aumentada durante a decomposição da matéria orgânica, presente em diversos compostos, sendo que, essa atividade microbiana se traduz em ação antagônica entre os microrganismos, entre elas : antibiose, competição e parasitismo (Millner et al., 1982; Chen et al., 1987). Portanto, ativar a microbiota do solo, significa potencializar o controle biológico natural. Conforme Ghini et al. (1998) os trabalhos de controle biológico que se restringem à utilização de microrganismos de possível cultivo em meio de cultura, ficam restritos a um limitado número de organismos, sendo reconhecido que, em condições naturais de solo, o importante é a somatória dos efeitos. Os mesmos autores concluem que a determinação da atividade microbiana total é mais importante que a de poucos

grupos, pois quanto maior essa atividade, maior será a competição entre os microrganismos. No presente trabalho, o aumento da atividade microbiana, medida por meio da hidrólise de diacetato de fluoresceína (FDA) e do desprendimento de CO₂, induzido pelas doses crescentes de LE, parece ser o fator principal relacionado com a redução das doenças (Quadro 11). O aumento da hidrólise de FDA explicou em 87% e 84% o aumento da emergência e do estande de plantas respectivamente e em 95% a redução da severidade da doença, enquanto que o aumento do desprendimento de CO₂ explicou em 82% o aumento da emergência e do estande de plantas e em 88% a redução da severidade da doença, pela análise de correlação (Quadro 12).

Quadro 12. Coeficiente de correlação entre a intensidade das doenças causada por *Sclerotium rolfsii* em feijoeiro e o pH, condutividade elétrica e atividade microbiana do solo contendo lodo de esgoto, em três cultivos.

	1º Cultivo		2º Cultivo		3º Cultivo			
	pH	CE	pH	CE	pH	CE	FDA	CO ₂
EM	-0,93	0,90	-0,92	0,90	-0,82	0,82	0,87	0,82
ET	-0,92	0,84	-0,93	0,96	-0,79	0,81	0,84	0,82
SEV	0,10	-0,50	0,93	-0,81	0,91	-0,85	-0,95	-0,88

CE= Condutividade elétrica. FDA= Hidrólise de diacetato de fluoresceína, utilizada para avaliar a atividade microbiana do solo juntamente com a liberação de CO₂. EM=Emergência. ET= Estande. SEV= Severidade da doença. A intensidade da doença foi avaliada por EM, ET e SEV.

Enquanto na testemunha a hidrólise de diacetato de fluoresceína (FDA) foi de 10,64 μg FDA hidrolisado/g solo seco nas doses de lodo variou de 15,28 μg FDA hidrolisado/g solo seco até 28,34 μg FDA hidrolisado/g solo seco, obtendo um aumento estatisticamente significativo ($R^2=0,93$). Quanto ao desprendimento de CO_2 , o aumento foi ainda mais representativo aumentando de 30,72 mg de CO_2 desprendido para 100 g de solo seco na testemunha, para 55,37 a 115,10 mg $\text{CO}_2/100$ g de solo seco ($R^2=0,84$) nos solos com lodo (Quadro 11). Além da liberação de CO_2 indicar uma maior atividade microbiana, o mesmo por si só pode inibir a germinação do patógeno. Barreto et al. (1997) afirmam que o fungo *S. rolfsii* é altamente exigente em oxigênio e este fato limita a germinação dos escleródios no interior de solos pesados e o desenvolvimento do patógeno só ocorre próximo à superfície. Porém, sua inabilidade para atingir as plantas se relaciona com a sua sensibilidade ao CO_2 , o qual é produto do crescimento microbiano e que, se transforma em mecanismo de antagonismo (Griffin, 1977). Foi constatado por Smith (1973) que em solos submetidos a ar contendo 0,1 ppm de etileno escleródios de *S. rolfsii* permaneceram dormentes. É possível que os elevados teores de LE e principalmente, o nitrogênio do lodo, tenham contribuído para o crescimento microbiano e maior quantidade de etileno quando comparado ao tratamento testemunha.

Outro fator que pode estar relacionado com a ação do LE na redução da doença é a CE, pois nos três cultivos ocorreu um aumento significativo em relação a testemunha. O aumento da CE explicou em 82% a 92% o aumento da emergência de plantas em 81% a 96% o aumento do estande de plantas e em 81% a 85% a redução da severidade da doença, pela análise de correlação (Quadro 12). O aumento da CE indicou um aumento na concentração de sais que influenciou na pressão osmótica, fato esse que pode inibir o desenvolvimento de alguns

microrganismos. Segundo Tsai et al. (1992), os fungos são os microrganismos mais sensíveis à salinidade do solo, com exceção dos gêneros *Penicillium* e *Aspergillus*. Os mesmos autores relatam que a resistência das bactérias a altas pressões osmóticas varia consideravelmente de uma espécie para outra e citam os gêneros *Azotobacter* e *Rhizobium* com boa resistência à salinidade. Portanto, é possível que o aumento da salinidade do solo, provocada pelo aumento das doses de LE, tenha prejudicado de modo direto e ou reduzido o potencial competitivo de *S. rolf sii* com a microbiota do solo. O LE municipal compostado, com alta salinidade, provocou aumento da podridão de raiz de *Phytophthora* sp. em soja, quando semeada imediatamente após a aplicação do material ao solo. Entretanto, ocorreu supressão da doença com a aplicação de lodo vários meses antes do plantio (Hoitink et al. 1986; Hoitink et al., 1993).

O pH do solo embora tenha sofrido redução pela influência do LE em todos os cultivos e alta correlação com a redução da intensidade da doença, a amplitude de variação entre aproximadamente sete para a testemunha e próximo aos seis para a maior dose não permitiu relacioná-lo como um possível fator que possa estar atuando no fitopatógeno ou na manifestação das doenças (Quadros 9, 10, 11 e 12). Conforme Bianchini et al. (1997) a faixa de pH ideal para a germinação do fungo *S. rolf sii* está entre 2,6 e 4,4, mas pode ocorrer entre 2,6 e 7,7.

Ficou evidenciado que o peso de matéria seca das plantas, avaliado nos três cultivos, não sofreu efeito do LE (Quadro 13). Os resultados do peso, além do aspecto visual das plantas indicaram que o LE não provocou efeito fitotóxico detectável nas plantas de feijoeiro. O aspecto visual demonstrava um maior crescimento das plantas nos tratamentos com LE, fato esse não detectado pelo peso da matéria seca. Como a avaliação do peso da matéria seca foi realizado

aos 20 dias após a semeadura, talvez o tempo tenha sido insuficiente para se detectar diferença no crescimento das plantas pelo efeito fertilizante do LE e do NPK.

Os resultados da sobrevivência dos escleródios de *S. rolfsii* de campo confirmam aqueles obtidos no experimento em vasos. Não houve influência das doses de LE no número de escleródios recuperados e de escleródios viáveis no experimento de campo, onde ocorreu a infestação artificial do solo (Quadro 13). Os resultados deste trabalho indicam que, embora o LE tenha reduzido a intensidade das doenças causadas por *S. rolfsii*, não interferiu na sobrevivência das estruturas de resistência do patógeno, no período em que ocorreu as avaliações. Como foi constatado, a incorporação do LE aumenta a atividade microbiana e a liberação de CO₂. Esses fatores podem ter inibido a germinação dos escleródios no solo. No entanto, é possível que, em condições de laboratório, não estavam sob a pressão de competição com a microbiota do solo e em concentrações altas de CO₂ e dessa forma germinaram totalmente.

Quadro 13. Efeito do lodo de esgoto na sobrevivência de escleródios de *Sclerotium rolfsii* e no peso da matéria seca de plantas de feijoeiro (tipo carioquinha).

T	1º cultivo			2º cultivo	Entre 2º e 3º		3º cultivo
	Nº Esc.	E.V.	PS (g)	PS (g)	Nº Esc	E.V.	PS (g)
0	15,6	14,3	2,48	3,1	7,6	6,9	3,0
1BN	9,5	9,5	2,48	3,4	5,75	4,5	3,3
2BN	12,6	12,3	2,89	3,39	6,3	5,1	3,1
3BN	19,6	17,3	2,9	3,2	7,6	7,2	3,25
4BN	12,5	11,75	2,67	3,6	8,3	7,25	3,5
NPK	10,6	9,7	2,14	3,48	6,6	4,3	3,4
R ²	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS

T = Tratamentos com doses de LE determinadas com base no teor de nitrogênio (BN) fornecido pelo LE, considerando 0, 1, 2, 3 e 4 vezes a necessidade da cultura e NPK (50 kg/ha, 60 kg/ha e 50 kg/ha). *Os dados de NPK não fazem parte da análise de regressão. N° Esc. = número de escleródios encontrados na parcela em 50 g de solo; E.V. = escleródios viáveis; PS = peso da matéria seca das plantas em gramas (g). Os dados tratamentos 1BN e 4BN são médias de 4 repetições e os demais de 3 repetições. Médias seguidas por letras distintas diferem entre si (Duncan 5%).

7 CONCLUSÕES

- O lodo de esgoto, mesmo em baixas concentrações, na forma esterilizada, foi eficiente na redução do crescimento micelial *in vitro* dos fungos *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Sclerotium rolfsii* e *Pythium aphanidermatum*;
- O lodo de esgoto foi efetivo no controle de doenças causadas por *Pythium aphanidermatum*, em pepino, e por *Sclerotium rolfsii*, em feijoeiro; quando incorporado ao solo:
- A redução das doenças causadas por *Pythium aphanidermatum* em pepino e por *Sclerotium rolfsii* em feijoeiro, em decorrência da aplicação do lodo de esgoto, foi diretamente correlacionada com o aumento da atividade microbiana e condutividade elétrica no solo.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDEL-HAFEZ, A.I.I., EL-SHAROUNY, H.M.M. Seasonal fluctuations of fungi in Egyptian soil receiving city sewage effluents. *Cryptogamie, Mycol.*, v.8, n.3, p.235-249, 1987.

ABDEL-HAFEZ, A.I.I., EL-SHAROUNY, H.M.M. The occurrence of keratinophilic fungi in sewage sludge from Egypt. *Journal Basic Microbiology*, v.30, n.2, p.73-79, 1990.

BARRETO, M. Doenças do amendoim. In: KIMATI, H., AMORIM, L. BERGAMIM FILHO, A., CAMARGO, L.E.A., REZENDE, J.A.M.(Edts). *Manual de Fitopatologia: doenças das Plantas Cultivadas*. 3.ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1997. v.2, p. 65-77.

- BERTON, R.S., CAMARGO, A.O., VALADARES, J.M.A.S. Absorção de nutrientes pelo milho em resposta à adição de lodo de esgoto à cinco solos paulistas. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v.13, p.187-192, 1989.
- BETTIOL, W. Efeito do lodo de esgoto na incidência da podridão do colmo do milho causada por *Fusarium*. *Fitopatologia Brasileira*, v.25, p.359, 2000.
- BETTIOL, W., CAMARGO, O.A. Impacto ambiental do uso agrícola do lodo de esgoto. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2000. 312 p.
- BETTIOL, W., CARVALHO, P.C.T., FRANCO, B.J.D. Utilização do lodo de esgoto como fertilizante. *O Solo*, v.75, n.1, p.44-54, 1983.
- BETTIOL, W., KRÜGNER, T.L. Influência do lodo de esgoto na severidade da podridão de raiz do sorgo causada por *Pythium arrhenomanes*. *Summa Phytopathologica*. v.10, p.243-251, 1984.
- BIANCHINI, A., MARINGONI, A.C., CARNEIRO, S.M.T.P.G. Doenças do feijoeiro In: KIMATI, H., AMORIM, L. BERGAMIM FILHO, A., CAMARGO, L.E.A., REZENDE, J.A.M. (Edts). *Manual de Fitopatologia: doenças das Plantas Cultivadas*. 3.ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1997. v.2, p. 376-399.

- BOEHM, M.J., HOITINK, H.A.J. Sustenance of microbial activity in potting mixes and its impact on severity of *Pythium* root rot of *Poinsettia*. *Phytopathology*, Saint Paul, v.82, n.3, p.259-264, 1992.
- CASTAGNONE-SERENO, P., KERMARREC, A., CLAIRON, M., ANAIS, A. Effets depresses d'un apport de boue résiduaire sur le parasitisme de *Meloidogyne incognita*. *Med. Fac. Landbouww. Rijksuniv. Gent*, v.53, n.2b, p.879-883, 1988.
- CASTAGNONE-SERENO, P., KERMARREC, A. Invasion of tomato roots and reproduction of *Meloidogyne incognita* as affected by raw sewage sludge. *Journal of Nematology*, v.23, n.4s, p.724-728, 1991.
- CETESB. *Salmonella*: isolamento e identificação - método de ensaio. São Paulo: Cetesb, 1987. 51p.
- CETESB. Aplicação de bio-sólidos de sistemas de tratamento biológico em áreas agrícolas - Critérios para projeto e operação. São Paulo: Cetesb, 1999. 33p. (P 4230).
- CHELLEMI, D.O., MITCHELL, D.J., BARKDOL, A.W. Effect of composted organic amendments on the incidence of bacterial wilt of tomato. *Proc. Fla. State Hort. Soc.*, v.105, p.364-366, 1992.

- CHEN, W., HOITINK, H.A.J., MADDEN, L.V. Microbial activity and biomass in container media for predicting suppressiveness to damping-off caused by *Pythium ultimum*. *Pythopathology*, v.78, p.1447-1450, 1988.
- CHEN, W., HOITINK, H.A.J., SCHMITTHENNER, A.F. Factors affecting suppression of *Pythium* damping-off in container media amended with composts. *Pythopathology*, v.77, p.755-760, 1987.
- COOK, R.N., ENGEL, R.E., BACHELDER, S. A study of the effect of nitrogen carriers on turfgrass disease. *Plant Disease Reporter*, v.48, n.4, p.254-255, 1964.
- COOKE, W.B. Potential plant pathogenic fungi in sewage and polluted water. *Plant Disease Reporter*, v.40, n.8, p.681-687, 1956.
- CRAFT, C. M., NELSON, E.B. Microbial properties of composts that suppress damping-off and root rot of creeping bentgrass caused by *Pythium graminicola*. *Applied and Environmental Microbiology*, v.62, p.1550-1557, 1996.
- DISSANAYAKE, N., HOY, J.W. Organic material soil amendment effects on root rot and sugarcane growth and characterization of the materials. *Plant Disease*, v.83, p.1039-1046. 1999.

- FERNADES, F. Estabilidade e higienização de biossólidos. In: BETTIOL, W., CAMARGO, O.A. Impacto ambiental do uso agrícola do lodo de esgoto. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2000. p.45-67.
- FERRARA, A.M., AVATANEO, M., NAPPI, P. First experiments of compost suppressiveness to some phytopathogens. *The science of composting*, v.2, p.1157-1160. 1996.
- FIGUEREDO, M.B. Aplicação do método de Castellani para conservação de fungos fitopatogênicos. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE FITOPATOLOGIA, 1, 1967, Piracicaba. Resumos... Fitopatologia Brasileira, Brasília, 1967. p.79-81.
- FORTES, N.L.P., FORTES NETO, J.C., SILVA, J.C. A indução da supressividade à *Rhizoctonia solani* em solos tratados com diferentes fontes de matéria orgânica. In: Anais do Congresso Paulista de Fitopatologia, 23, 2000, Campinas. Resumos... Piracicaba: Grupo Paulista de Fitopatologia, 2000, p.317.
- GAMBALE, W., PAULA, C.R., CORREA, B., PURCHIO, A., MARTINS, M.T. Avaliação da microbiota fúngica em lodo digerido submetido a tratamento químico e térmico. *Rev. Micro. Biol.*, São Paulo, v.18, n.4, p.363-365, 1987.

GANGAWANE, L.V., KULKARNI, L. Rhizosphere mycoflora of groundnut grown in sewage and sludge treated soils. *Indian Phytopathology*, v.38, p.756-757, 1985.

GHINI, R., MENDES, M.D.L., BETTIOL, W. Método de hidrólise de diacetato de fluoresceína (FDA) como indicador de atividade microbiana no solo e supressividade a *Rhizoctonia solani*. *Summa Phytopathologica*, v.24, p.239-242, 1998.

GONÇALVES, J.L. de M., SOUZA VAZ, L.M., AMARAL, T.M., POGGIANI, F. Aplicabilidade de biossólido em plantações florestais: II. Efeito na fertilidade do solo, nutrição e crescimento das árvores. In: BETTIOL, W., CAMARGO, O.A. Impacto ambiental do uso agrícola do lodo de esgoto. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2000. p.179-195.

GRIFFIN, D.M. Water potential and wood-decay fungi. *Annual Review of Phytopathology*, Palo Alto, v.15, p.319-329, 1977.

GRISI, B.M. Método químico de medição da respiração edáfica: alguns aspectos técnicos. *Ciência e Cultura*, São Paulo, v.30, n.1, p.82-88, 1978.

GUIMARÃES, C.R.B., BOARETO, A.E., NAKAGAWA, J. Utilização do lodo de esgoto em comparação com fertilizantes químicos em feijão irrigado. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA EM CIÊNCIAS AGÁRIAS, 2., Piracicaba, ESALQ, 1982. p.216-218.

GUSHI, R.S., BOARETO, A.E., NAKAGAWA, J. Utilização do lodo de esgoto em comparação com fertilizantes químicos feijão não irrigado. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS, 2, Piracicaba, ESALQ. 1982. p.214-216.

HOITINK, H.A.J., BOEHM, M.J., HADAR, Y. Mechanisms of suppression of soil-borne plant pathogens in compost-amended substrates. In: HOITINK, H.A.J., KEENER, H.M., (Eds.) Science and Engineering of Composting: Design, Environmental, Microbiological and Utilization Aspects. Renaissance Publishing, Worthington, 1993. p. 601-621.

HOITINK, H.A.J., FAHY, P.C. Basis for the control of soilborne plant pathogens with compost. Annual Review of Phytopathology, v.24, p.93-114, 1986.

HOITINK, H.A.J., ZHANG, W., HAN, D.Y., DICK, W.A. Making compost to suppress plant disease. Biocycle, v.38, p.40-42, 1997.

KIM, K.D., NEMEC, S., MUSSON, G. Effects of composts and soil amendments on soil microflora and *Phytophthora* root and crown root of bell pepper. Crop Protection, v.16, n.2, p.165-172, 1997.

- KUTER, G.A, HOITINK, H.A.J., CHEN, W. Effects of municipal sludge compost curing time on suppression of *Pythium* and *Rhizoctonia* diseases of ornamental plants. *Plant Disease*, v.72, p.751-756, 1988.
- LEWIS, J.A., LUMSDEN, R.D., MILLNER, P.D., KEINATH, A.P. Suppression of damping-off of peas and cotton in the field with composted sewage sludge. *Crop Protection*, v.11, p.260-266, 1992.
- LIU, L.X., HSIANG, T., CAREY, K., EGGENS, J.L. Microbia populations and suppression of dollar spot disease in creeping bentgrass with inorganic and organic amendments. *Plant Disease*, v.79, n.2, p.144-147, 1995.
- LUDUVICE, M. Experiência da companhia de saneamento do Distrito Federal na reciclagem agrícola de biossólido. In: BETTIOL,W., CAMARGO, O.A. Impacto ambiental do uso agrícola do lodo de esgoto. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2000. p.153-162.
- LUMSDEN, R.D., AYERS, W.A., DOW, R. L. Differential isolation of *Pythium* species from soil by means of selective media, temperature, and pH. *Canadian Journal of Microbiology*, v.21, p.606-612, 1975.
- LUMSDEN, R.D., LEWIS, J.A., MILLNER, P.D. Effect of composted sewage sludge on several soilborne pathogens and diseases. *Phytopathology*, v.73, p.1543-1548, 1983.

LUMSDEN, R.D., MILLNER, P.D., LEWIS, J.A. Suppression of lettuce drop caused by *Sclerotinia minor* with composted sewage sludge. *Plant Disease*, v.70, p.197-201, 1986.

McILVEEN, W.D., COLE JR, H. Influence of sewage sludge soil amendment on various biological components of the corn field ecosystem. *Agriculture and Environment*, v.3, p.349-361, 1977.

MELO, W.J., MARQUES, M.O. Potencial do lodo de esgoto como fonte de nutrientes para as plantas. In: BETTIOL, W., CAMARGO, O.A. Impacto ambiental do uso agrícola do lodo de esgoto. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2000. p.69-105.

MILLNER, P.D., LUMSDEN, R.D., LEWIS, J.A. Controlling plant disease with sludge compost. *Biocycle*, v.23, p.50-52, 1982.

MORTVEDT, J.J. Heavy metal contaminants in inorganic and organic fertilizers. *Fertilizer Research*, v.43, p.55-61, 1996.

NELSON, E.B., CRAFT, C.M. Suppression of dollar spot on creeping bentgrass and annual bluegrass turf with compost-amended topdressings. *Plant Disease*, v.76, n.9, p.954-958, 1992.

PEREIRA, J.C.R., ZAMBOLIM, L., VALE, F.X.R. do, CHAVES, G.M. Compostos orgânicos no controle de doenças de plantas. *Revisão Anual de Patologia de Plantas*, v.4, p.353-379, 1996.

PHAE, C., SASAKI, M., SHODA, M., KUBOTA, H. Characteristics of *Bacillus subtilis* isolated from composts suppressing phytopathogenic microorganisms. *Soil Science Plant Nutrition*, v.36, n.4, p.575-586, 1990.

POGGIANI, F., GUEDES, M.C., BENEDETTI, V. Aplicabilidade de biossólido em plantações florestais: I. Reflexo no ciclo dos nutrientes. In: BETTIOL, W., CAMARGO, O.A. Impacto ambiental do uso agrícola do lodo de esgoto. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2000. p.163-178.

PRIOR, P., BÉRAMIS, M. Induction de la résistance au flétrissement bactérien dû à *Pseudomonas solanacearum* E. F. Smith chez un cultivar de tomate réputé sensible. *Agronomie*, v.10, p.391-401, 1990.

RAIJ, B. VAN, CANTARELLA, H., QUAGGIO, J.A., FURLANI, A.M.C. (Eds.) *Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo*. 2.ed. Campinas: Instituto Agrônomo & Fundação IAC, 1996. 285p.

SCHOENMAKER, I.A., GHINI, R. Associação da solarização do solo e fontes de matéria orgânica para o controle de *Pythium* spp. em pepino. Fitopatologia Brasileira, v.25, supl., p.375-376, 2000.

SCHOONHOVEN, A.VAN, PASTROR-CORRALES, M.A. Standart system for the evaluation of bean germplasm. Cali: CIAT, 1987. 54p.

SILVA, F.C. Uso agrônômico de lodo de esgoto: efeitos em fertilidade do solo e qualidade da cana-de-açúcar. Piracicaba, 1995. 154p. Tese (Doutorado em Solos) - ESALQ/USP.

SILVA, J.E. da, RESCK, D.V.S., SHARMA, R.D. Alternativa agrônômica para o biossólido: a experiência de Brasília. In: BETTIOL,W., CAMARGO, O.A. Impacto ambiental do uso agrícola do lodo de esgoto. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2000. p.143-151.

SMITH, A.M. Ethylene as a cause of soil fungistasis. Nature, London, v.246, p.311-313, 1973.

STONE, D.M., POWERS, H.R. Sewage sludge increases early growth and decreases fusiform rust infection of nursery -run and rust-resisten loblolly pine. South Journal Applied Forestry, v.13, n.2, p.68-71, 1989.

TSAI, S.M., BARAIBAR, A.V.L., ROMANI, V.L.M. Efeito de fatores do solo. In: CARDOSO, E.J.B.N., TSAI, S.M., NEVES, M.C.P. (Coords) Microbiologia do solo. Campinas: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1992. p.59-72.

TSUTIYA, M.T. Alternativas de disposição final de biossólidos gerados em estações de tratamento de esgotos. In: BETTIOL, W., CAMARGO, O.A. Impacto ambiental do uso agrícola do lodo de esgoto. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2000. p.69 -105.

USDA (United State Department of Agriculture). Report and recommendation on organic farming. Washington, 1980. 94p.

U.S.EPA. Standards for the use and disposal of sewage sludge. Washington: EPA, 1996 (Code of Federal Regulations 40 CFR Part 503).

UTKHEDE, R.S. Effect of nitrogen fertilizers and wood composts on the incidence of apple crown rot in British Columbia. Canadian Journal of Plant Pathology, v.6, p.329-332, 1984.

UTKHEDE, R.S., SMITH, E.M. Evaluation of biological and chemical treatments for control of crown gall on young apple trees in the kootenay valley of British Columbia. Journal Phytopathology, v.137, p.265-271. 1993.

VESILIND, P.A. Treatment and disposal of wastewater sludges. Annual Arbor, Science., v.11, p.73-85, 1974.