

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

**EFETTO DE LODO DE ESGOTO SOBRE A NUTRIÇÃO, NODULAÇÃO
E DOENÇAS DA SOJA**

FABIO FERNANDO DE ARAUJO

Tese apresentada à Faculdade de Ciências
agronômicas da UNESP – Câmpus de
Botucatu, para obtenção do título de Doutor
em Agronomia – Área de concentração em
Proteção de plantas.

BOTUCATU-SP

Novembro – 2003

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

EFEITO DE LODO DE ESGOTO SOBRE A NUTRIÇÃO, NODULAÇÃO E
CONTROLE DE DOENÇAS DA SOJA

FABIO FERNANDO DE ARAUJO

Orientador: Dr. Wagner Bettiol

Tese apresentada à Faculdade de Ciências agronômicas da UNESP – Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de Doutor em Agronomia – Área de concentração em Proteção de plantas.

BOTUCATU-SP

Outubro – 2003

A minha esposa Edna e nossa filha Tamires.
Pelo grande amor , carinho e dedicação a família
DEDICO

A DEUS, que sempre me guiou em todos os passos e me fez entender as dificuldades encontradas nesta etapa e o seu grande amor por seus filhos.

A meu pai Simão (in memoriam) e minha mãe Zezita.

A meus irmãos e sobrinhos.

Aos demais familiares.

OFEREÇO

AGRADECIMENTOS

- À Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Faculdade de Ciências Agrônômicas, Câmpus de Botucatu (SP), pela oportunidade de cursar o doutorado e pela dedicação de seus servidores.
- À Universidade do Oeste Paulista, UNOESTE, pelo apoio, recursos financeiros e equipamentos fornecidos para desenvolvimento deste trabalho.
- Ao Dr. **Wagner Bettiol**, pela orientação, compreensão e apoio em todos os momentos, pelos incentivos transmitidos e pela sua amizade e confiança.
- À Dra. **Mariângela Hungria** (estimada orientadora do mestrado), Dr. **João Flávio V. Silva** e Dr. **Álvaro M. R. Almeida**, da Embrapa soja, pela amizade, doação de material e apoio recebido durante este trabalho.
- Aos colegas de laboratório **Viviane, Márcia, Edna**, pela amizade e apoio técnico recebido.
- Aos colegas professores e funcionários do curso de Agronomia da UNOESTE
- Aos colegas do curso de pós graduação em proteção de plantas da FCA/UNESP de Botucatu – SP
- Aos professores doutores. **Nilton L. Souza** e **Edson L. Furtado** da FCA/UNESP pelo apoio e amizade.
- Aos amigos **Gilberto Silva** e **Carlos Tiritan** pelo companheirismo, apoio e amizade

- Aos amigos da “Turma da quinta” pelos momentos de descontração proporcionado no período de condução deste trabalho.
- Finalmente a todos que direto ou indiretamente contribuíram com este trabalho e me ajudaram a superar os problemas encontrados nesta etapa da minha vida.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE TABELAS.....	V
LISTA DE FIGURAS.....	VIII
1 RESUMO.....	1
2 SUMMARY.....	3
3 INTRODUÇÃO.....	5
4 REVISÃO DE LITERATURA.....	8
4.1 Utilização de lodo de esgoto na agricultura.....	8
4.2 Efeito do lodo de esgoto sobre a fixação biológica de nitrogênio.....	9
4.3 Efeito do lodo de esgoto no controle biológico de doenças em solos	11
4.4 Potencial do lodo de esgoto como indutor de supressividade a fitopatógenos no solo.....	13
4.5 Potencial do lodo de esgoto para indução de resistência a doenças em plantas.....	16
4.5.1 Indução de resistência	16
4.5.2 Resistência sistêmica adquirida (RSA).....	17
4.5.3 Resistência sistêmica induzida (RSI).....	18
4.6 Etiologia e manejo de fungos e nematóides em soja	19
4.6.1 A cultura da soja	19
4.6.2 <i>Rhizoctonia solani</i>	20
4.6.4 <i>Microsphaera diffusa</i>	21
4.6.5 <i>Heterodera glycines</i>	22
5 MATERIAL E MÉTODOS	24
5.1 Local dos experimentos	24
5.2 Fungos e nematóides utilizados nos experimentos	24
5.2.1 <i>Macrophomina phaseolina</i>	24
5.2.2 <i>Rhizoctonia solani</i>	25
5.2.3 <i>Meloidogyne javanica</i> e <i>Heterodera glycines</i>	25
5.3.1 Aplicação do lodo de esgoto na área experimental da Embrapa Meio Ambiente (Jaguariúna, SP).....	28
5.3.2 Instalação de experimentos com soja em casa de vegetação	29

5.4	Avaliação da atividade microbiana no solo	30
5.6	Efeito do lodo de esgoto sobre a nodulação de soja por <i>Bradyrhizobium japonicum</i>	32
5.7	Efeito do lodo de esgoto na indução de supressividade a <i>Heterodera glycines</i> em soja.	34
5.9	Efeito do lodo de esgoto sobre a severidade de Oídio (<i>Microsphaera diffusa</i>) na soja.....	36
5.10	Efeito do lodo de esgoto na indução de supressividade a <i>Rhizoctonia solani</i> em soja	37
6	RESULTADOS	40
6.1	Efeito do lodo de esgoto sobre a nodulação de soja por <i>Bradyrhizobium japonicum</i>	40
6.1.1	Primeiro experimento (2001)	40
6.5.6	Segundo experimento (2003)	45
6.2	Efeito do lodo de esgoto sobre a atividade microbiana e elicitação de fitoalexinas em soja.....	49
6.4	Efeito do lodo de esgoto na indução de supressividade a <i>Meloidogyne javanica</i> em soja.....	54
6.5	Efeito do lodo de esgoto sobre a severidade de Oídio (<i>Microsphaera diffusa</i>) da soja.....	59
6.6	Efeito do lodo de esgoto sobre a indução de supressividade a <i>R. solani</i> em soja.	64
6.7	Efeito do lodo sobre a incidência de <i>Macrophomina phaseolina</i> em raízes de soja	69
7	DISCUSSÃO.....	70
7.1	Efeito do lodo de esgoto sobre a fixação biológica de nitrogênio e o desenvolvimento fenológico da soja.....	70
7.2	Efeito do lodo de esgoto na atividade microbiana do solo.....	74
7.3	Efeito do lodo de esgoto sobre nematóides (<i>H. glycines</i> e <i>M. javanica</i>) no solo	75
7.4	Efeito do lodo de esgoto na indução de resistência a Oídio(<i>Microsphaera diffusa</i>)da soja	77
8	CONCLUSÕES.....	82
9	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	83

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1. Características químicas dos lodos de esgotos das Estações de Tratamento de Esgoto de Franca (LF) e Barueri (LB), localizadas no estado de São Paulo, utilizados nos cinco plantios de milho.	27
Tabela 2. Quantidades de lodo de esgoto e de N, P ₂ O ₅ e K ₂ O aplicados via fertilizantes minerais nos cinco cultivos de milho.....	29
Tabela 3. Análise química da terra onde foram incorporados os lodos de esgoto da ETE de Franca e Barueri, SP, coletada na área experimental da Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna, SP, em novembro (2001), utilizada como referência nos experimentos instalados em 2001/2002.	29
Tabela 4. Análise química da terra onde foram incorporados os lodos de esgoto da ETE de Franca e Barueri, SP, coletada na área experimental da Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna, SP, em março (2003), utilizada como referência nos experimentos instalados em 2003.	30
Tabela 5. Nodulação e desenvolvimento da soja (cv BRS 133), 60 dias após o plantio, em solo que recebeu diferentes concentrações de lodo de esgoto da ETE de Franca, em casa de vegetação no ano de 2001 (Primeiro experimento).....	41
Tabela 6. Nodulação e desenvolvimento da soja (cv BRS 133), 60 dias após o plantio, em solo que recebeu diferentes concentrações de lodo de esgoto da ETE de Barueri, em casa de vegetação no ano de 2001 (Primeiro experimento).....	42
Tabela 7. Efeito dos lodos de esgotos, provenientes das Estações de Tratamento de Esgoto de Franca e Barueri, na composição do tecido foliar de soja aos 60 dias após o plantio. Experimento conduzido em casa de vegetação durante o ano de 2001.....	45
Tabela 8. Nodulação e desenvolvimento da soja (cv BRS 133), 60 dias após o plantio, em solo que recebeu diferentes concentrações de lodo de esgoto da ETE de Franca, em casa de vegetação no ano de 2003 (Segundo experimento).....	46

Tabela 9. Nodulação e desenvolvimento da soja (cv BRS 133), 60 dias após o plantio, em solo que recebeu diferentes concentrações de lodo de esgoto da ETE de Barueri, em casa de vegetação no ano de 2003 (Segundo experimento).....	47
Tabela 10. Efeito dos lodos de esgotos, provenientes da Estações de Tratamento de Esgoto de Franca e Barueri, na composição do tecido foliar de soja aos 60 dias após o plantio. Experimento conduzido em casa de vegetação durante o ano de 2003.....	48
Tabela 11. Efeito de lodos de esgoto, originários das Estações de tratamento de Esgoto de Franca e de Barueri, na atividade microbiana do solo, avaliada pela atividade da enzima desidrogenase.	49
Tabela 12. Efeito do lodo de esgoto, originário da ETE de Franca em 2002, na atividade microbiana do solo, avaliado pela hidrólise do diacetato de fluoresceína (FDA).....	50
Tabela 13. Efeito de lodo de esgoto, originário das ETES de Franca e de Barueri, na atividade elicitora de fitoalexinas, em cotilédones de soja.....	51
Tabela 14. Efeito de lodos de esgotos, originários das ETES de Franca e de Barueri, sobre a concentração de bactérias termoresistentes, em amostras de solo coletadas em 2001 e 2002, avaliada através de contagem direta de unidades formadoras de colônias (UFC) em placas.	52
Tabela 15. Efeito de lodos de esgotos, originários das ETE de Franca e de Barueri, sobre a recuperação de cistos e ovos do nematóide do cisto da soja (<i>Heterodera glycines</i>) em soja cultivada durante 62 dias, em casa de vegetação no ano de 2002.	53
Tabela 16. Efeito de lodo de esgoto, originário da ETE de Franca e de Barueri, sobre a recuperação de ovos e juvenis do nematóide de galha (<i>Meloidogyne javanica</i>) em soja cultivada durante 62 dias, em casa de vegetação no ano de 2002 (Primeiro experimento).....	56
Tabela 17. Efeito de lodos de esgotos, originários das ETE de Franca e de Barueri, sobre a recuperação de ovos e juvenis do nematóide de galha (<i>Meloidogyne javanica</i>) em soja, com 62 dias, em casa de vegetação no ano de 2003 (Segundo experimento).....	57

Tabela 18. Efeito de lodos de esgotos, originários das ETEs de Franca e de Barueri, sobre a severidade de Oídio (<i>Microsphaera diffusa</i>) em soja cultivada em casa de vegetação durante 50 dias no ano de 2002 (Primeiro experimento).....	60
Tabela 19. Efeito de lodos de esgotos, originários das ETEs de Franca e de Barueri, sobre a severidade de Oídio (<i>Microsphaera diffusa</i>) em soja cultivada em casa de vegetação durante 50 dias no ano de 2002 (Segundo experimento).....	61
Tabela 20. Efeito do lodo de esgoto da ETE de Franca, misturado ao solo, sobre a severidade de oídio (<i>Microsphaera diffusa</i>) em soja conduzida em casa de vegetação durante 35 dias (Primeiro cultivo).....	62
Tabela 21. Efeito do lodo de esgoto da ETE de Franca, misturado ao solo, sobre a severidade de oídio (<i>Microsphaera diffusa</i>) em soja conduzida em casa de vegetação durante 35 dias (Segundo cultivo).....	63
Tabela 22. Efeito do lodo de esgoto da ETE de Franca, misturado ao solo, sobre a emergência de soja, em três cultivos sucessivos, em casa de vegetação no ano de 2002.	64
Tabela 23. Efeito dos lodos de esgoto, originários das ETEs de Franca e de Barueri, misturados ao solo, sobre o tombamento de pré-emergência e severidade (lesões no colo) provocados por <i>Rhizoctonia solani</i> em soja, aos 32 dias após o plantio, cultivada em casa de vegetação no ano de 2002 (Primeiro experimento).....	65
Tabela 24. Efeito dos lodos de esgoto, originários das ETEs de Franca e de Barueri, misturado ao solo, sobre o tombamento de pré-emergência e severidade (lesões no colo) provocados por <i>Rhizoctonia solani</i> em soja, aos 32 dias após o plantio, cultivada em casa de vegetação no ano de 2002 (Segundo experimento).	67
Tabela 25. Efeito dos lodos de esgoto, originários das ETEs de Franca e de Barueri, sobre a incidência de <i>Macrophomina phaseolina</i> em raízes de soja, cultivada por 55 dias, em casa de vegetação no ano de 2002.	69

LISTA DE FIGURAS

Página

- Figura 1 – Efeito do lodo de esgoto da ETE de Franca e Barueri, incorporado ao solo, na produção de matéria seca da parte aérea de soja (cv. BRS 133), aos 60 dias após semeadura, inoculada com *B. japonicum* (c/ inoc.) ou não (s/ inoc.). Experimento conduzido no ano de 2001 em casa-de-vegetação. (1) 1N, 2N, 4N e 8N= doses de lodo necessárias para fornecer uma, duas, quatro e oito vezes a quantidade de N da adubação mineral.44
- Figura 2 – Fator de reprodução de *Meloidogyne javanica* em soja cultivada em solo que recebeu diferentes concentrações de lodo de esgoto provenientes das ETES de Franca e de Barueri. As doses de lodo são necessárias para fornecer uma (1N), duas (2N), quatro (4N) e oito (8N) vezes a quantidade de N da adubação mineral. NPK= adubação mineral recomendada. Experimento conduzido durante 62 dias em casa de vegetação no ano de 2002.55
- Figura 3 – Fator de reprodução de *Meloidogyne javanica* em soja cultivada em solo que recebeu diferentes concentrações de lodo de esgoto provenientes das ETES de Franca e de Barueri. As doses de lodo são necessárias para fornecer uma (1N), duas (2N), quatro (4N) e oito (8N) vezes a quantidade de N da adubação mineral. NPK= adubação mineral recomendada. Experimento conduzido durante 62 dias em casa de vegetação no ano de 2003.58
- Figura 4. Evolução dos danos provocados por *Rhizoconia solani*, em soja, nos parâmetros de % de tombamento e severidade (escala de notas de 0 a 5), em solos que receberam lodo da ETE de Franca e de Barueri. As doses de lodo são necessárias para fornecer uma (1N), duas (2N), quatro (4N) e oito (8N) vezes a quantidade de N da adubação mineral; NPK= adubação mineral recomendada. Experimento conduzido em casa de vegetação no ano de 2002.68

1. RESUMO

O lodo de esgoto, atendendo as exigências ambientais, apresenta grande potencial para utilização no manejo de solos na agricultura, onde vem sendo amplamente disposto. Sua utilização altera propriedades químicas, físicas e biológicas do solo devido à sua composição em macro e micronutrientes e matéria orgânica. Estas alterações podem proporcionar benefícios como aumento da disponibilidade nutricional às culturas, indução de supressividade aos fitopatógenos veiculados pelo solo e resistência às doenças da parte aérea. Por outro lado, pode influenciar negativamente o equilíbrio biológico e químico no solo, devido à presença de concentrações consideráveis de N disponível, sais solúveis e metais pesados. Com o objetivo de avaliar os efeitos da incorporação de lodo de esgoto ao solo sobre a nodulação, a indução de supressividade a fitopatógenos veiculados pelo solo e resistência às doenças da parte aérea da soja (*Glycine max*), foram realizados diversos experimentos em laboratório e casa de vegetação utilizando-se solo coletado, no período de 2001 a 2003, de área experimental da Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna, SP. Esta área recebeu aplicações sucessivas de lodos de esgotos, originários das Estações de Tratamento de Esgoto de Barueri e de Franca, no Estado de S. Paulo, durante cinco anos (1998-2002). A incorporação de lodo ao solo resultou em aumento da atividade microbiana (avaliada pela atividade da enzima desidrogenase e hidrólise de diacetato de fluoresceína – FDA) e elicitação de fitoalexinas em cotilédones de soja. A avaliação do efeito do lodo sobre a nodulação e desenvolvimento da soja, no primeiro experimento realizado com a coleta de solo após a

quarta aplicação anual do lodo na área, foi positiva, entretanto na segunda avaliação, após a quinta aplicação do lodo, observou-se que as maiores concentrações de lodo incorporadas proporcionaram redução da nodulação e do desenvolvimento da cultura comparativo à primeira avaliação. Esses resultados indicam que a aplicação sucessiva de lodo durante cinco anos pode ter provocado desequilíbrio em alguma propriedade do solo o que refletiu no desenvolvimento da simbiose e da cultura. Foi verificada concentração elevada de Zn no solo e na planta em tratamentos que receberam as maiores concentrações de lodo. Com relação à indução de supressividade a nematóides observou-se que o lodo não afetou significativamente o desenvolvimento de *Heterodera glycines* no solo, mas interferiu na reprodução de *Meloidogyne javanica*, nas duas avaliações efetuadas em soja. A severidade de Oídio (*Microsphaera diffusa*) em soja foi reduzida nos tratamentos que receberam o lodo de esgoto, nos três experimentos realizados. Isto indica que o lodo proporcionou indução de resistência na soja o que confirma o aumento de elicitores de fitoalexinas encontrado no ensaio realizado em cotilédones de soja. O lodo de esgoto não reduziu a severidade de *Rhizoctonia solani* em soja, nas duas avaliações efetuadas. Na segunda avaliação, após a quinta aplicação do lodo na área, foi verificado aumento da severidade em todos os tratamentos conduzidos comparativo a primeira avaliação. O lodo de esgoto também não reduziu significativamente a incidência de *Macrophomina phaseolina* nas raízes de soja.

Palavras-chave: Lodo de esgoto, doenças da soja, nematóides, nodulação, indução de resistência, indução de supressividade, atividade microbiana.

EFFECT OF SEWAGE SLUDGE IN NODULATION AND SOYBEAN DISEASES

Author: FABIO FERNANDO DE ARAUJO

Adviser: WAGNER BETTIOL

2 SUMMARY

Sewage sludge, had been shown great potential for use in the agriculture, where it comes being widely used. There are some modifications on chemical, physical and biological in the soil properties due to its composition of macro and micronutrients and organic substances. These alterations can provide benefits as an increase to the availability of nutrients to the plants, suppressiveness induction of soilborne plant pathogens and resistance to foliar diseases. However, it may influence negatively the biological and chemical balance in the soil, due to presence of considerable amounts of available N, soluble salts and heavy metals. The aim of this work was to evaluate the effect of sewage sludge incorporation into the soil on the nodulation, suppressiveness induction of soilborne plant pathogens and foliar resistance to diseases in soybean (*Glycine max*). Experiments were realized in the laboratory and in the greenhouse using collected soil during the period between 2001 and 2003 in an experimental area of the Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna, SP. This area received successive applications from sewage sludge, originary from the sewage stations treatment of Barueri and Franca, in the São Paulo State, Brazil, during five years (1998-2002). The incorporation of sludge into the soil resulted in an increase of the microbial activity (evaluated by the activity of the enzyme dehydrogenase and fluorescein diacetate (FDA) hydrolysis) and phytoalexin accumulation in soybean cotyledons. The evaluation of the effect of the sludge on the nodulation and soybean development. The first experiment was carried out with soil from the experimental area, after the fourth annual

application of the sludge and it was positive. However, in the second evaluation, after the fifth application of the sludge, it was observed that high concentrations of had reduced the nodulation and the development in soybean in the comparison with the first evaluation. These results indicate that the successive application of sludge, during five years, changed some properties of the soil; what is reflected in the development of the plant symbiosis. High concentration of Zn in the soil and in the plant was achieved in treatments that had received high sludge concentrations. In relation to the suppressiveness induction of nematodes, the sludge did not affect significantly the development of *Heterodera glycines* in the soil, but interfered with the *Meloidogyne javanica* reproduction, in the two evaluations did in soybean. The severity of powdery mildew (*Microsphaera diffusa*) in soybean was reduced in the treatments that received the sewage sludge, in the three experiments done. This showed that the sludge induced the soybean resistance, confirming that the increase in phytoalexins found in the soybean cotyledons assay. The sewage sludge did not reduce the severity of *Rhizoctonia solani* in soybean, in the two evaluations done. In the second evaluation, after the fifth application of the sludge in the area, it was verified an increase in the severity in all treatments compared with the first evaluation. Also, the sewage sludge did not reduce significantly the incidence of *Macrophomina phaseolina* in soybean root.

Keywords: Sewage sludge, soybean diseases, nodulation, induction of resistance, induction of suppressiveness, microbial activity.

3. INTRODUÇÃO

O lodo de esgoto, resíduo originário do tratamento de esgoto, vem sendo amplamente disposto na agricultura. A sua disposição agrícola é devida à concentração de macro e micronutrientes e matéria orgânica em sua composição. A sua oferta para a agricultura vem sendo ampliada devido à necessidade de se tratar os esgotos para reduzir a poluição dos corpos hídricos. Apesar da resposta no desenvolvimento e produtividade de diversas culturas (MELO et al., 2001), por se tratar de um resíduo urbano-industrial há necessidade de se seguir critérios rigorosos para sua aplicação na agricultura, haja vista que em sua composição existem poluentes, como metais pesados, compostos orgânicos e microrganismos patogênicos ao homem (BETTIOL; CAMARGO, 2001)

Quando incorporado ao solo o lodo de esgoto induz alterações nas propriedades físicas (densidade do solo, tamanho dos agregados e capacidade de retenção de água entre outras), químicas (pH, condutividade elétrica, CTC e aumento dos teores de P e N entre outras) e biológicas (atividade da microbiota do solo, diversidade da comunidade microbiana entre outras). Essas alterações podem induzir tanto a supressividade, como a conducividade de solos a fitopatógenos veiculados pelo solo (LUMSDEM et al., 1983; HOITINK et al., 1997) como induzir a resistência ou a susceptibilidade da planta a patógenos da parte aérea (KUC, 2000)

A CETESB (Companhia de Tecnologia em Saneamento Ambiental), por meio da norma P4230, normatiza a disposição de lodo de esgoto na agricultura paulista,

sendo permitida sua aplicação para produção de grãos como a soja (BETTIOL; CAMARGO, 2000), desde que o lodo se enquadre nas exigências da norma e o local onde será aplicado o lodo atenda as especificações de profundidade de lençol freático e declividade entre outras. Apesar desta norma contemplar um controle rigoroso da qualidade e quantidade dos lodos a serem aplicados em função das características físicas e químicas do solo, bem como da cultura e um monitoramento das variações dessas características, ainda não existe um maneira segura de monitorar as alterações na qualidade biológica do solo que venham a ocorrer . A utilização de altas doses de lodo pode aumentar o potencial de impacto ambiental devido a presença de compostos químicos tóxicos, implicando em modificações na diversidade biológica do solo e alterações de sua funcionalidade.

A cultura da soja ocupa grandes áreas cultivadas no território brasileiro, tendo com isto uma grande demanda de insumos e tecnologia durante seu cultivo, principalmente para o manejo fitossanitário. Entre as principais doenças da cultura podem-se destacar as causadas por nematóides dos gêneros *Heterodera* e *Meloidogyne*, fungos de solo como *Macrophomina phaseolina* e *Rhizoctonia solani* e fungos de final de ciclo como o Oídio (*Microsphaera diffusa*) (ALMEIDA et al., 1997). O manejo destas doenças inclui um conjunto de medidas com enfoque principal na prevenção, pois as medidas curativas são, na maioria das vezes, inviáveis e de pouca eficiência. Uma das alternativas para o manejo de patógenos do solo é a incorporação de resíduos como fonte de matéria orgânica. A matéria orgânica contribui para um controle efetivo de doenças no solo, devido ao aumento da atividade microbiana, melhoria das características físicas e químicas do solo, indução de supressividade do solo a doenças causadas por fitopatógenos habitantes do solo e indução de resistência a fitopatógenos da parte aérea da planta (BAKER; COOK, 1974; HOITINK; BOEHM, 1991). Na cultura da soja o efeito positivo com a adição da matéria orgânica deverá também refletir na melhoria da fixação biológica de nitrogênio, a qual tem sido constantemente prejudicada pela adição de agrotóxicos no solo (MARTENSSON, 1992).

Em função da grande importância econômica da soja para o país, do potencial que representa o lodo de esgoto como fornecedor de matéria orgânica e nutrientes ao solo e, no intuito de fornecer subsídios para utilização deste resíduo pelos sojicultores, bem como no seu potencial para controle de doenças em plantas, foi desenvolvido o presente

trabalho para avaliação do efeito do lodo de esgoto sobre a nutrição da soja, fixação biológica de nitrogênio e sobre patógenos veiculados pelo solo e da parte aérea da soja.

4 REVISÃO DE LITERATURA

4.1 Utilização de lodo de esgoto na agricultura

Com o advento do tratamento de esgotos urbanos visando atender às exigências ambientais o sistema proposto para este fim gera como produto final um resíduo semi-sólido denominado de lodo de esgoto. A estimativa usual é de que cada habitante produza, diariamente em torno de 100 g de lodo de esgoto seco (ALBIACH et al., 2001), mas depende basicamente do sistema de tratamento. Em 1993, a produção de lodo nos Estados Unidos estava em torno de 6,2 milhões de toneladas e com a projeção de se atingir 12 milhões de toneladas no ano 2000 (MALINA, 1993). Na China, nos dias atuais, segundo estimativa é produzido mais de 20 bilhões de m³ de esgoto por ano, sendo apenas 1,4 bilhão tratado o que gera 400.000 toneladas de lodo (base seca) (WANG, 1997). Desta forma, pode-se calcular facilmente a enorme quantidade que é produzida deste resíduo em nível mundial. Como alternativa de disposição final deste resíduo destaca-se: aterro sanitário, incineração e a disposição agrícola. A maioria dos países, com tratamento de esgotos, tem optado pela utilização do lodo tratado em áreas agrícolas, buscando atender a legislação ambiental de cada localidade (LUMSDEN et al., 1983; PAULSRUD; NEDLAND, 1997; WANG, 1997; CHU; POON, 1999; TSUTIYA et al., 2001; SELIVANOVSKAYA, 2001).

No Brasil, as empresas de saneamento responsáveis pelo tratamento do esgoto urbano, pressionadas pela legislação pertinente, tem procurado alternativas viáveis para o tratamento e disposição final do lodo de esgoto. Isto tem sido feito com o desenvolvimento de novas tecnologias de modo a atender aos requisitos ambientais, de segurança e saúde pública cada vez mais restritivos (MIKI et al., 2001). Na região metropolitana de São Paulo, de acordo com a SABESP (1998), a produção diária de lodo nas cinco ETE's está prevista em 540 t/dia (base seca) para 2005.

A utilização do lodo na agricultura vem crescendo a cada ano em vários países (LUMSDEN et al., 1983; WANG, 1997; MELO et al., 2001). As características principais do lodo depende do processo adotado em cada estação de tratamento de esgoto. Com o processamento do lodo de forma segura os fatores de risco segundo Tsutiya (2001), podem ser divididos em: temporários (odor, salinização, poluição das águas e organismos patogênicos) e a longo prazo (metais pesados e contaminantes orgânicos). As características químicas do lodo tem sido o grande foco para análise de impacto ambiental no solo de acordo com as exigências ambientais (CETESB, 1999). Os metais pesados presentes no lodo tem sua origem nos esgotos sanitários que são compostos de esgotos domésticos, esgoto industrial e água de infiltração. A tecnologia empregada no tratamento do lodo não consegue remover os metais pesados, desta forma eles retornam ao ambiente pela disposição final (WANG, 1997). O termo metais pesados é utilizado para elementos químicos que contaminam o meio ambiente, provocando diferentes danos a biota, podendo ser metais, semi-metais e mesmo não metais como o selênio (TSUTIYA, 2001). Os principais elementos químicos enquadrados neste conceito são: alumínio, antimônio, arsênio, cádmio, chumbo, cobre, cobalto, cromo, ferro, manganês, mercúrio, molibdênio, níquel, selênio e zinco

4.2 Efeito do lodo de esgoto sobre a fixação biológica de nitrogênio

No passado a aplicação de lodo de esgoto no cultivo da soja foi desencorajado na prática por ser considerado que o aproveitamento do nitrogênio fornecido pelo lodo seria pouco (ANGLE et al., 1992). Sendo assim as pesquisas em sua maioria foram direcionadas para avaliação do uso de lodo de esgoto em culturas que tivessem maior dependência do fornecimento de N mineral. Neste contexto, as pesquisas com lodo no Brasil

tem sido conduzidas principalmente em gramíneas (BETTIOL; CARVALHO, 1982; BERTON et al., 1989). Os resultados encontrados na avaliação do efeito do lodo de esgoto sobre legumes de grãos como a soja, no Brasil, ainda são limitados (VIEIRA, 2001).

As principais questões discutidas sobre o uso de lodo no solo tem sido o risco de acúmulo excessivo de metais pesados e sais solúveis que possam ser tóxicos para a microbiota do solo, particularmente o rizóbio (GILLER et al., 1989). Dentre os processos microbianos, como o que ocorre na mineralização da matéria orgânica, a fixação de nitrogênio, realizada por um grupo de espécies no solo tem sido mais afetada por níveis moderados de metais no solo (Mc GRATH, 1994). Sabe-se que *Bradyrhizobium* spp. apresenta maior resistência a metais pesados, no solo, do que *Rhizobium* spp., podendo de fato incrementar seu desenvolvimento em solos que receberam lodo de esgoto (KINKLE et al., 1987). Por outro lado, ambos são considerados relativamente sensíveis aos efeitos tóxicos dos sais (SINGLETON; BOHLOOL, 1984).

Freqüentemente os estudos com metais pesados e seus efeitos na fixação de N tem sido realizadas com os metais na forma de sais, adicionados ao solo, os quais tem apresentado reduções significativas da nodulação e fixação de N em leguminosas (McILVEEN; COLE, 1974; VIGUE et al., 1981). Contudo, algumas vezes tem se avaliado a adição de resíduos que contém metais pesados, no solo e não se verifica efeitos negativos sobre a nodulação e fixação de N (ANGLE et al., 1993; VIEIRA, 2001; SELIVANOVSKAYA et al., 2001). A tolerância intrínseca a metais em *B. japonicum* isolado de solo que não recebeu lodo é excessivamente alta (KINKLE et al., 1987). Sobre isto Angle et al. (1993) discutiram que é importante separar o efeito dos metais pesados da acidificação do solo e presença de sais, e afirmaram que muitos lodos contém alta concentração de sais resultante do processo de tratamento do lodo, principalmente, na precipitação e floculação de partículas de matéria orgânica. Obbard e Jones (2001) concluíram que estudos posteriores são requeridos para estabelecer que metais e concentrações terão efeitos adversos na fixação simbiótica de N dentro de condições agronômicas.

Em experimento com leguminosa McGrath et al. (1988) observaram que a aplicação de lodo de esgoto reduziu significativamente a fixação de nitrogênio e crescimento em trevo branco (*Trifolium repens* L.). Entretanto, avaliando a utilização de lodo de esgoto compostado em solos da Rússia, Selivanovskaya et al. (2001) constataram aumentos

da biomassa microbiana, em cerca de quatro vezes e da atividade de fixação de nitrogênio em até 35 vezes em solos que receberam o lodo. Em outra situação foi relatado que o desenvolvimento da soja pode ser incrementado utilizando-se pequenas doses de lodo de esgoto ao solo, principalmente pela presença de fósforo que contribui para o balanço nutricional no solo (VIEIRA, 2001). A conclusão final de Ferreira e Castro (1995), estudando a nodulação e desenvolvimento de trevo branco em solo previamente tratado com lodo de esgoto, foi que a inoculação de sementes proporcionou aumento de nodulação e produção de matéria seca, sendo considerado benéfica para a cultura.

4.3 Efeito do lodo de esgoto no controle biológico de doenças em solos

Nas últimas décadas a pesquisa agrônômica tem dedicado esforços na viabilização de técnicas menos agressivas ao ambiente, principalmente no controle de pragas e doenças em culturas agrícolas. No início dos anos 70 chegou-se a discussão das bases científicas do chamado controle biológico de doenças culminando com a publicação dos conceitos de Baker e Cook (1974). Sendo resumido em 1983, pelos mesmos autores, como “a redução da soma de inóculo ou das atividades determinantes da doença provocada por um patógeno e realizada por ou através de um ou mais organismos que não o homem” (COOK; BAKER, 1983). O conceito de controle biológico relatado naquela época foi discutido amplamente nas últimas décadas porém os estudiosos da área não conseguiram produzir definições muito diferenciada da enunciada no passado.

Com as bases conceituais definidas a pesquisa foi conduzida nos anos 70 e 80 visando isolar, identificar, multiplicar e aplicar organismos antagônicos de diferentes espécies para avaliação no controle de fungos, bactérias e nematóides causadores de doenças em plantas. Uma coletânea dos resultados desta fase do controle biológico de doenças no Brasil pode ser encontrada em Bettiol (1991). Posteriormente, foi lançada outra obra descrevendo o controle biológico de forma mais abrangente (MELO; AZEVEDO, 1998). A preocupação naquela fase era a de encontrar organismos antagonistas eficientes, sob diferentes situações e com grande amplitude de ação contra os organismos alvos. Porém, com o passar dos anos observou-se que esta estratégia poderia sucumbir facilmente visto a grande variabilidade ambiental e genética dos componentes envolvidos. Isto foi refletido nos

sucessivos fracassos quando das realizações de teste de campo com os principais antagonistas estudados e avaliados individualmente (RAUPACH; KLOEPPER, 1998). Em relação aos trabalhos de controle biológico de doenças, pode-se observar que os estudos desenvolvidos em condições controladas superam os desenvolvidos a campo (BETTIOL, 1991). Na maioria das vezes, não houve confirmação de resultados, obtidos em laboratório, em experimentos sob condições de campo.

A utilização de resíduos orgânicos freqüentemente estimula o aumento da atividade e diversidade da comunidade microbiana no solo. A colonização de raízes por rizobactérias, como *Pseudomonas fluorescens* foi aumentada com a incorporação de matéria orgânica no solo (SIDDIQUI et al., 2001). Também verificaram que o resíduo orgânico obtido da compostagem do lixo urbano pode estimular o aumento da atividade de antagonistas aos nematóides, formadores de galhas em raízes, no solo (MCSORLEY; GALLAHER, 1995) e numerosos outros relatos demonstraram que solos que receberam matéria orgânica compostada ou resíduos orgânicos controlaram importantes patógenos de solo (CHEN et al., 1988; HOITINK et al., 1991; KIM et al., 1997; VELAZCO, 2002)

Neste contexto a pesquisa busca atualmente adequar técnicas e/ou manejos que possam ser conduzidos com o aproveitamento de informações obtidas na literatura, aplicando-se o controle biológico, não de forma pontual isolada, mais inserido dentro de sistema mais complexos com a participação da biodiversidade e recursos regionais. Nessa linha de trabalho buscou-se avaliar a participação da microflora e mesofauna dentro de sistemas de produção agrícola mais equilibrados que proporcionem condições menos favoráveis ao aparecimento de doenças (KENNEDY; SMITH, 1995; MAMILOV et. Al., 2001). Os sistemas agrícolas, inseridos neste novo modelo, têm buscado técnicas mais conservacionistas como: adubação verde, plantio direto, rotação de culturas e utilização de insumos orgânicos (HOITINK et al., 1997). A participação do controle biológico dentro destes sistemas tem sido avaliado pela introdução de agentes conhecidos ou avaliações de forma indireta da presença dos mesmos dentro do sistema estudado.

4.4 Potencial do lodo de esgoto como indutor de supressividade a fitopatógenos no solo

O estudo de solos supressivos, a partir da primeira citação feita por Menzies em 1959, foi a resposta encontrada nas últimas décadas para a variação existente na incidência de doenças em solos específicos, revelando seu potencial de controle para fitopatógenos do solo (HUBER; SCHNEIDER, 1982). Foi relatado como conceito básico, que um determinado solo pode ser considerado como supressivo quando na presença do patógeno, ambiente adequado e um hospedeiro susceptível não há o desenvolvimento da doença (BAKER; COOK, 1974). Mais recentemente Bettiol e Ghini (2001) relataram supressividade como o fenômeno de alguns solos prevenirem naturalmente o estabelecimento de patógenos ou inibirem suas atividades patogênicas, sendo solos supressivos o oposto de solos conducentes.

A partir da constatação da existência de solos considerados como supressivos naturais e relatos na literatura de trabalhos descrevendo supressividade para diferentes gêneros de fungos de solo (*Fusarium*, *Phytophthora*, *Pythium*, *Rhizoctonia* e *Sclerotinia* entre outros) os trabalhos de pesquisa buscaram identificar a natureza da supressividade, visando aferir a contribuição de cada componente do solo para este fenômeno (BAKER; CHET, 1982; ALABOUVETTE, et al., 1985; HOITINK et al., 1997).

A introdução do componente biológico aliado ao físico e o químico como bases para qualidade de solo foi importante para o entendimento de vários fenômenos relacionados com solos saudáveis, sendo que esta sanidade é determinada principalmente por características ecológicas (KARLEN et al., 1997; VAN BRUGEN; SEMENOV, 2000). Foi demonstrado em resultados experimentais que a supressão de doenças em solos tem natureza biológica (VAN OS; GINKEL, 2001). Neste contexto, as propriedades físicas e químicas atuam na supressividade de forma indireta favorecendo a atividade microbiana, porém existem situações onde estas propriedades atuam diretamente interferindo no ciclo de vida do patógeno (LYDA, 1982; BETTIOL; GHINI, 2001).

A maioria dos trabalhos abordando controle biológico e supressividade em solos estudam a interação microbiana na rizosfera (WHIPPS, 2001). A introdução de agentes microbianos conhecidos para fins de controle de patógenos de solos também é citado com frequência na literatura (BETTIOL, 1991; BENCHIMOL et al., 2000; MELO, 1996;

LUZ, 1996). Porém, atualmente, tem-se avaliado com presteza a participação da mesofauna habitante do solo nos mecanismos de supressividade (ALTIERI, 1999). Pode-se citar nesta comunidade a presença de colêmbolas (NAKAMURA et al., 1992), minhocas (STEPHENS et al., 1994) e protozoários (HOMMA et al., 1979). A atuação de vários organismos, nativos ou introduzidos, dentro de um manejo agrícola equilibrado faz que o controle biológico seja um dos principais fatores para a supressão de doenças no solo.

Em relação a natureza abiótica da supressividade em solos, encontram-se na literatura vários trabalhos relatando o efeito da compactação e outros fatores físicos em doenças de plantas (BIANCHINI et al., 1997; STURZ et al., 1997; BETTIOL; GHINI, 2001). Sabe-se que as principais características físicas e químicas do solo que interagem dentro do fenômeno da supressividade são: teor de matéria orgânica, pH, macro e micronutrientes, textura e tipo de argila, condutividade elétrica entre outras. No tocante a estrutura do solo, ou seja, ao arranjo das partículas do solo, sabe-se que são alteradas pela compactação. As raízes quando encontram solos compactados cessam o crescimento vertical o que causa estresse predispondo a mesma para infecções (LYDA, 1982). Em solos compactados, quando submetidos a subsolagem, houve aumento de área atingida pela raiz oferecendo maior disponibilidade de nutrientes e alcançando sítios com baixa população de microrganismos patogênicos (HUSSEY; RONCADORI, 1977). Alguns trabalhos citam que a minimização da compactação do solo tem sido o melhor controle para podridão radicular, principalmente as causadas por *Fusarium* (BURKE et al., 1972; BIANCHINI et al., 1997).

As concentrações de macro e micronutrientes na rizosfera tem gerado controvérsias quanto ao favorecimento ou não, proporcionado por estes elementos, às doenças de solo. No caso do nitrogênio, quando encontrado em concentrações balanceadas no solo, pode aumentar o vigor da planta e reduzir “damping off”, porém, quando em excesso (desbalanceado) pode favorecer a penetração do fungo mais facilmente (ENGELHARD, 1989). Frequentemente, a redução da severidade de doenças é atribuída ao adequado fornecimento de nutrientes (BETTIOL; GHINI 2001). Alguns trabalhos relacionam a incidência do patógeno com o ciclo do elemento no solo, como no caso do nitrogênio onde a inibição da nitrificação reduziu a incidência de *Verticilium* na cultura da batata, porém aumentou a incidência de *Rhizoctonia* (HUBER, 1989). Tem sido encontrado variações na incidência do patógenos utilizando-se concentrações diferentes de macronutrientes (NPK),

conforme demonstrado por Foster e Walker (1947), revelando maior predisposição do tomate à murcha em solos com baixas concentrações de N, altas de K e baixas de P. Outros relatos de disponibilidade de nutrientes interferindo no aparecimento de doenças podem ser consultados na extensiva revisão editada por Engelhard (1989).

Algumas práticas conduzidas para indução de supressividade tem objetivado a transferência de solos supressivos a determinados patógenos, para solos conducentes, obtendo-se sucesso (GHINI, 1997). Esta mesma estratégia foi citada por Hornby (1983), que partindo do princípio que a supressividade tem origem microbiana, sugeriu que adicionando-se a um solo conducente pequenas frações (1 a 10%) de solo supressivo podem conferir a este supressividade. Porém, a introdução desta prática para grandes áreas pode ser antieconômica e não estável, devido a falta de adaptação dos organismos envolvidos ao novo ambiente. Este problema é encontrado com frequência, na prática, com a introdução de estirpes eficientes de *Rhizobium* em solos sob condições adversas (HUNGRIA et al., 2001). Além do mais, a obtenção de solos supressivos requer a elucidação de outros fatores que governam a colonização pelo patógeno (GHINI; NAKAMURA, 2001).

Com frequência tem sido dado ênfase à adição de matéria orgânica como forma de estimular a supressividade em solos agrícolas (HOITINK; BOEHM, 1991; SERRA-WITTLING et al., 1996; ERHART et al., 1999; MAMILOV et al., 2001). Quando se introduz quantidades consideráveis de matéria orgânica no solo tem-se alterações de parâmetros físicos e químicos do solo como sua textura, pH, concentrações de micronutrientes, etc. Desta maneira, a matéria orgânica incorporada ao solo consegue alterar também características abióticas que influem na avaliação de supressividade (HOPER; ALABOUVETTE, 1996).

No passado a introdução de resíduos orgânicos no solo restringia-se a utilização de esterco animais e resíduos vegetais. Esta prática há décadas vem demonstrando ganhos na produtividade, melhoria do solo, economia de fertilizantes e redução de doenças (ALTIERI, 1999; ABAWI; WIDMER, 2000; GAMLIEL et al., 2000). O aumento do teor de matéria orgânica no solo está associado com a redução da incidência de patógenos habitantes do solo, conforme relatado em revisão sobre o assunto realizada por Pereira et al. (1996). A incorporação de resíduos orgânicos, simples ou compostados, tem contribuído para alteração de parâmetros importantes em solos. Aplicações de resíduos orgânicos contendo nitrogênio

têm sido eficaz no controle de doenças do solo proporcionado pelo acúmulo de amônia, a qual é tóxica para muitos microrganismos (GAMLIEL et al., 2000). Experimentos com incorporação de resíduos pobres em N também comprovaram aumento da supressividade pelo estímulo da biomassa microbiana (MAMILOV et al., 2000)

Atualmente, a incorporação de lodo de esgoto, como fonte de matéria orgânica no solo, oriundo de processos de compostagem ou digestão anaeróbica, apresenta-se como de grande importância para a indução de supressividade a doenças em solos (LUMSDEN et al., 1983; PEREIRA et al., 1996; ZHANG et al., 1996; HOITINK et al., 1997; ERHART et al., 1999). As primeiras citações envolvendo lodo de esgoto para o controle de fitopatógenos são de Cook et al. (1964, apud LIU, 1995) e Markland (1969 apud LIU, 1995), os quais, avaliando o fornecimento de N mineral, verificaram que os fertilizantes inorgânicos não reduziram a doença “dollar spot” em gramados, porém a mesma foi reduzida com a aplicação do lodo de esgoto compostado. Millner et al. (1982) e Lumsden et al. (1983) verificaram que lodo de esgoto compostado controlou *Sclerotinia minor* da alface, *Aphanomyces euteiches* em ervilha, *Rhizoctonia solani* em algodão, feijão e rabanete e *Phytophthora capsici* em pimentão. Entretanto, esses mesmos autores verificaram que o lodo de esgoto não apresentou efeito no controle de: *Pythium ultimum* e *Fusarium solani* em ervilha, *Pythium aphanidermatum* e *Thielaviopsis basicola* em feijão. Em trabalho mais recente, utilizando lodo de esgoto compostado, Lewis et al. (1992) relataram redução na incidência de tombamento, causado por *P. ultimum*, em ervilha, porém sem redução da densidade de inóculo.

No Brasil, Bettiol e Krüger (1984) verificaram que o lodo de esgoto, em maiores concentrações, reduziu a severidade da podridão de raízes em sorgo causada por *Pythium arrhenomanes*. Mais recentemente, Velazco (2002) relatou a indução de supressividade a *Phytophthora nicotiana* em limão cravo com a utilização de lodo de esgoto no solo.

4.5 Potencial do lodo de esgoto para indução de resistência a doenças em plantas

4.5.1 Indução de resistência

Os diferentes mecanismos de defesa de uma planta (estruturais e bioquímicos) são geneticamente controlados e dependem da expressão dos mesmos no momento e magnitude adequada após o contato do patógeno com o hospedeiro (PASCHOLATI; LEITE, 1995). A possibilidade de ativação desses genes em determinadas condições torna as plantas mais resistentes aos patógenos, criando-se então o fenômeno da indução de resistência em plantas. Kuc (1983) citou que resistência a doenças em plantas pode ser específica para diferentes espécies ou raças e não específicas quando sistematicamente induzida. O aumento do nível de resistência usando agentes externos, sem a modificação do genoma da planta, é conhecido como resistência induzida ou adquirida. A expressão da resistência induzida pode ser local ou ainda, sistêmica quando ela é expressa em locais não expostos diretamente ao agente indutor (STADNIK, 2000). O agente indutor pode ser um ativador químico, extratos de células de microrganismos ou microrganismos vivos (ROMEIRO, 2000).

4.5.2 Resistência sistêmica adquirida (RSA)

Pode-se dizer que a resistência sistêmica adquirida (RSA) ocorre quando plantas, após a exposição a um agente indutor, que pode ser um microrganismo patogênico, tem seus mecanismos de defesa ativados não apenas em seu sítio de indução, que exibe alterações (necrose), mas em outros locais dele distantes, tornando-a sistemicamente protegida contra infecções subsequentes causadas por um amplo espectro de patógenos (ROMEIRO, 2000). A RSA é acompanhada por um aumento na concentração do ácido salicílico (AS) e acúmulo de PRPs (Proteínas relacionadas com a patogênese) como mecanismos relacionados a defesa da planta, sua indução é salicilato-dependente o que causa as alterações visuais (HOFFLAND et al., 1995; MORAES, 1998). Em trabalho recente foi demonstrado que a RSA pode ser dependente do ácido salicílico (AS) ou independente do AS (PIETERSE; VAN LOON, 1999). Estes mesmos autores citaram que o AS não é o único sinalizador para a indução dos genes PRPs, sendo também encontrando, em ensaios com mudas de fumo, a participação de outras moléculas como o ácido jasmônico e o etileno.

A sobrevivência das plantas depende de uma combinação de respostas constitutivas e induzidas por patógenos, onde estão incluídas alterações estruturais na parede

celular, produção de metabólitos antimicrobianos secundários e síntese de novas proteínas (LINDSAY et al., 1993). Alguns compostos químicos também induz resistência sistêmica adquirida (KESSMANN, 1994), como o tratamento com solução de quitosana 0,1% e fosfato tri-potássico, avaliados contra viroses e ferrugens em leguminosas (DEVERALL; DANN, 1995)

Em *Arabidopsis thaliana*, a resistência sistêmica adquirida foi demonstrada em plantas inoculadas com o vírus do enrugamento do nabo (TCV) e protegidas contra TCV e *Pseudomonas seryngae* pv. *tomato* (MORAES, 1998; HAN et al., 2000). Foi demonstrado por Guedes et al. (1980 apud KUC, 1983) que o efeito da imunização induzida é para cima ou para baixo da folha indutora, concluindo-se que raízes podem ser imunizadas pelo tratamento nas folhas e vice-versa. Em trabalho com adição de composto de casca de pinus em pepino Zhang et al. (1996) observaram que além da redução da incidência de *Pythium ultimum* nas raízes, o composto induziu resistência sistêmica adquirida (RSA) para antracnose (*Colletotrichum orbiculare*) nas folhas. Fato este atribuído principalmente a presença de microrganismos na matéria orgânica (HOITINK et al., 1997; WEI et al., 1991).

4.5.3 Resistência sistêmica induzida (RSI)

Pode-se definir como resistência sistêmica induzida (RSI) quando plantas, após a exposição a agentes bióticos (microrganismos) ou abióticos (fatores químicos) sejam induzidas à defesa contra o patógeno, enquanto permanecem espacialmente separados na planta, a qual não exhibe alterações (PIETERSE et al., 1998; ROMEIRO, 2000).

As rizobactérias promotoras de crescimento de plantas (RPCP) possuem dentre seus mecanismos de ação a promoção de RSI o que reforça os efeitos positivos das RPCP como a promoção do crescimento ou do controle biológico (MARIANO; KLOEPPER, 2000). A RSI induzida por microrganismos não patogênicos na rizosfera, não envolve a rota de sinalização do AS (ácido salicílico) ou da indução de PRPs, sendo ativados na rota de sinalização da resistência o ácido jasmônico e o etileno (HOFFLAND et al., 1996; PIETERSE et al., 1998). Quando as RPCP colonizam o sistema radicular moléculas constituintes da célula bacteriana ou por ela sintetizadas atuam como elicitores de um sinal bioquímico. Esse sinal transloca-se até sítios distantes do local de sua gênese, ativando genes que codificam para a

síntese de componentes da resistência dinâmica e assim a resistência sistêmica induzida expressa-se (ROMEIRO, 2000).

Na RSI ocorre a indução de classes específicas das proteínas PR, que ocorrem também na resistência sistêmica adquirida (RSA), caracterizadas como inibidores de proteinases (FARMER; RYAN, 1992). Chen et al. (2000 apud MARIANO; KLOEPPER, 2000), relataram que a resistência sistêmica induzida (RSI), mediada por RPCP, contra *Pythium aphanidermatum* em pepino estava associada com o aumento de peroxidases e oxidases. Wei et al. (1991) trabalhando com RSI, também em pepino, para controle de *Colletotrichum orbiculare*, observaram que as sementes tratadas com isolados de RPCP reduziram o número e diâmetro de lesões causadas por *C. orbiculare* e a maioria dos isolados de RPCP reduziram significativamente o diâmetro em todos os tratamentos.

O uso de composto orgânico no solo induziu resistência em pepino para antracnose, porém o mecanismo permanece desconhecido (ZHANG et al., 1996). Sabe-se que fatores químicos ou biológicos, relacionados com a matéria orgânica, podem induzir este efeito nas plantas (LIU et al., 1995). No tocante a indução de resistência pela adição do lodo de esgoto no solo pode-se destacar efeitos advindos da presença de microrganismos como também concentração elevadas de compostos inorgânicos, incluindo metais pesados, que podem atuar como indutores de reações para resistência a doenças (KUC, 2000). Contudo ainda existe a demanda por trabalhos, com a utilização de resíduos orgânicos como promotores da indução de resistência em plantas.

4.6 Etiologia e manejo de fungos e nematóides em soja

4.6.1 A cultura da soja

A soja [*Glycine max* (L.) Merrill] é o principal componente do agronegócio brasileiro, com o maior valor de produção agregado. Sendo considerada como uma das quatro maiores “commodities” do mundo (RIGA et al., 2001). Em 2002, a produção estimada de 41 milhões de toneladas foi obtida em aproximadamente 15 milhões de hectares. As perdas por doenças estimadas na safra 1997/98 nos quatro principais países produtores do cone sul (Brasil, Argentina, Paraguai e Bolívia), somaram a produção de 7.990.100 toneladas

do grão. Atualmente cerca de 50 doenças são listadas na cultura e o risco de ocorrerem novas doenças na soja é contínuo (YORINORI, 2002).

4.6.2 *Rhizoctonia solani*

O fungo *Rhizoctonia solani* Kuhn [Fase anamórfica de *Thanatephorus cucumeris* (Frank) Donk], grupo de anastomose GA4 HGI é um fungo necrotrófico, habitante do solo e de ocorrência comum em soja, podendo sobreviver em várias outras plantas hospedeiras (ALMEIDA et al., 1997). A presença do fungo na semente ou no solo pode provocar a morte da semente antes ou após a emergência. As plantas afetadas apresentam lesões marrom avermelhadas na região do colo e das raízes mais velhas, que prejudicam seu desenvolvimento. Com o progresso da infecção as lesões estrangulam o hipocótilo, provocando o tombamento e morte das plantas (ITO; TANAKA, 1993).

O tombamento ou “damping-off” causado por *R. solani* é responsável por ressemeadura da soja, redução do estande e conseqüente infestação de plantas daninhas (YORINORI, 2002). A taxa de transmissão de *R. solani* por semente é baixa e sua importância é questionável já que o fungo habita naturalmente no solo. O mesmo apresenta grande capacidade saprofítica e consegue sobreviver facilmente de um cultivo para o outro, colonizando restos de cultura, ou ainda, mediante estruturas de resistência (DAVEY; PAPAIVIZAS, 1963). Uma das principais características do ataque deste fungo à soja é a morte em reboleira, a qual pode ser reduzida com a melhoria das condições físico-químicas do solo, rotação de cultura e cultivo em solo não encharcados (ALMEIDA et al., 1997).

4.6.3 *Macrophomina phaseolina*

A podridão cinzenta ou carvão causada por *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid ocorre com bastante freqüência, podendo causar prejuízos em condições de estiagem. As plantas infectadas exibem lesões marrom-avermelhadas no hipocótilo, que se tornam escuras com o passar do tempo. Este escurecimento logo abaixo da epiderme resulta da presença dos microescleródios do patógeno, em forma de pontuações negras (ITO; TANAKA, 1993). A doença é mais grave onde o sistema radicular é limitado por compactação ou por

acidez no solo (YORINORI, 2002). Além da soja, o fungo ataca inúmeras outras espécies vegetais economicamente importantes como alfafa, algodão, amendoim, batata doce, berinjela, beterraba, mamona, feijão, etc. (KIMATI et al., 1997). A transmissão por semente, embora ocorra, não é importante, uma vez que o inóculo existe na maioria dos solos (ALMEIDA et al., 1997).

ALMEIDA et al. (2001) relataram que uma alternativa de controle seria interferindo na biologia e sobrevivência do patógeno, através de manejo do solo com promoção de ambiente inadequado para o desenvolvimento do fitopatógeno.

4.6.4 *Microsphaera diffusa*

O Oídio (*Microsphaera diffusa* Cooke; Peck), embora considerado de pouca importância há alguns anos (TANAKA; ITO, 1993), ultimamente vem aumentando em prevalência. A partir de 1996/1997, desde a região Sul até as regiões Sudeste e Centro Oeste do Brasil, foram relatados diversos surtos epidêmicos desta doença (MICHEL et al., 1998). Condições climáticas em que predominem temperaturas amenas (20^o C) e alta umidade (50-90%) são favoráveis a doença (McGEE, 1992). O fungo sempre esteve presente em parcelas experimentais de cultivares tardias e em casa de vegetação, sem nunca ter causado danos significativos. Repentinamente, na safra 1996/97 foi responsável por perdas avaliadas em US\$ 315,3 milhões, que pode ser devido a coincidência de um ano de clima ameno com o desenvolvimento de uma nova raça (YORINORI, 2002).

O fungo *M. diffusa* é um parasita obrigatório que coloniza a superfície de toda parte aérea produzindo grandes quantidades de esporos que são facilmente disseminados pelo vento. Cada ciclo desta doença, sob condições favoráveis, dura cerca de sete a dez dias (PICININI; FERNANDES, 1998). Como medida de controle recomendam-se utilizar variedades resistentes e evitar semeadura tardia (ALMEIDA et al., 1997). Na impossibilidade do uso destas medidas é recomendado a aplicação preventiva de fungicidas (BLUM et al., 2002)

4.6.5 *Heterodera glycines*

O nematóide *Heterodera glycines* Ichinoe caracteriza-se pela formação de cistos, que encerram os ovos, nas raízes de soja. Denominado de nematóide do cisto da soja (NCS), *H. glycines* é o maior problema em soja em todo o mundo (WRATER et al., 1997). Este parasita foi introduzido no Brasil no ano agrícola 1991/92 nos estados de Minas Gerais, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul e Goiás (TANAKA; ITO, 1993). Os sintomas observados na parte aérea, por serem semelhantes aos de outras doenças causam confundimentos. Atualmente, mais de 100 municípios em oito estados (BA, GO, MG, MS, MT, PR, RS, SP) estão infestados. O total de prejuízos causados pelo nematóide do cisto da soja até a safra 1999/00 foi estimado em US\$ 200 milhões (YORINORI, 2002). Quarenta raças de NCS já foram descritas, porém, a raça 3 é a mais encontrada nas áreas infectadas cultivadas com soja (DIAS et al., 1999).

A fêmea do nematóide produz de 200 a 500 ovos, ficando muitos deles retidos dentro de seu corpo. Os primeiros ovos liberados são depositados externamente numa matriz gelatinosa, eclodem em poucos dias e as larvas infectam as raízes. Quando as fêmeas morrem as paredes de seu próprio corpo formam os cistos protetores que contém no seu interior inúmeros ovos. O ciclo de vida varia de 21 a 25 dias, sendo possível até seis gerações do nematóide em um ciclo de cultivares tardias de soja, aumentando consideravelmente a população em um único cultivo (ALMEIDA et al., 1997). A sintomatologia geral é a mesma causada por outros nematóides, consistindo de plantas mal desenvolvidas em reboleiras. As respostas da planta ao parasitismo são relatadas como mudanças fisiológicas que afetam o processo fotossintético (HUSSEY; WILLIANSO, 1998). Para redução de perdas com NCS tem sido recomendado a rotação de culturas, eliminação da compactação do solo e conservação de matéria orgânica no solo

4.6.6 *Meloidogyne javanica*

Dentre os nematóides de galhas que limitam a produção de soja no Brasil *Meloidogyne javanica* é a espécie mais frequentemente associada a danos na cultura, sendo responsável por prejuízos crescentes. Os nematóides formadores de galhas são

favorecidos por solo arenoso e clima quente, podendo causar perdas consideráveis na produção. Perdas provocadas por nematóides formadores de galhas são muito significativas, tendo sido observado decréscimo de produtividade da ordem de 30 % em plantas infectadas por *M. javanica* (VALIENTE et al., 1990). Na safra 1999/00, o prejuízo causado no Brasil pelas espécies *M. javanica* e *M. incognita* foi estimado em US\$ 52 milhões (YORINORI, 2002). A cada ano aumenta a severidade dos nematóides de galhas nas regiões dos cerrados.

O ciclo de vida dos nematóides desse gênero dura de três a quatro semanas na soja. Ao final deste período cada fêmea produz em média, por partenogênese mitótica, cerca de 500 ovos. A velocidade do crescimento populacional é rápida, podendo levar a perdas consideráveis de um ano para o outro. Fisiologicamente, *M. javanica* reduz significativamente a quantidade de proteínas nas sementes (MOHAMED et al., 1991).

Os métodos de controle recomendados para o controle de *M. javanica* incluem: rotação de cultura, variedades tolerantes e adubação verde com espécies resistentes, visando a recuperação da matéria orgânica e da atividade microbiana do solo; possibilitando o crescimento da população de inimigos naturais dos nematóides (ALMEIDA et al., 1997).

5 MATERIAL E MÉTODOS

5.1 Local dos experimentos

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Fitopatologia e casa-de-vegetação da Faculdade de Ciências Agrárias, da Universidade do Oeste Paulista – UNOESTE, em Presidente Prudente, SP e na casa-de-vegetação do setor de nematologia da Embrapa Soja, em Londrina, PR.

5.2 Fungos e nematóides utilizados nos experimentos

5.2.1 *Macrophomina phaseolina*

Foi utilizado o isolado 134 de *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid cedido pelo Dr. Álvaro M. R. Almeida, da Embrapa Soja, Londrina, PR. O isolado foi mantido em meio BDA (Batata-Dextrose-Ágar) sob temperatura ambiente. Para a produção do inóculo o fungo foi multiplicado em frascos (1L), contendo 250 mL de BD (Batata-Dextrose), com a introdução de discos (1cm de diâmetro) contendo micélio multiplicado em placa com BDA e incubado por 7 dias, sob temperatura ambiente. O micélio desenvolvido na superfície do meio foi retirado e deixado secar a sombra e, posteriormente, moído levemente, para ficar na forma de pó (ALMEIDA, comunicação pessoal). Este pó contendo microescleródios foi avaliado quanto a concentração e utilizado como inóculo.

5.2.2 *Rhizoctonia solani*

O isolado de *Rhizoctonia solani* Kühn pertencente ao grupo de anastomose GA 4 HGI foi cedido por Dr. Nilton L. Souza, da FCA/UNESP, Botucatu, SP. O inóculo foi produzido em substrato areno-orgânico (1:3) com 2% de farelo de aveia (p/v), autoclavado e umidade final de 20% (FENILLE; SOUZA, 1999). Para a superfície do substrato foram transferidos três discos de micélio de *R. solani*, obtidos da periferia de culturas, multiplicadas em BDA. Após repicagem o substrato permaneceu a 26° C, por 15 dias.

5.2.3 *Meloidogyne javanica* e *Heterodera glycines*

Os inóculos do nematóide formador de galhas (*Meloidogyne javanica*) e do nematóide do cisto da soja (*Heterodera glycines*), raça 3, foram cedidos pelo Dr. João Flávio V. Silva, da Embrapa Soja, Londrina, PR. Os nematóides foram mantidos em raízes de tomate cultivado em solo acondicionado em vasos.

5.3 Solo utilizado nos experimentos

O solo utilizado nos experimentos classificado como latossolo vermelho escuro distrófico foi proveniente de coleta, em 2001, 2002 e 2003, da área experimental da Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna, SP. Nesta área foi incorporado lodo de esgoto, em cinco aplicações anuais (1998 – 2002), em diferentes concentrações, proveniente das Estações de Tratamento de Esgoto (ETE), da SABESP de Franca e de Barueri, SP (Tabela 1). No local vem sendo cultivado milho sucessivamente.

O lodo da ETE de Franca é de origem residencial, com baixos teores de metais pesados. O lodo proveniente da ETE de Barueri (Região metropolitana de S. Paulo) tem grande representatividade de lançamentos industriais sobre as vazões de origem residencial, desta forma apresenta concentrações maiores de metais pesados (Tabela 1). Os lodos provenientes das ETE's citadas são considerados como lodo ativado convencional condicionado com polímero catiônico e desaguado.

Tabela 1. Características químicas dos lodos de esgotos das Estações de Tratamento de Esgoto de Franca (LF) e Barueri (LB), localizadas no estado de São Paulo, utilizados nos cinco plantios de milho.

Atributo	Unidade ⁽¹⁾	Primeiro plantio		Segundo plantio		Terceiro plantio		Quarto plantio		Quinto plantio	
		LB	LF	LB	LF	LB	LF	LB	LF	LB	LF
Fósforo	g/kg	15,9	16,0	31,2	21,3	26,9	12,9	17,7	13,8	17,9	27,3
Potássio	g/kg	1,0	1,0	1,97	0,99	1,0	1,0	1,5	1,5	1,0	1,0
Sódio	g/kg	0,5	0,5	0,6	0,6	0,5	0,9	0,5	0,5	0,9	0,4
Arsênio	mg/kg	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<0,01	<0,01	<0,1	<0,1
Cádmio	mg/kg	12,8	3,32	9,5	2,0	9,4	2,05	16,2	1,14	14,0	0,6
Chumbo	mg/kg	364,4	199,6	233	118	348,9	140,5	137,9	78,6	148,7	43,0
Cobre	mg/kg	1058	239,8	1046	359	953,0	240,9	682,8	187,1	867,8	196,0
Cromo total	mg/kg	823,8	633,8	1071	1325	1297,2	1230,3	609,3	202,0	639,6	182,4
Mercúrio	mg/kg	<0,01	<0,01	<1	<1	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,1	<0,1
Molibdênio	mg/kg	<0,01	<0,01	<1	<1	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,1	<0,1
Níquel	mg/kg	518,4	54,7	483	74	605,8	72,4	331,3	63,9	270,0	49,5
Selênio	mg/kg	<0,01	<0,01	<1	<1	<0,01	<1	<0,01	<0,01	<0,1	<0,1
Zinco	mg/kg	2821	1230	3335	1590	3372	1198	2327,9	773,0	3330,0	890,6
Boro	mg/kg	36,2	40,7	11,2	7,1	29,3	19,7	10,7	10,4	17,6	13,6
Carbono orgânico	g/kg	248,2	305,1	271	374	292,9	382,4	354,2	370,9	534,4	475,4
pH		6,6	6,3	6,4	6,4	6,4	5,4	8,5	8,9	8,0	8,3
Umidade	%	3,5	6,0	53,3	52,1	32,8	28,0	77,3	81,4	64,8	76,69
Sólidos Voláteis	%	43,0	60,5			56,8	72,5	62,6	67,0	59,6	58,65
Nitrogênio Kjeldahl	g/kg	26,0	47,0	26,4	50,8	38,5	55,2	44,6	47,4	44,8	43,1
Nitrogênio- amoniacal	mg/kg ⁽²⁾	1566,9	4803,2	1560,0	1190,0	2401,6	2094,1	2094,8	2330,6	2330,8	2008,8
Nitrogênio- Nitrato-nitrito	mg/kg ⁽²⁾	106,2	22,0	106	54,8	51,3	43,9	15,4	56,4	23,0	38,3
Enxofre	g/kg	13,4	16,3	10,8	13,3	17,1	15,7	11,7	9,3	14,5	10,1
Manganês	mg/kg	429,5	349,3	335	267	418,9	232,5	277,5	439,8	246,9	712,9
Ferro	mg/kg	54.181	33.793	32500	31700	37.990	24.176	39058	39895	32100	64900
Magnésio	g/kg	3,0	2,2	3,7	2,5	4,5	2,2	3,7	2,7	3,8	5,0
Alumínio	mg/kg	28.781	32.564	25300	33500	23.283	23.317	11959	18189	14230,7	21672,2
Cálcio	g/kg	40,3	29,2	22,8	16,8	47,8	24,8	20,1	13,3	19,4	11,5

⁽¹⁾Os valores de concentração são dados com base na matéria seca. ⁽²⁾Os valores de concentração para o nitrogênio nas formas amoniacal e nitrato foram determinados na amostra nas condições originais.

5.3.1 Aplicação do lodo de esgoto na área experimental da Embrapa Meio Ambiente (Jaguariúna, SP)

Os lodos provenientes das ETE's (Franca e Barueri) foram incorporados anualmente ao solo da área experimental da Embrapa Meio Ambiente, utilizando-se de enxada rotativa tracionada por trator. As parcelas, no total de 36, foram estabelecidas com a dimensão 10m x 20m, sendo a distância entre as parcelas e blocos de 5m. Para cálculo da taxa de aplicação do lodo utilizou-se a necessidade de nitrogênio para cultura do milho que foi implantada no local (Tabela 2). O cálculo do nitrogênio a ser aplicado utilizando o lodo de esgoto foi fundamentado no nitrogênio disponível para as plantas considerando a taxa de mineralização de 30%. Com base nesta necessidade foram definidas diferentes concentrações com uma, duas, quatro e oito vezes a quantidade de N necessária para cultura, estabelecendo-se os seguintes tratamentos com três repetições:

1- Testemunha absoluta	FTAB
2- Adubação mineral (NPK) recomendada para a cultura	FNPK
3- Lodo Franca para fornecer a quantidade de N exigida pela cultura	F1N
4- Lodo Franca para fornecer 2x a quantidade de N exigida pela cultura	F2N
5- Lodo Franca para fornecer 4x a quantidade de N exigida pela cultura	F4N
6- Lodo Franca para fornecer 8x a quantidade de N exigida pela cultura	F8N
7- Testemunha absoluta	BTAB
8- Adubação mineral (NPK) recomendado para a cultura	BNPK
9- Lodo Barueri para fornecer a quantidade de N exigida pela cultura	B1N
10- Lodo Barueri para fornecer 2x a quantidade de N exigida pela cultura	B2N
11- Lodo Barueri para fornecer 4x a quantidade de N exigida pela cultura	B4N
12- Lodo Barueri para fornecer 8x a quantidade de N exigida pela cultura	B8N

Tabela 2. Quantidades de lodo de esgoto e de N, P₂O₅ e K₂O aplicados via fertilizantes minerais nos cinco cultivos de milho

	Lodo de esgoto (kg/há – base seca)					N plantio + N cobertura (kg/há)					P ₂ O ₅ (kg/há)					K ₂ O (kg/há)					
	1°	2°	3°	4°	5°	1°	2°	3°	4°	5°	1°	2°	3°	4°	5°	1°	2°	3°	4°	5°	
Test	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
NPK	-	-	-	-	-	16+34	18+72	18+82	20+70	20+80	80	90	90	70	70	64	72	72	56	70	
F1N	3014	3504	3766	4432	4300	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	28	33	58	96	63	
F2N	6028	7008	7533	8863	8700	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	25	29	45	90	54	
F4N	12057	14017	15065	17726	17400	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	17	23	18	75	36	
F8N	24113	26033	30131	35452	34800	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	11	-	42	3	
Test	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
NPK	-	-	-	-	-	16+34	18+72	18+82	20+70		80	90	90	70	70	64	72	72	56	72	
B1N	8095	3995	5315	5295	3200	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3	28	40	87	57	
B2N	16190	7991	10631	10591	6500	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	19	8	69	45	
B4N	32381	15981	21262	21182	12900	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4	-	33	21	
B8N	64762	31962	42524	42363	25800	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	

F = lodo de esgoto da Estação de Tratamento de Esgoto(ETE) de Franca, SP. B = lodo de esgoto da ETE Barueri, SP.

Test = testemunha; NPK = adubação mineral recomendada; F1N, F2N, F4N e F8N = doses do lodo de Franca necessárias para fornecer uma, duas, quatro e oito vezes a quantidade de N da adubação mineral; B1N, B2N, B4N e B8N = doses do lodo de Barueri necessárias para fornecer uma, duas, quatro e oito vezes a quantidade de N da adubação mineral.

5.3.2 Instalação de experimentos com soja em casa de vegetação

Para instalação dos experimentos com soja, em vasos, foram coletados porções de solo, nos meses de novembro (2001) e março (2002), representativo da quarta aplicação de lodo na área e março (2003), representativo da quinta aplicação do lodo. As porções, em média pesando 10 kg, foram retiradas de cinco pontos, na profundidade de 0–20 cm, de cada parcela do experimento descrito anteriormente (seção 5.3.1). As mesmas foram homogêneas e em duas coletas (2001 e 2003) procedeu-se a retirada de amostras para análise química da terra, utilizando-se metodologia descrita por Raij e Quaggio (1983) (Tabelas 3 e 4). O solo foi distribuído em vasos (2 kg de solo) para realização dos experimentos propostos.

Tabela 3. Análise química da terra onde foram incorporados os lodos de esgoto da ETE de Franca e Barueri, SP, coletada na área experimental da Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna, SP, em novembro (2001), utilizada nos experimentos em 2001/2002.

Tratamento ¹	pH	M. O.	Ca	Mg	K	P	S	Mn	Fe	Cu	Zn	B	CTC
	(CaCl ₂)	g/dm ³	-----mmol/dm ³ -----			-----mg/dm ³ -----							(mmol/dm ³)
FTAB	5,0	36	26	14	1,1	9,3	5,7	3,6	73	2,4	1,5	0,29	85
FNPK	5,0	39	29	13	1,6	20	5,7	6,3	75	2,7	2,4	0,23	90
F1N	5,9	41	50	29	2,1	60	24	5,9	77	2,4	4,9	0,24	109
F2N	5,2	43	38	20	1,7	69	41	8,5	126	4,5	10	0,37	102
F4N	5,5	46	31	31	1,4	62	57	6,8	133	3,8	13	0,35	121
F8N	5,7	46	67	39	1,2	142	131	7,7	187	4,6	22	0,30	141
BTAB	5,3	39	29	20	1,4	9	8	6,1	133	2,6	22	0,23	91
BNPK	5,7	36	43	24	1,7	22	11	3,3	57	2,3	2,0	0,23	100
B1N	5,3	41	40	20	1,6	59	19	8,6	98	5,8	19	0,24	99
B2N	5,9	44	69	38	1,6	126	53	9,7	106	8,4	29	0,34	136
B4N	6,0	45	63	30	1,2	177	78	8,8	182	12	50	0,33	123
B8N	5,5	54	79	29	1,3	239	142	9,8	239	23	88	0,47	146

¹ F = lodo de esgoto da Estação de tratamento de Esgoto (ETE) de Franca, SP. B= Lodo de esgoto da ETE Barueri, SP. TAB= Testemunha absoluta; NPK= adubação mineral recomendada; 1N, 2N, 4N e 8N= doses de lodo necessárias para fornecer uma, duas, quatro e oito vezes a quantidade de N da adubação mineral.

Tabela 4. Análise química da terra onde foram incorporados os lodos de esgoto da ETE de Franca e Barueri, SP, coletada na área experimental da Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna, SP, em março (2003), utilizada como referência nos experimentos instalados em 2003.

Tratamento ¹	pH	M. O. (CaCl ₂) (%)	Ca -----mmol/dm ³ -----	Mg	K	P	S	Mn	Fe	Cu	Zn	B	CTC -----mg/dm ³ ----- (mmol/dm ³)
FTAB	5,3	2,8	25	15	0,9	10	5,0	3,3	39,6	10,0	6,2	0,51	76
FNPK	5,4	2,9	28	13	1,4	14	1,3	2,8	40	5,2	3,3	0,53	79
F1N	6,3	3,4	56	34	1,4	49	1,5	4,6	46,1	3,2	4,2	0,54	112
F2N	5,3	3,7	39	26	1,3	99	1,0	6,6	99,1	3,1	8,4	0,54	109
F4N	5,5	3,6	39	24	1,2	141	3,1	7,2	135	6,8	13,6	0,79	94
F8N	5,1	4,4	30	21	1,0	252	2,7	7,8	223	5,5	24,4	0,60	102
BTAB	6,5	3,2	102	96	1,0	12	1,3	9,5	30,7	2,5	1,8	0,47	219
BNPK	6,1	3,1	40	22	1,5	23	4,1	4,4	36	4,3	3,8	0,49	88
B1N	5,9	3,4	38	19	1,0	59	1,2	5,7	53	7,9	16,8	0,50	82
B2N	5,7	4,0	54	30	1,3	184	6,5	5,8	121	17,9	59,7	0,51	118
B4N	5,3	3,0	48	21	0,9	176	4,6	4,0	102	13,2	89,9	0,16	107
B8N	5,6	4,2	54	28	1,1	291	1,3	5,6	139	24	105	0,43	118

¹ F = lodo de esgoto da Estação de tratamento de Esgoto (ETE) de Franca, SP. B= Lodo de esgoto da ETE Barueri, SP. TAB= Testemunha absoluta; NPK= adubação mineral recomendada; 1N, 2N, 4N e 8N= doses de lodo necessárias para fornecer uma, duas, quatro e oito vezes a quantidade de N da adubação mineral.

5.4 Avaliação da atividade microbiana no solo

A atividade da enzima desidrogenase foi estimada, de acordo com a metodologia descrita por Van Os e Ginkel (2001), nas amostras de solo coletadas na área experimental da Embrapa Meio Ambiente, em novembro de 2001. Amostras de 5g de solo, foram saturadas com 2 mL de solução de TTC (2,3,5–cloreto de trifeniltetrazólio) a 1% em

tampão tris 0,1M (pH 7,6) e 1 ml de glicose (0,1%). Seis sub-amostras de cada porção de solo, coletada de cada parcela do experimento (Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna, SP), descrito na seção 5.3.1, foram utilizadas no ensaio, sendo três com adição de TTC e três sem adição (controle). As amostras foram misturadas em agitador tipo VORTEX e incubadas em tubo de ensaio a 30^o C, por 18h. Após incubação, 9 mL de metanol foi adicionado a cada tubo, o conteúdo foi agitado manualmente e filtrado em filtro tipo Whatman n^o 1. A intensidade da cor vermelha no filtrado foi determinada espectrofotometricamente a 485 nm. O zero ajustado para o controle foi utilizado como referência para avaliação da atividade da enzima.

A atividade microbiana também foi avaliada no solo que recebeu lodo de esgoto proveniente da ETE de Franca em 2002 (seção 5.9), através do método de hidrólise de FDA, conforme descrito por Boehm e Hoitink (1992). Amostras de 5g de solo foram introduzidas em frascos de 250 mL, juntamente com 20 mL de tampão fosfato de potássio 60mM (8,7 g de K₂HPO₄ e 1,3 g de KH₂PO₄ L⁻¹ de água destilada; pH 7,6). A reação de hidrólise de FDA (Sigma Chemical Co.) foi iniciada adicionando-se 0,2 mL (400 µg) de solução estoque de FDA (2 mg mL⁻¹ de acetona). As amostras foram incubadas por 20 min em agitador a 200 rpm e 25^o C. A reação foi interrompida por meio da adição de 20mL de acetona por frasco. A seguir, foi feita a filtração em papel Whatman n^o 1, sendo os filtrados recolhidos em tubos de cultura, e posteriormente tampados para evitar a evaporação da acetona. Logo após, em espectrofotômetro, foi determinada a absorvância (490 nm) dos filtrados. A concentração de FDA hidrolisado (µg de FDA hidrolisado g⁻¹ solo seco) foi obtida por meio de curva padrão. A curva padrão foi obtida adicionando-se FDA, nas quantidades de 0, 100, 200, 300 e 400 µg, em 5 mL de tampão fosfato, contido em tubo de ensaio. Os tubos foram mantidos por 60 min. em água fervente, para hidrolisar o FDA. Após a hidrólise, o FDA foi adicionado a frascos de 250 mL contendo 5g de solo em 15 mL de tampão fosfato, com duas repetições. A seguir a metodologia semelhante a descrita anteriormente foi realizada para obter-se a curva padrão entre o FDA hidrolisado e a absorvância.

Também foi realizada a avaliação da comunidade de bactérias termoresistentes no solo, após a coleta de março (2002) e março (2003) na área experimental da Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna, SP, para tanto foram retiradas alíquotas de solo (10g) da amostra representativa de cada parcela, sendo diluídas em 100 mL de água estéril, contida

em frascos de 250 mL. Em seguida a diluição foi submetida a um choque térmico (70°C/10 min) visando selecionar os microrganismos resistentes a este tratamento, onde se enquadra o gênero *Bacillus* (BUCHANAN; GIBBONS, 1975). Posteriormente, foram efetuadas, diluições sucessivas, utilizando-se tubos com 9 mL de água estéril, e plaqueamento em meio NA (ágar nutritivo) com incubação por 72 horas, em estufa a 28°C. Após este período foi determinado o número de unidades formadoras de colônia.

5.5 Avaliação da atividade elicitora de fitoalexinas em cotilédones de soja

Para avaliar o efeito do lodo de esgoto na elicitação de fitoalexinas foi empregado o bioensaio em cotilédones de soja, descrito por Wulff e Pascholati (1998). Cotilédones de soja da variedade BRS 133 foram destacado de plântulas, com nove dias de idade, cultivadas nos vasos, que receberam porções homogêneas do solo coletado em março de 2002 na área experimental da Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna, SP, conforme descrito na seção 5.3.1. Os cotilédones foram lavados com água bidestilada esterilizada e enxugados suavemente com papel absorvente fino. Para avaliação do acúmulo de fitoalexinas, os cotilédones foram pesados e colocados em metanol 80%, acidificado com HCl a 0,1% (v/v). Para a extração do complexo de pigmentos, nos quais estão presente as fitoalexinas foi mantida a proporção 1:50 entre massa de cotilédone fresco (g) e volume de metanol (mL). Os cotilédones foram mantidos a 4°C no metanol por um período de 96 h, para permitir a completa extração do complexo de pigmentos, o qual foi avaliado a 480 nm, sendo os dados expressos em A_{480nm} por grama de cotilédone fresco (A_{480nm} gcf⁻¹).

5.6 Efeito do lodo de esgoto sobre a nodulação de soja por *Bradyrhizobium japonicum*

O efeito do lodo sobre a nodulação foi avaliado com a inoculação de sementes de soja (BRS 133) e a semeadura em solo coletado da área experimental da Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna, SP, conforme seção 5.3.1. Foram realizados dois experimentos na casa de vegetação da UNOESTE, P. Prudente, SP. O primeiro experimento foi implantado em dezembro de 2001, utilizando o solo coletado em novembro de 2001 na área experimental, na qual havia sido efetuada a quarta incorporação de lodo em agosto de 2001. O segundo

experimento foi implantado em abril de 2003, utilizando o solo coletado em março de 2003, da mesma área experimental, que havia recebido a quinta aplicação do lodo em setembro de 2002. Antes da semeadura as sementes foram inoculadas com inoculante turfoso, contendo as estirpes de *Bradyrhizobium japonicum* (SEMIA 5079 e SEMIA 5080), cedido pela TURFAL Ltda – Curitiba, PR, nos anos de 2001 e 2003, dentro de sua validade, o qual foi avaliado 15 dias antes da instalação de cada experimento quanto a concentração de células viáveis de *Bradyrhizobium*, pelo método de número mais provável em planta (NMP) em soja (HUNGRIA; ARAUJO, 1994). O mesmo apresentou a concentração de $2,0 \cdot 10^8$ células/g, em 2001 e $1,0 \cdot 10^8$ células/g, em 2003. A aplicação nas sementes obedeceu a dosagem recomendada de 200g/50 kg de semente de soja. As sementes inoculadas foram semeadas em vasos plásticos (cinco sementes por vaso), contendo 2 kg de solo, com diferentes concentrações de lodo, conforme descrito na seção 5.3.1. O solo utilizado nos vasos apresentava baixa população de *Bradyrhizobium* spp. Nas avaliações realizadas para determinação da população nativa, utilizando-se o método de NMP, citado anteriormente, foram encontrados valores abaixo de $1,0 \cdot 10^3$ células/g de solo em todos os tratamentos, em ambos os experimentos. Após a emergência da soja fez-se o desbaste deixando-se duas plantas por vaso que foram conduzidas durante 50 dias sob condições ambiente. Decorrido este período as plantas foram colhidas, a parte aérea foi separada das raízes que foram lavadas em água corrente e posteriormente destacados os nódulos para contagem e avaliação de massa seca. Os nódulos, a parte aérea e a raiz foram secas à 65° C, sob aeração forçada, até atingirem massa constante. Após determinação da massa seca da parte aérea a mesma foi submetida a análise de composição nutricional no tecido foliar seguindo metodologia descrita por Malavolta et al. (1997) realizada no laboratório de análises químicas da UNOESTE, Presidente Prudente, SP. Com a finalidade de comparação foi determinado como teores de nutrientes nas folhas considerados adequados para a soja o descrito por Raij et al. (1996) sendo os macronutrientes, em g/kg, N (40-54), P (2,5-5,0), K (17-25), Ca (4-20), Mg (3-10), S (2,1-4,0) e os micronutrientes, em mg/kg, B (21-55), Cu (10-30), Fe (50-350), Mn (20-100) e Zn (20-500).

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado. Sendo cada parcela do experimento original (Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna, SP) subdividida em duas, totalizando no final seis repetições.

5.7 Efeito do lodo de esgoto na indução de supressividade a *Heterodera glycines* em soja.

Sementes de soja (BRS 133) foram semeadas em vasos plásticos contendo 2kg do solo, coletado da área experimental da Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna, SP, em novembro de 2001 (seção 5.3.1). Para infestação dos vasos foram coletados cistos de *Heterodera glycines*, raça 3, multiplicados em vasos com soja durante três meses. Para obtenção do inóculo, as raízes de soja foram lavadas em água corrente sobre uma peneira com abertura de 60 mesh. Os cistos retidos na peneira foram cuidadosamente transferidos para uma placa de Petri onde foram selecionados pela cor e tamanho, com auxílio de microscópio estereoscópico. Para infestação foram utilizados 20 cistos por vaso, os quais foram introduzidos no solo através de orifício central (0,5 cm de diâmetro) na superfície, com 1cm de profundidade. O experimento foi instalado em casa de vegetação da Embrapa Soja (Londrina, PR) e conduzido durante 62 dias (Janeiro a março de 2002). Após este período as plantas foram coletadas retirando-se com cuidado as raízes do solo, as mesmas foram separadas da parte aérea e lavadas sob jato forte de água sobre conjunto de peneiras na seqüência de 20, 100 e 500 mesh (aberturas de 840, 149 e 26 μm). Os cistos retidos na peneira de 100 mesh foram contados e em seguida esmagados na própria peneira, com auxílio de um tubo de ensaio e os ovos retidos na peneira 500 mesh foram recolhidos em solução de sacarose (454g/L de água). As suspensões foram centrifugadas a 800 g por um minuto e o sobrenadante vertido em peneira de 500 mesh, a suspensão foi então recolhida em becker de 50 mL e determinada a concentração de ovos com o auxílio da câmara de Peters (DIAS et al., 1998). A parte aérea das plantas, separada anteriormente, foi secada para determinação de massa conforme descrito na seção 5.6.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado. Sendo cada parcela do experimento original (Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna,SP) subdividida em duas, totalizando no final seis repetições.

5.8 Efeito do lodo de esgoto na indução de supressividade a *Meloidogyne javanica* em soja.

Foram conduzidos dois experimentos em casa de vegetação da UNOESTE, P. Prudente, SP, utilizando-se os solos coletados, em março de 2002 e março de 2003, na área experimental da Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna, SP. Os experimentos foram conduzidos nos meses abril de 2002 e maio de 2003, utilizando-se o solo coletado em cada ano (seção 5.3.1). Sementes de soja da variedade BRS 133, susceptível a *M. javanica*, foram semeadas em vasos plásticos contendo 2 kg de solo tratado com lodo de esgoto. Em seguida, os vasos foram infestados com 5000 ovos de *M. javanica* multiplicados em raiz de tomate. A extração dos ovos seguiu metodologia descrita por Dias et al. (1998) sendo iniciada com a lavagem da raiz de tomate e posterior trituração em liquidificador contendo solução de hipoclorito de sódio (2%) durante 30 segundos. Em seguida, a raiz triturada foi passada em peneira de 100 e 500 mesh (aberturas de 149 e 26 μm , respectivamente) e o material retido na última peneira foi avaliado em Câmara de Peters, sob microscópio óptico, para contagem de ovos de *M. javanica*. Após a contagem foi padronizado o uso de 5000 ovos por vaso nos experimentos. A condução dos experimentos, sob condição ambiente, foi por 55 dias após a semeadura. Decorrido este período as plantas, duas por vaso, foram coletadas com cuidado separando-se a parte aérea das raízes. A parte aérea foi secada e para determinação de massa seca conforme seção 5.6. As raízes foram deixadas secar em temperatura ambiente por 12 horas, sobre papel absorvente, decorrido este período as mesmas foram pesadas e trituradas em liquidificador. A extração de ovos foi realizada conforme metodologia descrita anteriormente, com avaliação da presença de ovos e juvenis de *Meloidogyne javanica*. Para avaliação final foram realizadas cinco amostragens, de 1 mL cada, no material retido na peneira, para cada parcela, sendo a contagem efetuada em microscópio óptico (100x). O resultado final foi expresso com a divisão da média, das cinco contagens, pelo peso da raiz, encontrando-se desta forma o número de ovos e juvenis por g de raiz. Também foi obtido o fator de reprodução (FR) dividindo-se o total de ovos encontrados nas raízes pelo inóculo inicial.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado. Sendo cada parcela do experimento original (Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna, SP) subdividida em duas, totalizando no final seis repetições.

5.9 Efeito do lodo de esgoto sobre a severidade de Oídio (*Microsphaera diffusa*) na soja

Foram conduzidos dois experimentos sucessivos em casa de vegetação (UNOESTE, Presidente Prudente, SP), utilizando-se o solo coletado em março de 2002 na área experimental da Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna, SP (seção 5.3.1). O primeiro experimento foi conduzido durante os meses março e abril de 2003 e o segundo foi conduzido nos meses de maio a junho de 2003 utilizando-se os mesmos vasos com solo utilizado no primeiro experimento. Para montagem do primeiro experimento, vasos contendo 2kg de solo foram dispostos em bancada de casa de vegetação e semeados com sementes de soja (BRS 133) que após emergência foram conduzidas em duas plantas por vaso. Nas laterais do experimento foram dispostos 20 vasos plásticos (2 kg de solo) com plantas de soja, de dois meses de idade, infectadas naturalmente com Oídio, os quais foram utilizados como fonte de inóculo. O experimento foi conduzido por 50 dias sendo realizadas avaliações periódicas quanto a severidade de Oídio nas folhas. Após este período as plantas foram coletadas e o solo semeado novamente para a condução do segundo experimento nas mesmas condições descritas nesta seção. A avaliação da severidade de Oídio nas folhas foi realizada através de escala de notas de 0 a 5 conforme descrito por Yorinori (1997) a qual foi baseada na quantificação do nível de infecção (NI) da área foliar infectada (AFI): NI=0, sem sintoma ou sinal visível; NI=1, traços a 10% de AFI; NI=2, 11% a 25% da AFI; NI=3, 26% a 50% da AFI; NI=4, 51% a 75% da AFI e NI=5 75% a 100% da AFI.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado. Sendo cada parcela do experimento original (Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna, SP) subdividida em duas, totalizando no final seis repetições.

Com a finalidade de se avaliar a utilização de concentrações maiores de lodo no solo, dois experimentos também foram conduzidos em casa de vegetação (UNOESTE, Presidente Prudente, SP) utilizando-se lodo de esgoto proveniente da ETE de Franca, SP, obtido diretamente da mesma em abril de 2002. O lodo de esgoto seco foi misturado ao solo obtido de área sob pastagens, em Presidente Prudente, SP, nas seguintes concentrações (p/p) – 0, 2,5%, 5,0% 10,0%, 15,0% e 20,0%. O solo misturado com lodo foi acondicionado em vasos plásticos (2kg de solo) e semeados com 20 sementes de soja (BRS 133) que após a emergência foram conduzidas em duas plantas por vaso. O primeiro

experimento foi conduzido por 50 dias, durante os meses de abril e maio de 2002. O segundo experimento foi conduzido com as sementes de soja semeadas nos mesmos vasos, após a coleta das plantas do primeiro, durante os meses de maio a junho (2002), seguindo-se a mesma condução do primeiro experimento. A avaliação da severidade de oídio, em ambos os experimentos, foi realizada de acordo com o descrito anteriormente. Paralelamente à avaliação da severidade de Oídio foi verificado o efeito do lodo de esgoto da ETE de Franca na emergência de soja. A avaliação foi realizada em três cultivos espaçados (1, 42 e 86 dias após a mistura do lodo com o solo). As duas primeiras avaliações foram realizadas na emergência da soja nos vasos do experimento com oídio, descrito acima, e a terceira avaliação (86 dias) realizada no mesmo solo contido nos vasos, seguindo o mesmo procedimento de semeadura, exclusivamente para avaliação de emergência. O delineamento experimental empregado foi inteiramente casualizado com seis repetições.

Após a coleta dos experimentos foram retiradas amostras de solo, de cada parcela, para realização de análise de atividade microbiana utilizando-se o método de hidrólise do FDA, conforme descrito na seção 5.4.

5.10 Efeito do lodo de esgoto na indução de supressividade a *Rhizoctonia solani* em soja

Com a finalidade de avaliação do efeito do lodo de esgoto na indução de supressividade à *R. solani* (GA4 HGI), foram realizados dois experimentos, consecutivos, em casa de vegetação da UNOESTE, Presidente Prudente, SP, durante os meses de agosto e setembro de 2002. O solo, com lodo de esgoto incorporado, utilizado nos experimentos, foi coletado na área experimental da Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna, SP, em março de 2002 (ver seção 5.3.1), sendo distribuído em vasos contendo 2kg de solo. Para infestação do solo utilizou-se *R. solani*, AG-4 HGI, previamente preparado em substrato areno-orgânico, incorporado ao solo com a adição do inóculo na proporção de 1% (p/p). Após homogeneização, o solo infestado foi retornado aos vasos. Em seguida os vasos, contendo o solo infestado, e não infestado foram semeados com dez sementes/vaso de soja cv. Conquista, que após a emergência foram deixadas duas plantas por vaso. Após a semeadura a adição de água foi realizada regularmente, mantendo-se o solo na capacidade de campo.

O primeiro experimento foi conduzido por 30 dias, sendo avaliadas as seguintes variáveis: 1) tombamento de pré-emergência: estimou-se a porcentagem de tombamento de pré-emergência, realizando-se a diferença entre as porcentagens de germinação nos tratamentos não infestados e seus correspondentes infestados, no mesmo tratamento; os valores negativos foram considerados como sendo zero; 2) plantas com lesão no colo que foram avaliadas através de escala de notas de 0 a 5, baseado na severidade da lesão no colo (0 = colo saudável e 5 = colo totalmente lesionado), adaptado de Lumsden et al. (1983). Somente foram consideradas as lesões típicas de sintoma de *R. solani*, caracterizadas por coloração pardo-avermelhada, deprimidas, e alongadas no sentido do comprimento do caule (SNEH et al., 1996). Após a coleta do primeiro experimento foi instalado o segundo experimento nos mesmos vasos, já infestados anteriormente com *R. solani*, seguindo o mesmo procedimento e avaliação feita no primeiro experimento.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado. Sendo cada parcela do experimento original (Embrapa Meio Ambiente) subdividida em duas, totalizando no final seis repetições.

6.5 Efeito do lodo de esgoto na indução de supressividade a *Macrophomina phaseolina*

Com a finalidade de avaliação do efeito do lodo de esgoto na indução de supressividade à *M. phaseolina*, no solo foi realizado experimento em casa de vegetação da UNOESTE, Presidente Prudente, SP, durante os meses de agosto e setembro de 2002. O solo, com lodo de esgoto incorporado, utilizado nos experimentos, foi coletado na área experimental da Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna, SP, em março de 2002 (ver seção 5.3.1), sendo distribuído em vasos contendo 2 kg de solo. Para infestação do solo foi utilizado, como fonte de inóculo, 1,0 g do pó contendo micélio e microescleródios de *M. phaseolina* (1×10^6 ufc/g), produzidos de acordo com a seção 5.2.1. O pó, contendo *M. phaseolina*, foi bem misturado ao solo, de cada vaso, utilizando-se um saco plástico para homogeneizar a mistura. Em seguida o solo, infestado, foi semeado com 10 sementes de soja cv. Conquista, deixando-se, após a emergência, duas plantas por vaso. Após a semeadura a adição de água foi realizada regularmente, mantendo-se o solo na capacidade de campo.

Aos 45 dias após a semeadura duas plantas foram retiradas, cuidadosamente, dos vasos e as raízes separadas da parte aérea para avaliação da incidência de *M. phaseolina*. As raízes foram lavadas e secas à temperatura ambiente. De cada raiz, retirou-se, aleatoriamente, quatro fragmentos (2 cm), os quais foram desinfestados em 0,5% de hipoclorito de sódio por 1 min e depois lavados em água esterilizada. Os fragmentos das raízes foram dispostos em placas, com meio BDA, contendo 0,1 g/L de sulfato de estreptomicina. As placas foram incubadas a 26° C, no escuro, sendo a avaliação realizada após sete dias. A porcentagem de raízes infectadas foi utilizada para determinação da incidência da doença (ALMEIDA et. Al., 2001).

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado. Sendo cada parcela do experimento original (Embrapa Meio Ambiente) subdividida em duas, totalizando no final seis repetições.

6 RESULTADOS

6.1 Efeito do lodo de esgoto sobre a nodulação de soja por *Bradyrhizobium japonicum*

6.1.1 Primeiro experimento (2001)

Nas condições de casa de vegetação a nodulação da soja, por *Bradyrhizobium japonicum*, ocorreu em todos os solos que receberam o lodo proveniente da ETE de Franca (Tabela 5) e Barueri (Tabela 6). A inoculação das sementes proporcionou aumento significativo da nodulação nos tratamentos que receberam o lodo de esgoto de Franca, sendo que mesmo nas condições de incorporação das maiores quantidades de lodo de esgoto a nodulação não foi inibida. Os tratamentos com o lodo, proveniente da ETE de Barueri, apresentaram comportamento de nodulação semelhante ao do lodo da ETE de Franca. O solo apresentava baixa população nativa de *Bradyrhizobium* spp., com isto os tratamentos sem inoculação apresentaram poucos nódulos o que também contribuiu para o aumento de nodulação na maioria dos tratamentos que tiveram as sementes inoculadas com *Bradyrhizobium japonicum*.

Tabela 5. Nodulação e desenvolvimento da soja (cv BRS 133), 60 dias após a semeadura, em solo que recebeu diferentes concentrações de lodo de esgoto da ETE de Franca, em casa de vegetação no ano de 2001 (Primeiro experimento).

Tratamento ¹	Nº de nódulos por planta	Massa nodular seca (mg/pl)	Massa da parte aérea seca (g/planta)	Massa radicular seca (g/planta)
Sem inoculação				
Test. absoluta	7,83 ef ²	66,43 defgh	1,82 gh	0,638 bcdef
NPK	16,33 def	81,93 cdefgh	1,62 h	0,535 ef
F1N	10,50 ef	30,94 efgh	1,84 gh	0,606 cdef
F2N	7,50 ef	28,30 fgh	2,06 gh	0,645 bcdef
F4N	9,33 ef	42,91 efgh	2,67 efgh	0,671 bcdef
F8N	3,50 f	4,85 h	5,83 a	1,168 a
Com inoculação				
Test. absoluta	25,17 bcde ²	121,84 bcdef	2,08 gh	0,586 ef
NPK	48,83 a	201,90 ab	2,86 efg	0,915 abcde
F1N	41,50 ab	121,68 bcdef	2,73 efgh	0,416 f
F2N	40,33 abc	148,73 abcd	2,65 efgh	0,595 cdef
F4N	39,50 abc	144,06 abcd	2,78 efgh	0,691 bcdef
F8N	36,33 abcd	227,00 a	4,84 abc	0,743 bcdef

¹ NPK= adubação mineral recomendada; F = lodo de esgoto da Estação de tratamento de Esgoto (ETE) de Franca, SP; 1N, 2N, 4N e 8N= doses de lodo necessárias para fornecer uma, duas, quatro e oito vezes a quantidade de N da adubação mineral.

² Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem significativamente pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade

Tabela 6. Nodulação e desenvolvimento da soja (cv BRS 133), 60 dias após a semeadura, em solo que recebeu diferentes concentrações de lodo de esgoto da ETE de Barueri, em casa de vegetação no ano de 2001 (Primeiro experimento).

Tratamento ¹	Nº de nódulos por planta	Massa nodular seca (mg/pl)	Massa da parte aérea seca (g/planta)	Massa radicular seca (g / planta)
Sem inoculação				
Test. absoluta	16,67 def ²	94,46 cdefgh	2,31 fgh	0,603 cdef
NPK	6,83 ef	86,18 cdefgh	2,33 fgh	0,803 abcdef
B1N	9,17 ef	78,33 defgh	2,64 efgh	0,701 bcdef
B2N	20,16 cdef	124,33 bcde	3,81 cde	0,903 abcde
B4N	3,33 f	24,88 gh	3,46 def	1,180 a
B8N	13,00 ef	38,89 efgh	4,84 abc	1,005 ab
Com inoculação				
Test. absoluta	34,00 abcd	111,17 bcdefg	2,32 fgh	0,597 cdef
NPK	42,33 ab	192,38 ab	2,84 efg	0,591 def
B1N	38,33 abc	144,35 abcd	2,83 efg	0,456 f
B2N	36,17 abcd	197,18 ab	3,77 cde	0,708 bcdef
B4N	46,00 a	177,65 abc	4,35 bcd	0,986 abc
B8N	41,33 ab	221,46 a	5,18 ab	0,985 abcd

¹ NPK= adubação mineral recomendada; B = lodo de esgoto da Estação de tratamento de Esgoto (ETE) de Barueri, SP; 1N, 2N, 4N e 8N= doses de lodo necessárias para fornecer uma, duas, quatro e oito vezes a quantidade de N da adubação mineral.

² Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem significativamente pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade

Com relação ao desenvolvimento fenológico da planta, observou-se ganho crescente de produção de matéria seca com aumento da dosagem do lodo de esgoto incorporado, com ou sem inoculação. Os tratamentos que receberam a maior dosagem de lodo de Franca (F8N) e de Barueri (B8N) proporcionaram aumentos significativos de massa seca quando comparado aos tratamentos que receberam doses menores de lodo, adubação mineral e testemunhas absolutas (Tabela 5 e 6). Isto pode indicar que a quarta incorporação do lodo na área proporcionou benefícios quanto ao desenvolvimento fenológico da cultura e que a nodulação foi importante para a cultura, nestas condições, mesmo com as maiores doses de lodo. É importante salientar que, pela análise estatística utilizada, apenas o tratamento FNPK apresentou acréscimo significativos de massa seca na parte aérea quando inoculado (Tabela 5).

A origem do lodo utilizado no experimento proporcionou também diferenças no desenvolvimento fenológico da soja, sendo verificado que o lodo proveniente da ETE de Barueri proporcionou, na maioria dos tratamentos, ganhos na produção de massa seca na soja quando comparado com os tratamentos que receberam lodo proveniente de Franca (Figura 1). A partir da análise foliar realizada na cultura verificou-se que as plantas cultivadas em solo que recebeu lodo de Barueri apresentaram maiores concentrações de fósforo (Tabela 7). Isto confirma a maior disponibilidade deste elemento encontrada nas análises química do solo que recebeu o lodo de Barueri, quando comparado com o que recebeu o lodo de Franca (Tabelas 3 e 4). Foi também observado que a concentração de nitrogênio nas folhas foi maior nos tratamentos que receberam o lodo proveniente da ETE de Franca, quando comparado com os tratamentos que receberam o lodo de Barueri. Em relação a concentração de micronutrientes nas folhas é importante destacar que o tratamento B8N, representativo da maior concentração de lodo de Barueri no solo, apresentou valor elevado de Zn nas folhas, conforme os teores estabelecidos na seção (5.6).

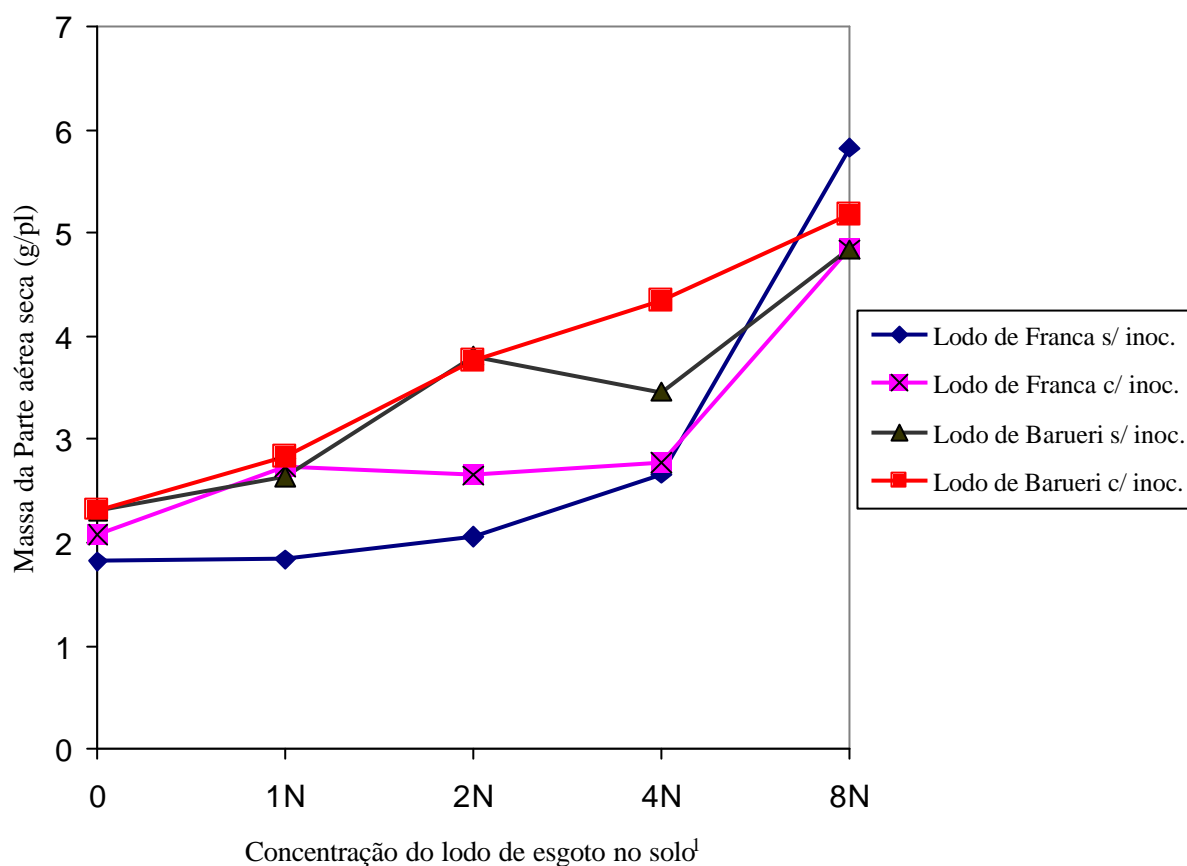


Figura 1 – Efeito do lodo de esgoto das ETEs de Franca e de Barueri, incorporado ao solo, na produção de matéria seca da parte aérea de soja (cv. BRS 133), aos 60 dias após semeadura, inoculada com *B. japonicum* (c/ inoc.) ou não (s/ inoc.). Experimento conduzido no ano de 2001 em casa-de-vegetação. (1) 1N, 2N, 4N e 8N= doses de lodo necessárias para fornecer uma, duas, quatro e oito vezes a quantidade de N da adubação mineral.

Tabela 7. Efeito dos lodos de esgotos, provenientes das Estações de Tratamento de Esgoto de Franca e Barueri, na composição do tecido foliar de soja aos 60 dias após o plantio. Experimento conduzido em casa de vegetação durante o ano de 2001.

Tratamento ¹	N	P	K	Ca	Mg	S	B	Cu	Fe	Mn	Zn
	-----g/kg-----						-----mg/kg-----				
FTAB	16,5	1,5	16,6	13,4	7,1	1,3	46,4	6	979	34	31
FNPK	15,1	2,0	17,3	13,7	7,0	1,3	41,8	4	687	30	30
F1N	27,2	2,4	20,4	15,8	9,8	1,8	45,0	6	691	22	33
F2N	20,4	2,8	14,7	16,8	9,8	2,1	42,4	16	686	31	52
F4N	22,4	2,8	17,2	15,5	9,3	2,2	41,0	14	721	24	41
F8N	28,3	3,4	10,6	19,4	12,8	2,2	59,0	7	878	28	57
BTAB	17,1	1,7	16,9	14,9	8,2	1,5	39,5	5	651	24	22
BNPK	16,6	1,7	18,1	15,9	8,8	1,5	46,8	7	714	29	26
B1N	18,2	2,6	12,3	15,0	7,3	2,2	44,4	7	904	29	60
B2N	16,8	3,1	12,8	14,3	9,5	2,0	49,7	12	1610	28	49
B4N	20,2	4,0	11,9	17,4	10,6	2,5	38,5	12	1439	23	73
B8N	23,2	5,7	12,7	21,7	12,2	2,8	51,7	12	885	31	251

1. F = Lodo de esgoto da Estação de tratamento de Esgoto (ETE) de Franca, SP. B= Lodo de esgoto da ETE Barueri, SP. TAB= Testemunha absoluta; NPK= adubação mineral recomendada; 1N, 2N, 4N e 8N= doses de lodo necessárias para fornecer uma, duas, quatro e oito vezes a quantidade de N da adubação mineral.

6.5.6. Segundo experimento (2003)

No segundo experimento, realizado em abril de 2003, observou-se que os resultados de nodulação avaliados na cultura da soja ficaram abaixo do obtido no primeiro experimento (2001), a redução do desenvolvimento da soja foi mais acentuada no solo que recebeu o lodo de Barueri (Tabelas 8 e 9). A inoculação das sementes, nos tratamentos que receberam lodo, não proporcionou ganhos significativos de nodulação. Apenas as testemunhas relativas e absolutas apresentaram ganhos de nódulos com a inoculação. Os tratamentos que

receberam a maior concentração de lodo (8N) tiveram redução, mais evidente, de nodulação nas plantas inoculadas quando comparadas com a nodulação observada no primeiro experimento (Tabelas 6 e 9). O desenvolvimento fenológico da soja foi, praticamente, equivalente em todos os tratamentos com pequena superioridade para os tratamentos que receberam o lodo de esgoto. Os tratamentos que receberam as maiores dosagens de lodo não apresentaram superioridade na produção de matéria seca em soja.

Tabela 8. Nodulação e desenvolvimento da soja (cv BRS 133), 60 dias após o plantio, em solo que recebeu diferentes concentrações de lodo de esgoto da ETE de Franca, em casa de vegetação no ano de 2003 (Segundo experimento).

Tratamento ¹	Nº de nódulos por planta	Massa nodular seca (mg/pl)	Massa da parte aérea seca (g/planta)	Massa radicular Seca (g / planta)
Sem inoculação				
Test. absoluta	10,4 bcd ²	32,2 cd	2,16 a	0,538 a
NPK	4,6 d	20,0 d	2,08 a	0,435 a
F1N	20,0 ab	33,3 cd	1,99 a	0,506 a
F2N	24,0 ab	84,1 abc	2,36 a	0,505 a
F4N	16,1 ab	82,3 abc	2,18 a	0,671 a
F8N	5,2 dc	21,5 d	2,42 a	0,687 a
Com inoculação				
Test. absoluta ¹	28,6 ab	120,0 ab	2,15 a	0,586 a
NPK	16,4 ab	46,6 bcd	2,00 a	0,615 a
F1N	33,2 a	132,3 ab	2,36 a	0,416 a
F2N	28,0 ab	101,7 ab	2,18 a	0,595 a
F4N	26,2 ab	146,6 a	2,22 a	0,601 a
F8N	12,4 abc	46,7 bcd	2,31 a	0,643 a

¹ NPK= adubação mineral recomendada; F = lodo de esgoto da Estação de tratamento de Esgoto (ETE) de Franca, SP; 1N, 2N, 4N e 8N= doses de lodo necessárias para fornecer uma, duas, quatro e oito vezes a quantidade de N da adubação mineral.

² Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem significativamente pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade

Tabela 9. Nodulação e desenvolvimento da soja (cv BRS 133), 60 dias após o plantio, em solo que recebeu diferentes concentrações de lodo de esgoto da ETE de Barueri, em casa de vegetação no ano de 2003 (Segundo experimento).

Tratamento ¹	Nº de nódulos por planta	Massa nodular Seca (mg/pl.)	Massa da parte aérea seca (g/planta)	Massa radicular seca (g /planta)
Sem inoculação				
Test. absoluta ¹	4,6 c ²	8,9 e	1,82 ab	0,403 b
NPK	5,6 c	10,1 de	1,36 b	0,508 ab
B1N	22,6 a	72,0 ab	1,88 ab	0,501 ab
B2N	6,4 bc	36,8 abc	2,26 ab	0,405 b
B4N	5,6 c	24,0 cd	2,33 a	0,723 ab
B8N	12,6 abc	72,1 ab	2,31 a	0,786 a
Com inoculação				
Test. absoluta	16,1 ab	80,8 a	1,83 ab	0,597 ab
NPK	20,4 ab	64,1 ab	1,66 ab	0,591 ab
B1N	24,2 a	62,1 ab	1,81 ab	0,496 ab
B2N	17,0 ab	41,0 abc	2,23 ab	0,508 ab
B4N	8,0 bc	22,2 cde	2,15 ab	0,686 ab
B8N	16,0 ab	62,0 ab	2,25 ab	0,698 ab

¹ NPK= adubação mineral recomendada; B = lodo de esgoto da Estação de tratamento de Esgoto (ETE) de Barueri, SP; 1N, 2N, 4N e 8N= doses de lodo necessárias para fornecer uma, duas, quatro e oito vezes a quantidade de N da adubação mineral.

² Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem significativamente pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade

A composição do tecido foliar da soja, cultivada no solo que recebeu o lodo, no segundo ano do experimento (Tabela 10), apresentou aumento na concentração de N foliar quando comparados com o encontrado na primeira análise (Tabela 7). Os teores de fósforo nas folhas, das plantas cultivadas em solo que receberam lodo, foram superiores aos

tratamentos testemunha e adubação mineral (NPK). Entretanto, os lodos originários de Franca e de Barueri, ao contrário do encontrado no primeiro experimento, se equivaleram quanto a disponibilidade de fósforo para as plantas no segundo experimento. Os tratamentos F8N, B2N, B4N e B8N apresentaram valores elevados de zinco nas folhas, conforme teores estabelecidos como adequados para a soja (seção 5.6).

Tabela 10. Efeito dos lodos de esgotos, provenientes da Estações de Tratamento de Esgoto de Franca e Barueri, na composição do tecido foliar de soja aos 60 dias após o plantio. Experimento conduzido em casa de vegetação durante o ano de 2003.

Tratamento ¹	N	P	K	Ca	Mg	S	B	Cu	Fe	Mn	Zn
	-----g/kg-----					-----mg/kg-----					
FTAB	21,8	0,7	12,4	13,8	5,3	2,1	36,1	5	225	30	23
FNPK	18,8	1,0	16,4	14,7	4,7	2,4	32,6	5	234	43	22
F1N	33,3	2,1	16	18,6	6,1	2,7	45,4	9	464	21	31
F2N	29,7	2,3	11,9	21,1	6,8	2,7	37,7	7	820	73	65
F4N	32,2	3,2	10,6	21,1	9,2	2,8	45,6	8	400	34	54
F8N	37,8	3,8	10,4	23	10	3	38,7	9	709	148	142
BTAB	24,6	1,1	12,3	17,2	6,6	1,8	33,1	7	214	59	25
BNPK	24,9	1,5	15,9	17,4	5,8	2,3	38,7	7	240	25	25
B1N	24,6	2	12,5	18,1	6,1	2,2	35,3	9	262	19	54
B2N	32,2	3,1	13,6	21,0	7,4	2,5	40,6	10	480	23	136
B4N	33,3	3,5	10,7	22,9	9,3	2,6	39,9	12	466	22	163
B8N	34,2	3,0	11,2	20	8,3	2,4	42	10	434	19	145

1. F = lodo de esgoto da Estação de tratamento de Esgoto (ETE) de Franca, SP. B= Lodo de esgoto da ETE Barueri, SP. TAB= Testemunha absoluta; NPK= adubação mineral recomendada; 1N, 2N, 4N e 8N= doses de lodo necessárias para fornecer uma, duas, quatro e oito vezes a quantidade de N da adubação mineral.

6.2 Efeito do lodo de esgoto sobre a atividade microbiana e elicitação de fitoalexinas em soja.

A atividade microbiana do solo que recebeu o lodo de esgoto, avaliada pela ação da enzima desidrogenase revelou diferenças significativas entre os tratamentos, com incrementos positivos nos solos que receberam doses maiores de lodos de esgotos provenientes das ETEs de Franca e de Barueri (Tabela 11).

Tabela 11. Efeito de lodos de esgoto, originários das Estações de tratamento de Esgoto de Franca e de Barueri, na atividade microbiana do solo, avaliada pela atividade da enzima desidrogenase.

Tratamentos ¹	Absorbância (485 nm)
FTAB	10,73 e ²
FNPK	14,82 de
F1N	34,72 bc
F2N	27,12 bcd
F4N	39,27 abc
F8N	42,63 ab
BTAB	14,35 de
BNPK	27,12 bcd
B1N	28,53 bcd
B2N	42,66 ab
B4N	54,45 a
B8N	42,87 ab

1. F = Lodo de esgoto da Estação de tratamento de Esgoto (ETE) de Franca, SP. B= Lodo de esgoto da ETE Barueri, SP. TAB= Testemunha absoluta; NPK= adubação mineral recomendada; 1N, 2N, 4N e 8N= doses de lodo necessárias para fornecer uma, duas, quatro e oito vezes a quantidade de N da adubação mineral.

² Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem significativamente pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade

Em outra avaliação efetuada em solo que recebeu doses crescentes de lodo de Franca foi verificado também o aumento da atividade microbiana, aferida pelo método da hidrólise de FDA, nas amostras que receberam concentrações mais elevadas do lodo de esgoto (Tabela 12).

O efeito do lodo de esgoto na elicitação de moléculas de defesa, em soja, foi estimada pelo ensaio de elicitação de gliceolinas (fitoalexinas) nos cotilédones, onde foi verificado estímulo crescente desta atividade com aumento das doses de lodo empregadas, porém, apenas o tratamento que recebeu a maior concentração de lodo da ETE de Barueri (B8N) apresentou valores com aumento significativo comparado a testemunha relativa (BNPK) (Tabela 13).

Tabela 12. Efeito do lodo de esgoto, originário da ETE de Franca em 2002, na atividade microbiana do solo, avaliado pela hidrólise do diacetato de fluoresceína (FDA).

Tratamentos ¹	µg de FDA hidrolisado/g de solo/min
0% de lodo	1,87 a ²
2,5% de lodo	2,82 b
5% de lodo	2,93 b
10% de lodo	3,07 b
15% de lodo	2,81 b
20% de lodo	2,63 b

1. F = Lodo de esgoto da Estação de tratamento de Esgoto (ETE) de Franca, SP. B= Lodo de esgoto da ETE Barueri, SP. TAB= Testemunha absoluta; NPK= adubação mineral recomendada; 1N, 2N, 4N e 8N= doses de lodo necessárias para fornecer uma, duas, quatro e oito vezes a quantidade de N da adubação mineral.

² Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem significativamente pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade

Tabela 13. Efeito de lodo de esgoto, originário das ETEs de Franca e de Barueri, na atividade elicitora de fitoalexinas, em cotilédones de soja.

Tratamentos ¹	Atividade elicitora (480 nm)
FTAB	3,67 ab ²
FNPK	3,67 ab
F1N	3,78 ab
F2N	3,92 ab
F4N	3,88 ab
F8N	4,13 ab
BTAB	3,87 ab
BNPK	3,50 b
B1N	3,63 ab
B2N	3,97 ab
B4N	4,02 ab
B8N	4,22 a

¹F = Lodo de esgoto da Estação de tratamento de Esgoto (ETE) de Franca, SP. B= Lodo de esgoto da ETE Barueri, SP. TAB= Testemunha absoluta; NPK= adubação mineral recomendada; 1N, 2N, 4N e 8N= doses de lodo necessárias para fornecer uma, duas, quatro e oito vezes a quantidade de N da adubação mineral.

² Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem significativamente pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade

Na avaliação da comunidade de bactérias termoresistentes no solo observou-se que o tratamento B8N apresentou, diferentemente dos outros tratamentos que receberam lodo, concentração de bactérias inferior à testemunha, nas duas avaliações realizadas em 2002 e 2003 (Tabela 14). Este mesmo tratamento, juntamente com os tratamentos F4N, F8N, B2N e B4N apresentaram redução do número de bactérias termoresistentes no solo de um ano para o outro. O tratamento F2N apresentou a maior concentração deste grupo de bactérias no segundo ano da avaliação.

Tabela 14. Efeito de lodos de esgotos, originários das ETEs de Franca e de Barueri, sobre a concentração de bactérias termoresistentes, em amostras de solo coletadas em 2001 e 2002, avaliada através de contagem direta de unidades formadoras de colônias (UFC) em placas.

Tratamentos ¹	2002 UFC/g de solo (x 10 ⁴)	2003 UFC/g de solo (x 10 ⁴)
FTAB	5,8 ² c	4,1 c
FNPK	60 c	300 b
F1N	1800 b	2000 b
F2N	32000 a	60000 a
F4N	50000 a	34000 a
F8N	3800 b	1000 b
BTAB	95 c	90 b
BNPK	50 c	150 b
B1N	340 b	360 b
B2N	40000 a	26000 a
B4N	700 b	115 b
B8N	15 c	9 c

¹ F = Lodo de esgoto da Estação de tratamento de Esgoto (ETE) de Franca, SP. B= Lodo de esgoto da ETE Barueri, SP. TAB= Testemunha absoluta; NPK= adubação mineral recomendada; 1N, 2N, 4N e 8N= doses de lodo necessárias para fornecer uma, duas, quatro e oito vezes a quantidade de N da adubação mineral.

² Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem significativamente pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade

6.3 Efeito do lodo de esgoto na indução de supressividade a *Heterodera glycines* em soja

A incorporação de lodo não proporcionou redução na incidência de cistos nas raízes de soja, avaliada após dois meses de semeadura da soja, em solo infestado com o parasita (Tabela 15). Entretanto, nos solos que receberam as doses mais elevadas de

lodo (4N e 8N) houveram reduções nas quantidades de ovos nos cistos, quando comparado as testemunhas, indicando provável efeito supressivo do lodo sobre a reprodução do nematóide nestas condições.

Tabela 15. Efeito de lodos de esgotos, originários das ETE de Franca e de Barueri, sobre a recuperação de cistos e ovos do nematóide do cisto da soja (*Heterodera glycines*) em soja cultivada durante 62 dias, em casa de vegetação no ano de 2002.

Tratamentos ¹	Nº de cistos (100 cm ³ de solo)	Nº de ovos/cisto	Massa seca da parte aérea (g)
FTAB	7,97 a ²	247 a	1,25 cde
FNPK	8,47 a	237 a	1,21 cde
F1N	9,07 a	238 a	2,61 ab
F2N	5,76 a	220 ab	1,96 bcde
F4N	6,04 a	176 cd	1,60 bcde
F8N	9,12 a	175 cd	2,73 ab
BTAB	7,81 a	223 ab	1,18 de
BNPK	9,31 a	233 a	1,03 e
B1N	9,85 a	223 ab	2,34 abc
B2N	4,85 a	198 bc	3,01 ab
B4N	6,17 a	179 cd	2,62 ab
B8N	9,84 a	168 d	3,50 a

¹ F = Lodo de esgoto da Estação de tratamento de Esgoto (ETE) de Franca, SP. B= Lodo de esgoto da ETE Barueri, SP. TAB= Testemunha absoluta; NPK= adubação mineral recomendada; 1N, 2N, 4N e 8N= doses de lodo necessárias para fornecer uma, duas, quatro e oito vezes a quantidade de N da adubação mineral.

² Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem significativamente pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade

O desenvolvimento fenológico das plantas, infestadas com o nematóide do cisto da soja, foi significativamente maior quando se incorporou doses elevadas do lodo (8N) quando comparadas com as testemunhas. O tratamento que recebeu apenas

adubação mineral apresentou os menores valores quanto ao desenvolvimento da planta, enquanto que os tratamentos que receberam o lodo de esgoto, proveniente da ETE de Barueri, tiveram desenvolvimento significativamente superior às testemunhas. Com relação aos tratamentos que receberam o lodo de Franca apenas os tratamentos F1N e F8N foram superiores as testemunhas.

6.4 Efeito do lodo de esgoto na indução de supressividade a *Meloidogyne javanica* em soja.

O desenvolvimento do nematóide de galha em soja foi afetado pela incorporação de lodo de esgoto ao solo. No primeiro experimento, conduzido em 2002, as testemunhas absolutas (FTAB e BTAB) apresentaram valores reduzidos de recuperação de ovos e juvenis das raízes o que não ocorreu com as testemunhas relativas (FNPK e BNPK) que apresentaram valores elevados de recuperação nesta avaliação (Tabela 16). Os tratamentos que receberam as concentrações de lodo 2N, de ambos locais de origem (Franca e Barueri), apresentaram os menores índices de recuperação de juvenis de *M. javanica* nas raízes. Os tratamentos que receberam a maior dosagem de lodo no solo (F8N e B8N) apresentaram desenvolvimento da planta significativamente superior, porém apenas o tratamento F8N apresentou redução do número de nematóides nas raízes.

O tratamento F1N apresentou índices elevados de recuperação de juvenis de *M. javanica* das raízes de soja e também desenvolvimento da planta equivalentes ao tratamento que recebeu adubação mineral (FNPK) mostrando que esta dosagem não teve efeito na reprodução do nematóide.

O fator de reprodução de *M. javanica* foi reduzido nos tratamentos que receberam o lodo na concentração 4N de ambos locais de origem (Figura 2). Os mesmos proporcionaram desenvolvimento da soja semelhante aos tratamentos que receberam o dobro da quantidade de lodo (8N) no solo (Tabela 16).

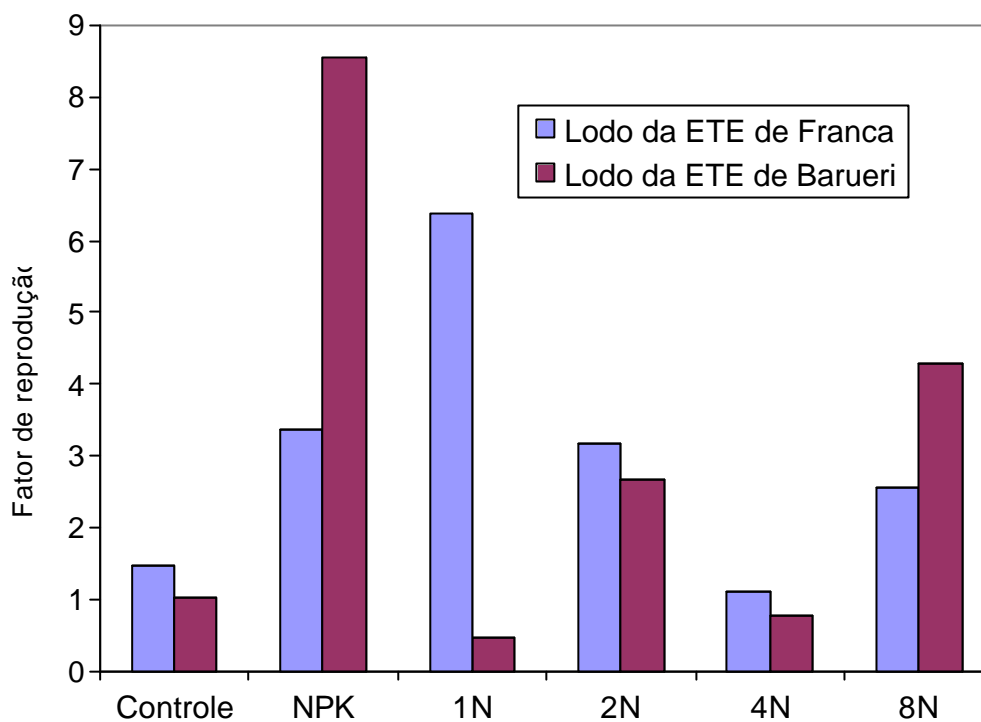


Figura 2 – Fator de reprodução de *Meloidogyne javanica* em soja cultivada em solo que recebeu diferentes concentrações de lodo de esgoto provenientes das ETEs de Franca e de Barueri. As doses de lodo são necessárias para fornecer uma (1N), duas (2N), quatro (4N) e oito (8N) vezes a quantidade de N da adubação mineral. NPK= adubação mineral recomendada. Experimento conduzido durante 62 dias em casa de vegetação no ano de 2002.

Tabela 16. Efeito de lodo de esgoto, originário da ETE de Franca e de Barueri, sobre a recuperação de ovos e juvenis do nematóide de galha (*Meloidogyne javanica*) em soja cultivada durante 62 dias, em casa de vegetação no ano de 2002 (Primeiro experimento).

Tratamentos ¹	N ^o de Juvenis/ g de raiz	N ^o de ovos/g de raiz	Massa seca da parte aérea (g)
FTAB	166 de ²	1117 d	2,68 e
FNPK	2217 a	7189 ab	2,93 de
F1N	1778 ab	10580 a	4,49 cd
F2N	136 de	1286 cd	5,03 c
F4N	407 cde	798 d	7,13 ab
F8N	161 de	1066 d	7,04 ab
BTAB	634 ed	1782 d	2,11 e
BNPK	1441 ab	4852 abc	3,23 de
B1N	1028 abc	1011 d	4,57 cd
B2N	88 e	990 d	5,94 bc
B4N	860 bc	1016 d	6,78 ab
B8N	425 cde	2277 cd	7,70 a

¹F = Lodo de esgoto da Estação de tratamento de Esgoto (ETE) de Franca, SP. B= Lodo de esgoto da ETE Barueri, SP. TAB= Testemunha absoluta; NPK= adubação mineral recomendada; 1N, 2N, 4N e 8N= doses de lodo necessárias para fornecer uma, duas, quatro e oito vezes a quantidade de N da adubação mineral.

² Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem significativamente pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade

No segundo experimento (2003), com *M. javanica* em solo que recebeu o lodo de esgoto, verificou-se que, entre os tratamentos que receberam lodo de Franca, apenas o F4N apresentou redução na recuperação de ovos das raízes e fator de reprodução do nematóide (Tabela 17). Nos tratamentos que receberam o lodo de esgoto de Barueri apenas o tratamento B1N apresentou redução na reprodução do nematóide. Os tratamentos B2N, B4N e B8N apresentaram fatores de reprodução maiores que o tratamento BNPK. Nos tratamentos

que receberam o lodo de Franca todos os tratamentos apresentaram valores menores que o tratamento FNPK (Figura 3)

Quanto ao desenvolvimento fenológico da cultura observou-se que os tratamentos que receberam as maiores concentrações de lodo não apresentaram a superioridade no acúmulo de massa seca da parte aérea, comparada as testemunhas, como encontrado no experimento anterior (Tabela 16). Os tratamentos que receberam doses intermediárias de lodo (F4N e B4N) apresentaram desenvolvimento equivalente aos que receberam as maiores dosagens de lodo (Tabela 17).

Tabela 17. Efeito de lodos de esgotos, originários das ETE de Franca e de Barueri, sobre a recuperação de ovos e juvenis do nematóide de galha (*Meloidogyne javanica*) em soja, com 62 dias, em casa de vegetação no ano de 2003 (Segundo experimento).

Tratamentos ¹	N ^o de Juvenis/g de raiz	N ^o de ovos/g de raiz	Massa seca da parte aérea (g)
FTAB	355 a ²	543 abc	2,20 e
FNPK	330 a	1065 a	2,96 de
F1N	210 a	579 abc	3,26 cde
F2N	558 a	558 abc	4,75 ab
F4N	388 a	84 c	5,48 a
F8N	473 a	681 abc	4,68 abc
BTAB	453 a	852 ab	2,75 e
BNPK	463 a	380 abc	3,13 de
B1N	305 a	162 c	4,41 abcd
B2N	338 a	369 abc	3,63 bcde
B4N	453 a	285 abc	5,13 a
B8N	302 a	387 abc	4,38 abcd

¹F = Lodo de esgoto da Estação de tratamento de Esgoto (ETE) de Franca, SP. B= Lodo de esgoto da ETE Barueri, SP. TAB= Testemunha absoluta; NPK= adubação mineral recomendada; 1N, 2N, 4N e 8N= doses de lodo necessárias para fornecer uma, duas, quatro e oito vezes a quantidade de N da adubação mineral.

² Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem significativamente pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade

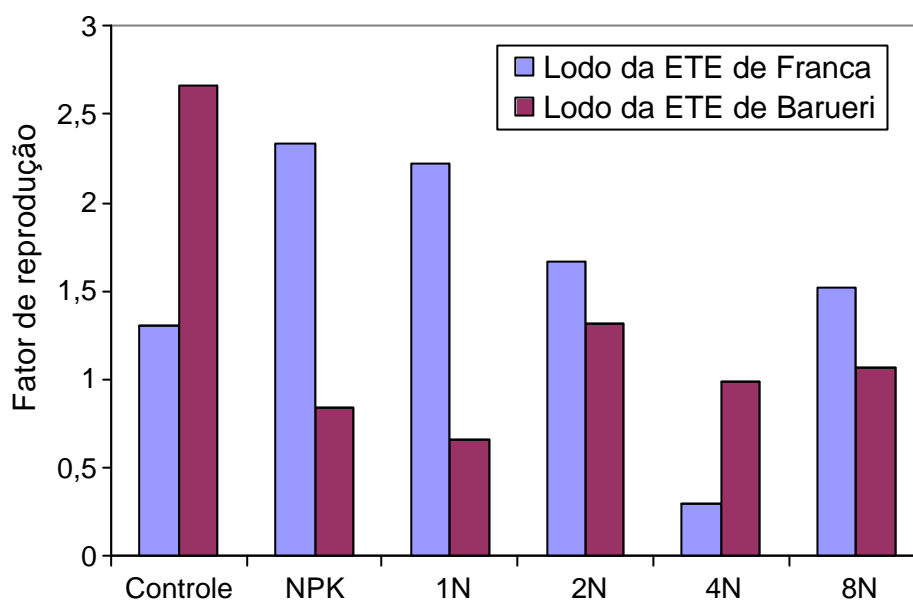


Figura 3 – Fator de reprodução de *Meloidogyne javanica* em soja cultivada em solo que recebeu diferentes concentrações de lodos de esgoto provenientes das ETES de Franca e de Barueri. As doses de lodo são necessárias para fornecer uma (1N), duas (2N), quatro (4N) e oito (8N) vezes a quantidade de N da adubação mineral. NPK= adubação mineral recomendada. Experimento conduzido durante 62 dias em casa de vegetação no ano de 2003.

6.5 Efeito do lodo de esgoto sobre a severidade de Oídio (*Microsphaera diffusa*) da soja

A indução de resistência a Oídio em soja foi observado nos tratamentos que receberam as doses de lodo de esgoto de 2N, 4N e 8N, de ambos os locais de origem, quando comparados com as testemunhas absolutas, após 35 dias do plantio (Tabela 18). A dosagem de lodo (2N) reduziu a severidade do Oídio ao menor índice encontrado no experimento, revelando também que concentrações maiores do lodo no solo não apresentavam reduções crescentes da severidade da doença. Este quadro de redução de severidade manteve-se com o mesmo perfil na avaliação efetuada com 50 dias após o plantio, demonstrando que a ação indutora de resistência na planta, proporcionado pela adição do lodo no solo, continuava efetiva.

No segundo experimento, realizado nos meses de maio e junho (2003), sob condições climáticas mais favoráveis a incidência do fungo, observou-se que na avaliação realizada aos 20 dias após o plantio apenas o tratamento que recebeu a maior incorporação de lodo proveniente de Barueri (B8N) apresentou redução significativa da severidade da doença, em relação a testemunha absoluta. Na segunda avaliação, com 35 dias, os tratamentos B2N, B4N, B8N e F4N apresentaram índices de severidade da doença menores em relação às testemunhas. Na avaliação final, sob forte pressão de inóculo, apenas o tratamento F4N apresentou redução significativa da severidade da doença (Tabela 19).

Tabela 18. Efeito de lodos de esgotos, originários das ETEs de Franca e de Barueri, sobre a severidade de Oídio (*Microsphaera diffusa*) em soja cultivada em casa de vegetação durante 50 dias no ano de 2002 (Primeiro experimento).

Tratamentos ¹	Severidade ²	
	35 DAP ³	50 DAP
FTAB	2,33 ab ⁴	3,00 a
FNPK	1,33 bc	1,66 ab
F1N	2,00 abc	2,33 ab
F2N	1,00 c	1,33 b
F4N	1,33 bc	1,66 ab
F8N	1,00 c	1,33 b
BTAB	2,66 a	2,66 ab
BNPK	2,00 abc	3,00 a
B1N	1,33 bc	1,66 ab
B2N	1,33 bc	1,33 b
B4N	1,00 c	1,33 b
B8N	1,00 c	1,33 b

¹ F = Lodo de esgoto da Estação de tratamento de Esgoto (ETE) de Franca, SP. B= Lodo de esgoto da ETE Barueri, SP. TAB= Testemunha absoluta; NPK= adubação mineral recomendada; 1N, 2N, 4N e 8N= doses de lodo necessárias para fornecer uma, duas, quatro e oito vezes a quantidade de N da adubação mineral.

² Quantificação do nível de infecção (NI) da área foliar infectada (AFI): NI=0, sem sintoma ou sinal visível; NI=1, traços a 10% de AFI; NI=2, 11% a 25% da AFI; NI=3, 26% a 50% da AFI; NI=4, 51% a 75% da AFI e NI=5 75% a 100% da AFI

³ DAP = Dias após o plantio

⁴ Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem significativamente pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade

Tabela 19. Efeito de lodos de esgotos, originários das ETEs de Franca e de Barueri, sobre a severidade de Oídio (*Microsphaera diffusa*) em soja cultivada em casa de vegetação durante 50 dias no ano de 2002 (Segundo experimento).

Tratamentos ¹	Severidade ²		
	20 DAP ³	35 DAP	50 DAP
FTAB	1,31 ab ⁴	4,32 a	5,00 a
FNPK	1,65 ab	4,32 a	4,48 ab
F1N	1,65 ab	4,32 a	4,48 ab
F2N	1,31 ab	4,34 a	4,66 a
F4N	1,31 ab	3,00 c	3,32 b
F8N	1,48 ab	4,00 ab	4,13 ab
BTAB	1,95 a	4,32 a	4,82 a
BNPK	1,65 ab	4,16 ab	4,67 a
B1N	1,32 ab	3,67 abc	4,67 a
B2N	1,15 ab	3,32 bc	3,98 ab
B4N	1,32 ab	3,32 bc	3,97 ab
B8N	1,00 b	3,34 bc	4,32 ab

¹ F = Lodo de esgoto da Estação de tratamento de Esgoto (ETE) de Franca, SP. B= Lodo de esgoto da ETE Barueri, SP. TAB= Testemunha absoluta; NPK= adubação mineral recomendada; 1N, 2N, 4N e 8N= doses de lodo necessárias para fornecer uma, duas, quatro e oito vezes a quantidade de N da adubação mineral.

² Quantificação do nível de infecção (NI) da área foliar infectada (AFI): NI=0, sem sintoma ou sinal visível; NI=1, traços a 10% de AFI; NI=2, 11% a 25% da AFI; NI=3, 26% a 50% da AFI; NI=4, 51% a 75% da AFI e NI=5 75% a 100% da AFI

³ DAP = Dias após o plantio

⁴ Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem significativamente pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade

No experimento utilizando-se doses crescentes de lodo de esgoto proveniente da ETE de Franca, misturado a solo, coletado em Presidente Prudente (SP), verificou-se que as concentrações acima de 2,5% de lodo (p/p) proporcionaram reduções significativas da severidade da doença em soja, nas avaliações periódicas efetuadas (Tabela

20). O tratamento que recebeu 2,5% de lodo apresentou redução de severidade apenas na avaliação com 21 dias após o plantio. No tratamento que recebeu 20% de lodo não foi possível avaliar o controle da doença, visto que esta dosagem de lodo no solo provocou inibição da emergência da soja neste tratamento.

No segundo cultivo implantado, nos mesmos vasos, após a coleta do primeiro experimento, a severidade do Oídio, na avaliação realizada aos 21 dias após o plantio, foi reduzida em todos os tratamentos e nas avaliações posteriores os tratamentos que receberam o lodo acima de 5,0 % mantiveram este índice reduzido, diferenciando-se da testemunha (Tabela 21). A concentração de 2,5% de lodo adicionado ao solo não reduziu a severidade do Oídio neste segunda semeadura de soja, repetindo o desempenho obtido no primeira semeadura (Tabela 20).

Tabela 20. Efeito do lodo de esgoto da ETE de Franca, misturado ao solo, sobre a severidade de oídio (*Microsphaera diffusa*) em soja conduzida em casa de vegetação durante 35 dias (Primeiro cultivo).

Tratamentos ¹	Severidade ²			
	15 DAP ³	21 DAP	30 DAP	35 DAP
Controle	0	2,80 a ⁴	3,65 a	3,98 a
2,5% de lodo	0	0,97 b	2,80 ab	2,80 ab
5,0% de lodo	0	0,97 b	1,97 bc	2,12 bc
10% de lodo	0	0,11 c	1,31 c	1,31 ed
15% de lodo	0	0,11 c	0,37 d	0,67 d
20% de lodo	- ⁵	-	-	-

¹ Porcentagem de lodo de esgoto da ETE de Franca misturado ao solo (p/p).

² Quantificação do nível de infecção (NI) da área foliar infectada (AFI): NI=0, sem sintoma ou sinal visível; NI=1, traços a 10% de AFI; NI=2, 11% a 25% da AFI; NI=3, 26% a 50% da AFI; NI=4, 51% a 75% da AFI e NI=5 75% a 100% da AFI

³ DAP = Dias após o plantio

⁴ Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem significativamente pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade

⁵ Ausência de plantas

Tabela 21. Efeito do lodo de esgoto da ETE de Franca, misturado ao solo, sobre a severidade de oídio (*Microsphaera diffusa*) em soja conduzida em casa de vegetação durante 35 dias (Segundo cultivo).

Tratamentos ¹	Severidade ²			
	15 DAP ³	21 DAP	30 DAP	35 DAP
Controle	0	0,97 a ⁴	2,65 a	2,97 a
2,5% de lodo	0	0,97 a	1,79 ab	1,79 ab
5,0% de lodo	0	0,81 a	0,97 bc	1,15 bc
10% de lodo	0	0,10 b	0,37 c	0,83 bc
15% de lodo	0	0,10 b	0,24 c	0,40 c
20% de lodo	- ⁵	-	-	-

¹ Porcentagem de lodo de esgoto da ETE de Franca misturado ao solo (p/p).

² Quantificação do nível de infecção (NI) da área foliar infectada (AFI): NI=0, sem sintoma ou sinal visível; NI=1, traços a 10% de AFI; NI=2, 11% a 25% da AFI; NI=3, 26% a 50% da AFI; NI=4, 51% a 75% da AFI e NI=5 75% a 100% da AFI

³ DAP = Dias após o plantio

⁴ Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem significativamente pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade

⁵ Ausência de plantas

A emergência de soja no solo que recebeu doses elevadas de lodo de esgoto foi afetada severamente (Tabela 22). Decorridos 86 dias de incorporação da maior dose de lodo ao solo (20%), a emergência da soja foi de 52,7%, sendo que nas avaliações anteriores a emergência tinha sido totalmente comprometida. Por esta avaliação pode-se afirmar que a incorporação de 2,5% de lodo de esgoto no solo não afetaria o plantio de soja nos primeiros meses após a incorporação do lodo.

Tabela 22. Efeito do lodo de esgoto da ETE de Franca, misturado ao solo, sobre a emergência de soja, em três cultivos sucessivos, em casa de vegetação no ano de 2002.

Tratamentos ¹	Emergência de plantas (%)		
	1º Cultivo (1 DAT ²)	2º Cultivo (42 DAT)	3º Cultivo (86 DAT)
0% de lodo	94,9 a ³	86,5 a	93,1 a
2,5% de lodo	90,7 a	72,5 ab	72,6 ab
5,0% de lodo	81,4 a	59,8 b	67,9 ab
10,0% de lodo	27,5 b	28,6 c	62,3 ab
15,0% de lodo	10,2 c	15,9 c	59,8 ab
20,0% de lodo	0,0 d	0,5 d	52,7 b

¹ Porcentagem de lodo de esgoto da ETE de Franca misturado ao solo (p/p).

² DAT = Dias após o tratamento (mistura do lodo de esgoto com o solo)

³ Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem significativamente pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade

6.6 Efeito do lodo de esgoto sobre a indução de supressividade a *Rhizoctonia solani* em soja.

A avaliação de soja, cultivada em solo tratado com lodo de esgoto, infestado com *Rhizoctonia solani*, revelou índices de tombamento em pré emergência abaixo de 20% na maioria dos tratamentos, no primeiro experimento (Tabela 23). Os tratamentos F1N e B4N apresentaram os menores índices de mortalidade, com redução de 85% de tombamento em relação a testemunha absoluta (FTAB). Entretanto, quando se avaliou a severidade da doença, expresso pela escala de notas, observou-se que este mesmo tratamento (F1N) apresentou o maior valor de severidade da doença diferindo, significativamente, da testemunha absoluta (FTAB). Por outro lado, os tratamentos com maiores doses de lodo (F8N e B8N) apresentaram os menores índices de severidade da doença, porém não significativamente diferente dos outros tratamentos que receberam concentrações menores de lodo. Estes tratamentos também apresentaram desenvolvimento da parte aérea superior ao desenvolvimento das testemunhas absolutas e relativas de ambos os locais de origem do lodo.

Tabela 23. Efeito dos lodos de esgoto, originários das ETEs de Franca e de Barueri, misturados ao solo, sobre o tombamento de pré-emergência e severidade (lesões no colo) provocados por *Rhizoctonia solani* (AG4 HGI) em soja, aos 32 dias após o plantio, cultivada em casa de vegetação no ano de 2002 (Primeiro experimento).

Tratamentos ¹	% de tombamento (pré - emergência)	Severidade ²	Massa seca da parte aérea (g)
FTAB	20,5 a ³	0,94 bc	0,52 def
FNPK	15,3 ab	1,24 abc	0,51 ef
F1N	3,0 b	1,93 a	0,54 cdef
F2N	15,4 ab	0,76 bc	0,68 bcde
F4N	7,4 ab	1,44 ab	0,74 abc
F8N	16,3 ab	0,64 c	0,83 ab
BTAB	9,1 ab	0,89 bc	0,50 ef
BNPK	13,4 ab	1,61 ab	0,43 f
B1N	15,8 ab	1,21 abc	0,72 abed
B2N	14,0 ab	1,12 abc	0,72 abcd
B4N	3,1 b	1,31 abc	0,71 abcd
B8N	6,7 b	0,70 bc	0,89 a

¹ F = Lodo de esgoto da Estação de tratamento de Esgoto (ETE) de Franca, SP. B= Lodo de esgoto da ETE Barueri, SP. TAB= Testemunha absoluta; NPK= adubação mineral recomendada; 1N, 2N, 4N e 8N= doses de lodo necessárias para fornecer uma, duas, quatro e oito vezes a quantidade de N da adubação mineral.

² Plantas com lesão no colo que foram avaliados através de escala de notas de 0 a 5, baseado na severidade da lesão no colo (0 = colo saudável e 5 = colo totalmente lesionado), adaptado de Lumsden et al. (1983).

³ Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem significativamente pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade

O Tombamento em pré-emergência de soja provocado por *R. solani*, avaliado no segundo experimento, no mesmo solo semeado após a coleta do primeiro experimento, resultou em perdas consideráveis no número de plantas emergidas por vasos,

encontrando-se valores nos índices de tombamento próximos de 50% (Tabela 24). A maioria dos tratamentos apresentou aumento considerável deste índice, quando comparado com os valores do primeiro cultivo (Figura 4). O tratamento B1N apresentou índice de tombamento inferior ao encontrado no primeiro experimento.

Na avaliação da severidade da doença, no segundo experimento, foi verificado aumento de severidade de *R. solani* nos tratamentos que receberam o lodo, com o maior índice sendo obtido no tratamento F1N (Tabela 24). Porém, no comparativo com o cultivo anterior (Tabela 23) observa-se que os tratamentos que receberam doses maiores tiveram aumentos expressivos na severidade da doença (Figura 4). O desenvolvimento da planta também foi afetado pelo patógeno. A produção de matéria seca na parte aérea foi reduzida, mesmo nos tratamentos com maior disponibilidade de nutrientes presentes no lodo (Tabela 24).

Tabela 24. Efeito dos lodos de esgoto, originários das ETEs de Franca e de Barueri, misturado ao solo, sobre o tombamento de pré-emergência e severidade (lesões no colo) provocados por *Rhizoctonia solani* (AG 4 HGI) em soja, aos 32 dias após o plantio, cultivada em casa de vegetação no ano de 2002 (Segundo experimento).

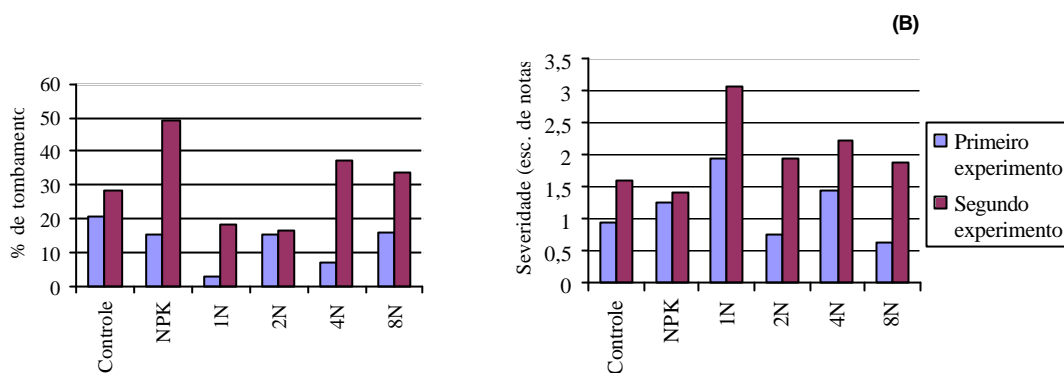
Tratamentos ¹	% de tombamento (pré - emergência)	Severidade ²	Massa seca da parte aérea (g)
FTAB	28,1 ab ³	1,61 bc	0,51 b
FNPK	49,0 a	1,43 c	0,63 ab
F1N	18,6 ab	3,06 a	0,52 b
F2N	16,8 ab	1,93 bc	0,88 a
F4N	37,1 ab	2,23 abc	0,71 ab
F8N	33,5 ab	1,89 bc	0,85 a
BTAB	37,8 ab	1,28 c	0,51 b
BNPK	21,2 ab	1,75 bc	0,55 b
B1N	10,4 b	1,77 bc	0,70 ab
B2N	16,8 ab	2,15 abc	0,68 ab
B4N	20,2 ab	2,48 ab	0,88 a
B8N	34,9 ab	1,53 bc	0,87 a

¹ F = bdo de esgoto da Estação de tratamento de Esgoto (ETE) de Franca, SP. B= Lodo de esgoto da ETE Barueri, SP. TAB= Testemunha absoluta; NPK= adubação mineral recomendada; 1N, 2N, 4N e 8N= doses de lodo necessárias para fornecer uma, duas, quatro e oito vezes a quantidade de N da adubação mineral.

² Plantas com lesão no colo que foram avaliados através de escala de notas de 0 a 5, baseado na severidade da lesão no colo (0 = colo saudável e 5 = colo totalmente lesionado), adaptado de Lumsden et al. (1983).

³ Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem significativamente pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade

Lodo da ETE de Franca



Lodo da ETE de Barueri

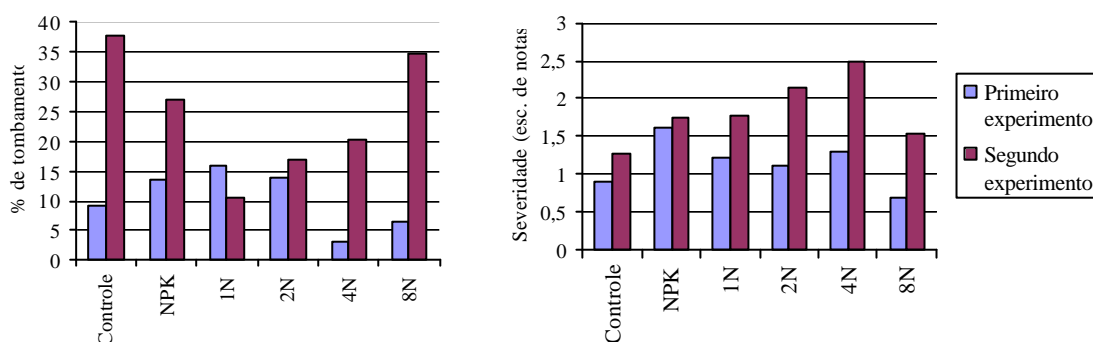


Figura 4. Evolução dos danos provocados por *Rhizoctonia solani*, (AG4 HGI) em soja, nos parâmetros de % de tombamento e severidade (escala de notas de 0 a 5), em solos que receberam lodos das ETES de Franca e de Barueri. As doses de lodo são necessárias para fornecer uma (1N), duas (2N), quatro (4N) e oito (8N) vezes a quantidade de N da adubação mineral; NPK= adubação mineral recomendada. Experimento conduzido em casa de vegetação no ano de 2002.

6.7 Efeito do lodo sobre a incidência de *Macrophomina phaseolina* em raízes de soja

A incorporação de lodo de esgoto não reduziu a incidência de *M. phaseolina* nas raízes de soja (Tabela 26). Foi encontrado valores percentuais de infecção próximos de 30% e apenas verificado uma tendência de redução desta incidência nos tratamentos que receberam doses mais elevadas de lodo no solo.

Tabela 25. Efeito dos lodos de esgoto, originários das ETEs de Franca e de Barueri, sobre a incidência de *Macrophomina phaseolina* em raízes de soja, cultivada por 55 dias, em casa de vegetação no ano de 2002.

Tratamentos ¹	Incidência % de raízes infectadas
FTAB	34,7 a ²
FNPK	32,8 a
F1N	29,5 a
F2N	30,3 a
F4N	26,7 a
F8N	25,3 a
BTAB	29,1 a
BNPK	33,4 a
B1N	25,8 a
B2N	24,0 a
B4N	28,1 a
B8N	26,7 a

¹ F = Lodo de esgoto da Estação de tratamento de Esgoto (ETE) de Franca, SP. B= Lodo de esgoto da ETE Barueri, SP. TAB= Testemunha absoluta; NPK= adubação mineral recomendada; 1N, 2N, 4N e 8N= doses de lodo necessárias para fornecer uma, duas, quatro e oito vezes a quantidade de N da adubação mineral.

² Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem significativamente pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade

7 DISCUSSÃO

7.1 Efeito do lodo de esgoto sobre a fixação biológica de nitrogênio e desenvolvimento fenológico da soja

Apesar do lodo de esgoto já ter sido utilizado, geralmente, como fonte de matéria orgânica, em áreas para cultivo de diferentes espécies vegetais, a receptividade do seu uso para leguminosas ainda desperta algumas controvérsias. Sendo estas relacionadas, principalmente, ao fornecimento de N e a presença de metais pesados no lodo e seus efeitos sobre a fixação biológica de nitrogênio (GILLER et al., 1989; REDDY et al., 1983; ANGLE et al., 1992).

No caso da soja, no Brasil, a fixação biológica de nitrogênio tem sido responsável por grande parte do N requerido pela cultura, o que tem proporcionado uma grande economia para o produtor. Foi demonstrado também que em vários ensaios a cultura não tem respondido a adubação mineral nitrogenada em doses elevadas (HUNGRIA et al., 2001). A presença de metais pesados no lodo de esgoto pode afetar de alguma forma a simbiose rizóbio-leguminosa. No caso específico de *Bradyrhizobium japonicum* a tolerância intrínseca a presença de metais pesados é geralmente alta e a possibilidade que metais pesados presentes no lodo afete a população no solo, em curto prazo, é remota (ANGLE et al., 1992). Além disso, alguns metais, como cobre, chumbo e zinco, são geralmente, menos tóxicos

quando complexados com compostos orgânicos do que em forma livre (MATSUDA et al., 2002). Sabe-se também que, em alguns casos, a fitotoxicidade do lodo não é devido a presença de metais pesados e sim devido a concentração de sais, a qual aumenta fortemente a condutividade elétrica da solo (CABRAL et al., 1991 apud FERREIRA E CASTRO, 1995).

Na avaliação feita com lodo de esgoto oriundo de locais distintos, com concentrações diferentes de metais pesados e presença de sais, não foi observada efeito negativo sobre a nodulação de *B. japonicum* e desenvolvimento da soja no primeiro experimento (Tabelas 5 e 6), porém no segundo experimento foi observado redução na nodulação e no desenvolvimento da soja (Tabelas 8 e 9). Selivanovskaya et al. (2001) citaram que o nível de atividade de fixação de N do solo tratado com lodo digerido anaerobicamente e compostado foi significativamente alto. No cultivo de trevo, Ferreira e Castro (1995) concluíram que a cultura se beneficiou com o uso do lodo, com aumento de nodulação e produção de massa seca. Entretanto, McGrath et al. (1988), estudando a mesma cultura, apresentaram que *Rhizobium leguminosarum* bv. *Trifolli* exposto ao lodo, contendo metais pesados, por muitos anos, perdeu sua habilidade de fixar N atmosférico.

Em experimento para avaliação do efeito do lodo de esgoto na fixação de N em soja, Angle et al. (1992) verificaram que quando utilizaram altas doses de lodo (312 kg de N /ha) a fixação biológica de N contribuiu apenas com 14% do N total na planta. Em outra situação, com a aplicação de 295 kg de N, através da incorporação do lodo de esgoto, ocorreu também redução significativa da atividade da nitrogenase, em comparação a testemunha inoculada, na primeira colheita, mas a segunda colheita aconteceu incremento desta atividade no solo que recebeu o lodo (VIEIRA, 2001). Este autor também cita que mesmo em pequenas proporções o lodo é benéfico para simbiose pois o fornecimento de cobre e cobalto aceleram a nodulação, como também a maior disponibilidade de fósforo para o desenvolvimento da planta.

O lodo originado da ETE de Barueri, mais rico em P, Cu e Mo, teve melhor desempenho quanto ao desenvolvimento da soja, quando comparado com o lodo de Franca, mais rico em N, no primeiro ano (Figura 1). Isto pode ser explicado pela maior concentração de micronutrientes importantes em várias etapas do processo simbiótico ter colaborado na fixação de N e desenvolvimento da planta mesmo em condições de menor disponibilidade de N mineral oriundo do lodo. Entretanto, o tratamento que recebeu a maior

dosagem deste lodo apresentou índices de Zn nas folhas relativamente alto (254 mg/kg), sendo que índices próximos de 500 mg pode causar fitotoxicidade a soja (CHANEY et al., 1978 apud FERREIRA; CASTRO, 1995). Concentrações de zinco, iguais ou superiores a 200 mg/kg de solo, reduziram fortemente o rizóbio no solo, na avaliação de nodulação em trevo e ervilha (OBBARD; JONES, 2001) No caso de *Bradyrhizobium japonicum*, Angle et al. (1993) constataram que a tolerância máxima a zinco, *in vitro*, foi de 500 mg/L. No segundo ano do experimento quatro tratamentos apresentaram teores de Zn nas folhas acima de 100mg/kg e o solo que recebeu a maior dosagem de lodo de Barueri já apresentava teores de zinco no solo 58 vezes maior que a testemunha.

A utilização da maior concentração de lodo, 8N, proporcionou aumentos significativos no desenvolvimento da soja sem prejuízo da nodulação no primeiro experimento correspondente a quarta aplicação anual de lodo no solo (Tabelas 5 e 6). Todos os tratamentos que receberam lodo tiveram número e massa nodular equivalentes. Desta maneira, pode-se afirmar também que o maior desenvolvimento das plantas cultivadas no solo que recebeu maior concentração de lodo, no primeiro experimento (quarta aplicação de lodo na área), tenha sido proporcionado pelo maior aporte de nitrogênio, advindo da mineralizado no solo e da simbiose com o rizóbio nos nódulos. No segundo experimento (quinta aplicação de lodo no solo) observou-se que a concentração de nitrogênio no solo, advinda da incorporação do lodo, não proporcionou o melhor desenvolvimento da soja, apesar da planta ter absorvido este elemento em concentração superior ao encontrado no primeiro experimento. Isto pode ser indicativo de que a utilização do lodo na mesma área por cinco anos consecutivos pode ter provocado acúmulo de fatores adversos ao desenvolvimento da soja. Dentre esses fatores pode-se citar a presença de teores elevados de zinco, em vários tratamentos no segundo experimento, após cinco aplicações do lodo, ter provocado fitotoxicidade a soja e ao rizóbio. Estes resultados confirmam o encontrado por Singleton e Bohlool (1984), afirmando que ambos, soja e *B. japonicum*, são relativamente sensíveis aos efeitos tóxicos dos sais.

Para se definir a concentração mais apropriada para incorporação do lodo em áreas de cultivo de soja é importante considerar fatores como mineralização do N, alteração do pH do solo, condutividade elétrica e concentração de metais pesados (BOEIRA et al., 2002, VELAZCO, 2002, OBBARD; JONES, 2001). Porém, parâmetros como concentração de micronutrientes e fósforo no lodo tem que ser também considerados como

benéficos ou prejudiciais para o desenvolvimento da cultura. Isto porque já foi demonstrado que a performance da soja pode ser significativamente melhorada pelo lodo de esgoto em baixas proporções sem a necessidade de fertilização com fósforo (VIEIRA, 2001). A presença do fósforo, em maior concentração no lodo proveniente da ETE de Barueri, deve ter contribuído para melhor performance do mesmo, pois nas doses intermediárias de aplicação efetuada proporcionou maior desenvolvimento da soja comparado com as áreas que receberam lodo de Franca, no primeiro experimento (Figura 1). No segundo experimento, no qual se avaliou a quinta aplicação anual de lodo no solo, os tratamentos que receberam os lodos de ambos locais se equivaleram quanto ao desenvolvimento da soja. Estes resultados demonstram que apesar do fornecimento de nutrientes importantes para soja, como o fósforo, a aplicação de lodo de esgoto, durante vários anos na mesma área, acumula fatores adversos ao melhor desempenho da cultura.

A emergência de soja semeada nas primeiras semanas após a incorporação de dosagens elevadas de lodo foi afetada (Tabela 21). A intensa mineralização do N, presente no lodo, após a aplicação no solo (BOEIRA et al., 2002) pode ter sido um fator importante para a inibição da germinação da soja. Os resultados obtidos também demonstraram que o lodo de esgoto ETE de Franca que contém 5,53% de N (Tabela 1) possui relação C/N baixa disponibilizando mais rapidamente o N para a solução do solo elevando condutividade elétrica (dados não publicados).

Pode-se afirmar com base nestes resultados que a utilização do lodo de esgoto, nas doses intermediárias, visando fornecimento de micronutrientes e fósforo, pode ser uma estratégia interessante para a nutrição da soja sem prejuízo da fixação biológica de nitrogênio na soja. Para a estratégia de manejo é fundamental que se proceda o monitoramento da concentração de metais pesados e sais (condutividade elétrica), no solo, minimizando o impacto ambiental desta prática.

Nas condições deste trabalho, a avaliação feita no solo que recebeu lodo, para cultivo de soja, foi mais satisfatória no primeiro experimento (quarto ano de aplicação do lodo na área). Porém, no segundo experimento (quinto ano de aplicação do lodo) a cultura apresentou desenvolvimento inferior ao primeiro ano, nos tratamentos que continuaram recebendo dosagens elevadas de lodo revelando com isto que fatores adversos, advindos desta prática, afetaram o desenvolvimento da soja e devem ser considerados quando

da utilização deste resíduo. Pode-se recomendar, como forma preventiva de maiores impactos, a concentração adequada de lodo para incorporação em área para cultivo de soja a que não ultrapasse a duas vezes a necessidade de N pela cultura com aplicação única sem repetição na mesma área.

7.2 Efeito do lodo de esgoto na atividade microbiana do solo

Nos ensaios realizados, de modo geral, o lodo proporcionou efeito significativo no estímulo à atividade microbiana, estimado pelo método do FDA e desidrogenase, quando comparado com as testemunhas (Tabelas 11 e 12). Estes resultados estão de acordo com a literatura que relata aumento dessa atividade proporcionada pela aplicação de resíduos ricos em matéria orgânica no solo (BOEHM; HOITINK, 1992; VAN OS; GINKEL, 2001; GAMLIEL, et al., 2000; VELAZCO, 2002). Estes resultados sugerem que a presença de metais pesados ou outros constituintes do lodo não inibiu o metabolismo microbiano, de forma geral, estimulado pela adição da matéria orgânica. Contudo faz-se interessante enfatizar que este aumento de atividade pode ser provocado por grupos específicos de microrganismos e que de acordo com Banerjee et al. (1997) a aplicação do lodo pode aumentar a biomassa microbiana, porém, reduzir a diversidade dentro da comunidade no solo. Neste trabalho, avaliando-se a comunidade de bactérias termoresistentes, verificou-se que o solo que recebeu concentrações intermediárias de lodo (1N e 2N) apresentou concentrações mais elevadas deste grupo de bactérias (Tabela 14). Enquanto que, o solo que recebeu dosagens elevadas do lodo apresentou redução na comunidade de bactérias termoresistentes. Sabe-se que dentro desta comunidade microbiana está presente espécies importantes, no solo, como as dos gêneros *Bacillus* e *Pseudomonas* (LI; ALEXANDER, 1988).

Estudos mais específicos dentro da evolução da comunidade microbiana no solo, que recebeu lodo, são necessários, pois determinados grupos de microrganismos (estrategistas r e k) colonizam o solo em situações diferentes (GEORGIEVA et al., 2002). Este evolução tem sido importante para o entendimento da supressividade do solo aos fitopatógenos (VAN BRUGGEN; SEMENOV, 2000). Alguns grupos de microrganismos com frequência tem colonizado o solo imediatamente após a incorporação do

lodo. Esta prática tem provocado um distúrbio na fisiologia da microbiota do solo e que as aplicações sucessivas de altas doses de lodo podem ocasionar alterações significativas na capacidade metabólica dos solos (LOPES, 2002)

A atividade microbiana em solos, avaliado por meio de métodos isolados, pode não ser representativo como índice de qualidade de solo. Entretanto, alguns trabalhos tem relatado valores para efeito de comparação com outros resultados. Utilizando lodo de esgoto, de mesma procedência, no solo. Em relação a atividade de FDA sobre fitopatógenos de solo foi citado que valores acima de $3,0 \mu\text{g. min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$ de solo seco são considerados satisfatórios para avaliação de supressividade a *Pythium* em solos (BOEHM; HOITINK, 1992). Velazco (2002) constatou correlações positivas da hidrólise de diacetato de Fluoresceína (FDA) e respiração microbiana à incorporação do lodo. No tocante a atividade da desidrogenase no solo, Van Os e Ginkel (2001) encontraram valores elevados dessa atividade em solos que receberam resíduos orgânicos. Porém, afirmaram que esta atividade pode declinar com o tempo e esgotamento de nutrientes, sendo necessário, com isto, um monitoramento periódico. Avaliando atividade enzimática, em área que recebeu lodo de esgoto, Albiach et al. (2001) citaram que, diferente de outros resultados da literatura, não encontrou significância estatística entre seus tratamentos, concluindo que de acordo com Brendecke et. al., (1993), a atividade microbiana não é um bom índice para avaliação de fertilidade dos solos.

A partir destes resultados pode-se afirmar que o uso do lodo estimula a atividade microbiana de forma geral, porém, este efeito está intrinsecamente relacionado com o processo de tratamento e composição química do lodo e as condições edafoclimáticas do local estudado. Sendo necessário estudos mais detalhados sobre a interferência que esta prática possa ter sobre a sucessão de grupos específicos dentro da comunidade microbiana no solo.

7.3 Efeito do lodo de esgoto sobre nematóides (*H. glycines* e *M. javanica*) no solo

A indução de supressividade do lodo, adicionado ao solo, a *Heterodera glycines* ocorreu com a redução do número de ovos presentes no interior dos cistos (Tabela 9). Estes resultados são coincidentes com os obtidos por Westphal e Becker (2001) que concluíram que os ovos dentro do cisto foram os maiores alvos da supressividade do solo ao

nematóide *Heterodera schachtii*. Este efeito pode ser explicado pelo fato de que a introdução de compostos ou resíduos orgânicos pode estimular a atividade de antagonistas biológicos do nematóide no solo (VAN DER LOON, 1956; Mc SORLEY; GALLAHER, 1995). O parasitismo de fungos freqüentemente aumenta quando o cisto do nematóide está maduro (GINTIS et al., 1983). Como o lodo de esgoto, estimulou a atividade microbiana (Tabela 15), isto pode ter contribuído para o aumento do parasitismo sobre ovos do nematóide, nos tratamentos que receberam o resíduo orgânico. Chen et al. (1994) concluíram que os fungos que colonizam os cistos são tipicamente oportunistas e são afetados severamente pelas condições ambientais, desta forma a adição de resíduos ou manipulação da microflora do solo para controlar o nematóide do cisto da soja precisa de investigações posteriores.

O efeito da adição do lodo ao solo sobre o nematóide de galhas (*M. javanica*) foi mais consistente do que sobre o nematóide do cisto. Este efeito foi representado principalmente, por reduções pronunciadas no fator de reprodução, mesmo nos tratamentos que receberam as menores concentrações de lodo no solo (Tabela 16). Esta ação pode ter sido provocada pela presença de antagonistas no solo, que estimulados pela presença de matéria orgânica tenham interferido na eclosão e orientação das larvas, além de parasitarem os ovos do nematóide. Chen et al. (2000) citaram que a aplicação de composto de cervejaria reduziu a severidade de galhas nas raízes e produção de ovos de *M. hapla*. Sabe-se que o ovo pode ser considerados o estágio mais vulnerável no ciclo de vida de *Meloidogyne* spp. (VIAENE; ABAWI, 1998). Além disto, antagonistas do solo, como *Bacillus subtilis*, podem interferir no estímulo da planta ao nematóide prejudicando o desenvolvimento do seu ciclo (ARAUJO et al., 2002).

Alguns autores afirmam que a presença do íon NH_4^+ no solo pode proporcionar efeito nematicida (PEREIRA et al., 1996; RODRIGUES – KABANA, 1986). No caso lodo de esgoto, o N - NH_4^+ foi a forma mais predominante de N mineral nos sistemas lodo-solo nas primeiras semanas, em seguida esta forma diminuiu no solo sendo acompanhado de aumento correspondente de N - ($\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^-$) (BOEIRA et al., 2002). Como os experimentos com soja foram realizados alguns meses após a aplicação do lodo no solo a presença do N amoniacal deve ter contribuído pouco para o efeito nematicida. A concentração de lodo utilizada no solo, nos dois experimentos, foi importante para definir a melhor estratégia para o controle do nematóide. Os tratamentos B1N, B4N e F4N, mostraram-se com

maior potencial para incrementos de fatores no solo que influenciaram, negativamente, o desenvolvimento do nematóide nas duas avaliações anuais efetuadas (Tabelas 16 e 17).

A presença de rizobactérias promotoras de crescimento de plantas (RPCP), no solo, é um fator importante para controle de nematóides, pois além de seus efeitos diretos sobre o parasita, as mesmas, segundo Chen et al. (2000) podem mediar a resistência sistêmica induzida (RSI). A natureza do resíduo orgânico, os microrganismos presentes e as propriedades do solo são fatores chave que podem influenciar a população de nematóide e proteção de culturas (AKHTAR; MALIK, 2000). O efeito proporcionado ao solo pela adição do lodo de esgoto modificou propriedades químicas do mesmo e influenciou no aumento da atividade da microflora residente, isto pode ter contribuído consideravelmente para interferir na reprodução do nematóide parasita da soja. No segundo ano do experimento, com nematóide, observou-se que fatores presentes no solo, tratado com doses intermediárias de lodo, continuaram a afetar a reprodução de *M. javanica* em soja (Tabela 17). Estes tratamentos também apresentaram aumento na concentração de bactérias termoresistentes, que incluem o gênero *Bacillus*, o que pode ter contribuído para reduzir o desenvolvimento do parasita (Tabela 14).

7.4 Efeito do lodo de esgoto na indução de resistência a Oídio (*Microsphaera diffusa*) da soja

Neste trabalho foi detectado efeito positivo do uso de lodo no solo reduzindo a severidade de Oídio na parte aérea de soja (Tabelas 18, 19, 20 e 21). Os tratamentos que receberam concentrações crescentes de lodo apresentaram decréscimos no índice de doença avaliado. Isto vem a confirmar o que foi expresso por Zhang et al. (1996) de que estudos já demonstravam que as doenças foliares tem sido afetadas por compostos orgânicos incorporados ao solo. Segundo Dittmer et al. (1990 apud TRANKNER, 1992), avaliando a incidência de Oídio em trigo, cultivado em solo que recebeu composto orgânico, foi observado redução de 95% na severidade da doença quando se utilizou partes iguais de solo e composto para desenvolvimento da cultura. Este fenômeno de controle de doenças é chamado de indução de resistência (KUC, 1995; PASCHOLATI; LEITE, 1995; ROMEIRO, 2000).

No caso da soja, os resultados encontrados sobre indução de resistência podem encorajar outros trabalhos (DEVERALL; DANN, 1995), sendo assim é importante que se identifique que fatores estão relacionados com a adição de resíduos orgânicos que possa contribuir para estímulo desta indução. Sabe-se que o agente indutor para resistência pode ser um ativador químico, extratos de células de microrganismos ou microrganismos vivos (ROMEIRO, 2000).

Com relação ao uso do lodo, no solo avaliado, esta indução de resistência ao Oídio pode ter sido proporcionada por algum agente de natureza química ou biológica, isto porque, a constituição do lodo é de moléculas orgânicas e inorgânicas com presença de vários metais (Tabela 1), sendo que o mesmo incrementou o metabolismo microbiano (Tabelas 11 e 12). Sobre a atividade da microbiota, alguns autores tem descrito que o interesse na habilidade de microrganismos benéficos para induzir resistência em plantas tem aumentado (YEDIDIA et al., 1999; LIU et al., 1995). No tocante ao controle do Oídio foi descrito que células vivas ou mortas de *Trichoderma harzianum* nas raízes de pepino resultou em controle de Oídio na parte aérea (ELAD, 2000). Em relação a outros patógenos já foi relatado que sementes de pepino tratadas com rizobactérias resultou em supressão da antracnose (*Colletotrichum orbiculare*), aumento visível de área foliar e altura de plantas (WEI et al., 1991).

A resistência sistêmica induzida (RSI) é expressa em locais não expostos diretamente ao agente indutor (STADINIK, 2000). Sobre isto, Lyda (1982) cita o fenômeno da supressão de doenças mediante propriedades físicas ou químicas do solo não ser exclusiva para patógenos de solo. Desta forma, pode-se afirmar que a alteração de propriedades do solo ativa, de alguma maneira, o sistema de defesa nas plantas independente do patógeno. Raupach e klopper (1998) citaram que a mistura de rizobactérias proporcionaram RSI contra três patógenos foliares de pepino.

Na redução da severidade de Oídio, em soja cultivada em solo que recebeu a adição de lodo, encontrada neste trabalho, não se tem ainda indicações precisas de que estímulo do solo foi responsável para resultar neste efeito. Sendo confirmado apenas que a adição de lodo estimulou a atividade elicitora de fitoalexinas detectadas nos cotilédones da planta (Tabela 13), o que está diretamente relacionado com o aumento da resistência da planta aos patógenos. Park et al. (2002) relataram, em ensaios com soja que o acúmulo de gliceolina

(fitoalexina da soja) e polímeros fenólicos nas células é uma resposta de defesa estimulada em células distantes, sugerindo que este tipo de proteção pode ser resultado de potenciação distal com competência para elicitação de gliceolina. Neste trabalho pode ser sugerido, com base no exposto por Kuc (2000), que o efeito proporcionado pelo lodo de esgoto no solo, originado pela introdução de metais pesados e aumento da atividade microbiana, tenha contribuído para proporcionar indução de resistência na soja que pode ser caracterizada como resistência sistêmica induzida (RSI).

7.5 Efeito de lodo de esgoto na indução de supressividade a *Rhizoctonia solani* (GA4 HGI) e *Macrophomina phaseolina*

A incorporação de doses elevadas de lodo proporcionou aumento de ocorrência de tombamento e lesões no colo provocados por *R. solani* em soja, nos experimentos consecutivos (Tabelas 23 e 24). Considerando que o lodo tem alta relação C/N, a sua adição ao solo, em doses elevadas, pode ter contribuído para que o substrato, avaliado nesta condições, fosse considerado como conducente ao patógeno. Estes resultados são coincidentes com os obtidos por outros autores que avaliaram a incidência de *R. solani* em outras culturas que receberam resíduos com relação C/N elevada (FENILLE; SOUZA, 1999; CHUNG et al., 1988). Além disso, outros trabalhos demonstraram que a atividade de *Rhizoctonia solani* no solo é favorecida com a presença de fontes de nitrato no solo (RUSH; WINTER, 1990; RODRIGUES et al., 2002). Boeira et al. (2002) observaram que com o passar das semanas a mineralização do lodo esgoto no solo, de modo geral, tem a predominância de forma nítricas sobre amoniacais, principalmente nas áreas que receberam doses elevadas de lodo.

Os tratamentos que receberam doses menores de lodo apresentaram pouca evolução no desenvolvimento da doença na soja, comparando-se os dois experimentos (Tabelas 23 e 24). Este resultado confirma o que foi sugerido por Lumsdem et al. (1983) sobre o efeito de lodo de esgoto compostado em patógenos de solo, os quais afirmaram que a adição de 30% de composto não foi melhor que 5% para estimular a microbiota e reduzir a atividade dos patógenos no solo.

Rhizoctonia solani é altamente competitivo como saprófita (GARRET, 1962). Vários fatores bióticos e abióticos têm efeito na supressividade de solos a *R. solani* (CHET; BAKER, 1980; POZER; CARDOSO, 1990). Dentre estes fatores, alguns estão relacionados ao processo de decomposição da matéria orgânica adicionada ao solo. Este processo e suas conseqüências, tem sido reportados como importantes para supressividade a patógenos, quando se utiliza diferentes fontes de matéria orgânica (VELAZCO, 2002; GAMLIEL et al., 2000; PEREIRA et al., 1996). O mecanismo de controle biológico de *R. solani* em substratos enriquecidos com matéria orgânica é diferente do que acontece com *Pythium* e *Phytophthora* spp., pois só um limitado grupo de microrganismos é capaz de erradicar *R. solani* (HOITINK et al., 1997). Isto foi confirmado avaliando-se *Phytophthora* em citros, onde foi encontrados bons índices de controle da doença, com adição crescente de matéria orgânica, utilizando-se o mesmo lodo que foi utilizado neste trabalho (VELAZCO, 2002).

A atividade microbiana, diretamente relacionada a decomposição da matéria orgânica, foi incrementada nos solos que receberam lodo de esgoto (Tabela 12). Contudo, este aumento de atividade microbiana no solo não proporcionou supressividade a *R. solani*. Sobre isto, sabe-se que existem controvérsias na utilização de indicadores de atividade microbiana como parâmetro principal na avaliação de supressividade a patógenos em solos (VAN BRUGGEN; SEMENOV, 2000). Em solos, sob manejos diferentes, com mesma magnitude no tocante a contagem de fungos e bactérias, avaliando-se supressividade a *R. solani* AG3, foi observado que pequenas diferenças na diversidade microbiana são magníficas para a supressão da doença em solos (VAN ELSAS et al., 2002). É de fundamental importância que a atividade microbiana, enquanto parâmetro para avaliação de supressividade em solos, esteja associada ao exame de sucessão dentro da comunidade no solo, ou seja de organismos copiotróficos para oligotróficos (VAN BRUGGEN; SEMENOV, 2000). Neste sentido foi verificado concentrações maiores de bactérias termoresistentes nos solos que receberam dosagens menores de lodo (Tabela 14). Estes mesmos tratamentos apresentaram redução de severidade de *Rhizoctonia solani* de um cultivo para o outro, na soja (Tabelas 23 e 24).

O lodo de esgoto quando compostado e incorporado ao solo apresenta maior incremento de atividade microbiana diferindo do solo que recebeu lodo não compostado

(SELIVANOVSKAYA, 2001). Compostos produzidos a partir de lixo urbano e casca de pinus foram supressivos para doenças causadas por *R. solani* (NELSON ; HOITINK, 1982; STEPHENS et al., 1981). Desta forma, seria interessante que trabalhos futuros, visando estudar os fatores envolvidos na supressividade a *R. solani*, em solo que tenha recebido lodo de esgoto, pudessem incluir comparativos entre lodo de esgoto digerido anaerobicamente em relação aquele submetido a compostagem.

Com relação ao efeito do lodo de esgoto a *R. solani* foi observado que, o lodo digerido anaerobicamente, utilizado neste trabalho, apresentou maior potencial de controle de *R. solani*, em soja, quando incorporados em doses menores ao solo.

A incorporação de lodo de esgoto ao solo não interferiu na incidência de *Macrophomina phaseolina* nas raízes de soja (Tabela 25). Sabe-se que uma das formas de controlar este fungo, no solo, seria interferindo na biologia e na sobrevivência do patógeno com a promoção de ambiente inadequado para seu desenvolvimento (KENDIG et al., 2000). Porém, esta estratégia tem fracassado pelo fato que *M. phaseolina* produz microescleródios em grande quantidade e tem grande habilidade para sobreviver e multiplicar em restos de cultura (ALMEIDA et al., 2001). Com esta resistência e capacidade saprofítica, o desenvolvimento do patógeno, semelhante ao encontrado na avaliação com *Rhizoctonia solani* (Tabela 23), foi pouco afetado pelo incremento do lodo de esgoto no solo. Zambolim et al. (1983) encontraram que o aumento de inóculo no solo proporcionou aumento na porcentagem de raízes de soja infectadas por *M. phaseolina* e *R. solani*. Por outro lado, avaliando a incidência de *M. phaseolina* em raízes de soja Almeida et al. (2001) constataram maior presença do fungo em plantas cultivadas no sistema convencional quando comparadas ao plantio direto. No presente trabalho, os fatores bióticos e abióticos alterados no solo, pela incorporação do lodo de esgoto, não foram suficientes para reduzir a atividade de *M. phaseolina*.

8 CONCLUSÕES

- O efeito do lodo de esgoto sobre a nodulação da soja depende da sua quantidade incorporada ao solo..
- A incorporação do lodo no solo proporciona suprimento adequado de fósforo a soja e aumenta a concentração de zinco, no solo e na planta.
- Há incremento na elicitação de fitoalexinas em cotilédones de soja e na atividade microbiana no solo, proporcionado pela incorporação de lodo de esgoto no solo.
- O lodo de esgoto não interfere, significativamente, no ciclo do nematóide *Heterodera glycines*, porém reduz o número de ovos no interior dos cistos. O lodo reduz a reprodução de *Meloidogyne javanica* nas raízes de soja.
- Ocorre redução na severidade de Oídio (*Microsphaera diffusa*) em soja cultivada em solo que recebeu diferentes dosagens de lodo de esgoto.
- Nas concentrações estudadas, o lodo de esgoto no solo não proporciona efeito supressivo a *Rhizoctonia solani* e *Macrophomina phaseolina*, fitopatógenos da soja veiculados pelo solo.

9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABAWI, G. S., WIDMER, T. L. Impact of soil health management practices on soilborne pathogens, nematodes and root diseases of vegetable crops. **Applied Soil Ecology**, v. 15, p. 37-47, 2000.

AKHTAR, M.; MALIK, A. Roles of organic soil amendments and soil organisms in the biological control of plant-parasitic nematodes: a review. **Bioresource Technology**, v. 74, p. 35-47, 2000.

ALABOUVETTE, C.; COUTEAUDIER, Y.; LOUVET, J. Recherches sur la resistance des sols aux maladies. XII. – Activité respiratoire dans un sol resistant et un sol sensible aux fusarioses vasculaires enrichis en glucose. **Agronomie**, v. 5, p. 69-72, 1985.

ALBIACH, R.; CANET, R.; POMARES, F.; INGELMO, F. Organic matter components, aggregate stability and biological activity in a horticultural soil fertilized with different rates of two sewage sludges during ten years. **Bioresource Technology**, v. 77, p. 109-114, 2001.

ALMEIDA, A. M. R.; TORRES, E.; FARIAS, J. R. B.; BENATO L. C.; PINTO, M. C.; MARIN, S. R. R. **Macrophomina phaseolina em soja: sistema de semeadura, sobrevivência em restos de cultura e diversidade genética**. Londrina: Embrapa Soja, 2001. 47 p.(Circular técnica/Embrapa Soja, 34)

ALMEIDA, A. M. R.; FERREIRA, L. P.; YORINORI, J. T.; SILVA, J. F. V.; HENNING, A. A. Doenças da soja. In: KIMATI et al. **Manual de Fitopatologia**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1997. v. 2, p. 642-664.

ALTIERI, M.A. The ecological role of biodiversity in agroecosystems **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 74, p. 19-31, 1999.

ANGLE, J. S.; MADARIAGA, G. M.; HEGER, E. A. Sewage sludge effects on growth and nitrogen fixation of soybean. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 41, p. 231-239, 1992.

ANGLE, J. S.; McGRATH, S. P.; CHAUDRI, A. M.; CHANEY, R. L.; GILLER, K. E. Inoculation effects on legumes grown in soil previously treated with sewage sludge. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 25, p. 575-580, 1993.

ARAÚJO, F. F.; SILVA, J. F. V.; ARAÚJO, A. S. F. Influência de *Bacillus subtilis* na eclosão, orientação e infecção de *Heterodera glycines* em soja. **Ciência Rural**, v. 32, p. 197-202, 2002.

BAKER, K. F.; COOK, R. J. **Biological control of plant pathogens**. San Francisco: W. H. Freeman. 1974. 433 p.

BAKER, R.; CHET, I. Induction of suppressiveness. In: SCHNEIDER, R. W. (ed.) **Suppressive soils and plant disease**. St Paul: APS Press, 1982. p. 35-50

BANERJEE, M. R.; BURTON, D. L.; DEPOE, S. Impact of sewage sludge application on soil biological characteristics. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 66, p. 241-249, 1997.

BENCHIMOL, R. L.; CHU, E. Y.; MUTO, R. Y.; DIAS-FILHO, M. B. Controle da fusariose em plantas de pimenta-do-reino com bactérias endofíticas: sobrevivência e respostas morfológicas. **Pesq. agropec. bras.**, v. 35, p. 1343-1348, 2000.

BERTON, R. S.; CAMARGO, A. O.; VALADARES, J. M. A. S. Absorção de nutrientes pelo milho em resposta à adição de lodo de esgoto a cinco solos paulistas. **R. Bras. Ci. Solo**, v. 13, p. 187-192, 1989.

BETTIOL W. **Controle biológico de doenças de plantas**. Jaguariúna: EMBRAPA-CNPMA, 1991. 452 p.

BETTIOL, W.; CAMARGO, O. A. **Impacto ambiental do uso agrícola do lodo de esgoto**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2000. 312p.

BETTIOL, W.; CARVALHO, P. C. T. Lodo de esgoto como fertilizante para a cultura do milho (*Zea Mays* L.) híbrido HMDO7974. **Fertilizantes**, v. 4, p. 9-11, 1982.

BETTIOL, W.; GHINI, R. Solos supressivos. In: MICHEREFF, S. J.; ANDRADE, D. E. G. T.; MENEZES, M. (ed.) **Patógenos radiculares em solos tropicais**. Recife: Editora Universitária UFPE, 2001. cap. 6, p. 1-25.

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.

BETTIOL, W.; CAMARGO, O. A. Reciclagem de Lodo de Esgoto na Agricultura. In: WORKSHOP SOBRE BIODEGRADAÇÃO, 2, 2001, Jaguariúna, SP. **Anais...** Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2001. p. 93-106.

BIANCHINI, A.; MARINGONI, A. C.; CARNEIRO, S. M. T. P. G. Doenças do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A.; REZENDE, J. A. M. (ed.) **Manual de Fitopatologia**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1997. p. 376-399.

BLUM, L. E. B.; REIS E. F.; PRADE, A. G.; TAVELA, V. J. Fungicidas e mistura de fungicidas no controle do Oídio da soja. **Fitopatologia Brasileira**, v. 27, p. 216-218, 2002.

BOEHM, M. J.; HOITINK, A. J. Sustainance of microbial activity in potting mixes and its impact on severity of *Pythium* root rot of poinsettia. **Phytopathology**, v. 82, p. 259-254, 1992.

BOEIRA, R. C.; LIGO, M A. V.; DYNIA, J. F. Mineralização de nitrogênio em solo tropical tratado como lodos de esgoto. **Pesq. agropec. bras.**, v. 37, p. 1639-1647, 2002.

BRENDECKE, J. W.; AXELSON, R. D.; PEPPER, I. L. Soil microbiology activity as an indicator of soil fertility: long-term effects of municipal sewage sludge on arid soil. **Soil Biol. Biochem.**, v. 25, p. 751-758, 1993.

BUCHANAN, R. E.; GIBBONS, N. G. **Bergey's Manual of Determinative Bacteriology**. 8.ed. Baltimore-London: The Willians & Wilkens Co., 1975. 1268p.

BURKE, D. W.; HOLMES, L. D.; BARKER, A. W. Counteracting bean root rot by loosening the soil. **Phytopathology**, v. 62, p. 306-309, 1972

CASWELL, E. P.; THOMASON, I. J.; MCKINNEY, H. E. Extraction of cysts and eggs of *Heterodera schachtii* from soil with na assessment of extraction efficiency. **Journal of Nematology**, v.17, p. 337-340. 1985.

CETESB **Aplicação de lodos de sistemas de tratamento biológico em áreas agrícolas – Critérios para projeto e operação**. São Paulo: Cetesb, 1999. 32p. (Manual Técnico, Norma P.4.230)

CHEN, J.; ABAWI, G. S.; ZUCHERMAN, B. M. Efficacy of *Bacillus thuringiensis*, *Paecilomyces marquandii* and *Streptomyces costaricanus* with organic amendment against *Meloidogyne hapla* infecting lettuce. **Journal of Nematology**, v. 32, p. 70-77, 2000.

CHEN, S.; DICKSON, D. W.; KIMBROUGH, J. W.; MCSORLEY, R.; MITCHELL, D. J. Fungi associated with females and cysts of *Heterodera glycines* in a Florida soybean field. **Journal of Nematology**, v. 26, p. 296-3003. 1994.

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*. **Phytopathology**, v. 78, p. 1447-1450, 1988.

CHET, I.; BAKER, R. Induction of suppressiveness to *Rhizoctonia solani* in soil. **Phytopathology**, , v. 70 p. 286-290, 1980.

CHU, C. W. & POON, C. S. The feasibility of planting on stabilized sludge-amended soil. **Environment International**, v. 25, p. 465-477, 1999.

CHUNG, Y. R.; HOITINK, H. A. J.; DICK W. A.; HERR, L. J. Effects of organic matter decomposition level and cellulose amendment on the inoculum potential of *Rhizoctonia solani* in hardwood bark media. **Phytopathology**, v. 78, p. 836-840, 1988.

COOK, R. J.; BAKER, K. F. **The nature and practice of biological control of plant pathogens**. St Paul: American Phytopathological Society, 1983. 539p.

CREAMER N. G.; BENNETT, M. A.; STINNER, B. R. Evaluation of cover crop mixtures for use in vegetable production systems. **HortScience**, v. 32, p. 866-870, 1997.

DAVEY, C. B.; PAPAIVIZAS, G. C. Saprophytic activity of *Rhizoctonia* as affected by the carbon-nitrogen balance of certain organic soil amendments. **Soil Science Society of America Proceedings**, v. 27, p. 164-167, 1963.

DEVERALL, B. J.; DANN, E. K. Induced resistance in legumes. In: HAMMERSCHMIDT, R.; KUC, J. **Induced resistance to disease in plants**. The Netherlands: Kluwer A. P., 1995. p. 1-30.

DIAS, W. P.; SILVA, J. F. V.; WAIN, A. A.; PEREIRA, J. E. Distribuição de raças de *Heterodera glycines* no Brasil. In: SILVA, J. F. V. (Org.) **O nematóide de cisto da soja: a experiência brasileira**. Jaboticabal: Sociedade Brasileira de Nematologia, 1999. p. 95-103.

DIAS, W. P.; SILVA, J. F. V.; KIIHL, R. A. S.; HIROMOTO, D. M.; ABDELNOOR, R. V. Quebra da resistência da cv. hartwig por população de campo do nematóide de cisto da soja (*Heterodera glycines*). **Pesq. agropec. bras.**, v. 33, p. 971-974, 1998

DORAN, J. W.; SARRANTONIO, M.; LIEBIG, M. A. Soil health and sustainability. **Advances in Agronomy**, v. 56, p. 1-54, 1996.

ELAD, Y. Biological control of foliar pathogens by means of *Trichoderma harzianum* and potential modes of action. **Crop protection**, v. 19, p. 709-714, 2000.

ENGELHARD, A. W. **Soilborne plant pathogens: management of diseases with macro and microelements**. St. Paul: APS Press. 1989. 217 p.

ERHART, E.; BURIAN, K. HARTL, W. ; STICH, K. Suppression of *Pythium ultimum* by biowaste compost microbial biomass, activity and content of phenolic compounds. **J. Phytopathology**, v. 147, p. 299-305. 1999.

FARMER, E. E.; RYAN, C.A. Octadenoid-derived signals in plants. **Trends in Cell Biology**, v. 2, p. 236-241. 1992

FENILLE, R. C.; SOUZA, N. L. Efeitos de materiais orgânicos e da umidade do solo na patogenicidade de *Rhizoctonia solani* kuhn GA-4 HGI ao feijoeiro. **Pesq. agropec. bras.**, v. 34, p. 1959-1967, 1999.

FERREIRA, E. M.; CASTRO, I. V. Nodulation and growth of subterranean clover (*Trifolium subterraneum* L.) in soils previously treated with sewage sludge. **Soil Biol. Biochem.** v. 27, p. 1171-1183, 1995.

FOSTER , R. E.; WALKER, J. C. Predisposition of tomato to *Fusarium* wilt. **Journal of Agricultural Research**, v. 74, p. 165-185, 1985.

GAMLIEL, A.; AUSTERWEIL, M.; KRITZMAN, G. Non-chemical approach to soilborne pest management-organic amendments. **Crop Protection**, v. 19, p. 847-853, 2000.

GARRET, S. D. Decomposition of cellulose in soil by *Rhizoctonia solani* Kuhn. **Trans. Brit. Mycol. Soc.**, v. 45, p. 114-120, 1962.

GEORGIEVA, S. S.; McGRATH, S. P.; HOOPER, D. J.; CHAMBERS, B. S. Nematode communities under stress: the long-term effects of heavy metals in soil treated with sewage sludge. **Applied Soil Ecology**, v. 20, p. 27-42, 2002

GHINI, R. Transferência de supressividade de solos a *R. solani* e efeito de metabólitos voláteis. **Fitopatologia Brasileira**, v. 22, p. 265, 1997

GHINI, R.; NAKAMURA, D. Seleção de antagonistas e nutrientes que induzem supressividade de solos a *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* em microcosmo e *in vivo*. **Summa Phytopathologica**, v. 27, p. 318-322, 2001.

GILLER, K. E.; McGRATH, S. P.; HIRSCH, P. R. Absence of nitrogen fixation in clover grown on soil subject to long-term contamination with heavy metals is due to survival of only ineffective *Rhizobium*. **Soil Biol. Biochem.**, v. 21, p. 841-848, 1989.

GINTIS, B. O.; MORGAN-JONES, G.; RODRIGUEZ-KABANA, R. Fungi associated with several development stages of *Heterodera glycines* from Alabama field soil. **Nematropica**, v. 13, p. 181-200, 1983.

GUZZO, S. D. & MORAES, W. B. C. Purificação e caracterização parcial de um elicitor de fitoalexina em soja, a partir de uredíniosporos de *Hemileia vastatrix*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 22, p. 396-402, 1997

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

HOFFLAND, E.; HAKULINEN, J.; VAN PELT, J. A. Comparison of systemic resistance induced by avirulent and nonpathogenic *Pseudomonas* species. **Phytopathology**, v.86, p.757-762, 1995.

HOITINK, H. A. J.; BOEHM, M. J. Interaction between organic matter decomposition level, biocontrol agents and plant pathogens in soilborne disease. In: REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE CONTROLE BIOLÓGICO DE DOENÇAS DE PLANTAS, 4., 1991, Campinas, SP. **Anais...Campinas**, 1991. p. 63-77.

HOITINK, H. A. J.; STONE, A. G.; HAN, D. Y. Suppression of plant diseases by composts. **Hortscience**, v. 32, p. 184-187, 1997

HOMMA, Y.; SITTON, J. W.; COOK, R. J.; OLD, K. M. Perforation and destruction of pigmented hyphae of *Gaeumannomyces graminis* by vampyrellid amoebae from Pacific Northwest wheat field soils. **Phytopathology**, v. 69, p. 1118-1122, 1979.

HOPER, H.; ALABOUVETTE, C. Importance of physical and chemical soil properties in the suppressiveness of soil to plant diseases. **European Journal of Soil Biology**, v. 32, p. 41-58, 1996.

HORNBY, D. Suppressiveness of soils. **Annual Review of Phytopathology**, v. 21, p. 65-85, 1983.

HUBER D. M.; SCHNEIDER, R. W. The description and occurrence of suppressive soils. In: SCHNEIDER, R.W. (Ed.) **Suppressive Soils and Plant disease**. St Paul: APS Press, 1982. p. 1-7

HUBER, D. M. Introduction. In: ENGELHARD, A. W. (ed). **Soilborne plant pathogens: management of diseases with macro and microelements**. St. Paul: APS Press, 1989. p. 1-8

HUNGRIA, M. ; CAMPO, R. J.; MENDES, I. C. **Fixação biológica de nitrogênio na cultura da soja**. Londrina: Embrapa, 2001. 48p. (Circular Técnica/Embrapa Soja, 35)

HUNGRIA, M.; ARAUJO, R. S. **Manual de métodos empregados em microbiologia agrícola**. Brasília: Embrapa, 1994. 542p.

HUSSEY, R. S. ; WILLIAMSON, V. M. Physiological and molecular aspects of nematode parasitism. In: BARKER, K. R.; PEDERSON, G. A.; WINDHAM, G. L. (Ed.) **Plant and nematode interactions**. Madison: American Society of Agronomy, 1998. p. 95-103.

HUSSEY, R. S.; RONCADORI, R. W. Vertical distribution of soil microorganisms following subsoiling in a cotton management system. **Phytopathology**, v. 67, p. 783-786, 1977.

ITO, M. F.; TANAKA, M. A. S. **Soja: Principais doenças causadas por fungos, bactérias e nematóides**. Campinas: Fundação Cargill, 1993. 48 p.

KARLEN, D. L.; MAUSBACH, M. J.; DORAN, J. W.; CLINE, R. G.; HARRIS, R. F.; SCHUMAN, G. E. Soil quality: a concept, definition and framework for evaluation (a guest editorial). **Soil Sci. Soc. Am. J.**, v. 61, p. 4-10, 1997.

KENDIG, S. R.; RUPE, J. C. & SCOTT, H. D. Effect of irrigation and soil water stress on densities of *Macrophomina phaseolina* in soil and roots of two soybean cultivars. **Plant Disease**, v. 84, p. 895-900, 2000.

KENNEDY, A. C.; SMITH, K. L. Soil microbial diversity and the sustainability of agricultural soils. **Plant and soil**, v. 170, p. 75-86, 1995.

KESSMANN, H. et al. Induction of systemic acquired disease resistance in plants by chemicals. **Ann. Rev. Phytopathol.**, v. 32, p. 439-459, 1994.

KIM, K. D.; NEMEC, S.; MUSSON, G. Control of *Phytophthora* root and crown rot of bell pepper with composts and soil amendments in the greenhouse. **Applied soil Ecology**, v. 5, p. 169-179, 1997.

KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A.; REZENDE, J. A M. **Manual de fitopatologia**. 3.ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1997. v.2, 774p.

KINKLE, B. K.; ANGLE, J. S.; KEYSER, H. H. Long-term effects of metal-rich sewage sludge application on soil populations of *Bradyrhizobium japonicum*. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 53, p. 315-319, 1987.

KUC, J. Development and future direction of induced systemic resistance in plants. **Crop Protection**, v. 19, p. 859-861, 2000.

KUC, J. Induced systemic resistance – An overview. In: HAMMERSCHMIDT, R.; KUC, J. (ed.) **Induced Resistance to Disease in Plants**. The Netherlands: Kluwer A. P., 1995. p. 169-175.

KUC, J. Induced systemic resistance in plants to diseases caused by fungi and bacteria. In: BAILEY, J. A.; DEVERAL, B. J. (ed.) **The dynamics of host defense**. Sydney: Academic Press, 1983. p. 191-221.

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.

LI, D.; ALEXANDER, M. Co-inoculation with antibiotic-producing bacteria to increase colonization and nodulation by rhizobia. **Plant and Soil**, v. 108, p. 211-219, 1988.

LINDSAY, W. P.; LAMB, C. J.; DIXON, R. A. Microbial recognition and activation of plant defense systems. **Trends microbiol.**, v. 5, p. 181-187, 1993.

LIU, L.; KLOPPER, J. W.; TUZUN, S. Induction of systemic resistance in cucumber against bacterial angular leaf spot by plant growth-promoting rhizobacteria. **Phytopathology**, v. 85, p. 843-847, 1995.

LOPES, E. B. M. **Diversidade metabólica em solo tratado com biossólido**. 2002. 65 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba.

LUMSDEN, R. D.; LEWIS, J. A.; MILLNER, P. D. Effect of composted sewage sludge on several soilborne and diseases. **Phytopathology**, v. 73, p. 1543-1548, 1983

LUZ, W.C. Rizobactérias promotoras de crescimento de plantas e de bioproteção. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, v. 4, p. 1-49, 1996.

LYDA, S. D. **Physical and chemical properties of suppressive soils**. In: SCHNEIDER, R. W. (ed.) **Suppressive soils and plant disease**. St Paul: APS Press, 1982. p. 9-22.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G.C. OLIVEIRA, S.A. Avaliação do estado nutricional das plantas. Piracicaba: Associação Brasileira para pesquisa de potassa e do fosfato, 1997. 201p.

MALINA JR., J. Tratamento e destino final do lodo. In: SEMINÁRIO DE TRANSFERÊNCIA DE TECNOLOGIA, 2, 1993. Rio de Janeiro, RJ. **Anais...** Rio de Janeiro: ABES – WEF, 1993. 151p.

MAMILOV, A. S.; BYZOV, B. A.; ZVYAGINTSEV, D. G.; DILLY, O. M. Predation on fungal and bacterial biomass in a soddy-podzolic soil amended with starch, wheat straw and alfafa meal. **Applied Soil Ecology**, v. 16, p. 131-139. 2001.

MARIANO, R.L.R.; KLOPPER, J.W. Método alternativo de biocontrole: resistência sistêmica induzida por rizobactérias. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, v. 8, p. 121-137, 2000.

MARTENSSON, A. M. Effects of agrochemicals and heavy metals on fast-growing rhizobia and their symbiosis with small-seeded legumes. **Soil Biol. Biochem.**, v. 24, p. 435-445, 1992.

MATSUDA, A.; MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. Tolerância de rizóbios de diferentes procedências ao zinco, cobre e cádmio. **Pesq. agropec. bras.**, v. 37, p. 343-355, 2002.

McGEE, D. C. **Soybean diseases: a reference source for seed technologists**. St Paul: APS Press, 1992. 84p.

McGRATH, S. P.; BROOKS, P. C.; GILLER, K. E. Effects of potentially toxic metals in soil derived from past applications of sewage sludge on nitrogen fixation by *Trifolium repens* L. **Soil Biol. Biochem.**, v. 20, p. 415-424, 1988.

McGRATH, S. P.; CHANG, A. C.; PAGE, A. L.; WITTER, E. Land application of sewage sludge: scientific perspectives of heavy metal loading limits in Europe and the United States. **Environmental Reviews**, v. 2, p. 108-118, 1994.

McILVEN, W. D.; COLE, H. Influence of heavy metals on nodulation of red clover. **Phytopathology**, v. 64, p. 583-589, 1974.

McSORLEY, R.; GALLAHER, R. N. Effect of yard waste compost on plant parasitic nematode densities in vegetable crops. **Journal of Nematology**, v. 27, p. 545-549, 1995.

MELO, I. S. *Trichoderma* e *Giocladium* como bioprotetores de plantas. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, v. 4, p. 415, 1996.

MELO, I. S.; AZEVEDO, J. L. **Controle Biológico**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 1998. v. 1, 264 p.

MELO, W. J.; MARQUES, M. O.; MELO, V. P. O uso agrícola do biossólido e as propriedades do solo. In: TSUTIYA, M. T. et al. **Biossólidos na Agricultura**. São Paulo: Sabesp, 2001. p. 289-359.

MICHEL, C. A.; REIS, E. M.; VIEIRA, R. Controle químico do Oídio na cultura da soja. **Fitopatologia Brasileira**, v. 23 (suplemento), p. 259, 1998.

MIKI, M. J.; ANDRIGUETI, E. J.; SOBRINHO, P. A. Tratamento da fase sólida em estações de tratamento de esgoto. In: TSUTYA, M. T. et al. **Biossólidos na Agricultura**. São Paulo: SABESP, 2001. p. 41-87

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

MOHAMED, B. E.; EL-ERAKI, S. A.; EL-GINDI, A. Y. Effect of *Meloidogyne incognita* on protein content of soybean seed. **Egyptian Journal of Agricultural Research**, v. 69, p. 821-824, 1991.

MORAES, M. G. Mecanismos de resistência sistêmica adquirida em plantas. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, v.6, p. 261-84, 1998.

NAKAMURA, Y.; MATSUZAKI, I.; ITAJURA, J. Effect of grazing by *Sinella curviseta* (Collembola) on *Fusarium oxysporum* f. sp. Cucumerinum causing cucumber disease. **Pedobiologia**, v. 36, p. 168-171, 1992.

NELSON, E. B.; HOITINK, H. A. J. Factors affecting suppressions of *Rhizoctonia solani* in container media. **Phytopathology**, v. 72, p. 275-279, 1982.

OBBARD, J. P.; JONES, K. C. Measurement of symbiotic nitrogen-fixation in leguminous host-plant grown in heavy metal-contaminated soils amended with sewage sludge. **Environmental Pollution**, v. 111, p. 311-320, 2001.

PARHAM, J. A.; DENG, S. P. Detection, quantification and characterization of B-glucosaminidase activity in soil. **Soil Biol. Biochem.**, v.32, p. 1183-1190, 2000.

PARK, D-S.; LANDINI, S.; GRAHAM, M. Y.; GRAHAM, T. L. Induced distal defence potentiation against *Phytophthora sojae* in soybean. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 60, p. 293-310, 2002

PASCHOLATI, S. F.; LEITE, B. **Hospedeiro: Mecanismos de resistência**. In: KIMATI et al. Manual de Fitopatologia. São Paulo: Ceres, 1995. v. 2, p. 417-453.

PAULSRUD, B.; NEDLAND, K. T. Strategy for land application of sewage sludge in Norway. **Wat. Sci. Tech.**, v. 36, p. 283-290, 1997.

PEREIRA J. C. R.; ZAMBOLIM, L.; VALE, F. X. R.; CHAVES, G. M Compostos orgânicos no controle de doenças de plantas. **Revisão Anual em Proteção de Plantas**, v. 4, p. 353-379.1996.

PICININI, E. C.; FERNANDES, J. M. **Doenças da soja: diagnose, epidemiologia e controle**. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 1998, 72p.

PIETERSE, C. M. J.; VAN LOON, L. C. Salicylic acid-independent plant defense pathways. **Trends in plant science**, v. 4, p. 52-58, 1999

PIETERSE, C. M. J.; VAN PELT, J. A.; KNOESTER, M.; LAAN, R.; GERRITS, H.; WEISBEEK, P. J.; VAN LOON, L. C. A novel signaling pathway controlling induced systemic resistance in *Arabidopsis*. **Plant Cell**, v. 10, p. 1571-80, 1998.

POZZER, I.; CARDOSO, J. E. Supressividade natural de um latossolo vermelho-escuro a *Rhizoctonia solani*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 15, p. 206-210, 1990.

RAIJ, B. van; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J.A.; FURLANI, A.M.C. (Eds.) **Recomendação de adubação e calagem para o estado de São Paulo**. Campinas: Instituto agrônomo, 1986. 285p. (Boletim técnico, 100)

RAIJ, B. van; QUAGGIO, J.A. **Método de análise de solo para fins de fertilidade**. Campinas: Instituto agrônomo, 1983. (Boletim técnico, 81)

RAUPACH, G. S.; KLOEPPER, J. W. Mixtures of plant growth-promoting rhizobacteria enhance biological control of multiple cucumber pathogens. **Phytopathology**, v. 88, p. 1158-1164, 1998.

REDDY, G. B.; CHENG, C. N.; DUNN, S. J. Survival of *Rhizobium japonicum* in soil-sludge environment. **Soil Biol. Biochem.**, v. 15, p. 343-345, 1983.

REID, J. B.; GOSS, M. J. Effect of living roots of different plant species on aggregate stability of two arable soils. **J. Soil Sci.**, v. 32, 521-541. 1981

RIGA, E.; WELACKY, T.; POTTER, J.; ANDERSON, T.; TOPP, E.; TENUTA, A. The impact of plant residues on the soybean cyst nematode, *Heterodera glycines*. **Can. J. Plant Pathol.**, v. 23, p. 168-173, 2001.

RODRIGUES, F. A.; CARVALHO, E. M.; VALE, F. X. R. Severidade da podridão radicular de *Rhizoctonia* do feijoeiro influenciada pela calagem, e pelas fontes e doses de nitrogênio. **Pesq. agropec. bras.**, v. 37, p. 1247-1252, 2002.

RODRIGUEZ-KABANA, R. Organic and inorganic amendments to soil as nematode suppressants. **Journal of Nematology**, v. 18, p. 129-135, 1986.

ROMEIRO, R. S. PGPR e indução de resistência sistêmica em plantas a patógenos. **Summa Phytopathologica**, v. 26, p.177-184, 2000.

RUSH, C M.; WINTER, S. R. Influence of previous crops on *Rhizoctonia* root and crown rot of sugar beet. **Plant Disease**, St. Paul v. 74, p. 421-425, 1990.

SABESP. Projeto Tietê. **Revista Engenharia**, p. 82-90, 1998.

SCHER, F. M.; BAKER, R. Mechanism of biological control in a fusarium-suppressive soil. **Phytopathology**, 70 412-417, 1980.

SELIVANOVSKAYA, S. Y.; LATYPOVA, V.Z.; KIYAMOVA, S.N.; ALIMOVA, F.K. Use of microbial parameters to assess treatment methods of municipal sewage sludge applied to grey forest soils of Tatarstan. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 86, p. 145-153, 2001.

SERRA-WITTLING, C.; HOUOT, S.; ALABOUVETTE, C. Increased soil suppressiveness to *Fusarium* wilt of Flax after addition of municipal solid waste compost. **Soil Biol. Biochem.**, v. 28, p. 1207-1214, 1996

SIDDIQUI, Z. A.; IQBAL, A.; MAHMOOD, I. Effects of *Pseudomonas fluorescens* and fertilizers on the reproduction of *Meloidogyne incognita* and growth of tomato. **Applied Soil Ecology**, v. 16, p. 179-185, 2001.

SINGLETON, P. W.; BOHLOOL, B. B. Effect of salinity on nodule formation by soybean. **Plant Physiology**, v. 74, p. 72-76, 1984.

SNEH, B.; JABAJI-HARE, S.; NEATE, S.; DUST, G. **Rhizoctonia species: taxonomy, molecular biology, ecology, pathology and disease control**. Dordrecht: Kluwer Academic, 1996. 578 p.

STADNIK, M. J. Indução de resistência a Oídios. **Summa Phytopathologica**, v. 26, p.175-177, 2000.

STEPHENS, C. T.; HERR, L. J.; HOITINK, H. A. J.; SCHMITTHENNER, A. F. Suppression of *Rhizoctonia* damping-off by composted hardwood bark medium. **Plant Disease**, v. 65, p. 796-797, 1981.

STEPHENS, P. M.; DAVOREN, C. W.; DOUBE, B. M.; RYDER, M. H. Ability of the lumbricid earthworms *Aporrectodea rosea* and *Aporrectodea trapezoides* to reduce the severity of take-all under greenhouse and field conditions. **Soil Biol. Biochem.**, v. 25, p. 1477-1484, 1994.

STURZ, A. V.; CARTER, M. R.; JOHNSTON, H. W. A review of plant disease, pathogen interactions and microbial antagonism under conservation tillage in temperate humid agriculture. **Soil & Tillage Research**, v. 41, p. 169-189, 1997.

TRANKNER A.. Use of agricultural and municipal organic wastes to develop suppressiveness to plant pathogens. In: TJAMOS E. C.; PAPAVIDAS G. C.; COOK R. J. (ed.) **Biological control of plant diseases: progress and challenges for the future**. New York: Plenum Press, 1992. p 35-42

TSUTIYA, M. T. Características de biossólidos gerados em estações de tratamento de esgotos. In: TSUTIYA, M. T. et al. **Biossólidos na Agricultura**. São Paulo: Sabesp, 2001. p. 89-131.

VALIENTE, A. R.; ALVAREZ, E.; SANTANDER, V. M. Assessment of yield losses due to root-knot nematode species in soybean. **International Nematology Network Newsletter**, v. 7, p. 42-43, 1990.

VAN BRUGGEN, A. H. C.; SEMENOV, A. M. In search of biological indicators for soil health and disease suppression. **Applied Soil Ecology**, v. 15, p. 13-24, 2000.

VAN ELSAS, J. D.; GARBEVA, P.; SALLES, J. Effects of agronomical measures on the microbial diversity of soils as related to the supression of soil-borne plant pathogens. **Biodegradation**, v. 13, p. 29-40, 2002.

VAN OS, G. J.; VAN GINKEL, J. H. Suppression of *Pythium* root rot in bulbous *Iris* in relation to biomass and activity of the soil microflora. **Soil Biol. Biochem.**, v. 33, p. 1447-1454, 2001.

VELAZCO, C. L. **Indução de supressividade a *Phytophthora nicotiana* em mudas de limão cravo com lodo de esgoto.**2002. 66 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba.

VIAENE, N.M. & ABAWI, G.S. Fungi parasitic on juveniles and egg masses of *Meloidogyne hapla* in organic soils from New York. **Journal of Nematology**, v. 30, p. 632-638, 1998.

VIEIRA, R. F. Sewage sludge effects on soybean growth and nitrogen fixation. **Biol. Fertil. Soils**, v. 34, p. 196-200, 2001.

VIGUE, G. T.; PEPPER, I. L.; BEZDICEK, D. F. The effects of cadmium on nodulation and nitrogen fixation by dry beans. **J. Environ. Qual.**, v. 10, p. 87-90, 1981.

WANG, M. Land application of sewage sludge in China. **The Science of the Total Environment**, v.197, p. 149-160, 1997.

WEI, G.; KLOEPPER, J. W.; TUZUN, S. Induction of systemic resistance of cucumber to *Colletotrichum orbiculare* by seven strains of plant growth-promoting rhizobacteria. **Phytopathology**, v. 81, p. 1508-1512, 1991.

WESTPHAL, A.; BECKER, J. O. Components of soil suppressiveness against *Heterodera schachtii*. **Soil Biol. Biochem.**, v. 33, p. 09-16, 2001.

WHIPPS, J. M. Microbial interactions and biocontrol in the rhizosphere. **Journal of Experimental Botany**, v. 52, p. 487-511, 2001.

WRATHER, J. A.; ANDERSON, T. R.; ARSYAD, D. M. GAI, J.; PORTO-PUGLIA, A.; RAM, H. H.; YORINORI, J. T. Soybean disease loss estimates for the top 10 soybean producing countries in 1994. **Plant Disease**, v. 81, p. 107-110, 1997.

WULFF, N. A.; PASCHOLATI, S. F. Preparações de *Saccharomyces cerevisiae* elicitoras de fitoalexinas em mesocótilos de sorgo. **Scientia Agricola**, v. 55, p. 138-143, 1998.

YEDIDIA, I.; BENHAMOU, N.; CHET, I. Induction of defense responses in cucumber plants (*Cucumis sativus* L.) by the biocontrol agent *Trichoderma harzianum*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 65, p. 1061-1070, 1999.

YORINORI, J. T. Cultivares de soja resistentes a *Microsphaera diffusa*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 22 (suplemento), p.320-321, 1997.

YORINORI, J. T. Situação atual das doenças potenciais no cone sul. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SOJA, 2, 2002, Foz de Iguaçu, PR. **Anais...**Londrina: Embrapa Soja, 2002. p.171-186.

ZAMBOLIM, L.; SCHENCK, N. C.; MITCHELL, D.J. Inoculum density, pathogenicity, and interaction of soybean root-infecting fungi. **Phytopathology**, v.73, p. 1398-1402, 1983.

ZHANG, W.; DICK, W. A.; HOITINK, A. J. Compost-induced systemic acquired resistance in cucumber to *Pythium* root rot and anthracnose. **Phytopathology**, v. 86, p. 1066-1070, 1996.