

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

**EFEITO DE FONTES DE MATÉRIA ORGÂNICA SOBRE A
FERRUGEM EM MUDAS DE CAFEIEIRO**

DANIEL ANDRADE DE SIQUEIRA FRANCO

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agronômicas da UNESP – Câmpus de Botucatu, para a obtenção do título de Doutor em Agronomia - Área de Concentração em Proteção de Plantas.

BOTUCATU - SP
Fevereiro – 2003

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

**EFEITO DE FONTES DE MATÉRIA ORGÂNICA SOBRE A
FERRUGEM EM MUDAS DE CAFEIEIRO**

DANIEL ANDRADE DE SIQUEIRA FRANCO

Orientador: Prof. Dr. Wagner Bettiol

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agronômicas da UNESP – Câmpus de Botucatu, para a obtenção do título de Doutor em Agronomia - Área de Concentração em Proteção de Plantas.

FRANCO, D.A.S.

DOUTORADO

2003

BOTUCATU - SP
Fevereiro – 2003

À minha esposa *Elizabete*

À minha filha *Juliana*

Aos meus pais *Aluizio* e *Célia*

Aos meus irmãos *Aluizio, Rilde, Taís, Tânia, Sérgio, Célio* e *Gláucia*

DEDICO

“A natureza não dá saltos; as árvores crescem lentamente, e dão fruto no tempo certo; planta que cresce muito depressa não tem cerne forte. O estudo deve ser também um processo de desenvolvimento lento e constante para que possa dar bons frutos em tempo oportuno”.

AGRADECIMENTOS

À Faculdade de Ciências Agrônômicas, UNESP, Câmpus de Botucatu, onde com orgulho realizei o Doutorado, usufruindo da excelente estrutura física, bem como, do corpo docente acessível e de alto nível técnico-científico.

À Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Embrapa, Centro Nacional de Pesquisa de Monitoramento e Avaliação de Impacto Ambiental – CNPMA, pela oportunidade e apoio concedidos para meu aperfeiçoamento profissional.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq, pela concessão do auxílio financeiro para a realização deste projeto de pesquisa.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP, pelo auxílio no desenvolvimento deste projeto de pesquisa.

Ao Dr. Wagner Bettiol, Pesquisador da Embrapa Meio Ambiente, pela orientação desta tese em Fitopatologia, além da inestimável amizade e do apoio profissional que sempre me proporcionou.

Aos Professores e funcionários do Departamento de Defesa Fitossanitária, da Faculdade de Ciências Agrônômicas, UNESP, Botucatu, pela receptibilidade e pelo empenho em transmitir seus conhecimentos, contribuindo, sobremaneira, com o meu aperfeiçoamento profissional e pela amizade.

Aos investigadores Dr^a Leonor de Castro Esteves Guerra Guimarães, Dr^a Maria do Céu Machado Lavado da Silva, Dr. Vítor Várzea e Dr. Carlos José Rodrigues Júnior, do Centro de Investigação das Ferrugens do Cafeeiro – CIFC, Oeiras, Portugal, pelos conhecimentos transmitidos e acima de tudo, pela valiosa amizade.

Aos pesquisadores Dr^a Mako Toma-Baghini, Albano Silva da Conceição e Dr. Luiz Carlos Fazuoli, do Centro de Café e Plantas Tropicais, Instituto Agronômico de Campinas, SP, pelo fornecimento das sementes, mudas e folhas de cafeeiro, além dos ensinamentos e auxílios prestados na identificação da raça de Ferrugem.

Ao Professor Dr Paulo Mazzafera, da Fisiologia Vegetal do Instituto de Biologia da UNICAMP, pelas sugestões, conhecimentos transmitidos e auxílio na análise enzimática.

Aos funcionários do laboratório de Fitopatologia, da Embrapa Meio Ambiente: Mara, Ana Maria, Rosely e Rosangela, pela colaboração e inestimável amizade.

Aos bibliotecários Victor Paulo Simão e Maria Amélia de Toledo Leme, pela amizade e auxílio na revisão do texto e da bibliografia.

Aos funcionários de Setor de Campos Experimentais, da Embrapa Meio Ambiente: Waldemore, Brasilino, Abraão e Antonio, pelo auxílio na realização dos trabalhos.

Aos amigos e funcionários da Embrapa Meio Ambiente que contribuíram direta e/ou indiretamente na realização deste trabalho.

Aos colegas pós-graduandos e estagiários do laboratório de Fitopatologia da Embrapa Meio Ambiente, em especial ao Juliano Cesar da Silva e a Renata Nunes Soares, pelo espírito de equipe, de força de vontade e amizade que, sem dúvida, estimularam-me a superar as dificuldades deste caminho.

* * * * *

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE TABELAS	VIII
LISTA DE FIGURAS	XI
RESUMO	XIV
SUMMARY	XVI
1 INTRODUÇÃO	01
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	04
2.1 Geração de resíduos nos centros urbanos	04
2.2 Geração de resíduos na agropecuária.....	06
2.3 Critérios para a aplicação de resíduos orgânicos urbanos em solos agrícolas.....	07
2.4 Materiais orgânicos no controle de doenças de plantas	09
2.5 Bioquímica da resistência no complexo cafeeiro – Ferrugem alaranjada	17
2.5.1 Considerações gerais sobre resistência/susceptibilidade	17
2.5.2 Principal via metabólica envolvida na resposta de resistência das plantas.....	18
2.5.2.1 Compostos fenólicos.....	19
2.5.2.2 Lignina	21
2.5.3 Interação <i>Coffea arabica</i> - <i>Hemileia vastatrix</i>	22
3 MATERIAL E MÉTODOS	27
3.1 Identificação da raça de <i>Hemileia vastatrix</i> pelo teste em discos de folhas	27
3.2 Efeito de fontes de matéria orgânica sobre a Ferrugem do cafeeiro.....	27
3.2.1 Coleta de folhas lesionadas e processamento dos uredíniosporos	33
3.2.2 Preparo do inóculo e inoculação	34
3.2.3 Avaliação da doença	35
3.2.4 pH, condutividade elétrica, teor de umidade e atividade microbiana total do substrato por meio da hidrólise de diacetato de fluoresceína – FDA	37
3.2.5 Teor de nitrogênio foliar total	38
3.3 Efeito do lodo de esgoto e do composto de lixo na atividade enzimática do cafeeiro	38
3.3.1 Análises enzimáticas realizadas em tecido foliar de plantas de café	39
3.3.1.1 Atividade enzimática da peroxidase – POX	39

3.3.1.1.1	Preparo do pó de acetona e dos extratos enzimáticos	39
3.3.1.1.2	Determinação da atividade enzimática da peroxidase – POX ...	40
3.3.1.2	Atividade enzimática da polifenoloxidase – PPO	41
3.3.1.2.1	Determinação da atividade enzimática da PPO	41
3.4	Análise dos resultados	42
4	RESULTADOS	43
4.1	Identificação da raça de <i>Hemileia vastatrix</i> pelo teste de discos de folhas	43
4.2	Efeito de fontes de matéria orgânica na Ferrugem do cafeeiro	43
4.2.1	Efeito do lodo de esgoto sobre a Ferrugem do cafeeiro.....	43
4.2.2	Efeito do esterco de suíno sobre a Ferrugem do cafeeiro	48
4.2.3	Efeito do composto de lixo sobre a Ferrugem do cafeeiro	52
4.2.4	Efeito do cama de aves sobre a Ferrugem do cafeeiro	55
4.2.5	Efeito do esterco de bovino sobre a Ferrugem do cafeeiro	59
4.2.6	Efeito do esterco de ovino sobre a Ferrugem do cafeeiro	62
4.3	Efeito do lodo de esgoto e do composto de lixo nas atividades enzimáticas do cafeeiro	65
4.3.1	Atividade enzimática da peroxidase nas plantas desenvolvidas em substratos com o lodo de esgoto.....	65
4.3.2	Atividade enzimática da peroxidase nas plantas desenvolvidas em substratos com o composto de lixo.....	69
4.3.3	Atividade enzimática da polifenoloxidase nas plantas desenvolvidas em substratos com composto de lixo.....	74
4.3.4	Atividade enzimática da polifenoloxidase nas plantas desenvolvidas em substratos com lodo de esgoto.....	76
5	DISCUSSÃO	79
5.1	Efeito de fontes de matéria orgânica na Ferrugem do cafeeiro	79
5.2	Efeito do lodo de esgoto e do composto de lixo nas atividades enzimáticas do cafeeiro	89
6	CONCLUSÕES.....	93
7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	94

LISTA DE TABELAS

		Página
1	Atributos químicos de terra para fins de fertilidade	28
2	Características químicas e físicas do lodo de esgoto de Franca (SP) e concentrações limites permitidas de metais em lodo para uso agrícola.....	30
3	Quantidade correspondente das concentrações em % (v/v) das fontes de matéria orgânica em Mg ha ⁻¹	31
4	Quantidade de lodo de esgoto em Mg ha ⁻¹ e os respectivos valores de N total disponível em Kg ha ⁻¹ presente nas concentrações dos experimentos.....	32
5	Análises químicas e físicas dos materiais orgânicos utilizados nos experimentos	32
6	Efeito do lodo de esgoto no número de lesões por folha lesionada das mudas de cafeeiro na primeira, na segunda e na terceira inoculação com <i>Hemileia vastatrix</i>	44
7	Coefficiente de determinação da análise de regressão linear nas diferentes inoculações realizadas nas plantas de cafeeiro cultivadas com as fontes de matéria orgânica.....	45
8	Efeito do lodo de esgoto na porcentagem de folhas lesionadas das mudas de cafeeiro na primeira, na segunda e na terceira inoculação com <i>Hemileia vastatrix</i>	46
9	Efeito do lodo de esgoto na altura das mudas de cafeeiro na primeira, segunda e terceira inoculação com <i>Hemileia vastatrix</i>	47
10	Efeito do lodo de esgoto no nitrogênio foliar total de mudas de cafeeiro inoculadas com <i>Hemileia vastatrix</i> ; no pH, na condutividade elétrica e na atividade microbiana (hidrólise de FDA) total do substrato onde as mudas de cafeeiro se desenvolveram.	47
11	Efeito do esterco de suíno no número de lesões por folha lesionada das mudas de cafeeiro na primeira, na segunda e na terceira inoculação com <i>Hemileia vastatrix</i>	49

12	Efeito do esterco de suíno na porcentagem de folhas lesionadas das mudas de cafeeiro na primeira, na segunda e na terceira inoculação com <i>Hemileia vastatrix</i>	50
13	Efeito do esterco de suíno na altura das mudas de cafeeiro na primeira, segunda e terceira inoculação com <i>Hemileia vastatrix</i>	50
14	Efeito do esterco de suíno no nitrogênio foliar total de mudas de cafeeiro inoculadas com <i>Hemileia vastatrix</i> ; no pH, na condutividade elétrica e na atividade microbiana (hidrólise de FDA) total do substrato onde as mudas de cafeeiro se desenvolveram.	51
15	Efeito do composto de lixo urbano no número de lesões por folha lesionada das mudas de cafeeiro na primeira, na segunda e na terceira inoculação com <i>Hemileia vastatrix</i>	53
16	Efeito do composto de lixo urbano na porcentagem de folhas lesionadas das mudas de cafeeiro na primeira, na segunda e na terceira inoculação com <i>Hemileia vastatrix</i>	53
17	Efeito do composto de lixo urbano na altura das mudas de cafeeiro na primeira, segunda e terceira inoculação com <i>Hemileia vastatrix</i>	54
18	Efeito do composto de lixo urbano no nitrogênio foliar total de mudas de cafeeiro inoculadas com <i>Hemileia vastatrix</i> ; no pH, na condutividade elétrica e na atividade microbiana (hidrólise de FDA) total do substrato onde as mudas de cafeeiro se desenvolveram.	54
19	Efeito da cama de aves no número de lesões por folha lesionada das mudas de cafeeiro na primeira, na segunda e na terceira inoculação com <i>Hemileia vastatrix</i>	56
20	Efeito da cama de aves na porcentagem de folhas lesionadas das mudas de cafeeiro na primeira, na segunda e na terceira inoculação com <i>Hemileia vastatrix</i>	57
21	Efeito da cama de aves na altura das mudas de cafeeiro na primeira, segunda e terceira inoculação com <i>Hemileia vastatrix</i>	57
22	Efeito da cama de aves no nitrogênio foliar total de mudas de cafeeiro inoculadas com <i>Hemileia vastatrix</i> ; no pH, na condutividade elétrica e na	

	atividade microbiana (hidrólise de FDA) total do substrato onde as mudas de cafeeiro se desenvolveram.	58
23	Efeito do esterco de bovino no número de lesões por folha lesionada das mudas de cafeeiro na primeira, na segunda e na terceira inoculação com <i>Hemileia vastatrix</i>	59
24	Efeito do esterco de bovino na porcentagem de folhas lesionadas das mudas de cafeeiro na primeira, na segunda e na terceira inoculação com <i>Hemileia vastatrix</i>	60
25	Efeito do esterco de bovino na altura das mudas de cafeeiro na primeira, na segunda e na terceira inoculação com <i>Hemileia vastatrix</i>	60
26	Efeito do esterco de bovino no nitrogênio foliar total de mudas de cafeeiro inoculadas com <i>Hemileia vastatrix</i> ; no pH, na condutividade elétrica e na atividade microbiana (hidrólise de FDA) total do substrato onde as mudas de cafeeiro se desenvolveram.	61
27	Efeito do esterco de ovino no número de lesões por folha lesionada das mudas de cafeeiro na primeira, na segunda e na terceira inoculação com <i>Hemileia vastatrix</i>	62
28	Efeito do esterco de ovino na porcentagem de folhas lesionadas das mudas de cafeeiro na primeira, na segunda e na terceira inoculação com <i>Hemileia vastatrix</i>	63
29	Efeito do esterco de ovino na altura das mudas de cafeeiro na primeira, na segunda e na terceira inoculação com <i>Hemileia vastatrix</i>	63
30	Efeito do esterco de ovino no nitrogênio foliar total de mudas de cafeeiro inoculadas com <i>Hemileia vastatrix</i> ; no pH, na condutividade elétrica e na atividade microbiana (hidrólise de FDA) total do substrato onde as mudas de cafeeiro se desenvolveram.	64
31	Análise química do tecido foliar das plantas desenvolvidas nas concentrações crescentes de composto de lixo.	77

LISTA DE FIGURAS

		Página
1	Via metabólica geral fenilpropanóide, formação da lignina e seus precursores (adaptado de Alibert et al., 1977 e Hugh Jones, 1984).	20
2	Lodo de esgoto seco naturalmente (esquerda) com granulometria irregular e lodo de esgoto moído (direita) com granulometria homogênea	29
3	Coleta de uredíniosporos de <i>Hemileia vastatrix</i> em folhas de café (Esquerda). Coletor de esporos montado com um tubo de ensaio, uma rolha, dois canos de coluna de cromatógrafo, mangueira de borracha e bomba de vácuo (Direita). Manipulação: pincéis, tampa de placa de Petri e tubos tipo Eppendorf.....	34
4	Esquema utilizado na avaliação da esporulação das lesões nas folhas das mudas de café, nos diferentes ensaios com as fontes de matéria orgânica.....	36
5	Esporulação das lesões cloróticas em folhas de cafeeiro cultivado em diferentes concentrações de lodo de esgoto, em diferentes intervalos de tempo após o início do aparecimento das lesões da primeira inoculação. Notas: (0) sem esporulação; (1) de 0 a 25%; (2) de 25 a 50%; (3) de 50 a 75% e (4) de 75 a 100% de lesões esporuladas. Em uma mesma data, médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si de acordo com o teste de Tukey ($p < 0,05$). Os dados originais foram transformados em $\sqrt{x + 0,5}$	48
6	Esporulação das lesões cloróticas em folhas de cafeeiro cultivado em diferentes concentrações de esterco de suíno, em diferentes intervalos de tempo após o início do aparecimento das lesões da primeira inoculação. Notas: (0) sem esporulação; (1) de 0 a 25%; (2) de 25 a 50%; (3) de 50 a 75% e (4) de 75 a 100% de lesões esporuladas. Em uma mesma data, médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si de acordo com o teste de Tukey ($p < 0,05$). Para as análises estatísticas os dados originais foram transformados em $\sqrt{x + 0,5}$	52
7	Esporulação das lesões cloróticas em folhas de cafeeiro cultivado em diferentes concentrações de composto de lixo, em diferentes intervalos de tempo após o	

- início do aparecimento das lesões da primeira inoculação. Notas: (0) sem esporulação; (1) de 0 a 25%; (2) de 25 a 50%; (3) de 50 a 75% e (4) de 75 a 100% de lesões esporuladas. Em uma mesma data, médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si de acordo com o teste de Tukey ($p < 0,05$). Para as análises estatísticas os dados originais foram transformados em $\sqrt{x + 0,5}$ 55
- 8 Esporulação das lesões cloróticas em folhas de cafeeiro cultivado em diferentes concentrações de cama de aves, em diferentes intervalos de tempo após o início do aparecimento das lesões da primeira inoculação. Notas: (0) sem esporulação; (1) de 0 a 25%; (2) de 25 a 50%; (3) de 50 a 75% e (4) de 75 a 100% de lesões esporuladas. Em uma mesma data, médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si de acordo com o teste de Tukey ($p < 0,05$). Para as análises estatísticas os dados originais foram transformados em $\sqrt{x + 0,5}$ 58
- 9 Esporulação das lesões cloróticas em folhas de cafeeiro cultivado em diferentes concentrações do esterco bovino, em diferentes intervalos de tempo após o início do aparecimento das lesões da primeira inoculação. Notas: (0) sem esporulação; (1) de 0 a 25%; (2) de 25 a 50%; (3) de 50 a 75% e (4) de 75 a 100% de lesões esporuladas. Em uma mesma data, médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si de acordo com o teste de Tukey ($p < 0,05$). Para as análises estatísticas os dados originais foram transformados em $\sqrt{x + 0,5}$ 61
- 10 Esporulação das lesões cloróticas em folhas de cafeeiro cultivado em diferentes concentrações de esterco de ovino, em diferentes intervalos de tempo após o início do aparecimento das lesões da primeira inoculação. Notas: (0) sem esporulação; (1) de 0 a 25%; (2) de 25 a 50%; (3) de 50 a 75% e (4) de 75 a 100% de lesões esporuladas. Em uma mesma data, médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si de acordo com o teste de

	Tukey ($p < 0,05$). Para as análises estatísticas os dados originais foram transformados em $\sqrt{x + 0,5}$	65
11	Atividade da peroxidase em folhas de <i>Coffea arabica</i> cv. Mundo Novo não inoculadas (---●---) e inoculadas (—■—) com uredíniosporos de <i>Hemileia vastatrix</i> raça II em diferentes concentrações de lodo de esgoto. Barras verticais representam o desvio padrão da média. T= testemunha e I = Inoculada.....	66
12	Atividade média da peroxidase em diferentes concentrações de lodo de esgoto durante 25 dias após a inoculação das plantas.	67
13	Efeito do lodo de esgoto no número de lesões por folha lesionada.	68
14	Efeito do lodo de esgoto na porcentagem de folhas lesionadas por planta.	68
15	Efeito do lodo de esgoto na altura das plantas.	69
16	Atividade da peroxidase em folhas de <i>Coffea arabica</i> cv. Mundo Novo não inoculadas (---●---) e inoculadas (—■—) com uredíniosporos de <i>Hemileia vastatrix</i> raça II em diferentes concentrações de composto de lixo urbano. Barras verticais representam o desvio padrão da média.	71
17	Efeito do composto de lixo no número de lesões por folha lesionada.	72
18	Atividade média da peroxidase em diferentes concentrações de composto de lixo urbano durante 32 dias após a inoculação das plantas.	72
19	Efeito do composto de lixo no desenvolvimento das plantas de cafeeiro.	73
20	Efeito do composto de lixo na porcentagem de folhas lesionadas por planta	73
21	Efeito do composto de lixo na atividade total e específica da polifenoloxidase 94 dias após a inoculação das plantas.	75
22	Efeito do lodo de esgoto na atividade total e específica da polifenoloxidase 160 dias após a inoculação das plantas	78

RESUMO

A geração de resíduos urbanos aumenta com o passar dos anos e graves problemas de impactos ambientais ocorrem devido ao seu inadequado tratamento e disposição final. A utilização de resíduos urbanos na agricultura destaca-se como uma alternativa viável e por conterem matéria orgânica podem colaborar tanto no controle de doenças da parte aérea das plantas, por indução de resistência sistêmica, como induzir a supressividade aos patógenos habitantes do solo. O crescimento da agricultura orgânica também demanda informações sobre os efeitos de matéria orgânica sobre as doenças de plantas. O presente trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos da incorporação de algumas fontes de matéria orgânica ao solo na indução da resistência sistêmica à Ferrugem em mudas de cafeeiro. Os efeitos da incorporação das fontes de matéria orgânica foram avaliados sobre o comportamento das mudas (altura; teor de nitrogênio total foliar; e porcentagem de folhas lesionadas, número de lesões por folha lesionada e esporulação de lesões da Ferrugem), das propriedades químicas do substrato (pH e condutividade elétrica) e da atividade microbiana do substrato (hidrólise do diacetato de fluoresceína – FDA). A indução de resistência sistêmica à Ferrugem foi estudada bioquimicamente por meio da atividade da peroxidase e da polifenoloxidase em tecido foliar de plantas desenvolvidas em substratos com o lodo de esgoto e com o composto de lixo em condições de casa de vegetação. As fontes de matéria orgânica foram o lodo de esgoto, o composto de lixo urbano, a cama de aves e os esterco de suíno, de bovino e de ovino. As fontes de matérias orgânicas incorporadas ao substrato aumentaram o

teor de nitrogênio foliar total e não induziram a resistência sistêmica à Ferrugem do cafeeiro. As outras variáveis estudadas tiveram um comportamento distinto conforme o tipo e a concentração das fontes de matéria orgânica. O lodo de esgoto e o composto de lixo interferiram no metabolismo secundário das plantas modificando a atividade da peroxidase e da polifenoloxidase, indicando a participação das enzimas na resistência à doença.

SUMMARY

EFFECT OF ORGANIC MATTER SOURCES IN THE COFFEE RUST OF THE COFFEE SEEDLINGS. Botucatu, 2002. 119 p. Tese (Doutorado em Agronomia/Proteção de Plantas)

- Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista.

Author: DANIEL ANDRADE DE SIQUEIRA FRANCO

Adviser: WAGNER BETTIOL

The urban wastes production increases with the years and environmental impacts occur due to its inadequate treatment and final disposition. The standardized utilization of urban wastes in agriculture stand out as a viable alternative, apart from organic matters applied in the soil may control foliar diseases of plants for induction of systemic resistance and induction of suppressiveness to soil pathogens. Also, the increase of organic agriculture requests information about the effects of organic materials in plant disease. The objective of this work was to evaluate possible effects of organic materials in the systemic resistance induction for coffee orange rust in seedlings. The effects of incorporating the organic matter sources into soil were evaluated over the conduct of seedlings (plant height; foliar total nitrogen; and infected leaves percentage by plant, number of lesions by lesioned leaf and lesions sporulation of rust), chemical properties of substrate (pH and electrical conductivity) and of substrate microbial activity (fluorescein diacetate hydrolysis – FDA). The systemic resistance induction to coffee orange rust was studied by through biochemical assay of activity of peroxidase and polyphenoloxidase in the foliar tissue of the plants developed in

the sewage sludge and with waste compost in greenhouse conditions. The organic matter sources were sewage sludge, waste compost, swine, bovine, sheep manures and the chicken litter. The organic matter sources were incorporated to substrate increased the foliar total nitrogen and didn't affect the systemic resistance induction for coffee orange rust. The other variables studied had distinct conducts according to the type and concentration of the organic matter sources. The sewage sludge and waste compost interfere in the primary and secondary metabolisms of the plants modifying the activity of the peroxidase and polyphenoloxidase indicating the participation in the resistance to the disease.

Keywords: *Hemileia vastatrix*, coffee, orange rust, polyphenoloxidase, peroxidase, diacetate fluorescein hydrolysis, organic matter, enzyme activity.

1 INTRODUÇÃO

O café é um importante produto agrícola brasileiro de exportação, sendo o Brasil, o maior exportador mundial de café. Cresce em todo o mundo a expectativa sobre o mercado de produtos orgânicos, dentre eles o café orgânico. Esse nicho de mercado, embora ainda pequeno, cresce a uma taxa aproximada de 10% ao ano. A crescente demanda por produtos livres de resíduos de agrotóxicos, por parte de produtores e consumidores, reflete a nova realidade e interesse por este tema (Azevedo et al., 2002).

Existe hoje a preocupação de que as cidades e as indústrias estão cada vez mais encontrando dificuldades para dispor de seus resíduos. A disposição ordenada na agricultura destes resíduos no solo, aproveitando-se os nutrientes e materiais orgânicos, vem sendo feita em muitas regiões do mundo. Trata-se de uma oportunidade para as zonas urbanas devolverem, na forma de resíduos orgânicos (composto de lixo orgânico e lodo de esgoto), os alimentos enviados pela zona rural, promovendo a integração dos sistemas urbano e rural (Guimarães et al., 2002). Com a crescente necessidade de se tratar os esgotos, há a disponibilização de resíduos como o lodo de esgoto, rico em matéria orgânica e que exige uma disposição final adequada. Do mesmo modo, a quantidade de lixo urbano gerada é elevada e crescente. Sua fração orgânica possui potencial de utilização na agricultura dependendo de alternativas para a disposição final sem a degradação ambiental. Com o desenvolvimento da agricultura orgânica no âmbito nacional e mundial, outras fontes de matéria orgânica (esterços de bovino, de ovino, de suíno e cama de aves) estão

sendo direcionadas em maior escala para o uso na agricultura. Deste modo, buscou-se avaliar os efeitos dessas fontes de matéria orgânica na cultura do cafeeiro, a fim de serem aproveitadas na forma de substratos para produção de mudas, bem como simular os possíveis efeitos de altas concentrações das fontes de matérias orgânicas na Ferrugem do cafeeiro em condições de casa de vegetação.

De modo geral, as fontes de matéria orgânica são altamente benéficas às diversas culturas, face à melhoria nas propriedades físicas do solo, incluindo aumento da disponibilidade de macro e micronutrientes, por meio da mineralização da matéria orgânica; elevação da capacidade de troca catiônica; diminuição da fixação de fósforo por óxidos amorfos; agregação do solo, reduzindo a suscetibilidade à erosão; aumento da capacidade de retenção de água; favorecimento das operações de preparo e das atividades microbiológicas do solo (Kiehl, 1985). Assim, a nutrição e a adubação do cafeeiro sob o paradigma orgânico poderão manter a fertilidade do solo por meio da utilização dos recursos naturais disponíveis e contribuir para uma agricultura sustentável.

Em diversas cidades do estado de São Paulo, o cafeeiro é uma das culturas que vem recebendo a aplicação do lodo de esgoto com a finalidade de fornecimento de nutrientes e de matéria orgânica, sem o conhecimento dos seus efeitos sobre as doenças da cultura. A Ferrugem, principal doença do cafeeiro, tem sido controlada principalmente com fungicidas e variedades resistentes. A indução de resistência às doenças de plantas, obtida com o emprego de matéria orgânica, pode ser um componente indispensável em medidas de controle integrado, visando a preservação ambiental e a redução dos custos de produção.

O presente trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos da incorporação dessas fontes de matéria orgânica ao solo para a produção de mudas na indução da resistência sistêmica à Ferrugem do cafeeiro. Os efeitos da incorporação das fontes de matéria orgânica foram avaliados sobre o comportamento das mudas (altura; teor de nitrogênio total foliar; e porcentagem de folhas lesionadas, número de lesões por folha lesionada e a esporulação das lesões da Ferrugem), das propriedades químicas (pH e condutividade elétrica) e atividade microbiana do solo (hidrólise do diacetato de fluoresceína – FDA). A indução de resistência sistêmica à Ferrugem foi avaliada

bioquimicamente por meio da atividade enzimática da peroxidase e da polifenoloxidase com o lodo de esgoto e com o composto de lixo, em condições de casa de vegetação.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Geração de resíduos nos centros urbanos

Os esgotos e o lixo urbano constituem-se nos dois maiores problemas ambientais a serem enfrentados pelo homem no decorrer do século XXI. As quantidades geradas são enormes, o que vem acelerando o ritmo de degradação dos recursos naturais.

De acordo com a Secretaria de Planejamento do governo brasileiro, apenas 30% dos esgotos produzidos em cidades brasileiras foram coletados em 1996 sendo que, deste total, cerca de 8% receberam algum tipo de tratamento (Ludovice, 1998). Andreoli & Pegorini (1998) reportaram que 10 milhões de metros cúbicos de esgotos são despejados diariamente nos cursos d'água sem nenhum tratamento, situação que deve ser agravada com o aumento nas redes de coletas nos próximos anos.

Esta situação faz do tratamento dos esgotos uma prática indispensável para a preservação dos recursos hídricos. No entanto, desse tratamento resulta o lodo de esgoto, cuja a disposição final é problemática e pode representar 60% dos custos de operação de uma estação de tratamento (Centro Nacional de Referência em Gestão Ambiental Urbana, 1998). Embora uma fração muito pequena dos esgotos seja tratada, quantidades significativas e crescentes de lodo de esgoto vêm sendo geradas.

Conjuntamente aos problemas dos esgotos, no Brasil são produzidos cerca de 100 mil toneladas de lixo urbano (Canabarro, 1995), e para Lima et al. (1998) deve chegar a 170 mil toneladas diárias nos próximos 5 anos. No Brasil, 59% do lixo gerado é simplesmente disposto em lixões a céu aberto, sem o mínimo de critério técnico, 1% é jogado em cursos d'água, 13% é disposto em aterros controlados, 25% em aterros sanitários e o restante se divide em incineração e compostagem (Grossi, 1993). No Estado de São Paulo, cerca de 87% do lixo gerado é disposto em lixões a céu aberto, 8% em aterros controlados e 5% em aterros sanitários (Ferro Neto, 1994).

O tratamento do lixo consiste basicamente na separação da sua fração orgânica dos materiais inertes recicláveis como vidro, papel, papelão, material ferroso e plástico. A fração orgânica pode ser tratada por meio da compostagem, tendo como produto final um resíduo orgânico humificado com potencial de utilização na agricultura. Embora haja esta alternativa, o tratamento de lixo no Brasil ainda é incipiente. Dados do IBGE apontaram para menos de 1% a quantidade tratada e compostada. Em 1995, na cidade de São Paulo, das 12 mil toneladas geradas diariamente, apenas 1,5% foi processada em usinas de reciclagem e compostagem (Melo et al., 1997).

Estima-se que uma população de cem mil habitantes produz de 50-60 Mg/dia de lixo bruto. A grosso modo calcula-se que o lixo produzido por habitante é de 500 a 1000 gramas por dia, sendo em média de 500 a 700 gramas por dia por pessoa, material na base úmida. Do lixo coletado, 50% em peso darão resíduos compostáveis (contendo de 60 a 70% de água), 30-40% de rejeitos desprezíveis e 10-20% de rejeitos recicláveis. O resíduo compostável após o preparo do composto deve apresentar de 35 a 45% de umidade, perdendo no processo de um terço à metade de seu peso inicial (Kiehl, 1985).

A atenuação ou até mesmo a solução dos problemas causados pelos esgotos e lixos urbanos passam necessariamente por dois caminhos: o primeiro deles é a educação da população ou seja, não basta tratar resíduos, é imprescindível combater o desperdício e reduzir os volumes gerados; o segundo é a implementação de políticas ambientais e de saneamento básico que visem ampliar a capacidade de tratamento desses resíduos. O sucesso das estações ou usinas de tratamento por sua vez, depende da viabilização técnica e econômica de alternativas para a disposição final do lodo de esgoto e

do composto de lixo e neste contexto, o potencial de utilização desses resíduos na agricultura, assume grande importância (Oliveira, 2000).

2.2 Geração de resíduos na agropecuária

A criação de suínos, bovinos, ovinos e aves em sistemas intensivos e confinados tem gerado problema para criadores, pois há a produção de resíduos orgânicos em grande quantidade. Os mesmos, quando não dispostos adequadamente, geram impactos ambientais negativos que interferem no processo de produção da agropecuária. Por outro lado, quando aproveitados adequadamente, são excelentes fontes de nutrientes, especialmente N, podendo suprir, parcialmente ou totalmente, o fertilizante na produção agrícola. Além do benefício como fornecimento de nutrientes, o seu uso adiciona matéria orgânica que melhora os atributos físicos do solo, aumenta a capacidade de retenção de água, reduz a erosão, melhora a aeração e cria um ambiente mais adequado para o desenvolvimento da microbiota do solo. Desta forma, os resíduos orgânicos são considerados insumos de baixo custo e de alto retorno econômico na agropecuária, além do retorno direto da atividade (Menezes et al., 2002).

A criação intensiva de suínos tem sido uma das atividades agrícolas de maior expansão no Brasil (IBGE, 1999). Esta atividade produz em média 8,6 litros/dia/animal em terminação de dejetos líquidos, incluindo esterco e urina (Cheverry et al., 1986). Um suinocultor médio com 3000 animais produz quantidade equivalente de esgoto a uma cidade de 12.000 habitantes, podendo causar enormes problemas ambientais ao atingir mananciais de água potável. Os dejetos de suínos são compostos de fezes, urina, água, restos de ração, pêlos e animais mortos. A composição química do chorume é formada por elementos essenciais para as plantas, tais como N, P, K, Ca, Mg, S, Fe, Zn, Mn, Co e Cu (Cheverry et al., 1986). Deve-se destacar também a presença de material orgânico na composição do chorume, com grande impacto na química, física e biologia do solo. Desta forma, o chorume é um dejetos de grande valor para a fertilidade do solo e nutrição das plantas.

Vários trabalhos têm documentado que a aplicação do chorume de suíno no solo causa aumentos nos teores de nutrientes, principalmente P (Oliveira & Parizotto, 1994; Parra et al., 1999). O efeito não foi apenas no P-total mas também nas frações inorgânicas de P, sugerindo uma rápida mineralização do P orgânico presente no chorume (Parra et al., 1998). As alterações na fertilidade do solo com a aplicação do chorume de suínos causou aumentos nos teores de nutrientes nas folhas de feijoeiro, principalmente N, P, K e Zn (Parra et al., 1999). Aplicação de chorume no solo tem proporcionado aumentos nas produções de milho, soja e trigo (Oliveira & Parizotto, 1994) e feijão (Parra et al., 1999). O efeito da adubação orgânica e mineral sobre o desenvolvimento de doenças de plantas foi relatado para diversos patossistemas (Zambolim & Ventura, 1993; Malavolta, 1998; Tanaka et al., 2002). A nutrição mineral pode determinar a intensidade dos sintomas de doenças, como relatado por Tanaka (2002), onde solos com alta fertilidade, principalmente elevados teores de nitrogênio, favoreceram o desenvolvimento da antracnose em cultivo de morango. Assim, na recomendação da adubação nitrogenada e orgânica deve-se levar em consideração o teor de matéria orgânica do solo, sem o que, adubação pode resultar em plantas com condições nutricionais propícias para o desenvolvimento da doença.

2.3 Critérios para a aplicação de resíduos orgânicos urbanos em solos agrícolas

Nos países desenvolvidos, que apresentam legislações bem definidas para disposição final de resíduos com potencial poluente, os critérios adotados para a aplicação de lodo de esgoto ou composto de lixo em solos agrícolas são bastante variáveis, o que reflete as dificuldades em se estabelecer normas a respeito deste assunto, mesmo contando com um considerável volume de resultados de pesquisa (Rodella & Alcarde, 1999). No Brasil, a necessidade de se regulamentar a aplicação desses resíduos é urgente e, neste sentido, os Estados do Paraná e de São Paulo já deram passo a frente. No Paraná, por meio da SANEPAR, foram propostas normas, com alguns critérios adaptados da legislação da Espanha, regulamentando a utilização agrícola do lodo de esgoto produzido naquele Estado (Companhia de Saneamento do Paraná, 1997). Para São Paulo, a CETESB por meio da Norma P. 4.230 dispõe de critérios e procedimentos para a aplicação

de lodo de esgoto em áreas agrícolas (Companhia de Tecnologia e Saneamento Ambiental, 1999). Esta norma por sua vez, foi basicamente uma adaptação da norma 40 CFR (Code of Federal Regulations) Part 503 da U.S.EPA – United States Environmental Protection Agency (1996). Para o composto de lixo não existe no Brasil nenhum tipo de regulamentação. No entanto, acredita-se que no futuro esta deverá seguir, em linhas gerais, os critérios estabelecidos para o lodo de esgoto.

De modo geral, as legislações são fundamentadas em aspectos comuns como aqueles que dizem respeito às características químicas e microbiológicas dos resíduos, a escolha das áreas aptas a receberem os resíduos e naqueles que determinem as taxas e frequências de aplicações. As grandes diferenças ficam por conta do grau de exigência ou tolerância preconizado em cada legislação.

Para o Estado de São Paulo, a aplicação de lodo de esgoto em solos agrícolas é realizada por meio da elaboração de um projeto no qual deve ser observado os seguintes itens: composição química e biológica do lodo de esgoto (presença de organismos patogênicos, teores de metais pesados e outros produtos tóxicos), lodo proveniente de processos de tratamento eficientes na redução de atração de vetores aprovados pela CETESB (1999), características da área onde se pretende aplicar o lodo (declividade do terreno, localização, profundidade do lençol freático, conteúdo de metais pesados), potencial de mineralização do N-orgânico do lodo no solo onde será aplicado. Se os teores de metais pesados estiverem em concentrações superiores aos limites estabelecidos na P 4.230, a CETESB determina que não será permitida a sua aplicação em solos agrícolas (CETESB, 1999; Straus, 2000). Com relação aos patógenos, somente será aceita a aplicação de lodos que se enquadrem nas classes A ou B, desta mesma norma. Os processos de tratamento para a redução de patógenos podem ser de tipo físico (temperatura, dessecação, irradiação, estocagem), biológico (digestão aeróbia, anaeróbia, compostagem) e químico (calagem). O resultado de cada um deles tem efeito variável, dependendo do tipo de tratamento em causa, da operacionalização do sistema e se são utilizados independentemente ou combinados (Soccol & Paulino, 2000; Melo et al., 2001).

As taxas de aplicação do lodo de esgoto são definidas com base no mais restritivo dos seguintes critérios: nitrogênio disponível para a cultura; poder de neutralização; teor de metais pesados no resíduo e no solo; e teor de metais pesados

acumulados por aplicações sucessivas. O critério do nitrogênio disponível é definido em função da capacidade do lodo de esgoto disponibilizar tal nutriente para as plantas, num determinado período de tempo. A CETESB recomenda na Norma P 4.230 alguns ensaios para se verificar a taxa de mineralização de N-orgânico presente no resíduo. De posse da taxa de mineralização e do conhecimento das concentrações de formas orgânicas e inorgânicas do elemento presentes no lodo de esgoto, pode-se determinar a quantidade de lodo a ser aplicada (CETESB, 1999; Straus, 2000; Melo et al., 2001).

A taxa de aplicação do lodo de esgoto em Mg ha^{-1} é então definida pelo quociente entre a quantidade de nitrogênio recomendada para a cultura em Kg ha^{-1} e o teor estimado de nitrogênio disponível em Kg Mg^{-1} no lodo de esgoto. Provavelmente, para lodos de estações de tratamento onde predominam esgotos domésticos, este critério será o mais restritivo na definição das taxas de aplicação; considerando as quantidades médias de N recomendadas para a maioria das culturas e as quantidades médias de nitrogênio disponível no lodo, as taxas devem variar, de acordo com este critério, de 5 a 20 Mg ha^{-1} (base na matéria seca) de lodo de esgoto (Wallace & Wallace, 1994).

Com relação ao poder de neutralização do resíduo, aplica-se esse critério essencialmente a lodos de esgoto estabilizados com cal. Nesses casos, a definição das taxas de aplicação deverá considerar resultados de ensaios com misturas de lodo-solo de forma a garantir que o pH final da mistura não ultrapasse o valor máximo de 7,5 (determinado em água, relação solo:água 1:2,5). A taxa anual máxima de aplicação do resíduo não poderá resultar em quantidades de metais pesados superiores aos limites estabelecidos na P 4.230, bem como a carga cumulativa desses metais, resultante de sucessivas aplicações (CETESB, 1999). No entanto, é imprescindível o monitoramento periódico de todos os componentes do ambiente agrícola como solo, água e as plantas, a fim de verificar se os teores limites da norma P 4.230 não foram atingidos.

2.4 Matérias orgânicas no controle de doenças de plantas

A utilização de resíduos orgânicos na agricultura data de antes 50 a.C. e, talvez, se constitua no mais antigo exemplo de controle biológico de doenças de plantas. Contudo, somente a partir da década de 1960 que se despertou para a utilização de

matéria orgânica visando a obtenção de supressividade a fitopatógenos e/ou a doenças de plantas (Hoitink & Fahy, 1986).

O uso de diferentes matérias orgânicas promoveu o controle de diversos fitopatógenos habitantes do solo (Hoitink et al., 1997; Spencer & Benson, 1982; Lumsden et al., 1983; 1986, Hoitink & Fahy, 1986; Hadar & Mandelbaum, 1986; Hadar et al., 1992). A maioria destes estudos não relata o mecanismo de ação da supressividade. Na maioria dos modelos de supressão de doenças, a estimulação de microrganismos antagônicos na rizosfera ou indução de reações de defesa no tecido da planta hospedeira são considerados responsáveis pelos efeitos benéficos (Harman & Lumsden, 1990). Assim, matérias orgânicas podem induzir as plantas a se tornarem resistentes aos patógenos da parte aérea, sendo esse aspecto relevante no manejo integrado de doenças (Hoitink et al., 1997). Por outro lado, Hoitink (1980) e Bettioli (2002) relatam que matérias orgânicas podem promover certas doenças.

A pesquisa em controle biológico e supressão de patógenos fúngicos de plantas tem aumentado no mundo nas últimas décadas (Janisiewicz, 1988; Park et al., 1988). Embora as pesquisas tenham freqüentemente, se concentrado em microrganismos individuais, o uso de substratos orgânicos com uma microbiota complexa tem demonstrado ser efetivo na proteção das plantas às doenças (Hoitink & Fahy, 1986; Mandelbaum et al., 1990). Materiais orgânicos compostados, tais como resíduos de plantas e esterco de animais, tem sido utilizados por mais de 2000 anos para aumentar a fertilidade do solo. Existe uma relação entre a ocorrência de doenças de plantas do solo e o conteúdo de matéria orgânica (Lumsden et al., 1983). A nutrição balanceada com compostos tem sido considerada fundamental para a manutenção da sanidade das plantas devido a influência nos seus mecanismos de resistência (Chaboussou, 1985).

Tränkner (1992) relatou que plantas jovens de pepino cultivadas em solo misturado com composto tiveram menor incidência de Oídio do que as plantas cultivadas em solo sem composto. Plantas cultivadas em uma mistura de igual quantidade de solo e composto foram 20% menos infectadas quando comparadas com a testemunha, 10 dias após a inoculação. Quando a quantidade de composto do meio de cultivo foi de 1:3, a infecção decresceu 40% quando comparado à infecção de plantas crescidas em solo de campo sem composto. Do mesmo modo, compostos incorporados aos solos desenvolveram

supressividade ao Oídio em sementeiras de cevada e de trigo. A cevada semeada em solo contendo diferentes dosagens de composto de uva foi menos susceptível à *Erysiphe graminis* quando comparado àquela semeada em solo sem composto. O número de pústulas de Oídio nas folhas foi significativamente reduzido pelo efeito do composto. A incidência do Oídio, em plantas desenvolvidas em um substrato enriquecido com 25% de composto, foi reduzida a 39% na segunda folha e a 35% na terceira folha, quando comparado com plantas cultivadas em solo sem composto. A incidência da doença foi suprimida em 95%, quando igual quantidade de solo e composto foi usado como substrato de crescimento.

O aumento da resistência às doenças em plantas desenvolvidas em compostos incorporados ao solo, parece ser devido às substâncias presentes no próprio composto ou provenientes da sua decomposição. Estas podem ser absorvidas e transportadas sistemicamente para todas as partes da planta e tornar a planta resistente. Por outro lado, as substâncias presentes nos compostos também podem atuar como sinalizadoras da indução de resistência sistêmica ou proporcionar uma nutrição balanceada a planta (Chaboussou, 1985). De qualquer maneira, o exato modo de ação não foi ainda determinado.

Grandes quantidades de compostos incorporados ao solo são necessárias para gerar supressividade a patógenos foliares de plantas. Embora este sistema de controle possa ser adaptável para cultivo em plantas de casa de vegetação, ele não pode ser considerado prático para culturas de campo, onde grande quantidade de compostos são economicamente impraticáveis (Tränkner, 1992). Por outro lado, para a disposição final das grandes quantidades de lodo de esgoto e de composto de lixo geradas nas estações de tratamentos de esgotos e usinas de reciclagem de lixo, poderá ser uma alternativa econômica e socialmente viável.

Tränkner (1992) reportou que esses materiais induzem resistência sistêmica para Oídio em trigo. Usando um sistema de raízes separadas, Zhang et al. (1996) demonstraram que somente uma parte do sistema radicular da planta de pepino foi necessária ser exposta ao composto supressivo em vasos, para induzir proteção ao *Pythium* no sistema radicular inteiro. Em adição, outros estudos verificaram que a folhagem de plantas de pepino, produzidas em alguns substratos orgânicos também pode ser protegida de antracnose, quando comparada a plantas crescidas na mistura de *Sphagnum* e turfa,

previamente conhecida como conducente a várias doenças causadas por patógenos do solo (Boehm & Hoitink, 1992; Hoitink et al., 1991).

Compostos efetivos contra determinadas doenças de plantas aumentam a atividade de proteínas relacionadas a patogênese, (β -1,3 glucanase e peroxidase em pepino e *Arabidopsis*), mas muito destes aumentos de atividades também podem ocorrer após a planta tornar-se infectada com o patógeno (Zhang et al., 1996; 1998). Isto leva à conclusão de que determinadas matérias orgânicas induzem as plantas a se defender contra um determinado patógeno, via a ativação de rotas bioquímicas do metabolismo de defesa.

Han et al. (1998) identificaram vários microrganismos em compostos supressivos capazes de induzir resistência sistêmica em rabanete e pepino. *Trichoderma hamatum* 382 e *Pantoea agglomerans* 278A aplicados nas raízes de plântulas induziram resistência a pinta bacteriana foliar causada por *Xanthomonas campestris* pv. *armoracea*. Vários tipos de microrganismos da rizosfera podem induzir este efeito em plantas (van Loon et al., 1998). Infelizmente, menos de 10% dos grupos e tipos de compostos testados demonstraram capacidade de promover uma resposta de indução de resistência sistêmica em plantas (Krause et al., 1998), os quais sugerem a necessidade de estratégias específicas para assegurar a eficiência do produto.

Vários relatos têm mostrado que alguns microrganismos da rizosfera podem induzir resistência sistêmica em plantas às doenças do sistema radicular e foliares (Han et al., 2000). Por exemplo, as rizobacterias promotoras de crescimento de plantas *Pseudomonas fluorescens* (isolado 89B-27) e *Serratia marcescens* (isolado 90-166) podem induzir resistência sistêmica em pepino contra a antracnose (Wei et al., 1991; 1996), murcha de *Fusarium* (Liu et al., 1995a), mancha angular da folha (Liu et al., 1995b), e *Cucumber mosaic virus* (Raupach et al., 1996) sob condições de casa de vegetação e campo, quando aplicados como tratamentos de sementes. Fungos promotores de crescimento de plantas, isolados da rizosfera de *Zoisiagrass*, podem induzir resistência sistêmica em pepino contra a antracnose (Meera et al., 1994). *Trichoderma harzianum* (isolado T39) induziu resistência sistêmica à *Botrytis cinerea* em tomate, pimenta, feijão, alface e fumo (De Meyer et al., 1998). Estes microrganismos induzem um efeito sistêmico

contra patógenos mesmo quando permanecem espacialmente separados na planta. Este tipo de resistência sistêmica induzida por microrganismos não patogênicos tem sido chamada de resistência sistêmica induzida (*Induced Systemic Resistance* - ISR) (Kloepper et al., 1992; Pieterse et al., 1998) para distinguir da resistência sistêmica adquirida (*Systemic Acquired Resistance* - SAR) (Ross, 1961; Delaney, 1997; Ryals et al., 1994/1996).

A SAR sempre é acompanhada por um aumento na concentração do ácido salicílico (SA - *salicylic acid*) e na indução de proteínas relacionadas a patogênese (*Pathogenesis-Related/PR*-proteins) nas plantas (Tuzun & Kuc, 1987; Tuzun et al., 1989; Métraux et al., 1990; Ward et al., 1991; Palva et al., 1994; Hoffland et al., 1995; Vernooij et al., 1995; Keller et al., 1996; Ryals et al., 1996; Sticher et al., 1997). Ácido salicílico aplicado exogicamente (Palva et al., 1994) e outras substâncias químicas, tais como o análogo ao SA, o ácido 2,6-dicloroisonicotínico (INA) (Vernooij et al., 1995) e os benzothiazoles (Göulach et al., 1996; Kunz et al., 1997) também podem induzir a resistência sistêmica adquirida. Vários fungicidas também têm sido indicados como indutores da SAR (Kessmann et al., 1994). Estes produtos induzem a acumulação de PR-proteínas (Alexander et al., 1992). Em contraste, a ISR, induzida por microrganismos da rizosfera, não envolve a rota de sinalização do SA ou da indução de PR-proteínas (Hoffland et al., 1996; Pieterse et al., 1996/1998). O ácido jasmônico e o etileno são ativados na rota de sinalização da ISR (Pieterse et al., 1998). Mitter et al. (1998) identificaram um gene codificando a defesa de *Arabidopsis thaliana* (PDF 1.2) que é induzido pelo ácido jasmônico, mas não pelo SA. Isto mostra que, provavelmente, ambos os sistemas operam independentemente em plantas. Realmente, van Wees (1999) e van Wees et al., (1997) mostraram que plantas de *Arabidopsis* na qual a ISR, induzida por uma rizobactéria promotora de crescimento, e a SAR, induzida por um patógeno ou pelo SA, exibiram efeito aditivo no nível de resistência contra *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*. Em resumo, o conhecimento de como os agentes de controle biológico induzem a resistência sistêmica pode ser importante para a efetiva aplicação desta pesquisa no controle biológico (Han et al., 2000).

Diversas matérias orgânicas e microrganismos apresentam potencial para o controle de doenças da parte aérea das plantas por meio da indução resistência sistêmica. Deste modo, há grande interesse na utilização de resíduos gerados pelas

atividades humanas no controle de doenças das plantas. Neste aspecto, o tratamento de esgoto resulta na produção de um lodo rico em matéria orgânica e nutrientes, denominado de biossólido ou lodo de esgoto, sendo amplamente recomendada sua aplicação como condicionador de solo e/ou fertilizante. O uso do lodo de esgoto como fertilizante causa alterações na comunidade de organismos, nos teores de metais pesados e nas propriedades físico-químicas do solo, além da decomposição da matéria orgânica. O lodo de esgoto é utilizado em diversas culturas (Bettiol et al., 1982; Lourenço et al., 1996; Ludovice, 1996; 1998; Melo & Marques, 2000) propiciando produtividade semelhante a fertilização mineral.

O lodo de esgoto incorporado ao solo pode promover o controle de fitopatógenos do solo e da parte aérea em diversas culturas. A severidade da podridão de raiz em plantas de sorgo cultivado em solo previamente infestado com micélio de *Pytium arrhenomanes* foi reduzida pelo lodo de esgoto (Bettiol & Krügner, 1984). Seifert, citado por Bettiol & Krügner (1984) verificou redução na infecção de *Cercospora* (*Pseudocercospora*) *herpotrichoides* em trigo com a incorporação de lodo de esgoto. Lumsden et al. (1983) verificaram redução significativa na podridão de raiz por *Rhizoctonia solani* em alface, algodão e rabanete; na podridão de *Sclerotinia minor* em alface; na murcha de *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonia* em pepino; na podridão de raiz em ervilha por *Aphanomices solani* e na podridão do colo de pimenteira por *Phytophthora capsici* pela adição de 10% de composto de lodo de esgoto ao solo. Lumsden et al. (1986) verificaram uma redução significativa na incidência da podridão de *Sclerotinia minor* em alface em condições de campo com a utilização do lodo de esgoto.

Os compostos orgânicos obtidos por meio da mineralização biológica de resíduos orgânicos, sob condições especiais de temperatura, umidade e aeração, além do efeito benéfico nas características físico-químicas do solo, como fertilizante orgânico, podem contribuir para o controle de doenças de plantas, principalmente daquelas induzidas por patógenos habitantes e/ou invasores do solo. Embora possa ocorrer indução de resistência nas plantas, os principais mecanismos de controle são decorrentes da atividade da biomassa microbiana presente nesses compostos. Fatores abióticos, como o material de origem, o método de compostagem e o nível de estabilização do composto afetam, indistintamente, as populações de patógenos e de antagonistas e, conseqüentemente, a supressividade às doenças. A incorporação de

antagonistas ao composto pode aumentar o efeito supressivo desse e contribuir para o controle de doenças de plantas. Os compostos orgânicos podem atuar nos fitopatógenos diretamente, ou indiretamente favorecendo o aumento da população dos antagonistas. Estes efeitos podem variar de acordo com a interação patógeno-hospedeiro e com o tipo e a origem do composto orgânico (Pereira et al., 1996).

Os nutrientes minerais provenientes da decomposição da matéria orgânica podem exercer importantes funções no metabolismo vegetal, influenciando não somente o crescimento e a produção das plantas, mas também o aumento ou a redução da resistência a determinados patógenos. A resistência pode ser aumentada por modificações na anatomia (células da epiderme mais grossas, lignificadas e ou silificadas) e nas propriedades fisiológicas e bioquímicas (produção de substâncias inibidoras ou repelentes). A resistência pode, particularmente, ser aumentada pela alteração nas respostas das plantas aos ataques de patógenos, aumentando as barreiras mecânicas (lignificação) e a síntese de compostos tóxicos. Os elementos minerais estão envolvidos em todos os mecanismos de defesa como componentes integrais ou ativadores, inibidores e reguladores de metabolismo. Com relação aos efeitos do nitrogênio, ocorre diferenças em relação à forma com que o nutriente é aplicado. A forma $\text{NO}_3\text{-N}$ geralmente reduz e a forma $\text{NH}_4\text{-N}$ aumenta o ataque de patógenos. Entretanto, para o caso das Ferrugens a nutrição nitrogenada tende a aumentar a severidade de ataque, enquanto que o potássio tende a reduzir (Zambolim & Ventura, 1993). Por outro lado, o material orgânico pode reduzir a incidência e/ou a severidade da doença, pela indução da resistência sistêmica. Este fenômeno pode ocorrer de modo direto e/ou indiretamente, devido ao incremento da atividade da microbiota do solo e fornecimento de elementos minerais, pela decomposição da matéria orgânica no solo. Deste modo, o emprego de matérias orgânicas ao solo com o objetivo de controle de doenças da parte aérea das plantas, poderá vir a ser uma prática agrícola de potencial utilização, sendo que há a necessidade de se conhecer o fenômeno pelo qual é alterado o hospedeiro. Modificações histoquímicas e bioquímicas no tecido foliar das plantas têm sido observadas em diversos estudos (Silva et al., 1999; Pharand et al., 2002), esclarecendo os possíveis mecanismos envolvidos na interação patógeno-hospedeiro. O acompanhamento da atividade enzimática nos tecidos foliares do hospedeiro, após sua inoculação com o

patógeno, permite estabelecer as possíveis rotas metabólicas envolvidas nas transduções de sinais relacionados com a resistência da planta.

A indução de resistência local e sistêmica a doenças tem sido observada em várias plantas em resposta ao tratamento prévio do hospedeiro com agentes bióticos (patógeno, microrganismos não patogênicos) ou abióticos, denominados elicitores ou indutores de resistência (Kuc, 1995). As plantas ativam um conjunto de respostas de resistência após o reconhecimento de um patógeno em potencial, de seus metabólitos ou pela aplicação exógena de indutores de resistência. Estes capacitam as plantas a responder à infecção mais rapidamente do que o normal e evitam outros patógenos de colonizar, com sucesso, o hospedeiro (Madamanchi & Kuc, 1991). Um amplo espectro de resposta é induzido nas plantas, incluindo aumento da concentração de compostos fenólicos; síntese de fitoalexinas; deposição de calose; lignificação; aumento da atividade da peroxidase, envolvida na formação de radicais livres, a partir de álcoois cinâmicos para a polimerização da lignina; produção de inibidores de proteinase e enzimas líticas, tais como glucanases e quitinases (Hammond-Kosack & Jones, 1996).

A indução de resistência em cafeeiros (*Coffea arabica* L.) a Ferrugem, causada por *Hemileia vastatrix* Berkeley et Broom., foi demonstrada tratando-se previamente folhas de plantas suscetíveis com filtrados de uma suspensão de uredíniosporos de *H. vastatrix*, inativados termicamente, antes de uma posterior inoculação com o patógeno (Moraes et al., 1976); com polissacarídeos extracelulares ricos em β -mananas liberados de uredíniosporos autoclavados de *H. vastatrix* (Guzzo et al., 1987); com algumas bactérias e fungos não patogênicos ao cafeeiro (Martins et al., 1985b); com *Bacillus thuringiensis* (Roveratti et al., 1989); e com polissacarídeos extracelulares de bactérias fitopatogênicas ou goma xantana (Guzzo et al., 1993). A indução de resistência em cafeeiros suscetíveis foi correlacionada com a síntese das proteínas – RP (proteínas relacionadas a patogênese), β -1,3-glucanase e quitinase (Guzzo & Martins, 1996). Guzzo et al. (1999) obtiveram a proteção local de cafeeiros contra *H. vastatrix* utilizando cloreto de benzalcônio, um composto de amônio quaternário. Foi constatado um aumento significativo do teor de compostos fenólicos e da atividade das enzimas β -1,3-glucanase e quitinase em relação às plantas testemunhas.

A aplicação de matérias orgânicas pode colaborar com o aumento da resistência das plantas às doenças, bem como aumentar a sua suscetibilidade. Assim, devido a importância da cultura e da doença, buscou-se obter informações sobre o efeito das matérias orgânicas na interação compatível cafeeiro-Ferrugem.

2.5 Bioquímica da resistência no complexo cafeeiro – Ferrugem alaranjada.

2.5.1 Considerações gerais sobre resistência/susceptibilidade

É do conhecimento geral que as plantas, no seu habitat, têm desenvolvido mecanismos de resistência às doenças para se auto-protegerem dos agentes patogênicos (Matern & Grimmig, 1993). Na maior parte das vezes, porém, as interações estabelecidas entre patógenos e os tecidos das plantas não resulta em doença, sendo a resistência o caso mais generalizado e a susceptibilidade o menos freqüente (Rodrigues Jr, 1980).

A sobrevivência da planta, numa interação patógeno-hospedeiro, deve-se a sua capacidade de coordenar os vários mecanismos de defesa ao longo das diferentes fases de interação, de modo a vir a definir um fenótipo resistente (Matern & Grimmig, 1993).

A resistência das plantas aos patógenos pode ser classificada de resistência do não-hospedeiro, que atua contra microrganismos não patogênicos para esse hospedeiro; e resistência do hospedeiro que atua contra agentes normalmente patogênicos para algumas variedades desse hospedeiro. A especificidade dos agentes patogênicos, restritos a uma única espécie ou a espécies intimamente relacionadas, manifesta-se sob a forma de raças fisiológicas, cada uma delas, por sua vez, restringida a alguns genótipos da espécie hospedeira (ex. Ferrugem, Míldio, Oídios). Este tipo de especificidade é geneticamente definida pela relação gene-a-gene de Flor (1955), por meio de uma complementaridade entre os genes do hospedeiro e os do patógeno (Rodrigues Jr, 1980).

Deste modo, devem existir nas plantas mecanismos gerais de resistência que lhes permitem manter-se sadias em presença de um grande número de potenciais agentes patogênicos e pragas. É possível que a resistência das plantas não-

hospedeiras aos agentes patogênicos se verifique em virtude de algumas das capacidades do patógeno não serem compatíveis com algumas características da planta. Em outras palavras, devem existir diferenças entre os fatores de patogenicidade dos diferentes agentes patogênicos e diferenças bioquímicas e estruturais entre as diferentes espécies dos hospedeiros. Qualquer característica da planta responsável por esta incompatibilidade, tal como topografia foliar estranha, falta de determinado nutriente ou a presença de determinada toxina para o agente patogênico, pode ser considerado um mecanismo de defesa, desde que contribua para a resistência da planta aos agentes patogênicos (Heath, 1994). Outros mecanismos mais específicos devem existir, por outro lado, como responsáveis por uma maior especificidade das relações patógeno-hospedeiro (Rodrigues Jr, 1980).

Os mecanismos de resistência podem ainda ser classificados em constitutivos ou passivos e induzidos ou ativos, isto é, se estão presentes antes da infecção ou se são induzidos por ela (Rodrigues Jr, 1980). Segundo Ingham (1973), quando a resistência é devida à presença de compostos inibitórios, uma terceira categoria pode ser considerada, a dos compostos semiconstitutivos, ou seja, os compostos que, embora pré-existent nas células do hospedeiro, aumentam de concentração após a infecção pelo patógeno. Os compostos metabólicos envolvidos podem ser de alto peso molecular, tais como os constituintes da parede celular e depósitos de lignina, suberina e calose, ou de baixo peso molecular, tais como: acumulação de cálcio ou sílica, compostos fenólicos, inibidores de enzimas, aumento de certas enzimas hidrolíticas, síntese de proteínas *b* e fitoalexinas (Ride, 1978; Rodrigues Jr, 1980; Ouchi, 1983).

2.5.2 Principal via metabólica envolvida na resposta de resistência das plantas

A produção de metabolitos secundários pelas plantas, como resposta aos agentes patogênicos, tem sido intensivamente estudada. Entre as vias metabólicas envolvidas nesta resposta, a mais estudada tem sido a via fenilpropanóide, responsável pela síntese de compostos fenólicos, lignina e algumas fitoalexinas.

2.5.2.1 Compostos fenólicos

Praticamente todos os compostos fenólicos das plantas superiores são formados a partir do ácido xiquímico, tendo como composto intermediário a fenilalanina. A primeira reação da via fenilpropanóide é a conversão da L-fenilalanina em ácido *trans*-cinâmico pela fenilalanina amônia-liase (PAL). Esta enzima encontra-se em vários tecidos das plantas, dicotiledôneas e monocotiledôneas. O produto da desaminação da fenilalanina pela PAL pode ter vários destinos, dependendo do tipo e do estágio de desenvolvimento do tecido onde a enzima se encontra. Além disso, a PAL pode ser estimulada por diferentes tipos de stresses, tais como: danos mecânicos, radiações U. V., vários elicitores e ataques por agentes patogênicos. A resistência das plantas ao ataque pelos fungos patogênicos pode depender da rapidez e quantidade de síntese de uma ou mais enzimas induzidas no hospedeiro pelo agente patogênico. A análoga desaminação da tirosina pela tirosina amônia-liase (TAL) é também possível em muitas plantas embora seja característica das gramíneas, dando origem diretamente, se bem que em menor eficiência, ao ácido *p*-cumárico (Ride, 1975; Yamamoto et al., 1977; Mayama et al., 1981; Agrios, 1988; Bryngelsson & Collinge, 1992).

Na Figura 1, encontra-se esquematizada a biossíntese dos principais grupos de compostos fenólicos - via fenilpropanóide - onde se incluem ésteres dos ácidos hidroxicinâmicos como o ácido quínico (ácido clorogênico e isômeros), glicosídeos de flavonóides (rutenina e quempferol 3-rutinose), hidroxicumarinas e seus heterosídeos. Uma parte apreciável dos ácidos hidroxicinâmicos, ou mais precisamente os seus ésteres do Co-A, é encaminhada para a síntese de flavonóides e, nas plantas lenhosas, lignina. Contudo, muitos deles são também produtos finais, acumulando-se nas plantas como ésteres do ácido quínico (ácido clorogênico ou hidroxicumarinas) (Hanson & Havir, 1981).

A indução da síntese dos compostos fenólicos é considerada uma característica geral das interações patógeno-hospedeiro. Há determinados fenóis que têm sido particularmente relacionados com a resistência do hospedeiro ao patógeno. Assim, a resistência de certas variedades de batateira a *Phytophthora infestans* foi atribuída à acumulação de ácido clorogênico nos tecidos infectados (Friend et al., 1973). Southerton & Deverall (1990) verificaram o envolvimento dos ácidos ferúlico e *p*-cumárico na resistência

de folhas de trigo a *Puccinia recondita* f. sp. *tritici*, e Nicholson et al. (1989) encontraram os mesmos ácidos fenólicos na interação milho-*Colletotrichum graminicola*.

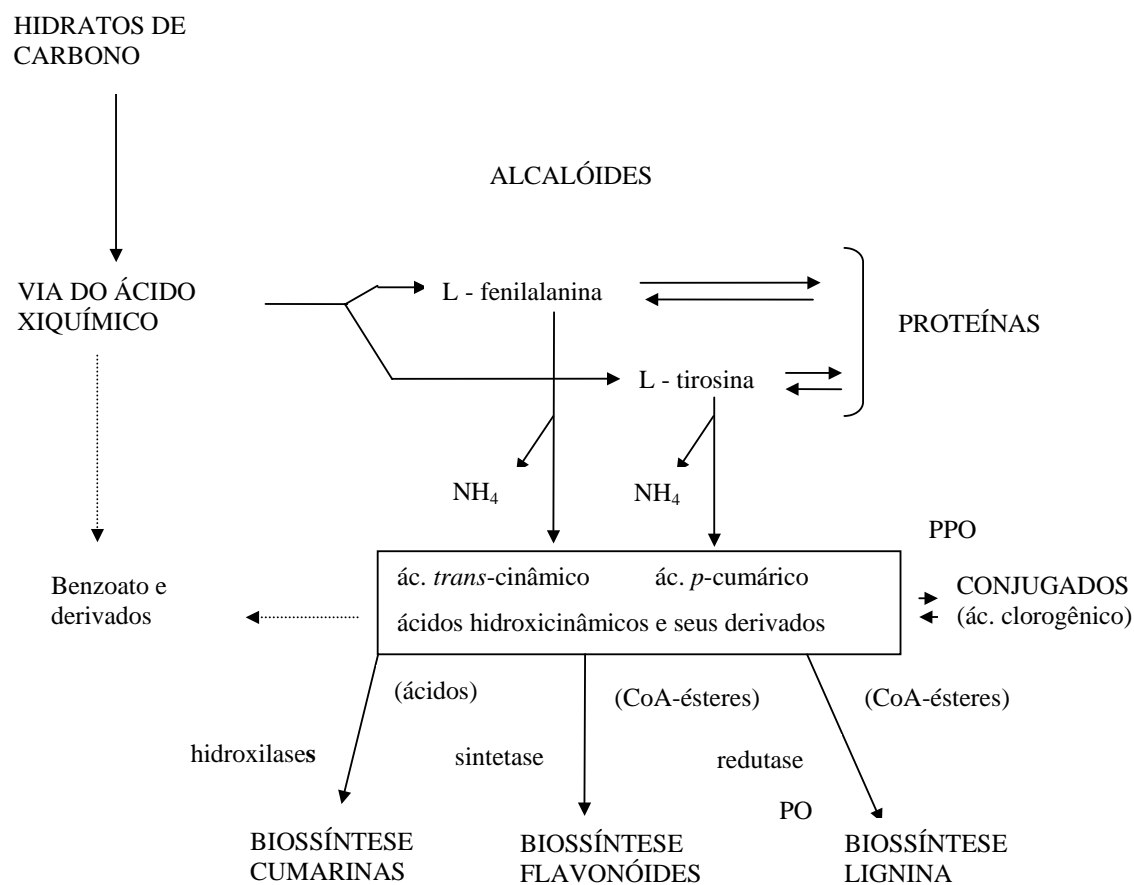


Figura 1 – Via metabólica geral fenilpropanóide, formação da lignina e seus precursores (adaptado de Alibert et al., 1977 e Hugh Jones, 1984).

Em combinações incompatíveis de milho-*Helminthosporium maydis* ocorreu acumulação de antocianinas (pigmentos fenólicos) em volta dos locais de infecção e a acumulação de pigmentos totais foi maior do que nos tecidos não inoculados. Nas combinações compatíveis a acumulação de antocianinas foi muito menor. Heim et al.

(1983) sugeriram que a acumulação de pigmentos poderia ser utilizada como um indicador de resistência ou susceptibilidade, no milho.

Os fenóis produzidos nas reações de resistência das plantas aos agentes patogênicos têm provavelmente uma dupla função; como "pool" de precursores da lignina necessários para aumentar a sua síntese, e como compostos sintetizados *de novo*, que podem ser fungitóxicos (Cahill & McComb, 1992).

2.5.2.2 Lignina

A lignina, polímero complexo de unidades *p*-hidroxifenilpropanóides, é sintetizada a partir de hidratos de carbono que são convertidos inicialmente em ácido xiquímico que, por sua vez, é metabolizado em aminoácidos fenilpropanóides, a fenilalanina e a tirosina. Tal como já foi referido, estes aminoácidos são então convertidos, por ação da enzima PAL (e por vezes através da TAL), em ácido cinâmico e seus derivados (ácidos *p*-cumárico, ferúlico e sinápico), os quais, por redução dos seus grupos carboxílicos, dão origem a derivados do álcool cinamil (respectivamente álcoois *p*-cumaril, coniferil e sinapil). Estes álcoois, que funcionam como precursores imediatos da lignina, são oxidados pela peroxidase e outras enzimas oxidativas e, nos passos finais da lignificação, são polimerizados (Lewis & Yamamoto, 1990) (Figura 1).

Segundo Pearce & Ride (1978; 1980), a lignificação parece ser um mecanismo de resistência induzido quase exclusivamente por fungos, isto é, deverá haver um reconhecimento específico de algum componente ou produto universal dos fungos, que irá constituir a fase inicial da indução deste mecanismo de resistência. Lamb et al. (1983) defendem que o rápido e elevado aumento de atividade da PAL (embora transitório), que parece dever-se à síntese *de novo* da enzima, seja a resposta característica da invasão por fungos ou seus elicitores das células das plantas. Na interação incompatível batata-*Phytophthora infestans* a rápida lignificação parece estar correlacionada com o aumento de atividade da PAL (Friend, 1976). Rodrigues Jr et al. (1982) observaram que lavados de uredíniosporos de *H. vastatrix* induziram, nas folhas de cafeeiro, o espessamento das paredes das células guardas e subsidiárias, tendo mais tarde verificado, através de técnicas histoquímicas, que esse espessamento se devia a acumulação de lignina. Asada et al. (1976)

propuseram um esquema sobre a indução de lignificação, em tecidos infectados, como resposta a interação patógeno-hospedeiro no complexo *Raphanus sativus*-*Penonospora parasitica*. Neste trabalho, os pesquisadores estudaram em raízes de *R. sativus* a atividade de duas enzimas-chave na biossíntese das ligninas, a peroxidase e a PAL, e verificaram que estas apresentavam um aumento de atividade nas raízes infectadas em relação à atividade das raízes sadias.

A função das peroxidases *in vivo* ainda não foi totalmente esclarecida, no entanto, parece desempenhar um papel importante em todo o processo de edificação da parede celular e na formação de lignina. As peroxidases são responsáveis pela: formação de H₂O₂ necessário à oxidação e polimerização do álcool cinamil e seus derivados; oxidação do álcool cinamil em radicais fenoxi com a rápida formação de oligômeros; conversão do ácido ferúlico em diferúlico, o qual pode formar ligações cruzadas do tipo da hemicelulose; estabelecimento de ligações entre o ácido cinâmico e as proteínas e glicoproteínas membranares; e polimerização do álcool cinamil existente nas paredes das células (Gaspar et al., 1982). A variação do nível das peroxidases ácidas está correlacionada com a lignificação, tal como foi demonstrado pela utilização de siringaldazina como substrato específico das peroxidases lignificadoras (Catesson et al., 1986). As peroxidases ácidas e básicas são encontradas nas frações solúveis das membranas celulares, sendo as peroxidases ácidas que têm maior afinidade para a siringaldazina. A recuperação de tecido sujeito a danos mecânicos e a suberização também são da responsabilidade das peroxidases (Gaspar, 1986).

2.5.3 Interação *Coffea arabica*-*Hemileia vastatrix*

Estudos histológicos e bioquímicos sobre o processo de parasitismo têm sido feitos por alguns pesquisadores na tentativa de conhecer os mecanismos de resistência dos cafeeiros à Ferrugem.

Do ponto de vista histológico, estes estudos têm abrangido as várias fases do processo de infecção celular, desde as fases mais precoces até a reação final. Na reação mais comum de resistência de *C. arabica* à Ferrugem, que correspondem a pontuações cloróticas com tumefação, *flt*, o crescimento do fungo cessa geralmente nas

primeiras fases do processo de infecção como referem Rijo (1972) e Rijo & Rodrigues Jr (1978). Estes pesquisadores referem ainda a um espessamento das paredes e um aumento de volume das células do mesófilo em redor da hifa, originando assim a tumefação. Nesta reação foi ainda observada a presença de calose em células do hospedeiro, nas primeiras fases da infecção, e, em uma fase mais adiantada, detectaram depósitos de lignina, papila e compostos fenólicos (Rijo & Rodrigues Jr., 1978; Tiburzy et al., 1983; Rijo & Vasconcelos, 1984; Martins et al., 1985a; Rijo et al., 1991; Silva et al., 1992). Assim, admite-se que a formação de lignina funcione como um mecanismo complementar de resistência, após a formação de calose e/ou de outros mecanismos de resistência que tenham lugar nas primeiras fases do processo de infecção.

Do ponto de vista bioquímico, Moraes et al. (1971) estudando a resistência em folhas sadias, jovens e adultas de plantas de *C. arabica*, cultivares Mundo Novo (grupo fisiológico E) e IAC 1120.26 (grupo fisiológico D), observaram que as folhas jovens apresentavam maiores valores, no teor total de fenóis e flavonóides, do que as folhas adultas. As folhas jovens e adultas da cultivar IAC 1120.26 continham valores mais altos de fenóis e flavonóides do que os encontrados para a cultivar Mundo Novo. Nas folhas adultas de ambas as cultivares, havia uma diminuição sensível dos ácidos e ésteres fenólicos e um aumento de flavonóides, além do aparecimento de outros derivados não existentes nas folhas jovens. Estes resultados, sobre a diferente composição fenólica das folhas jovens e adultas, foram semelhantes aos encontrados por Amorim et al. (1978) e Mazzafera & Magalhães (1989). Amorim et al. (1978) estudando algumas interações cafeeiro-Ferrugem não conseguiram relacionar a distribuição diferencial das substâncias fenólicas, entre folhas de cafeeiro resistentes e susceptíveis, com a resistência. No entanto, Maxemiuc-Naccache & Dietrich (1985) detectaram, nas combinações incompatíveis ($S_H1 \times v_5$ e $S_H4 \times v_5$), um aumento dos níveis de fenóis, durante a primeira e segunda semana após inoculação, sugerindo uma correlação com a resistência.

Mazzafera & Magalhães (1989) detectaram o aparecimento de novos compostos do grupo dos flavonóides na reação de resistência, compostos estes que não estavam presentes na testemunha. Em trabalhos anteriores a este (Rodrigues Jr. et al., 1975b, Martins et al., 1982; 1986; Moraes, 1984) realizados em cafeeiros inoculados com raças avirulentas de *H. vastatrix*, foi detectada a formação de compostos, de natureza

química não identificada (fitoalexinas), capazes de inibir a germinação dos esporos do fungo. Guedes et al. (1982) e Martins et al. (1982; 1986) verificaram uma ação similar de elicitação de substâncias do tipo das fitoalexinas em folhas de café. Na seqüência dos trabalhos anteriores Guedes (1984) verificou, em combinações incompatíveis de *C. arabica*-*H. vastatrix*, a produção de três fitoalexinas do tipo dos sesquiterpenóides, entre os quais o capsidol. Alguns sesquiterpenóides parecem desempenhar um papel importante nos mecanismos de defesa das plantas, pois apresentam um elevado potencial antifúngico. Medeiros et al. (1989) observaram um aumento do teor de cafeína nas fases iniciais da infecção com *H. vastatrix*, nas plantas resistentes em relação às susceptíveis. Mais tarde, Guedes et al. (1992/1994) detectaram numa interação incompatível um aumento no conteúdo em fenóis totais, acumulação de cafeína, teobromina e fitoalexinas do tipo dos triterpenóides.

Diferenças de atividade da PAL em cafeeiros pertencentes a diferentes genótipos têm sido feitas. Assim, em Catimor e HDT (grupo A) foram detectados níveis de atividade alta e média respectivamente, enquanto que em Caturra e Catuaí (grupo E) os níveis encontrados foram baixos (Tobar & Zamora, 1982; Almario, 1992). Mazzafera & Magalhães (1989) não encontraram diferenças significativas na atividade da PAL entre plantas resistentes (F840C11122-18, S_H5 S_H2) e susceptíveis (Catuaí, S_H5) à raça da Ferrugem utilizada (raça II, v5). No entanto, a cultivar S_H5 S_H2 apresentou valores de atividade enzimática maiores do que a cultivar S_H5. Este resultado foi concordante com o fato das plantas resistentes (S_H5 S_H2) terem apresentado maior teor de fenóis do que as plantas susceptíveis (S_H5), permitindo especular sobre a capacidade desta enzima afetar o conteúdo dos compostos fenólicos nas células. Almario (1992) encontrou diferenças significativas entre a atividade da PAL entre as variedades resistentes (Colômbia e HDT) e as variedades susceptíveis (Caturra), sendo a atividade das variedades resistentes muito superior a da susceptível. Porém, não encontrou diferenças significativas de atividade da PAL entre as folhas testemunha e as infectadas pela Ferrugem ao longo do tempo, para qualquer das variedades de cafeeiro que estudou (HDT, Colômbia e Caturra). Estes resultados levaram-no a concluir que, pelo menos aparentemente, a presença da *H. vastatrix* não induziu a produção da PAL. Apesar disso, esta enzima poderia estar relacionada com os mecanismos de resistência que não envolvem a presença do agente patogênico.

Guedes & Rodrigues Jr (1974) correlacionaram os grupos fisiológicos do café com os padrões eletroforéticos das isoenzimas fenoloxidase em folhas saudáveis. Sievers et al. (1980) estudaram em laboratório a atividade da peroxidase em folhas de variedades de *C. arabica* cv. Mundo Novo (S_H5) e Mundo Novo x Kent (S_H5S_H2), após inoculação com uredíniosporos de *H. vastatrix* raça II (v5). Não detectaram aumento de atividade peroxidásica em quaisquer das variedades, nas primeiras trinta e oito horas após inoculação. Mas nos estádios finais da infecção (após algumas semanas) foi detectado um aumento de atividade na variedade susceptível. Os mesmos pesquisadores, em um trabalho de campo, encontraram uma maior atividade peroxidásica em folhas saudáveis de HDT e *C. canephora* do que em *C. arabica* ou *C. racemosa*. A atividade da enzima foi cerca de seis vezes maior em HDT (grupo A) do que em *C. racemosa* (grupo F). Por outro lado, Maxemiuc-Naccache & Dietrich (1985) observaram nas combinações compatíveis um aumento gradual dos níveis de fenóis e das enzimas peroxidase (PO) e polifenoloxidase (PPO), durante as quatro semanas que durou o estudo, que culminou com a esporulação do patógeno. Nas combinações incompatíveis, os níveis de fenóis e das enzimas PO e PPO elevaram-se consideravelmente durante a primeira ou segunda semana após inoculação, sugerindo uma correlação com a resistência. Guedes (1988) também encontrou um aumento de atividade das enzimas PO e PPO na reação de resistência.

Mazzafera & Robinson (2000) relataram que a atividade da PPO foi alta nos estádios iniciais de desenvolvimento das folhas e do endosperma dos frutos de café, como também demonstrado para outras plantas (Dry & Robinson, 1994). Mazzafera & Robinson (2000) relataram que os ácidos clorogênicos são os principais compostos fenólicos em *Coffea arabica* (5-7% em peso fresco) e, representam aproximadamente 70% dos compostos fenólicos totais. Os ácidos clorogênicos constituem os maiores substratos da PPO do café *in vivo* e, isto foi coincidente com as afinidades observadas para os diferentes substratos avaliados *in vitro*. Assim, o cafeeiro pode ser agrupado com aquelas plantas as quais tem relativamente altos níveis constitutivos de atividade da PPO, mas limitada indução por fermento ou metil jasmonato. Embora, tenham trabalhado com plantas selecionadas e com folhas de comprimentos semelhantes, a variação na atividade da PPO foi considerável entre as plantas. Esses autores sugerem que as variações nas plantas

testemunhas podem ser devido ao reflexo do prévio histórico das plantas, desde a sementeira até o transplante para os vasos do ensaio.

Silva et al. (2001) caracterizaram em um estudo citológico e bioquímico, os mecanismos de resistência da interação *C. arabica*–*H. vastatrix*. Confrontaram genótipos do hospedeiro com o do patógeno de forma a definir interações incompatíveis. Na generalidade destas interações, a resistência foi do tipo pós-haustorial. Os primeiros sinais de incompatibilidade traduziram-se em: i) citologicamente, pelo encapsulamento dos haustórios com calose e celulose, pela maior parte das células da planta no local de infecção (reação de hipersensibilidade) e pela acumulação de fenóis; ii) bioquimicamente, pelo aumento de atividade das enzimas peroxidase (anterior à morte celular), fenilalanina amônia-liase (PAL) e quitinases. Cerca de cinco dias após a inoculação, foi registrado um novo aumento na atividade da PO e da PAL, que admite estar relacionado com a lignificação das paredes celulares do hospedeiro. Observações ultra estruturais permitiram detectar a acumulação de material de composição heterogênea (pectinas, polissacarídeos e fenóis) nos espaços intercelulares, em redor das hifas senescentes e em estreita associação com a lamela média. Em uma fase mais avançada do processo de infecção foi ainda observada a hipertrofia das células do hospedeiro, correspondendo macroscopicamente ao tipo de reação *flt*.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Identificação da raça de *Hemileia vastatrix* Berk. & Br. pelo teste em discos de folhas

Este estudo foi realizado no “Centro de Café e Plantas Tropicais” do Instituto Agronômico de Campinas - IAC , Campinas, SP.

O teste de disco de folhas foi realizado de acordo com as metodologias de Costa et al. (1978), Cardoso (1986) e Mazzafera (1987), com algumas modificações.

3.2 Efeito das fontes de matérias orgânicas sobre a Ferrugem do cafeeiro

Plantas de café cv. Mundo Novo, linhagem IAC 388-17, grupo fisiológico E, suscetível a todas as raças de *H. vastatrix*, foram desenvolvidas a partir de sementes adquiridas do Centro de Café e Plantas Tropicais, do Instituto Agronômico de Campinas - IAC, Campinas, SP. As sementes foram colocadas para germinar em bandejas com areia lavada e, quando atingiram o estágio de orelha de onça, foram transplantadas para vasos plásticos com capacidade para cinco litros de solo. O solo utilizado em todos os ensaios foi o Latossolo Vermelho distrófico (Tabela 1), o qual foi peneirado em malha de 1 cm² e misturado com 2 kg de calcário, 5 kg de superfosfato simples e 0,5 kg de cloreto de

potássio por m³ de solo (van Raij et al., 1996). Foram realizados seis ensaios com as diferentes fontes de matéria orgânica: esterco bovino, esterco suíno, esterco ovino, cama de aves, lodo de esgoto e composto de lixo urbano. Para cada uma das fontes de matéria orgânica, foram estudadas as seguintes concentrações: 0; 2,5; 5; 7,5; 10; 15; 20; 30; 40 e 50% (v/v). O delineamento experimental foi o de blocos casualizados com dez repetições e uma planta por repetição.

Tabela 1 – Atributos químicos de terra para fins de fertilidade

Determinações	Unidade ¹	Valor
M.O.	g/dm ³	28
pH	-	4,3
P	mg/dm ³	13
K	mmol/dm ³	1,4
Ca	mmol/dm ³	8,6
Mg	mmol/dm ³	5,2
H + Al	mmol/dm ³	71,6
SB	mmol/dm ³	15,2
CTC	mmol/dm ³	86,8
V	%	17,5
B	mg/dm ³	0,23
Cu	mg/dm ³	1,2
Fe	mg/dm ³	104
Mn	mg/dm ³	5
Zn	mg/dm ³	1,3
Umidade (105°C)	%	11,1

¹Sistema Internacional. IAC, Centro de Solos e Recursos Agroambientais, Campinas, SP. Extratores: C orgânico Oxi-Redução; pH: Água; P, K, Ca, Mg, Cu, Fe, Mn, Zn, S: Nitroperclórico.

O lodo de esgoto foi obtido na Estação de Tratamento de Esgotos de Franca, SP, o qual é essencialmente originado do tratamento de esgoto doméstico. O processo de tratamento do esgoto consta basicamente das etapas de desarenação, decantação primária, digestão aeróbia, seguido de decantação secundária, digestão anaeróbia, condicionamento com polieletrólitos e desaguamento. O lodo de esgoto foi seco naturalmente esparramando-o em uma camada com cerca de cinco centímetros de altura sobre uma lona de plástico no interior de uma casa de vegetação, sendo revolvido diariamente com auxílio de enxada. Em seguida, o lodo de esgoto foi moído em moinho

manual para quirela de milho, obtendo-se uma granulometria homogênea (Figura 2). Este lodo moído foi utilizado na montagem de todos os experimentos.

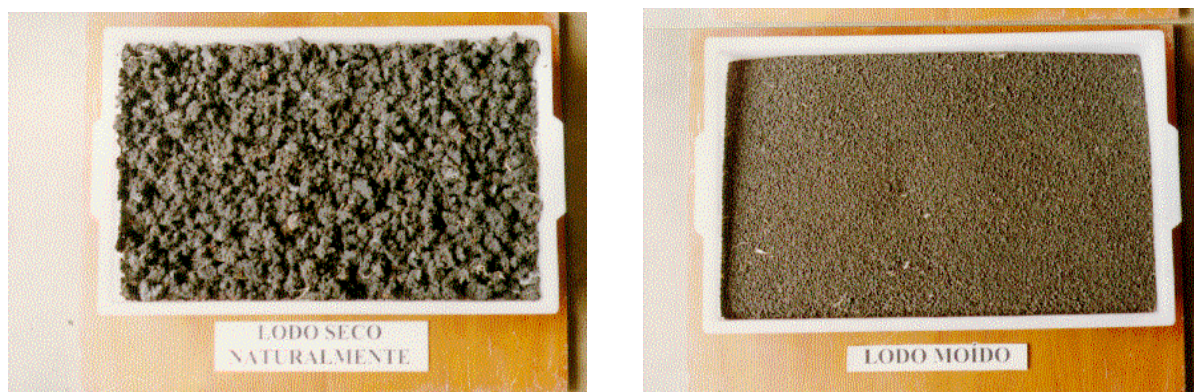


Figura 2 – Lodo de esgoto seco naturalmente (esquerda) com granulometria irregular e lodo de esgoto moído (direita) com granulometria homogênea.

A composição do lodo de esgoto utilizado nos ensaios respeitou as normas para sua utilização na agricultura, adotadas pela CETESB, por meio da norma P 4230, como demonstra a análise química completa (Tabela 2).

O esterco de suíno foi adquirido da propriedade do Sr. Luíz Alberto Lot, município de Holambra-SP, proveniente de gaiolas de fêmeas gestantes. Os dejetos dos animais foram coletados duas vezes ao dia e armazenados em uma esterqueira coberta. Este esterco permaneceu armazenado durante trinta dias antes da doação e transporte para o campo experimental da Embrapa Meio Ambiente. Posteriormente, o esterco foi compostado na forma de meda ao ar livre, com determinação semanal da temperatura da meda, a uma profundidade de 20 cm da superfície, em três pontos equidistantes e em três alturas diferentes. Foi efetuado o revolvimento da meda com enxada e adição de água para obter cerca de 65% de umidade. Após a estabilização da temperatura da meda, o esterco curtido foi utilizado para a montagem do ensaio.

Os estercos de ovino e bovino foram adquiridos na fazenda Engenho das Palmeiras, município de Itapira, SP. Os animais são mantidos em sistema extensivo em pastagem de grama batatais, sem complementação alimentar com ração.

Tabela 2 – Características químicas e físicas do lodo de esgoto de Franca (SP) e concentrações limites permitidas de metais em lodo para uso agrícola.

Determinações	Unidade ¹	Lodo de Franca	Limites de metais no lodo (base na matéria seca) ²
pH em água	-	6,4	
Umidade	% (65°C)	52,1	
MO	g Kg ⁻¹	644	
C	g Kg ⁻¹	374,4	
N Kjeldahl	g Kg ⁻¹	50,8	
N-amoniacal	mg Kg ⁻¹	119,5	
N-Nitrato-Nitrito	mg Kg ⁻¹	54,8	
C:N	-	7,4	
P	g Kg ⁻¹	21,3	
K	g Kg ⁻¹	0,99	
Ca	g Kg ⁻¹	16,8	
Mg	g Kg ⁻¹	2,5	
S	g Kg ⁻¹	13,3	
Mo	mg Kg ⁻¹	< 1	75
B	mg Kg ⁻¹	7,1	
Na	g Kg ⁻¹	0,6	
Cr	mg Kg ⁻¹	1325	
Mn	mg Kg ⁻¹	267,4	
Fe	mg Kg ⁻¹	31706	
Co	mg Kg ⁻¹	-	
Ni	mg Kg ⁻¹	74,7	420
Cu	mg Kg ⁻¹	359,2	4300
Zn	mg Kg ⁻¹	1590	7500
Al	mg Kg ⁻¹	33550	39
Cd	mg Kg ⁻¹	2	85
Pb	mg Kg ⁻¹	118,8	840
Ar	mg Kg ⁻¹	< 1	75
Se	mg Kg ⁻¹	0	100
Hg	mg Kg ⁻¹	< 1	57
Densidade	g cm ⁻³	0,681	

¹ Sistema Internacional. ² Fonte: CETESB (1999). Os valores de concentração são dados com base na matéria seca. Os valores das concentrações para o nitrogênio nas formas amoniacal e nitrato foram determinados na amostra nas condições originais.

Os esterco foram compostados seguindo o mesmo procedimento da compostagem do esterco de suíno. A cama de aves foi adquirida na propriedade do Sr. Plínio Cremasco, localizada no município de Itapira, SP, em uma granja de frangos de corte. O material de origem da cama de aves foi de maravalha e de casca de arroz e também foi compostada. O

composto de lixo crú foi adquirido na Usina de Compostagem de Vila Leopoldina, São Paulo, SP. Com cerca de dois metros cúbicos do material foi realizada uma pilha, a qual foi revolvida semanalmente com auxílio de enxada, para a compostagem conforme descrito anteriormente.

Em termos comparativos, as quantidades dos materiais orgânicos utilizados nos ensaios para as diferentes concentrações são apresentadas nas Tabelas 3 e 4. O uso de elevadas doses das matérias orgânicas neste estudo, teve como objetivo a comparação do comportamento do lodo de esgoto e do composto de lixo, em relação aos esterco de bovino, de suíno, de ovino e de cama de aves no desenvolvimento da Ferrugem do cafeeiro. Buscou-se através do estudo e acompanhamento de vários parâmetros do sistema solo-hospedeiro-patógeno, uma avaliação segura da ocorrência e severidade dos efeitos causados pela aplicação de doses elevadas dessas matérias orgânicas. A hipótese de viabilidade econômica desta prática foi desconsiderada pois, acredita-se que a necessidade do tratamento e destinação final dos resíduos produzidos pela atividade humana já é uma realidade e que os esforços empregados na resolução desses problemas devem ser enfrentados, pelo menos a luz dos conhecimentos atuais, como um custo social.

Tabela 3 – Quantidade correspondente das concentrações em % (v/v) das fontes de matéria orgânica em Mg ha⁻¹.

Concentração % (v/v)	Fontes de matéria orgânica (Mg ha ⁻¹)				
	Composto de Lixo ¹	Esterco de suíno ²	Cama de Aves ³	Esterco bovino ⁴	Esterco ovino ⁵
0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
2,5	25,0	32,0	19,5	24,9	18,0
5,0	50,5	65,0	39,4	50,3	36,3
7,5	76,8	99,2	59,6	76,5	55,0
10,0	103,7	134,5	80,3	103,3	74,0
15,0	159,7	208,7	122,9	159,0	113,2
20,0	218,8	288,3	167,3	217,8	153,8
30,0	347,1	466,1	261,9	345,5	239,9
40,0	491,3	673,8	365,2	488,8	333,2
50,0	654,3	919,7	478,3	650,8	434,6

¹Densidade = 0,493 g cm⁻³; ²Densidade = 0,630 g cm⁻³; ³Densidade = 0,386 g cm⁻³;
⁴Densidade = 0,491 g cm⁻³; ⁵Densidade = 0,357 g cm⁻³; Densidade do solo = 1,0 g cm⁻³;
 Profundidade = 0,20 m.

Tabela 4 – Quantidade de lodo de esgoto em Mg ha⁻¹ e os respectivos valores de nitrogênio total disponível em Kg ha⁻¹ presente nas concentrações dos experimentos.

Concentração % (v/v)	Lodo (mL)	Solo (mL)	Lodo (g)	Lodo (g Kg ⁻¹ solo)	Lodo (Mg ha ⁻¹)	N total disponível (Kg ha ⁻¹)
0,0	0	5000	0,0	0,0	0,0	0
2,5	125	4875	85,1	17,5	34,9	499
5,0	250	4750	170,3	35,8	71,7	1025
7,5	375	4625	255,4	55,2	110,4	1579
10,0	500	4500	340,5	75,7	151,3	2164
12,5*	625	4375	425,6	97,3	194,6	2782
15,0	750	4250	510,8	120,2	240,4	3437
20,0	1000	4000	681,0	170,3	340,5	4869
30,0	1500	3500	1021,5	291,9	583,7	8347
40,0	2000	3000	1362,0	454,0	908,0	12984
50,0	2500	2500	1702,5	681,0	1362,0	19477

Volume do vaso = 5 L; Densidade do lodo = 0,681 g cm⁻³; Densidade do solo = 1,0 g cm⁻³; Profundidade = 0,20 m; *Ensaio de atividade enzimática. N disponível = 14,3 Kg Mg⁻¹ lodo base seca.

Tabela 5 – Análises químicas e físicas dos materiais orgânicos utilizados nos experimentos.

Determinação	Unidade ¹	Matérias orgânicas				
		Composto de Lixo	Esterco de Suíno	Cama de Aves	Esterco Bovino	Esterco Ovino
M.O.	g kg ⁻¹	384	469	583	384	661
C	g kg ⁻¹	223	273	339	223	384
pH	-	7,9	7,3	6,2	9,3	8,5
N	g kg ⁻¹	15,0	32,1	37,5	17,1	27,5
P	g kg ⁻¹	2,5	55,0	14,1	4,4	6,3
K	g kg ⁻¹	8,0	10,0	14,9	17,9	16,9
Ca	g kg ⁻¹	27,9	151,9	23,8	9,0	12,1
Mg	g kg ⁻¹	3,5	24,0	5,3	6,6	7,3
B	mg kg ⁻¹	8,3	25,0	54,7	8,6	43,1
Cu	mg kg ⁻¹	217,1	1292,7	78,2	49,1	36,8
Fe	mg kg ⁻¹	15338	3275	15674	20126	3352
Mn	mg kg ⁻¹	318	1692	395	524	486
Zn	mg kg ⁻¹	426	2142	291	183	114
S	g kg ⁻¹	2,9	6,9	4,1	3,5	4,0
C:N	-	15 : 1	8 : 1	9 : 1	13 : 1	14 : 1
Umidade	%	10,0	62,4	21,9	40,8	24,7
Densidade*	g cm ⁻³	0,493	0,630	0,386	0,491	0,357

¹Sistema Internacional. Instituto Agrônomo - IAC Centro de Solos e Recursos Agroambientais, Campinas, SP. Extratores: C org. Oxi-Red.; pH: Água; P, K, Ca, Mg, Cu, Fe, Mn, Zn, S: Nitroper. *Laboratório de Química e Física de Solos, Embrapa Meio Ambiente.

Amostras foram coletadas no dia da montagem dos experimentos, para determinar o teor de umidade, densidade e para análise química para fins de fertilidade (Tabela 5).

Os experimentos foram conduzidos no interior de casas de vegetação e em um telado no campo experimental da Embrapa Meio Ambiente. As plantas foram usadas quando tinham aproximadamente oito meses de idade, com seis a oito pares de folhas completamente expandidos. Devido ao grande número de experimentos e repetições em cada tratamento, a montagem e as avaliações das variáveis não foram realizadas simultaneamente em uma mesma época do ano.

3.2.1 Coleta de folhas infectadas e processamento dos uredíniosporos

Uredíniosporos de *H. vastatrix*, raça II, foram coletados de plantas infectadas de café cv. Ibaarê, da coleção do banco de germoplasma do IAC. A cultivar Ibaarê é suscetível a raça II (Eskes, 1989) e apresenta a característica de manter as folhas infectadas pela ferrugem nos ramos da planta, por vários meses do ano, disponibilizando abundante quantidade de folhas lesionadas para a coleta. Também foram coletados uredíniosporos de *H. vastatrix*, raça II, de plantas infectadas de café cv. Mundo Novo, mantidas em vaso no interior da casa de vegetação no campo experimental da Embrapa Meio Ambiente.

As coletas das folhas infectadas com *H. vastatrix* foram realizadas no período da manhã, após as nove horas, geralmente um dia antes da inoculação das plantas. Foi coletada uma quantidade de folhas com lesões novas, isentas de *Verticillium lecani* (Zimm) Viegas que garantisse uma quantidade de inóculo suficiente ao estabelecimento de cada experimento. Em seguida foram acondicionadas em saco plástico e transportadas para o laboratório.

O processamento das folhas foi realizado logo após a sua chegada ao laboratório, ou no máximo até 24 horas depois. Os uredíniosporos foram coletados das lesões das folhas com auxílio de um coletor de esporos (Figura 3) e armazenados em tubos tipo Eppendorfs com capacidade de dois mL. Na época de pico da doença foram realizadas

coletas de uredíniosporos nas plantas do campo e da casa de vegetação e os mesmos foram armazenados para utilização na época do ano em que não ocorre esporulação nas plantas (Agosto-Novembro). Os tubos Eppendorfs contendo os uredíniosporos foram acondicionados entre algodão no interior de um frasco de vidro com tampa, sendo colocados em um dissecador, contendo na parte inferior uma solução aquosa de ácido sulfúrico com densidade igual a 1,8 e na concentração de 32,6% (v/v), conforme recomendada por Zambolim & Chaves (1974). Nos ensaios para determinação da atividade enzimática, este método de preservação foi substituído e os uredíniosporos foram mantidos em tubos do tipo Eppendorf, entre algodão, no interior de um vidro com tampa contendo cristais de dicromato de sódio, o qual mantém a umidade relativa a aproximadamente 52% (Eskes, 1989). Em seguida, para os dois métodos, os uredíniosporos foram mantidos em uma geladeira, à temperatura de 5-7 °C, até a sua utilização.



Figura 3 – Coleta de uredíniosporos de *Hemileia vastatrix* em folhas de café (Esquerda). Coletor de esporos montado com um tubo de ensaio, uma rolha, dois canos de coluna de cromatógrafo e uma mangueira de borracha. (Direita). Manipulação: pincéis, tampa de placa de Petri e tubos tipo Eppendorf.

3.2.2 Preparo do inóculo e inoculação

Os uredíniosporos armazenados conforme item 3.2.1 foram suspensos em água destilada a uma concentração de 2 mg de uredíniosporos por mL. A suspensão foi agitada constantemente durante o processo de inoculação. A inoculação foi

realizada utilizando um aspersor acoplado a um compressor com a pressão ajustada a 3923 MPa, a uma distância de 20 cm da superfície abaxial das folhas. Posteriormente, as plantas foram mantidas em câmara úmida e escura a 25° C e 90-95% UR, durante 24 horas.

Da suspensão de uredíniosporos preparada para a inoculação, foi retirada uma amostra para a avaliação da germinação dos uredíniosporos. Três gotas da suspensão foram colocadas na superfície de três lâminas de vidro. Após 24 horas de incubação, em câmara úmida e escura a 25 °C±5, foi avaliada a porcentagem de uredíniosporos germinados. Para tanto, contou-se em três campos por gota de cada lâmina, o número de esporos germinados em 100 uredíniosporos, com auxílio do um microscópio ótico.

3.2.3 Avaliação da doença

A avaliação da doença foi realizada cerca de 25 dias após a inoculação das plantas pela contagem do número total de folhas, número de folhas lesionadas e número de lesões por folha lesionada, em cada planta (Ribeiro et al., 1981). Também foi avaliada a porcentagem de lesões cloróticas esporuladas por folha lesionada.

No mesmo dia da avaliação da doença, foi medida a altura de cada planta em centímetros, a partir da superfície do solo do vaso até a gema apical central da planta.

Para a avaliação da porcentagem de lesões cloróticas esporuladas por folha lesionada, adotou-se a seguinte escala de notas: (0) sem esporulação, (1) de 0-25%, (2) de 25-50%, (3) de 50-75% e (4) de 75-100% de lesões esporuladas. Nas plantas sem ramos plagiotrópicos, avaliou-se os cinco primeiros pares de folhas, do ápice para a base da planta. Em cada um dos pares de folhas, avaliou-se primeiro a folha da esquerda e, em seguida, a folha da direita. Para iniciar a leitura, o vaso foi posicionado com a etiqueta (tratamento e repetição) voltada para o avaliador. Nas plantas com ramos plagiotrópicos, avaliou-se inicialmente três pares de folhas na haste central da planta, sendo os dois primeiros pares de folhas logo acima do segundo par de ramos plagiotrópicos da base para o ápice da planta e o terceiro par de folhas, foi o primeiro par abaixo do mesmo ramo plagiotrópico. Em seguida, avaliou-se no segundo par de ramos plagiotrópicos da base para

o ápice da planta, o segundo par de folhas do ápice para a base do ramo. Do mesmo modo, em cada par de folhas avaliado, avaliou-se primeiro a folha da esquerda e, em seguida, a folha da direita com o vaso na posição considerada acima (Figura 4). A realização das leituras na seqüência pré-estabelecida permitiu avaliações sucessivas sempre nas mesmas folhas, totalizando dez folhas avaliadas por planta. Esta avaliação foi realizada em diferentes intervalos de tempo, até a esporulação total (nota 4) ser obtida nas folhas pré determinadas das plantas testemunhas.

Com os dados obtidos foi calculada a porcentagem de controle para cada tratamento em relação à testemunha por meio da fórmula: % de controle = (número médio de lesões por folha lesionada na testemunha – número médio de lesões por folha lesionada no tratamento) / (número médio de lesões por folha lesionada na testemunha) x 100. Foi considerado como lesão cada mancha clorótica individualizada. A porcentagem de folhas lesionadas foi calculada a partir de: (número de folhas lesionadas na planta / número total de folhas por planta) x 100.

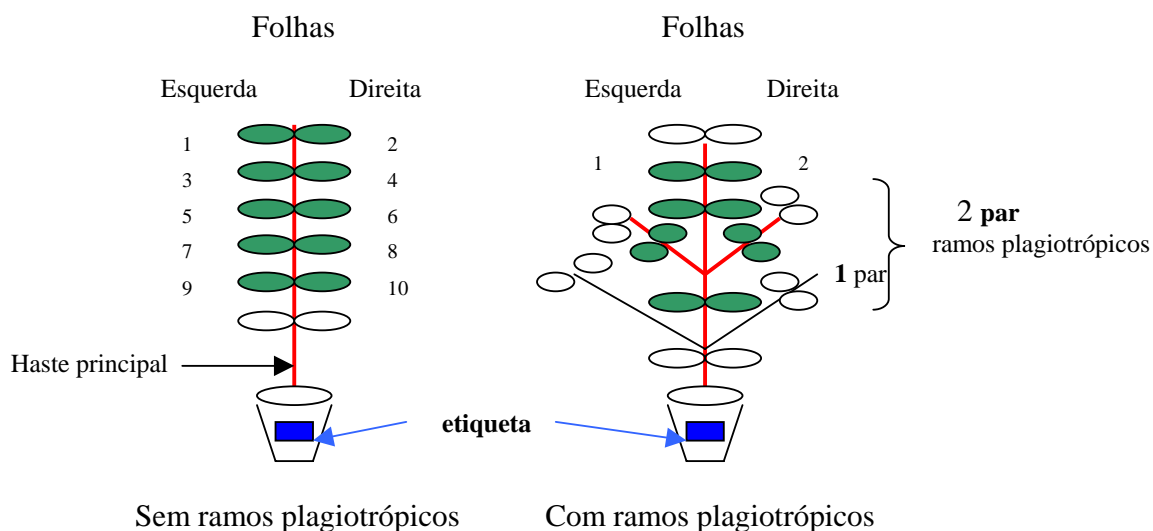


Figura 4 – Esquema utilizado na avaliação da esporulação das lesões nas folhas das mudas de café, nos diferentes ensaios com as fontes de matéria orgânica.

Nas mesmas plantas foram realizadas três inoculações em períodos espaçados de 90 dias, sendo repetido após cada inoculação as avaliações do número de lesões por folha lesionada (NL/FL), a porcentagem de folhas lesionadas (%FL), a porcentagem de controle da doença (%C) e a altura das plantas. O intervalo de 90 dias, estabelecido entre as inoculações foi necessário para as plantas se recuperarem da inoculação anterior. Após as avaliações terem sido realizadas, as folhas infectadas das plantas foram podadas. Isto permitiu a rebrota das plantas sem que as folhas novas estivessem em contato com uma fonte de inóculo natural. Também, foi necessário realizar algumas podas de folhas visando a eliminação de folhas com ataque de bicho mineiro (*Perileucoptera coffeella*) que ocorreu na época seca do ano.

Durante a condução dos experimentos foram realizadas regas e eliminação de plantas daninhas conforme a necessidade e o monitoramento da temperatura e umidade relativa do ar do interior das casas de vegetação.

3.2.4 pH, condutividade elétrica, teor de umidade e atividade microbiana total do substrato por meio da hidrólise de diacetato de fluoresceína – FDA

Em cada um dos ensaios, após o aparecimento das lesões da doença da primeira inoculação, foram coletadas amostras de 100 mL do substrato de cada uma das dez repetições em cada tratamento. A partir destas amostras foram realizadas as análises para a determinação do pH, da condutividade elétrica, do teor de umidade e da atividade microbiana total do substrato.

O pH das amostras dos substratos foi determinado seguindo a metodologia descrita por Camargo et al. (1986). A condutividade elétrica do extrato aquoso do substrato foi determinada seguindo a metodologia descrita por Gillman & Bell (1978). Para a determinação da umidade das amostras dos substratos foi feita a secagem de 10 g do substrato, em três repetições, em estufa de secagem e esterilização (Famem, modelo 315SE) a 105 °C até obter peso constante. Para a determinação da hidrólise de FDA foi utilizada a metodologia descrita por Boehm & Hoitink (1992).

3.2.5 Teor de nitrogênio total foliar

A determinação do teor de nitrogênio foliar total foi realizada empregando-se o método de Kjeldahl, oxidação úmida, descrito por Tedesco et al. (1995). Para tanto, foram coletadas folhas do primeiro par de ramos plagiotrópicos e no terceiro par de folhas do ápice para a base de cada ramo (quatro folhas/planta), em todas as repetições de cada um dos tratamentos, obtendo uma amostra composta (Malavolta, 1987). Estas amostras foram coletadas logo após a avaliação dos sintomas da doença da primeira inoculação de cada ensaio. As amostras compostas de folhas foram secas a 65 °C em estufa (Marconi, MA035) com circulação de ar até obter peso constante. Posteriormente, as amostras foram passadas em moinho de bolas (Marconi) até obter-se um pó fino e, em seguida, foram estocadas em sacos plásticos fechados até o início da análise.

3.3 Efeito do lodo de esgoto e do composto de lixo na atividade enzimática do cafeeiro

As seguintes concentrações de lodo de esgoto no solo foram estudadas: 0; 2,5; 5; 7,5, 10; 12,5; 15 e 20 % (v/v). Para o composto de lixo urbano, além das concentrações anteriores, exceto a de 12,5%, também foram utilizadas as concentrações de 30, 40 e 50% (v/v). Após a mistura com o solo, os substratos foram colocados em vasos com cinco litros de capacidade.

Foram utilizados grupos de nove plantas em vasos individuais para cada concentração, as quais foram inoculadas com uredíniosporos de *H. vastatrix*. Deste grupo de plantas inoculadas, foram separadas três plantas por tratamento, para a avaliação dos sintomas 25 dias após a inoculação, determinando-se o número de lesões por folha lesionada. As seis plantas restantes foram utilizadas para coletar folhas para a determinação da atividade enzimática. Grupos de seis plantas testemunhas, por concentração, foram tratadas com água destilada. Após a inoculação todas as plantas inoculadas e tratadas com água foram submetidas às mesmas condições ambientes (câmara úmida e escura a 25° C). Após 24 horas, as plantas foram transferidas para o interior da casa de vegetação.

Após diferentes intervalos da inoculação (0, 3, 6, 9, 12, 15, 20 e 25 dias para o lodo de esgoto e 0, 2, 4, 8, 16, 32 dias para o composto de lixo), foram realizadas coletas das folhas para a avaliação da atividade enzimática. As folhas foram coletadas sempre as 9:00 horas da manhã. Retirou-se de quatro a cinco folhas por planta, em pontos equidistantes da mesma. Em cada ramo escolhido retirou-se uma folha do segundo par de folhas, do ápice para a base do ramo plagiotrópico. Nas coletas seguintes, foram realizadas do mesmo modo, retirando-se a outra folha do segundo par de folhas do ramo e, passando para as folhas do terceiro par de folhas do ramo e assim, sucessivamente.

As folhas coletadas no grupo de plantas inoculadas e no de plantas tratadas com água, foram colocadas separadamente em sacos plásticos codificados e armazenados imediatamente em uma caixa de isopor contendo gelo. Em seguida as amostras compostas de folhas inoculadas e de folhas tratadas com água, para cada uma das concentrações, foram pesadas. Em seguida retirou-se a nervura central das folhas e pesou-se novamente as amostras. As amostras de cada tratamento foram armazenadas a -20°C , até serem utilizadas para o preparo do pó de acetona.

3.3.1 Análises enzimáticas realizadas em tecido foliar de plantas de café

3.3.1.1 Atividade enzimática da peroxidase – POX

3.3.1.1.1 Preparo do pó de acetona e dos extratos enzimáticos

O pó de acetona foi preparado a partir de tecidos foliares congelados (-20°C) empregando-se o método de Rahe et al. (1970). O tecido foliar foi reduzido a pó com nitrogênio líquido, utilizando cadinho e pistilo de porcelana frios. Em seguida, o pó do tecido foliar obtido a partir de plantas testemunhas (sadias) e de plantas infectadas (inoculadas), foi homogeneizado durante dois minutos com acetona previamente fria a -20°C (10 mL/grama de peso fresco). Logo após, o homogeneizado foi filtrado com sucção através de papel de filtro Whatman nº 01, em funil de Buchner previamente frio e lavado com acetona com um segundo igual volume de acetona fria. O material foi seco durante uma hora sob vácuo no interior de um dissecador a temperatura ambiente e

estocado a -20°C em recipientes plásticos fechados e codificados (Rahe et al., 1970, Hammerschmidt et al., 1982).

O pó de acetona foi homogeneizado (0,1g /2 mL) com uma solução de tampão de acetato de sódio pH 5,6 0,05 M a 4°C com 10% de polivinilpirrolidona insolúvel (PVPP). O homogeneizado foi filtrado através de um tecido fino (“voal”) em banho de gelo e centrifugado a 13000 g durante 20 min a 4°C . O sobrenadante foi transferido para tubos do tipo Eppendorf (2 mL) e congelado a -20°C . Este sobrenadante foi utilizado como extrato enzimático para determinação da atividade da peroxidase (Hammerschmidt et al., 1982).

3.3.1.1.2 Determinação da atividade enzimática da peroxidase – POX.

A atividade da POX foi determinada por espectrofotometria a 470 nm, tendo como doador de hidrogênio o guaiacol (que por oxidação passa a tetraguaiacol) e como substrato o peróxido de hidrogênio. A mistura de reação continha: 0,2 mL de extrato enzimático em 0,8 mL de uma solução de tampão citrato-fosfato 0,05 M, pH 6 com 0,2% de guaiacol e 0,1% de peróxido de hidrogênio. A atividade foi medida tendo como referência uma mistura igual à da reação, mas sem extrato enzimático. Como testemunha utilizou-se uma mistura de reação sem peróxido de hidrogênio. A reação foi iniciada pela adição de 0,2 mL do extrato enzimático (sobrenadante) e as variações na absorbância a 470 nm foram medidas por três minutos, a intervalos de dez segundos. Para cada tratamento, foram realizadas três repetições e para cada repetição foram realizadas três leituras da atividade enzimática no espectrofotômetro (Lambida 20, Perkin Elmer) (Hammerschmidt et al., 1982).

A atividade enzimática foi expressa como o aumento na absorbância. $\text{min}^{-1}.\text{g}^{-1}$ de pó de acetona. A unidade de enzima por peso de pó de acetona é definida como a quantidade de enzima necessária para causar a variação de uma unidade de absorbância por minuto (Draetta & Lima, 1976).

3.3.1.2 Atividade enzimática da polifenoloxidase – PPO.

A metodologia empregada para a análise da polifenoloxidase foi semelhante a da peroxidase (Item 3.3.1.1), partindo-se do mesmo pó de acetona armazenado para o preparo do extrato enzimático.

3.3.1.2.1 Determinação da atividade enzimática da PPO

Foram utilizadas duas metodologias: na primeira a atividade da PPO foi determinada por espectrofotometria a 480 nm, pela oxidação da L-Dopa (L- β -3,4-dihidroxifenilalanina, Sigma D-9628) em dopaquinona. A mistura da reação continha 0,8 mL de uma solução de L-Dopa em tampão –fosfato 0,01M, pH 7 (4 mg/mL) e 0,2 mL de extrato enzimático. Como testemunha utilizou-se uma mistura de reação sem L-Dopa. A atividade da PPO foi medida a intervalos de dez segundos pela alteração da absorbância da mistura a 480 nm, durante três minutos. Para cada tratamento foram realizadas três repetições e para cada repetição foram realizadas três leituras da atividade enzimática no espectrofotômetro (Lambida 20, Perkin Elmer) (Lazarrovitis & Ward, 1982, Okey et al., 1997).

Na segunda metodologia as folhas novas do segundo par de folhas dos ramos plagiotrópicos, foram retiradas das plantas de cada um dos tratamentos. Foram armazenadas em caixa de isopor contendo gelo e levadas para o laboratório. A nervura central das folhas foi cortada e pesou-se três repetições de 0,2 gramas por tratamento. As amostras foram maceradas em cadinho com auxílio de pistilo, previamente frios. Na maceração, para cada amostra de 0,2 g, usou-se 6,0 mL de tampão fosfato de sódio a 100 mM, pH 7,0, contendo 2,0% (p/v) de ácido ascórbico e 5,0% (p/v) de polivinilpolipirrolidona insolúvel (PVPP), a 4 °C. O extrato foi mantido a 4 °C, durante 30 minutos, com ocasional agitação. Após centrifugação (32.000 g, 20 minutos, 4 °C), o sobrenadante foi recuperado e desalinizado em mini colunas PD-10 Sephadex G25 (Pharmacia) usando tampão fosfato de sódio a 50 mM, pH 6,0, para a eluição (Mazzafera & Robinson, 2000).

A atividade da polifenoloxidase foi determinada como o consumo de oxigênio em um eletrodo de oxigênio (Hansatech), a 25 °C. A mistura de reação (volume final = 1 mL) continha: 50 µL de ácido clorogênico a 20 mM (concentração final de 1 mM) (Sigma 3878), 450 µL de tampão fosfato de sódio 50 mM, pH 6,0 contendo dodecil sulfato de sódio a 3,5 mM (SDS) e 500 µL do extrato enzimático. A reação foi iniciada com a adição do ácido clorogênico e a quantidade de oxigênio consumida durante o primeiro minuto foi usada para calcular a atividade (Mazzafera & Robinson, 2000).

O doseamento da concentração protéica das diferentes amostras foi estimado pelo método de Bradford (1976), utilizando o kit da Bio-Rad de acordo com as instruções do fabricante usando como padrão albumina de soro bovino.

3.4 Análise dos resultados

Os dados resultantes dos experimentos com as fontes de matéria orgânica, testados em diversas concentrações em delineamento em blocos completos casualizados foram analisados por meio da análise de regressão linear empregando o SAS System versão 8.0 (SAS Institute Inc., 1999).

4 RESULTADOS

4.1 Identificação da raça de *Hemileia vastatrix* pelo teste de discos de folhas

Na avaliação da germinação dos uredíniosporos em lâminas de vidro obteve-se uma germinação média entre 40 e 50%.

De acordo com Rodrigues Jr. et al. (1975a) e com os sintomas obtidos no teste de disco de folhas concluiu-se que os uredíniosporos de *Hemileia vastatrix*, coletados nas plantas do banco de germoplasma do IAC, pertencem à raça II, com gene de virulência v_5 .

4.2 Efeito de fontes de matéria orgânica na Ferrugem do cafeeiro

4.2.1 Efeito do lodo de esgoto sobre a Ferrugem do cafeeiro

O lodo de esgoto nas concentrações de 30, 40 e 50% causou a morte das mudas, após o transplante, por fitotoxidade e/ou por anaerobiose causada pelo excesso de água retida no substrato dos vasos.

Com as concentrações crescentes do lodo de esgoto, o número de lesão por folha lesionada (NL/FL) aumentou significativamente na primeira e na segunda inoculação ($R^2 = 0,85$ e $R^2 = 0,64$) (Tabelas 6 e 7). Na terceira inoculação o NL/FL também

aumentou, mas não significativamente com as concentrações crescentes de lodo de esgoto ($R^2 = 0,54$) (Tabelas 6 e 7). Os aumentos máximos no NL/FL em relação a testemunha foram de 308,2%; 312,0% e 251,7% na primeira, na segunda e na terceira inoculação, respectivamente. Com a realização das três inoculações das plantas houve uma tendência de redução no NL/FL tanto nas testemunhas, como nas concentrações crescentes com o lodo de esgoto (Tabelas 6 e 7).

Tabela 6 – Efeito do lodo de esgoto no número de lesões por folha lesionada das mudas de cafeeiro na primeira, na segunda e na terceira inoculação com *Hemileia vastatrix*.

Concentração % (v/v) ¹	Inoculação		
	I	II	III
0,0	115,7	107,2	68,8
2,5	181,0	166,1	121,3
5,0	178,9	173,5	138,1
7,5	189,2	180,0	140,7
10,0	245,7	117,5	199,3
15,0	225,1	199,2	173,2
20,0	356,6	334,5	162,5
30,0	-	-	-
40,0	-	-	-
50,0	-	-	-
R^2	0,85	0,64	0,54

¹ Lodo de esgoto seco e moído. R^2 = coeficiente de determinação. (-) Plantas mortas após o transplante. Cada valor representa a média de 10 repetições. Intervalo entre as inoculações: 90 dias.

A porcentagem de folhas lesionadas não foi afetada após a primeira inoculação ($R^2 = - 0,16$) (Tabelas 7 e 8). Na segunda e na terceira inoculação as %FL diminuíram significativamente com o aumento das concentrações de lodo de esgoto ($R^2 = - 0,75$ e $R^2 = - 0,89$). Considerando as três inoculações das plantas ocorreu uma tendência de redução na %FL tanto nas testemunhas, quanto nas concentrações com o lodo de esgoto (Tabelas 7 e 8).

Tabela 7 - Coeficiente de determinação da análise de regressão linear nas três inoculações realizadas nas plantas de café cultivadas com as fontes de matéria orgânica.

Matéria Orgânica	Coeficiente de Determinação (R ²)																					
	NL/FL			% FL			Altura			N			pH			CE			FDA			
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	
Lodo de esgoto	0,85*	0,64*	0,54	-0,16	-0,75*	-0,89	-0,46	-0,76*	-0,83*	0,66*	-0,31	0,97*	0,74*									
Estercos de suíno	-0,05	-0,22	-0,12	-0,38	-0,05	0,00	0,31	0,25	0,08	0,83*	0,90*	0,41	0,05									
Composto de lixo	0,27	0,27	0,03	0,65*	-0,41	0,66*	-0,58	-0,12	0,02	0,86*	0,98*	0,59	-0,88*									
Cama de aves	0,46	0,23	0,11	0,21	0,01	0,02	0,45	0,91*	-0,22	0,77*	0,16	0,46	-0,18									
Estercos bovino	-0,12	-0,05	0,10	0,81*	0,86*	-0,18	-0,19	-0,05	-0,23	0,75*	0,90*	0,78*	-0,60*									
Estercos ovino	0,63	0,69*	-0,29	0,21	0,20	-0,29	-0,14	-0,01	-0,08	0,87*	0,92*	0,76*	0,06									

1, 2 e 3 = correspondem respectivamente à primeira, segunda e terceira inoculação das plantas de café. NL/FL = número de lesões por folha lesionada. % FL = percentagem de folhas lesionadas. FDA = hidrólise de diacetato de fluoresceína. N = nitrogênio foliar total; CE = condutividade elétrica. * Significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste t.

Tabela 8 – Efeito do lodo de esgoto na porcentagem de folhas lesionadas das mudas de cafeeiro na primeira, na segunda e na terceira inoculação com *Hemileia vastatrix*.

Concentração % (v/v) ¹	Inoculação		
	I	II	III
0,0	44,0	35,9	27,8
2,5	31,1	35,0	39,0
5,0	35,8	34,6	33,5
7,5	41,7	36,0	30,4
10,0	24,8	21,2	17,6
15,0	33,1	21,7	10,3
20,0	33,4	20,2	7,1
30,0	-	-	-
40,0	-	-	-
50,0	-	-	-
R ²	- 0,16	- 0,75	- 0,89

¹Lodo de esgoto seco e moído. R² = coeficiente de determinação. (-) Plantas mortas após o transplante. Cada valor representa a média de 10 repetições. Intervalo entre as inoculações: 90 dias.

As concentrações crescentes de lodo de esgoto diminuíram não significativamente o desenvolvimento das mudas na primeira inoculação (R² = - 0,46). As alturas das plantas diminuíram significativamente na segunda e na terceira inoculação (R² = - 0,76 e R² = - 0,83) (Tabelas 7 e 9).

O teor de nitrogênio foliar total aumentou significativamente com as concentrações crescentes de lodo de esgoto na primeira inoculação (R² = 0,66) (Tabelas 7 e 10). De acordo com a recomendação de N nas folhas de cafeeiro de Malavolta (1987) o teor de N da testemunha foi considerado como da classe deficiente (< 20-25 g kg⁻¹), na concentração de 2,5% de lodo foi considerado como da classe adequada (26-30 g kg⁻¹) e os teores de N das demais concentrações de lodo de esgoto foram considerados como da classe excessiva (> 30g kg⁻¹).

O pH do substrato nas concentrações crescentes de lodo de esgoto diminuiu, porém não de forma significativa (R² = - 0,31) (Tabelas 7 e 10).

A condutividade elétrica (CE) e a atividade total microbiana do substrato, avaliada por meio da hidrólise de diacetato de fluoresceína (FDA), aumentaram significativamente com as concentrações crescentes de lodo de esgoto (R² = 0,97 e R² = 0,74, respectivamente) (Tabelas 7 e 10).

Tabela 9 – Efeito do lodo de esgoto na altura (cm) das mudas de cafeeiro na primeira, segunda e terceira inoculação com *Hemileia vastatrix*.

Concentração % (v/v) ¹	Inoculação		
	I	II	III
0,0	27,1	42,5	66,0
2,5	40,3	50,1	76,0
5,0	33,3	33,7	64,7
7,5	35,6	37,3	45,3
10,0	23,8	27,0	37,7
15,0	22,4	25,3	29,6
20,0	21,5	23,1	28,4
30,0	-	-	-
40,0	-	-	-
50,0	-	-	-
R ²	- 0,46	- 0,76	- 0,83

¹ Lodo de esgoto seco e moído. R² = coeficiente de determinação. (-) Plantas mortas após o transplante. Cada valor representa a média de 10 repetições. Intervalo entre as inoculações: 90 dias.

Tabela 10 – Efeito do lodo de esgoto no nitrogênio foliar total de mudas de cafeeiro inoculadas com *Hemileia vastatrix*; no pH, na condutividade elétrica e na atividade microbiana (hidrólise de FDA) total do substrato onde as mudas de cafeeiro se desenvolveram.

Concentração % (v/v) ¹	N (g Kg ⁻¹)	pH	CE (dS m ⁻¹)	FDA hidrolisado (µg min. ⁻¹ g solo seco ⁻¹).
0,0	22,0	6,1	0,054	3,01
2,5	30,4	4,2	0,341	3,66
5,0	31,9	4,3	0,568	4,20
7,5	30,9	4,4	0,762	4,50
10,0	34,9	4,3	0,886	3,85
15,0	32,3	4,4	1,263	4,51
20,0	33,5	4,3	1,227	5,75
30,0	-	-	-	-
40,0	-	-	-	-
50,0	-	-	-	-
R ²	0,66	- 0,31	0,97	0,74

¹ Lodo de esgoto seco e moído. N = teor de nitrogênio foliar total (Kjeldahl). CE = condutividade elétrica do substrato. FDA = hidrólise de diacetato de fluoresceína. R² = coeficiente de determinação. (-) Plantas mortas após o transplante. Cada valor representa a média de 10 repetições. Avaliações realizadas após a primeira inoculação.

A esporulação das lesões das folhas lesionadas após três dias do início do aparecimento das lesões cloróticas não foi afetada (R² = - 0,02). Na segunda avaliação, realizada após 12 dias do início do aparecimento das lesões, as concentrações

crecentes de lodo de esgoto retardaram o desenvolvimento da esporulação em relação a testemunha ($R^2 = - 0,82$). Na terceira avaliação, realizada 18 dias após o início do aparecimento das lesões, houve um atraso na esporulação das lesões de acordo com as concentrações crescentes de lodo de esgoto ($R^2 = - 0,85$) (Figura 5).

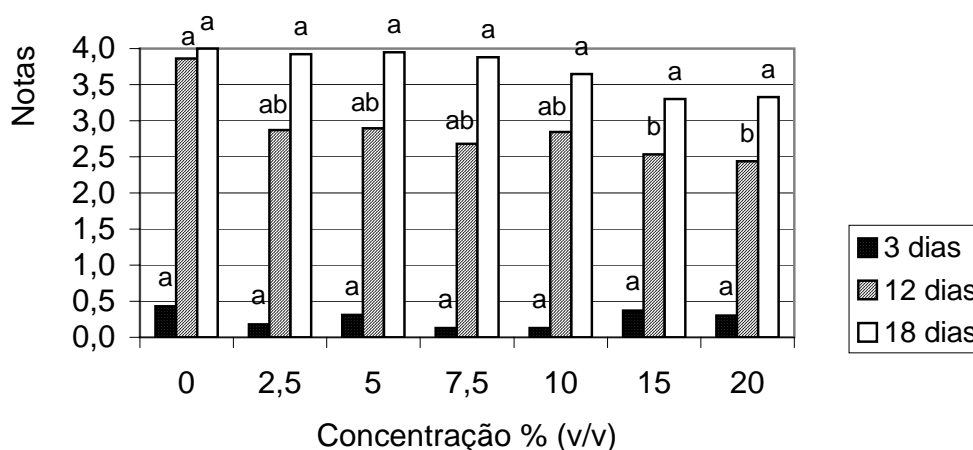


Figura 5 – Esporulação das lesões cloróticas em folhas de cafeeiro cultivado em diferentes concentrações de lodo de esgoto, em diferentes intervalos de tempo após o início do aparecimento das lesões da primeira inoculação. Notas: (0) sem esporulação; (1) de 0 a 25%; (2) de 25 a 50%; (3) de 50 a 75% e (4) de 75 a 100% de lesões esporuladas. Em uma mesma data, médias seguidas pela mesma letra, não diferem estatisticamente entre si de acordo com o teste de Tukey ($p < 0,05$). Para as análises estatísticas os dados originais foram transformados em $\sqrt{x + 0,5}$.

4.2.2 Efeito do esterco de suíno sobre a Ferrugem do cafeeiro

O esterco de suíno não diminuiu significativamente o NL/FL e a %FL na primeira, na segunda e na terceira inoculação de *Hemileia vastatrix* (Tabelas 7, 11 e 12). No entanto, ocorreram aumentos máximos no NL/FL em relação às testemunhas de 363,0; 221,7 e 217,3%, respectivamente, para a primeira, segunda e terceira inoculações. Na primeira inoculação o NL/FL diminuiu em relação a testemunha nas concentrações de 30 e 40%, com controle da doença de 83,3 e 45,4%, respectivamente (Tabela 11). Na segunda inoculação o NL/FL diminuiu nas concentrações de 30, 40 e 50%, com controle da

doença de 89,8; 66,6 e 14,6%, respectivamente. Na terceira inoculação o NL/FL diminuiu nas concentrações de 7,5; 10; 30 e 40%, com controle da doença de 25,9; 54,6; 78,2 e 48,3%, respectivamente (Tabela 11). O NL/FL nas três inoculações apresentou uma tendência de diminuir tanto na testemunha quanto nas concentrações do esterco de suíno (Tabela 11).

Tabela 11 – Efeito do esterco de suíno no número de lesões por folha lesionada das mudas de cafeeiro na primeira, na segunda e na terceira inoculação com *Hemileia vastatrix*.

Concentração % (v/v) ¹	Inoculação		
	I	II	III
0,0	87,9	72,0	44,0
2,5	129,6	99,8	64,8
5,0	191,1	109,9	95,6
7,5	221,6	110,8	32,6 (25,9)
10,0	319,2	159,6	20,0 (54,6)
15,0	254,0	127,0	67,0
20,0	212,6	106,3	50,1
30,0	14,7 (83,3)	7,3 (89,8)	9,6 (78,2)
40,0	48,0 (45,4)	24,0 (66,6)	22,7 (48,3)
50,0	123,0	61,5 (14,6)	57,7
R ²	- 0,05	- 0,22	- 0,12

¹ Esterco de suíno. R²= coeficiente de determinação. Cada valor representa a média de 10 repetições. Intervalo entre as inoculações: 90 dias. Os valores entre parênteses correspondem a porcentagem de controle da doença em relação à testemunha.

Apesar do aumento, a altura das plantas não apresentou aumento significativo na primeira, na segunda e na terceira inoculação (R² = 0,31; R² = 0,25 e R² = 0,08) (Tabelas 7 e 13). A tendência nas três inoculações foi de diminuir o efeito no desenvolvimento das plantas.

O teor de nitrogênio foliar total aumentou significativamente com as concentrações crescentes de esterco de suíno na primeira inoculação (R² = 0,83) (Tabelas 7 e 14). De acordo com Malavolta (1987), os teores de N nas concentrações de 0 a 7,5% foram considerados como da classe deficiente; os teores das concentrações de 10 e 15% foram considerados da classe adequada e os teores das concentrações de 20 a 50% foram considerados da classe excessiva.

Tabela 12 – Efeito do esterco de suíno na porcentagem de folhas lesionadas das mudas de cafeeiro na primeira, na segunda e na terceira inoculação com *Hemileia vastatrix*.

Concentração % (v/v) ¹	Inoculação		
	I	II	III
0,0	25,3	20,6	19,8
2,5	29,5	23,1	20,2
5,0	33,7	25,7	23,1
7,5	26,5	21,1	20,8
10,0	25,9	27,6	18,3
15,0	24,1	22,4	24,5
20,0	18,2	13,8	21,7
30,0	12,4	9,5	6,3
40,0	15,8	17,3	14,4
50,0	26,6	28,6	30,1
R ²	- 0,38	- 0,05	0,00

¹ Esterco de suíno. R² = coeficiente de determinação. Cada valor representa a média de 10 repetições. Intervalo entre as inoculações: 90 dias.

Tabela 13 – Efeito do esterco de suíno na altura (cm) das mudas de cafeeiro na primeira, na segunda e na terceira inoculação com *Hemileia vastatrix*.

Concentração % (v/v) ¹	Inoculações		
	I	II	III
0,0	16,5	24,2	36,0
2,5	22,2	27,9	41,9
5,0	41,5	51,2	63,0
7,5	47,8	54,1	62,3
10,0	29,2	45,0	56,9
15,0	45,0	53,1	63,2
20,0	54,2	61,4	67,0
30,0	55,3	60,3	66,7
40,0	54,5	57,0	65,0
50,0	28,0	33,9	36,0
R ²	0,31	0,25	0,08

¹ Esterco de suíno. R² = coeficiente de determinação. Cada valor representa a média de 10 repetições. Intervalo entre as inoculações: 90 dias.

As concentrações crescentes de esterco de suíno aumentaram significativamente o pH no substrato (R² = 0,90) (Tabelas 7 e 14). A condutividade elétrica e a atividade microbiana no substrato dos vasos não aumentaram significativamente com as concentrações crescentes de esterco de suíno (R² = 0,41; R² = 0,05, respectivamente) (Tabelas 7 e 14).

Tabela 14 – Efeito do esterco de suíno no nitrogênio foliar total de mudas de cafeeiro inoculadas com *Hemileia vastatrix*; no pH, na condutividade elétrica e na atividade microbiana (hidrólise de FDA) total do substrato onde as mudas de cafeeiro se desenvolveram.

Concentração % (v/v) ¹	N (g Kg ⁻¹)	pH	CE (dS m ⁻¹)	FDA hidrolisado (μg min. ⁻¹ g solo seco ⁻¹).
0,0	24,7	6,3	0,067	3,88
2,5	24,5	6,5	0,924	4,01
5,0	23,8	6,5	0,602	3,43
7,5	24,5	6,6	0,421	2,92
10,0	28,0	6,7	0,898	3,03
15,0	27,3	6,7	0,642	3,68
20,0	30,9	6,8	0,812	3,09
30,0	31,6	7,0	0,526	3,48
40,0	32,1	6,9	0,915	5,09
50,0	30,7	6,9	1,447	3,72
R ²	0,83	0,90	0,41	0,05

¹ Esterco de suíno. N = teor de nitrogênio foliar total (Kjeldahl). CE = condutividade elétrica do substrato. FDA = hidrólise de diacetato de fluoresceína. R² = coeficiente de determinação. Cada valor representa a média de 10 repetições. Avaliações realizadas após a primeira inoculação.

Após a primeira e segunda inoculação, a esporulação nas lesões das folhas lesionadas após 17 e 21 dias, respectivamente, diminuiu significativamente tanto na primeira (R² = - 0,66), como na segunda (R² = - 0,64) avaliação (Figura 6). As concentrações crescentes de esterco de suíno retardaram as esporulações das lesões significativamente na primeira e na segunda avaliações. Por outro lado, se for considerado a esporulação na testemunha até a concentração de 30%, o efeito no atraso da esporulação fica maior para as três avaliações (R² = - 0,83; R² = - 0,86 e R² = - 0,81). Em relação aos demais ensaios realizados, a cor verde das folhas neste ensaio foi menos intensa e a textura das folhas foi mais coreácea; exceto para as concentrações de 40 e 50%, possivelmente demonstrando desequilíbrio nutricional.

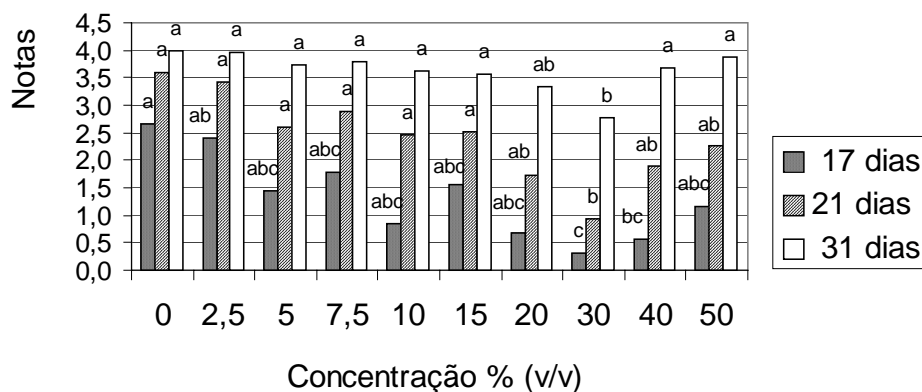


Figura 6 – Esporulação das lesões cloróticas em folhas de cafeeiro cultivado em diferentes concentrações de esterco de suíno, em diferentes intervalos de tempo após o início do aparecimento das lesões da primeira inoculação. Notas: (0) sem esporulação; (1) de 0 a 25%; (2) de 25 a 50%; (3) de 50 a 75% e (4) de 75 a 100% de lesões esporuladas. Em uma mesma data, médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si de acordo com o teste de Tukey ($p < 0,05$). Para as análises estatísticas os dados originais foram transformados em $\sqrt{x + 0,5}$.

4.2.3 Efeito do composto de lixo sobre a Ferrugem do cafeeiro

O número de lesões por folha lesionada e a altura das plantas não foram afetadas significativamente com as concentrações crescentes de composto de lixo nas três inoculações de *H. vastatrix* (Tabelas 7, 15 e 17). Os aumentos máximos no NL/FL em relação as testemunhas foram de 570,7; 146,1 e 1.012,6%, respectivamente, para a primeira, a segunda e a terceira inoculação. Na segunda inoculação, ocorreram controles da doença de 40,2; 26,5; 19,6 e 40,2% nas concentrações de 2,5; 5; 7,5 e 10% de composto de lixo, respectivamente (Tabela 15).

A porcentagem de folhas lesionadas por planta aumentou significativamente na primeira e na terceira inoculação e não foi observada alteração significativa na segunda inoculação ($R^2 = 0,65$; $R^2 = 0,66$ e $R^2 = -0,41$) (Tabelas 7 e 16).

Tabela 15 – Efeito do composto de lixo urbano no número de lesões por folha lesionada das mudas de cafeeiro na primeira, na segunda e na terceira inoculação com *Hemileia vastatrix*.

Concentração % (v/v) ¹	Inoculação		
	I	II	III
0,0	8,2	20,4	3,9
2,5	34,3	12,2 (40,2)	9,0
5,0	25,5	15,0 (26,5)	36,3
7,5	14,9	31,0	37,4
10,0	18,6	16,4 (19,6)	39,5
15,0	46,8	12,2 (40,2)	36,2
20,0	34,9	29,8	29,3
30,0	30,2	26,4	15,6
40,0	38,0	23,4	22,8
50,0	25,6	29,6	20,2
R ²	0,27	0,27	0,03

¹ Composto de lixo urbano. R²= coeficiente de determinação. Cada valor representa a média de 10 repetições. Intervalo entre as inoculações: 90 dias. Os valores entre parênteses correspondem a porcentagem de controle da doença em relação à testemunha.

Tabela 16 – Efeito do composto de lixo urbano na porcentagem de folhas lesionadas das mudas de cafeeiro na primeira, na segunda e na terceira inoculação com *Hemileia vastatrix*.

Concentração % (v/v) ¹	Inoculação		
	I	II	III
0,0	12,9	31,4	10,0
2,5	28,5	23,9	5,0
5,0	30,2	23,6	6,4
7,5	29,2	36,9	8,7
10,0	31,8	21,5	14,5
15,0	34,1	16,0	19,2
20,0	41,9	18,8	36,7
30,0	32,6	22,2	38,5
40,0	39,5	14,9	45,2
50,0	37,8	19,4	23,1
R ²	0,65	- 0,41	0,66

¹ Composto de lixo urbano. R² = coeficiente de determinação. Cada valor representa a média de 10 repetições. Intervalo entre as inoculações: 90 dias.

O teor de nitrogênio foliar total e o pH do substrato dos vasos aumentaram significativamente com as concentrações crescentes de composto de lixo (Tabelas 7 e 18). De acordo com a recomendação de N nas folhas de cafeeiro de Malavolta (1987), o teor de N na testemunha e nas concentrações de 2,5 e 7,5% de composto de lixo

foram considerados como da classe deficiente. O teor de N da concentração de 5% foi considerado como da classe adequada e os teores das demais concentrações como pertencentes a classe excessiva.

Tabela 17 – Efeito do composto de lixo urbano na altura (cm) das mudas de cafeeiro na primeira, na segunda e na terceira inoculação com *Hemileia vastatrix*.

Concentração % (v/v) ¹	Inoculação		
	I	II	III
0,0	45,8	51,4	66,67
2,5	53,7	59,9	71,00
5,0	48,8	54,6	74,33
7,5	51,7	55,4	74,67
10,0	45,6	55,3	74,67
15,0	52,9	63,3	80,33
20,0	42,4	52,3	79,67
30,0	37,5	47,8	81,67
40,0	40,4	57,0	73,67
50,0	32,1	46,6	63,67
R ²	- 0,58	- 0,12	0,02

¹ Composto de lixo urbano. R² = coeficiente de determinação. Cada valor representa a média de 10 repetições. Intervalo entre as inoculações: 90 dias.

Tabela 18 – Efeito do composto de lixo urbano no nitrogênio foliar total de mudas de cafeeiro inoculadas com *Hemileia vastatrix*; no pH, na condutividade elétrica e na atividade microbiana (hidrólise de FDA) total do substrato onde as mudas de cafeeiro se desenvolveram.

Concentração % (v/v) ¹	N (g Kg ⁻¹)	pH	CE (dS m ⁻¹)	FDA hidrolisado (µg min. ⁻¹ g solo seco ⁻¹).
0,0	23,2	5,4	0,111	3,32
2,5	22,0	5,7	0,141	3,14
5,0	26,1	5,7	0,181	2,90
7,5	23,5	5,9	0,101	2,61
10,0	30,1	6,2	0,166	3,14
15,0	30,3	6,3	0,172	2,36
20,0	33,0	6,7	0,215	1,88
30,0	33,8	7,0	0,272	1,85
40,0	33,6	7,3	0,186	1,51
50,0	33,7	7,4	0,232	1,53
R ²	0,86	0,98	0,59	- 0,88

¹ Composto de lixo urbano. N = teor de nitrogênio foliar total (Kjeldahl). CE = condutividade elétrica do substrato. FDA = hidrólise de diacetato de fluoresceína. R² = coeficiente de determinação. Cada valor representa a média de 10 repetições. Avaliações realizadas após a primeira inoculação.

A atividade microbiana total do substrato diminuiu significativamente com as concentrações crescentes do composto de lixo ($R^2 = - 0,88$) (Tabelas 7 e 18).

A esporulação nas lesões das folhas lesionadas após três, 12 e 22 dias do início do aparecimento das lesões cloróticas, foi de modo geral uniforme nas concentrações crescentes de composto de lixo ($R^2 = 0,00$; $R^2 = 0,00$ e $R^2 = 0,02$) (Figura 7).

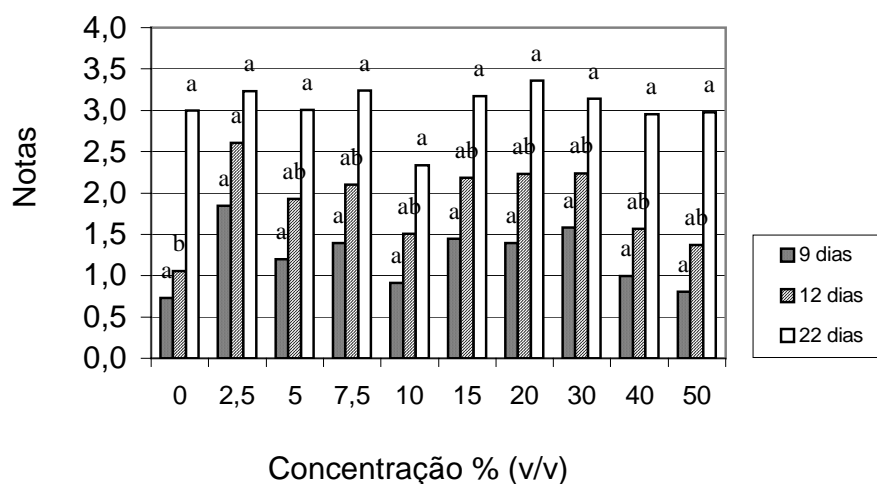


Figura 7 – Esporulação das lesões cloróticas em folhas de café cultivado em diferentes concentrações de composto de lixo, em diferentes intervalos de tempo após o início do aparecimento das lesões da primeira inoculação. Notas: (0) sem esporulação; (1) de 0 a 25%; (2) de 25 a 50%; (3) de 50 a 75% e (4) de 75 a 100% de lesões esporuladas. Em uma mesma data, médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si de acordo com o teste de Tukey ($p < 0,05$). Para as análises estatísticas os dados originais foram transformados em $\sqrt{x + 0,5}$.

4.2.4 Efeito da cama de aves sobre a Ferrugem do café

As concentrações crescentes da cama de aves não interferiram significativamente no NL/FL e na altura das mudas; no pH, na CE e hidrólise de FDA do substrato (Tabelas 7, 19, 21 e 22). Os aumentos máximos no NL/FL em relação à

testemunha foram de 222; 162,3 e 258,5%, respectivamente, para a primeira, a segunda e a terceira inoculação. Na segunda inoculação, o NL/FL nas concentrações de 2,5; 7,5 e 15% diminuíram em relação ao da testemunha, obtendo-se controles da doença de 36,2; 13,2 e 25%, respectivamente (Tabela 19).

Tabela 19 – Efeito da cama de aves no número de lesões por folha lesionada das mudas de cafeeiro na primeira, na segunda e na terceira inoculação com *Hemileia vastatrix*.

Concentração % (v/v) ¹	Inoculação		
	I	II	III
0,0	25,4	28,9	6,5
2,5	29,8	18,5 (36,2)	9,7
5,0	50,3	37,6	12,1
7,5	53,9	25,1 (13,2)	16,8
10,0	47,3	31,9	13,4
15,0	42,5	21,7 (25,0)	15,7
20,0	43,7	31,4	11,7
30,0	48,1	46,9	15,3
40,0	56,4	33,9	9,0
50,0	-	-	-
R ²	0,46	0,23	0,11

¹ Cama de aves. R²= coeficiente de determinação. (-) Plantas mortas após o transplante. Cada valor representa a média de 10 repetições. Intervalo entre as inoculações: 90 dias. Os valores entre parênteses correspondem a porcentagem de controle da doença em relação à testemunha.

A porcentagem de folhas lesionadas não aumentou significativamente na primeira inoculação ($R^2 = 0,45$) e significativamente na segunda inoculação ($R^2 = 0,91$) (Tabelas 7 e 20). A %FL na terceira inoculação diminuiu não significativamente com as concentrações crescentes da cama de aves ($R^2 = - 0,22$) (Tabelas 7 e 20).

O teor de nitrogênio foliar total aumentou significativamente com as concentrações crescentes da cama de aves ($R^2 = 0,77$) (Tabelas 7 e 22). De acordo com Malavolta (1987), o teor de N da testemunha foi considerado como da classe deficiente, os teores das concentrações de 2,5 a 7,5% foram considerados como pertencentes a classe adequada e os demais como pertencentes da classe excessiva.

Tabela 20 – Efeito da cama de aves na porcentagem de folhas lesionadas das mudas de cafeeiro na primeira, na segunda e na terceira inoculação com *Hemileia vastatrix*.

Concentração % (v/v) ¹	Inoculação		
	I	II	III
0,0	20,2	19,7	26,6
2,5	24,9	20,5	33,3
5,0	27,1	25,9	39,9
7,5	29,9	27,2	24,6
10,0	32,0	31,0	43,0
15,0	35,3	38,5	32,0
20,0	29,5	36,2	22,7
30,0	31,7	35,6	27,8
40,0	28,7	42,3	15,0
50,0	-	-	-
R ²	0,45	0,91	- 0,22

¹ Cama de aves. R² = coeficiente de determinação. (-) Plantas mortas após o transplante. Cada valor representa a média de 10 repetições. Intervalo entre as inoculações: 90 dias.

Tabela 21 – Efeito da cama de aves na altura (cm) das mudas de cafeeiro na primeira, na segunda e na terceira inoculação com *Hemileia vastatrix*.

Concentração % (v/v) ¹	Inoculação		
	I	II	III
0,0	35,2	52,6	60,0
2,5	40,0	61,6	73,2
5,0	42,3	60,7	69,0
7,5	43,5	59,4	71,3
10,0	45,6	63,4	81,2
15,0	34,6	56,3	67,9
20,0	28,5	53,3	70,1
30,0	33,8	55,0	66,3
40,0	35,0	65,0	70,0
50,0	-	-	-
R ²	0,21	0,01	0,02

¹ Cama de aves. R² = coeficiente de determinação. (-) Plantas mortas após o transplante. Cada valor representa a média de 10 repetições. Intervalo entre as inoculações: 90 dias.

A esporulação das lesões nas folhas de cafeeiro oito, 14 e 20 dias após a inoculação, aumentou não significativamente com as concentrações crescentes da cama de aves (R² = 0,55; R² = 0,48 e R² = 0,13) (Figura 8).

A cama de aves determinou a morte de 70, 90 e 100% das mudas, respectivamente, nas concentrações de 30; 40 e 50% (Tabela 19).

Tabela 22 – Efeito da cama de aves no nitrogênio foliar total de mudas de cafeeiro inoculadas com *Hemileia vastatrix*; no pH, na condutividade elétrica e na atividade microbiana (hidrólise de FDA) total do substrato onde as mudas de cafeeiro se desenvolveram.

Concentração % (v/v) ¹	N (g Kg ⁻¹)	pH	CE (dS m ⁻¹)	FDA hidrolisado (μg min. ⁻¹ g solo seco ⁻¹).
0,0	24,9	5,5	0,126	2,43
2,5	29,7	5,7	0,153	3,30
5,0	29,8	5,5	0,153	2,43
7,5	28,2	5,4	0,088	2,31
10,0	31,5	5,5	0,141	2,54
15,0	47,9	5,4	0,131	2,42
20,0	49,7	5,6	0,152	3,03
30,0	48,2	5,7	0,268	2,24
40,0	45,4	5,9	0,242	1,94
50,0	-	-	-	-
R ²	0,77	0,16	0,46	- 0,18

¹ Cama de aves. N = teor de nitrogênio foliar total (Kjeldahl). CE = condutividade elétrica do substrato. FDA = hidrólise de diacetato de fluoresceína. R² = coeficiente de determinação. (-) Plantas mortas após o transplante. Cada valor representa a média de 10 repetições. Avaliações realizadas após a primeira inoculação.

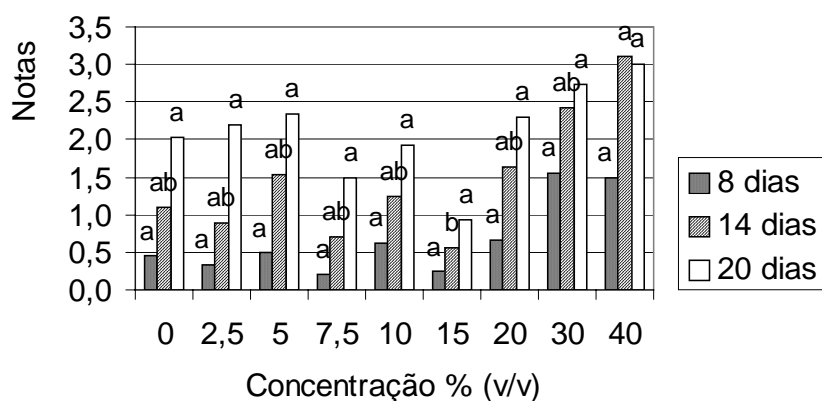


Figura 8 – Esporulação das lesões cloróticas em folhas de cafeeiro cultivado em diferentes concentrações de cama de aves, em diferentes intervalos de tempo após o início do aparecimento das lesões da primeira inoculação. Notas: (0) sem esporulação; (1) de 0 a 25%; (2) de 25 a 50%; (3) de 50 a 75% e (4) de 75 a 100% de lesões esporuladas. Em uma mesma data, médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si de acordo com o teste de Tukey ($p < 0,05$). Para as análises estatísticas os dados originais foram transformados em $\sqrt{x + 0,5}$.

4.2.5 Efeito do esterco de bovino sobre a Ferrugem do cafeeiro

O número de lesões por folha lesionada diminuiu de forma não significativa na primeira e na segunda inoculação com as concentrações crescentes de esterco bovino ($R^2 = - 0,12$ e $R^2 = - 0,05$) (Tabelas 7 e 23). Entretanto, na terceira inoculação o NL/FL aumentou mas de forma não significativa, com as concentrações crescentes de esterco de bovino ($R^2 = 0,10$) (Tabelas 7 e 23). Na primeira e na segunda inoculação ocorreu o controle da doença de 42 e 28%, respectivamente, na concentração de 40% (Tabela 23).

A %FL aumentou significativamente na primeira e segunda inoculação com as concentrações crescentes do esterco bovino ($R^2 = 0,81$ e $R^2 = 0,86$) (Tabelas 7 e 24).

Tabela 23 – Efeito do esterco de bovino no número de lesões por folha lesionada das mudas de cafeeiro na primeira, na segunda e na terceira inoculação com *Hemileia vastatrix*.

Concentração % (v/v) ¹	Inoculação		
	I	II	III
0,0	12,9	37,3	44,8
2,5	15,7	46,2	59,3
5,0	15,9	53,6	75,1
7,5	15,9	55,2	112,9
10,0	15,2	51,9	134,8
15,0	19,2	57,8	119,4
20,0	16,5	57,6	97,4
30,0	12,9	40,0	113,5
40,0	7,5 (42,0)	26,8 (28,1)	48,2
50,0	-	-	-
R^2	- 0,12	- 0,05	0,10

¹ Esterco de bovino. R^2 = coeficiente de determinação. (-) Plantas mortas após o transplante. Cada valor representa a média de 10 repetições. Intervalo entre as inoculações: 90 dias. Os valores entre parênteses correspondem a porcentagem de controle da doença em relação à testemunha.

Os valores do pH e da condutividade elétrica do substrato aumentaram significativamente com as concentrações crescentes do esterco de bovino. Por

outro lado, a atividade microbiana total do substrato diminuiu significativamente com o aumento das concentrações do esterco de bovino (Tabelas 7 e 26).

Tabela 24 – Efeito do esterco de bovino na porcentagem de folhas lesionadas das mudas de cafeeiro na primeira, na segunda e na terceira inoculação com *Hemileia vastatrix*.

Concentração % (v/v) ¹	Inoculação		
	I	II	III
0,0	18,0	20,9	64,2
2,5	20,6	21,1	57,7
5,0	25,3	29,8	60,9
7,5	22,0	32,9	69,7
10,0	21,7	31,1	64,1
15,0	29,4	34,2	58,6
20,0	33,3	46,5	68,2
30,0	30,5	42,1	53,3
40,0	32,8	61,2	52,8
50,0	-	-	-
R ²	0,81	0,86	- 0,18

¹ Esterco de bovino. R² = coeficiente de determinação. (-) Plantas mortas após o transplante. Cada valor representa a média de 10 repetições. Intervalo entre as inoculações: 90 dias.

Tabela 25 – Efeito do esterco de bovino na altura (cm) das mudas de cafeeiro na primeira, na segunda e na terceira inoculação com *Hemileia vastatrix*.

Concentração % (v/v) ¹	Inoculação		
	I	II	III
0,0	26,6	37,3	52,5
2,5	35,1	46,2	54,7
5,0	37,8	53,6	56,3
7,5	46,4	55,2	55,7
10,0	41,7	51,9	53,7
15,0	39,6	57,8	59,1
20,0	35,2	57,6	58,5
30,0	21,5	40,0	44,3
40,0	16,3	26,8	43,9
50,0	-	-	-
R ²	- 0,19	- 0,05	- 0,23

¹ Esterco de bovino. R² = coeficiente de determinação. (-) Plantas mortas após o transplante. Cada valor representa a média de 10 repetições. Intervalo entre as inoculações: 90 dias.

Tabela 26 – Efeito do esterco de bovino no nitrogênio foliar total de mudas de café inoculadas com *Hemileia vastatrix*; no pH, na condutividade elétrica e na atividade microbiana (hidrólise de FDA) total do substrato onde as mudas de café se desenvolveram.

Concentração % (v/v) ¹	N (g Kg ⁻¹)	pH	CE (dS m ⁻¹)	FDA hidrolisado (µg min. ⁻¹ g solo seco ⁻¹).
0,0	25,0	5,2	0,082	2,80
2,5	28,0	5,5	0,183	2,88
5,0	35,1	5,6	0,212	2,87
7,5	34,8	5,7	0,246	2,77
10,0	35,2	5,7	0,247	3,07
15,0	36,5	6,1	0,352	2,83
20,0	36,0	6,1	0,222	2,12
30,0	36,1	6,7	0,382	2,15
40,0	39,9	7,1	0,404	2,01
50,0	-	-	-	-
R ²	0,75	0,90	0,78	- 0,60

¹ Esterco de bovino. N = teor de nitrogênio foliar total (Kjeldahl). CE = condutividade elétrica do substrato. FDA = hidrólise de diacetato de fluoresceína. R² = coeficiente de determinação. (-) Plantas mortas após o transplante. Cada valor representa a média de 10 repetições. Avaliações realizadas após a primeira inoculação.

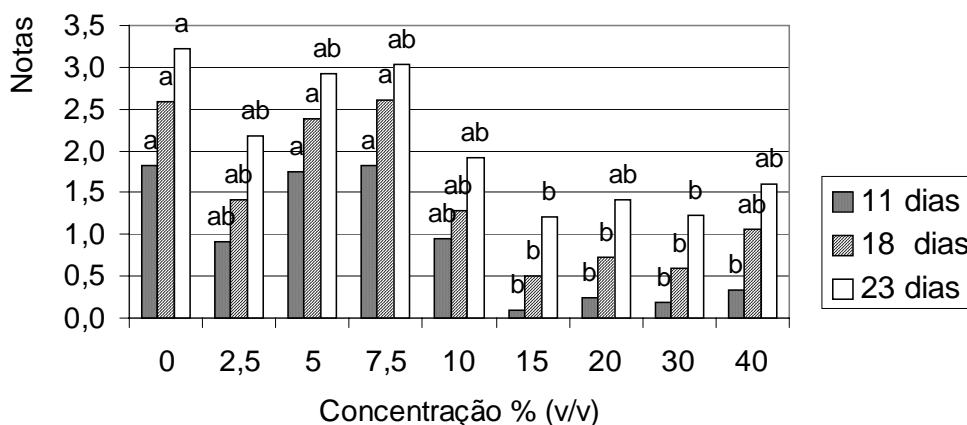


Figura 9 – Esporulação das lesões cloróticas em folhas de café cultivado em diferentes concentrações do esterco bovino, em diferentes intervalos de tempo após o início do aparecimento das lesões da primeira inoculação. Notas: (0) sem esporulação; (1) de 0 a 25%; (2) de 25 a 50%; (3) de 50 a 75% e (4) de 75 a 100% de lesões esporuladas. Em uma mesma data, médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si de acordo com o teste de Tukey ($p < 0,05$). Para as análises estatísticas os dados originais foram transformados em $\sqrt{x + 0,5}$.

A esporulação das lesões nas folhas lesionadas após 11 dias do aparecimento das lesões, aumentou significativamente com as concentrações crescentes de esterco bovino ($R^2 = 0,64$) (Figura 9). Entretanto, ocorreu diminuição na esporulação na segunda e na terceira avaliação.

4.2.6 Efeito do esterco de ovino sobre a Ferrugem do cafeeiro

Com concentrações crescentes de esterco de ovino, o número de lesões por folha lesionada aumentou significativamente na primeira e na segunda inoculação ($R^2 = 0,63$ e $R^2 = 0,69$). Por outro lado, o NL/FL diminuiu na terceira inoculação com as concentrações crescentes do esterco de ovino ($R^2 = - 0,29$) (Tabelas 7 e 27). Na terceira inoculação, as concentrações de 40 e 50% controlaram a doença em 19,5 e 35,7%, respectivamente (Tabela 27).

Tabela 27 – Efeito do esterco de ovino no número de lesões por folha lesionada das mudas de cafeeiro na primeira, na segunda e na terceira inoculação com *Hemileia vastatrix*.

Concentração % (v/v) ¹	Inoculação		
	I	II	III
0,0	35,9	21,1	78,0
2,5	42,3	47,4	95,2
5,0	72,2	39,0	122,7
7,5	83,7	75,3	116,2
10,0	87,1	77,2	108,5
15,0	85,4	77,0	103,1
20,0	89,7	74,9	89,4
30,0	94,5	80,3	99,2
40,0	91,3	84,4	62,8 (19,5)
50,0	82,6	78,5	50,1 (35,7)
R^2	0,63	0,69	- 0,29

¹ Esterco de ovino. R^2 = coeficiente de determinação. (-) Plantas mortas após o transplante. Cada valor representa a média de 10 repetições. Intervalo entre as inoculações: 90 dias. Os valores entre parênteses correspondem a porcentagem de controle da doença em relação à testemunha.

Para a porcentagem de folhas lesionadas e altura das plantas não houve efeito significativo para as três inoculações (Tabelas 7, 28 e 29).

Tabela 28 – Efeito do esterco de ovino na porcentagem de folhas lesionadas das mudas de cafeeiro na primeira, na segunda e na terceira inoculação com *Hemileia vastatrix*.

Concentração % (v/v) ¹	Inoculação		
	I	II	III
0,0	34,4	45,7	39,0
2,5	42,1	45,4	47,6
5,0	53,3	58,1	61,4
7,5	45,6	47,8	58,1
10,0	55,4	56,6	54,3
15,0	50,9	53,0	51,5
20,0	57,4	58,1	44,7
30,0	48,5	52,4	49,6
40,0	47,3	46,8	31,4
50,0	48,2	60,5	25,1
R ²	0,21	0,20	- 0,29

¹ Esterco de ovino. R² = coeficiente de determinação. (-) Plantas mortas após o transplante. Cada valor representa a média de 10 repetições. Intervalo entre as inoculações: 90 dias.

Os teor de nitrogênio total foliar, o pH e a CE aumentaram significativamente com as concentrações crescentes do esterco de ovino (Tabelas 7 e 30). A atividade microbiana total do substrato aumentou não significativamente com as concentrações crescentes de esterco de ovino (R² = 0,06) (Tabelas 7 e 30).

Tabela 29 – Efeito do esterco de ovino na altura das mudas de cafeeiro na primeira, na segunda e na terceira inoculação com *Hemileia vastatrix*.

Concentração % (v/v) ¹	Inoculação		
	I	II	III
0,0	33,2	41,1	52,4
2,5	37,7	46,6	57,4
5,0	44,2	55,0	55,9
7,5	49,5	53,2	63,7
10,0	47,8	53,6	57,3
15,0	43,9	50,8	62,0
20,0	41,2	50,9	61,6
30,0	36,8	43,3	60,3
40,0	33,6	44,0	46,3
50,0	28,4	47,6	48,9
R ²	- 0,14	- 0,01	- 0,08

¹ Esterco de ovino. R² = coeficiente de determinação. (-) Plantas mortas após o transplante. Cada valor representa a média de 10 repetições. Intervalo entre as inoculações: 90 dias.

Tabela 30 – Efeito do esterco de ovino no nitrogênio foliar total de mudas de cafeeiro inoculadas com *Hemileia vastatrix*; no pH, na condutividade elétrica e na atividade microbiana (hidrólise de FDA) total do substrato onde as mudas de cafeeiro se desenvolveram.

Concentração % (v/v) ¹	N (g Kg ⁻¹)	pH	CE (dS m ⁻¹)	FDA hidrolisado (μg min. ⁻¹ g solo seco ⁻¹).
0,0	27,4	5,5	0,089	2,77
2,5	29,4	5,1	0,163	3,05
5,0	37,4	5,5	0,262	2,80
7,5	39,1	5,7	0,207	2,89
10,0	31,3	5,7	0,211	2,99
15,0	39,4	6,2	0,194	3,29
20,0	43,4	6,2	0,347	2,64
30,0	49,9	6,6	0,338	3,11
40,0	52,4	6,9	0,316	4,40
50,0	54,7	7,1	0,508	2,42
R ²	0,87	0,92	0,76	0,06

¹ Esterco de ovino. N = teor de nitrogênio foliar total (Kjeldahl). CE = condutividade elétrica do substrato. FDA = hidrólise de diacetato de fluoresceína. R² = coeficiente de determinação. (-) Plantas mortas após o transplante. Cada valor representa a média de 10 repetições. Avaliações realizadas após a primeira inoculação.

A esporulação das lesões nas folhas lesionadas, um dia após o aparecimento das lesões, diminuiu de forma não significativa com as concentrações crescentes de esterco de ovino (R² = - 0,52) (Figura 10). Na segunda e terceira avaliações, sete e 16 dias após o aparecimento das lesões, as esporulações diminuiram significativamente com o aumento das concentrações de esterco de ovino (R² = - 0,77 e R² = - 0,88). Ocorreu um atraso significativo na esporulação nas concentrações de 40 e 50%.

Na concentração de 50% de esterco de ovino ocorreu a morte de 20% das mudas.

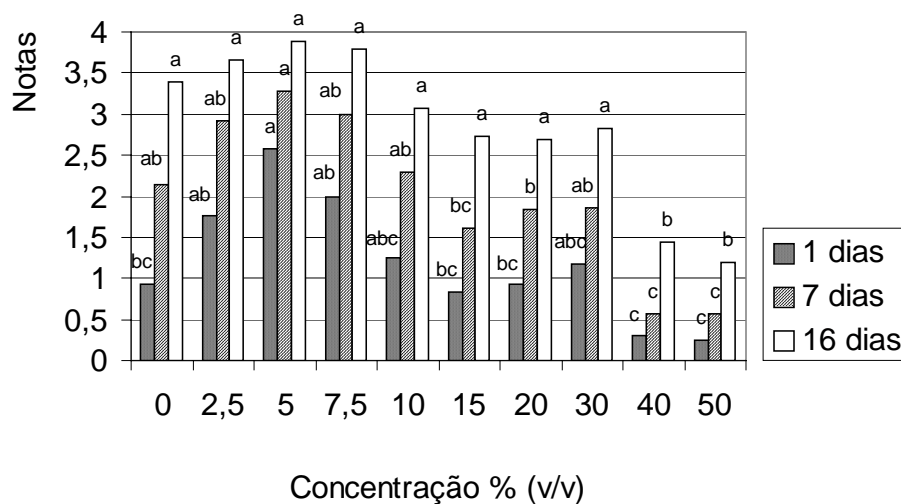


Figura 10 – Esporulação das lesões cloróticas em folhas de cafeeiro cultivado em diferentes concentrações de esterco de ovinho, em diferentes intervalos de tempo após o início do aparecimento das lesões da primeira inoculação. Notas: (0) sem esporulação; (1) de 0 a 25%; (2) de 25 a 50%; (3) de 50 a 75% e (4) de 75 a 100% de lesões esporuladas. Em uma mesma data, médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si de acordo com o teste de Tukey ($p < 0,05$). Para as análises estatísticas os dados originais foram transformados em $\sqrt{x + 0,5}$.

4.3 Efeito do lodo de esgoto e do composto de lixo nas atividades enzimáticas do cafeeiro

4.3.1 Atividade enzimática da peroxidase nas plantas de café desenvolvidas em substratos com o lodo de esgoto

A atividade da peroxidase no experimento com o lodo de esgoto teve ajustes não significativos ao modelo de regressão linear (Figura 11).

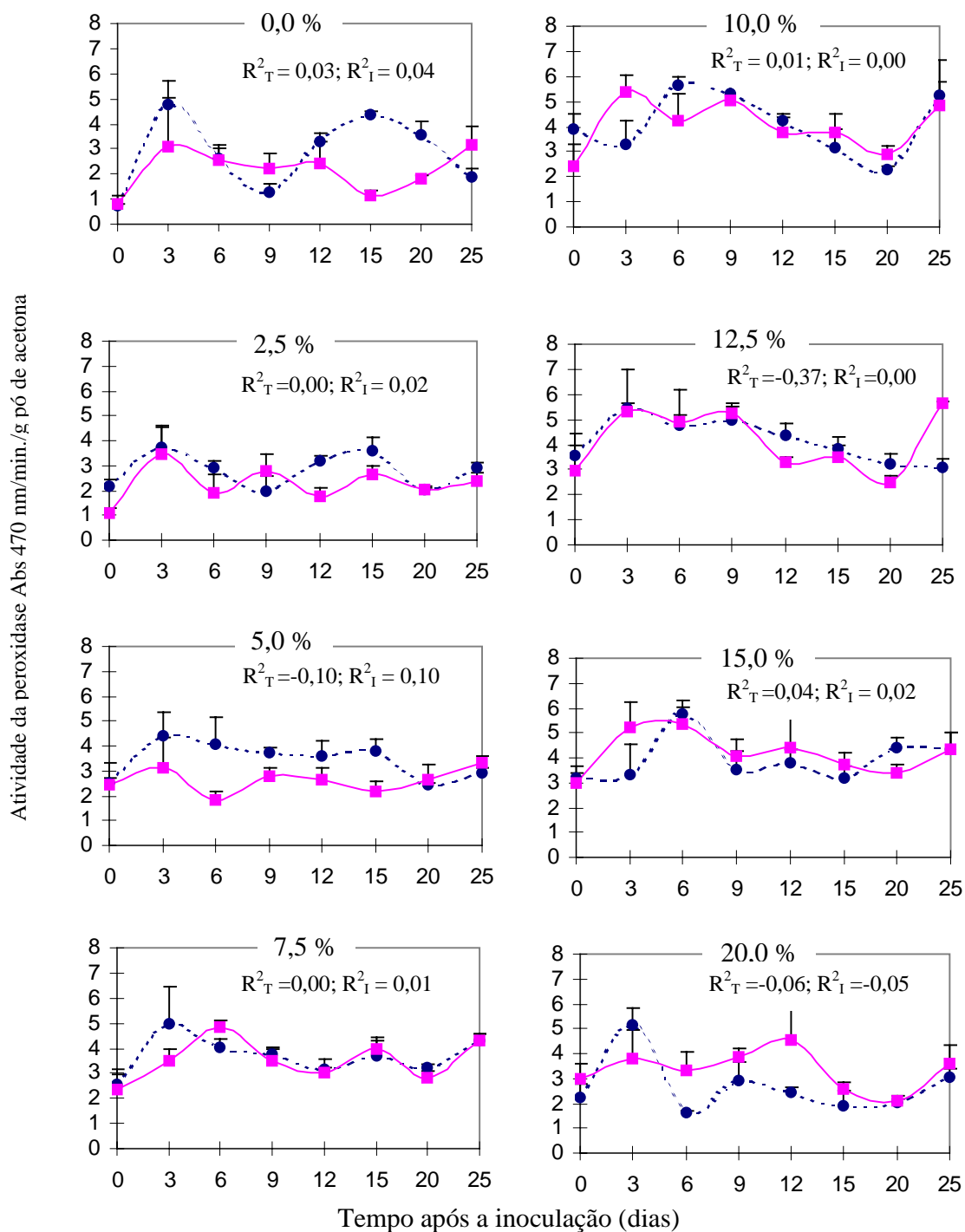


Figura 11 – Atividade da peroxidase em folhas de *Coffea arabica* cv. Mundo Novo não inoculadas (---●---) e inoculadas (—■—) com uredíniosporos de *Hemileia vastatrix* raça II em diferentes concentrações de lodo de esgoto. Barras verticais representam o desvio padrão da média. T = testemunha e I = Inoculada.

A atividade média da peroxidase no período de estudo foi semelhante entre as plantas testemunhas e as inoculadas. Nas testemunhas e nas plantas inoculadas ocorreram aumentos da atividade da POX à medida que aumentaram-se as concentrações de lodo de esgoto ($R^2 = 0,11$ e $R^2 = 0,64$) (Figura 12). Apenas nas concentrações de 15 e 20% das plantas testemunhas, a atividade da POX diminuiu à um valor inferior ao obtido na testemunha absoluta. Nas plantas inoculadas a atividade diminuiu na concentração de 20%, mas não foi inferior aos valores das testemunhas absoluta e da inoculada (Figura 12).

As concentrações crescentes de lodo de esgoto tiveram baixo ajuste ao modelo de regressão linear em relação ao NL/FL ($R^2 = - 0,19$), à %FL ($R^2 = - 0,08$) e ao desenvolvimento das plantas ($R^2 = - 0,67$) no experimento da peroxidase (Figuras 13, 14 e 15).

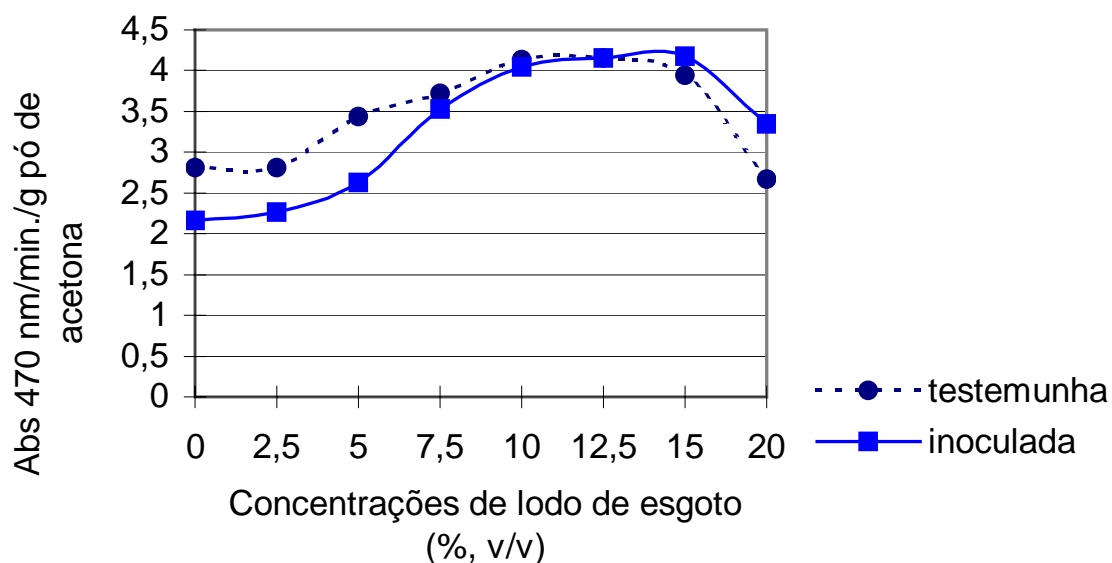


Figura 12 – Atividade média da peroxidase em diferentes concentrações de lodo de esgoto durante 25 dias após a inoculação das plantas.

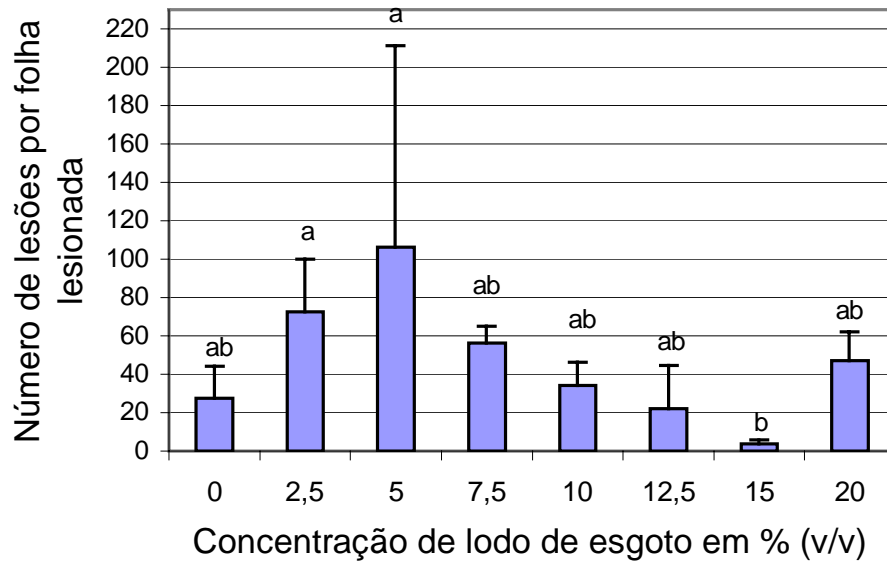


Figura 13 – Efeito do lodo de esgoto no número de lesões por folha lesionada.

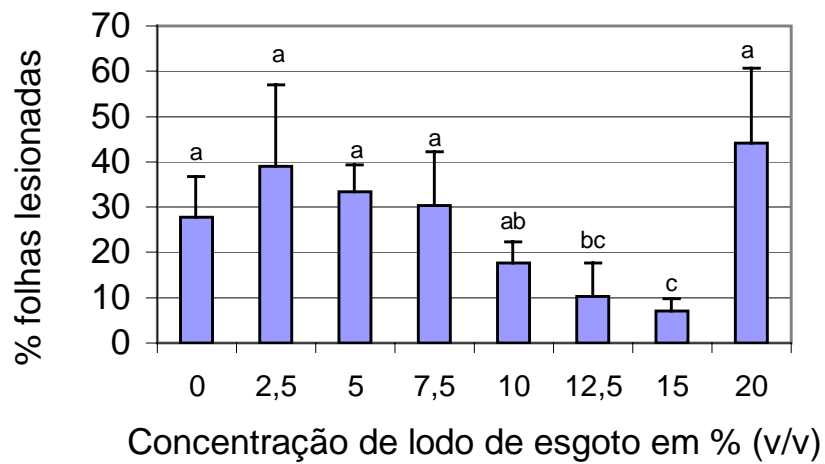


Figura 14 – Efeito do lodo de esgoto na porcentagem de folhas lesionadas por planta.

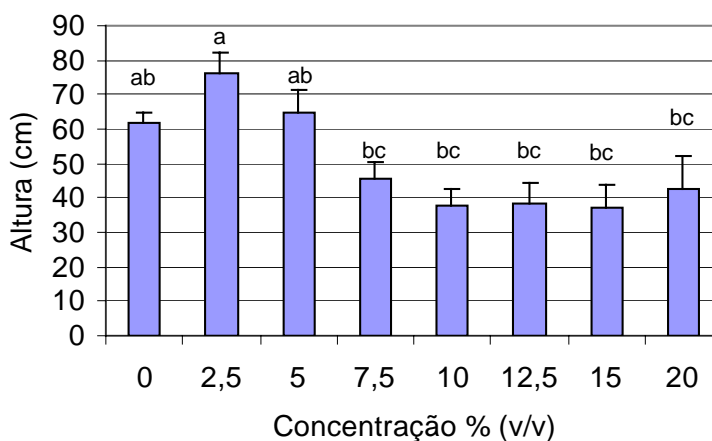


Figura 15 – Efeito do lodo de esgoto na altura das plantas.

4.3.2 Atividade enzimática da peroxidase nas plantas de café desenvolvidas em substrato com o composto de lixo.

A atividade da peroxidase no experimento com o composto de lixo teve ajustes não significativos ao modelo de regressão linear, exceto na testemunha da concentração de 0,0% (Figura 16).

Na testemunha absoluta, sem composto de lixo e sem inoculação de esporos de *H. vastatrix*, a atividade da POX teve aumento aos 16 e 32 dias após a inoculação. A atividade da POX nas plantas sem composto de lixo e inoculadas aumentou aos oito dias após a inoculação com valor superior ao da testemunha; teve pico máximo aos 16 dias após a inoculação e diminuiu a atividade aos 32 dias após a inoculação (Figura 16).

Nas concentrações de 2,5 à 10% de composto de lixo a atividade da POX geralmente foi baixa nos três primeiros intervalos de tempo: 0, 2 e 4 dias após a inoculação. Aos oito dias após a inoculação das plantas ocorreram aumentos na atividade nas plantas inoculadas e nas testemunhas. (Figura 16). Nas concentrações de 15 à 50% a atividade da POX nas plantas inoculadas foi maior do que a da testemunha. O aumento da

POX nas plantas inoculadas a partir de quatro dias após a inoculação pode ter contribuído para diminuir o NL/FL nas concentrações de 20; 30; 40 e 50% (Figuras 16 e 17).

A atividade média da POX na testemunha diminuiu em todas as concentrações de composto de lixo ($R^2 = -0,24$) (Figura 18). A diminuição da atividade da POX pode estar relacionada à presença de elementos tóxicos no composto de lixo, como por exemplo os metais pesados. No entanto, o composto de lixo não prejudicou o desenvolvimento das plantas, exceto na concentração de 50% (Figura 19).

Nas plantas inoculadas a atividade média da POX foi inferior à da testemunha nas concentrações de 0 a 10% e superior nas demais concentrações ($R^2 = 0,47$) (Figura 18). A atividade da POX nas plantas inoculadas pouco interferiu na %FL (Figura 20). Mesmo com o aumento da atividade da POX nas concentrações de 20 à 50% de composto de lixo, a %FL não diminuiu. Por outro lado, a baixa %FL obtida pode ser devido a época do ano na qual o experimento foi realizado. De acordo com Ribeiro et al. (1978) e Eskes (1989), as altas temperaturas afetam o desenvolvimento do fungo no interior dos tecidos da planta.

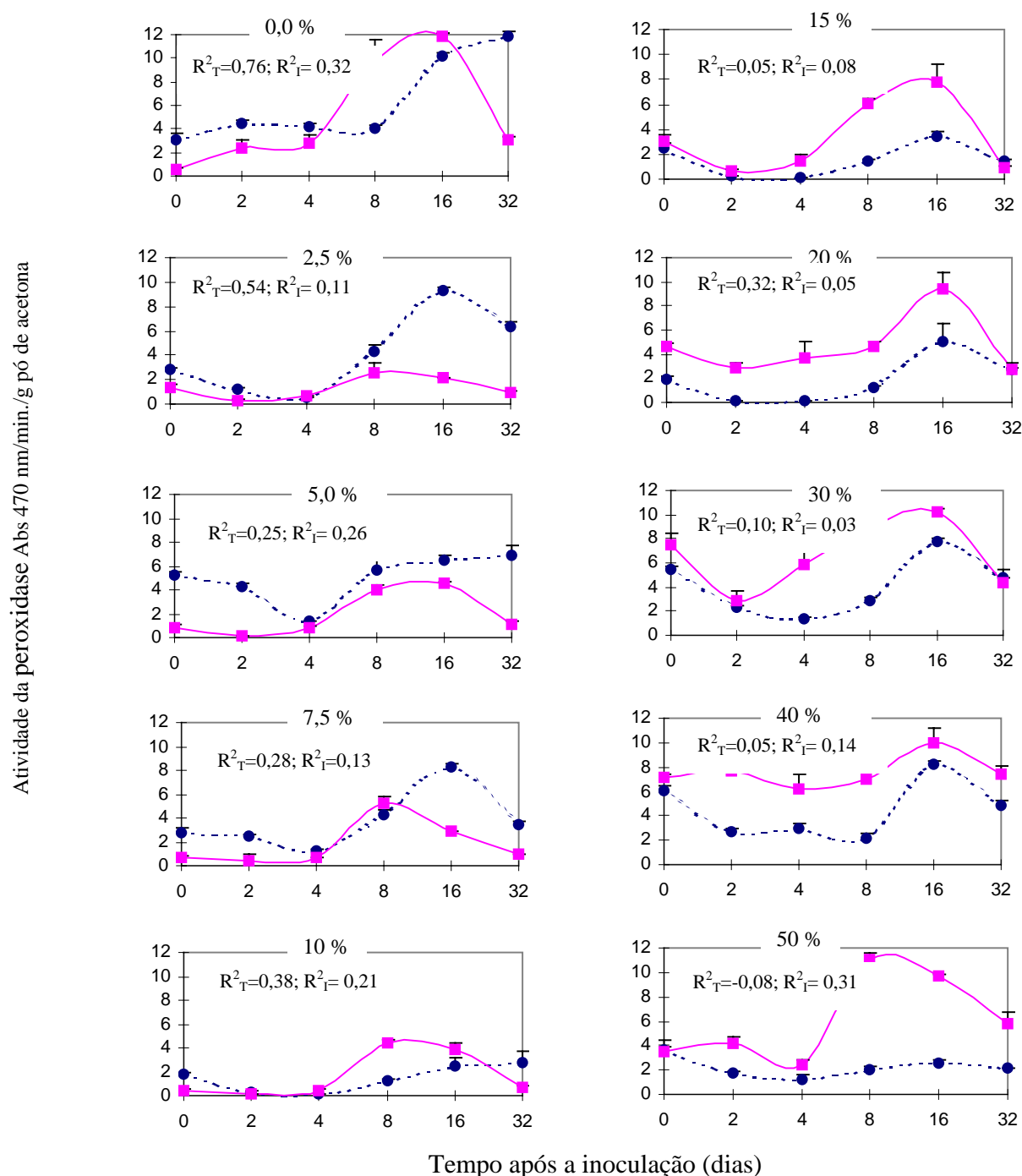


Figura 16 – Atividade da peroxidase em folhas de *Coffea arabica* cv. Mundo Novo não inoculadas (---●---) e inoculadas (—■—) com uredíniosporos de *Hemileia vastatrix* raça II em diferentes concentrações de composto de lixo urbano. Barras verticais representam o desvio padrão da média. T = testemunha e I = inoculada.

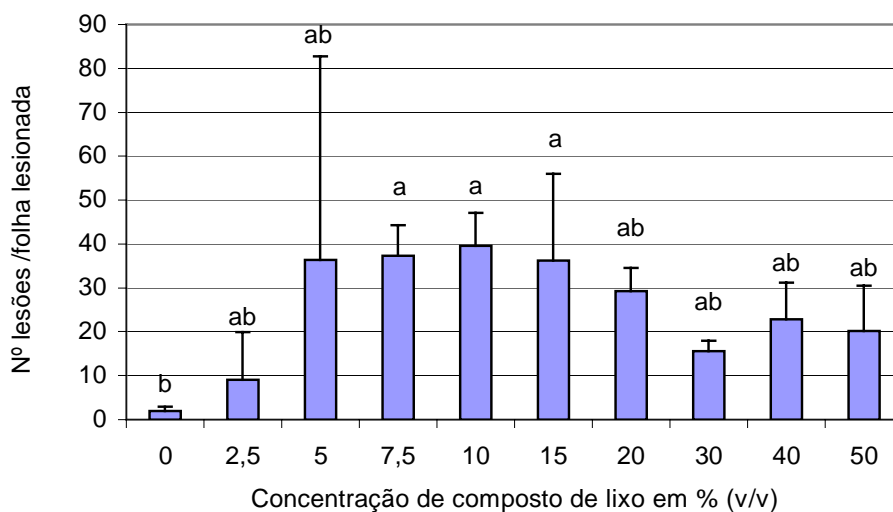


Figura 17 – Efeito do composto de lixo no número de lesões por folha lesionada.

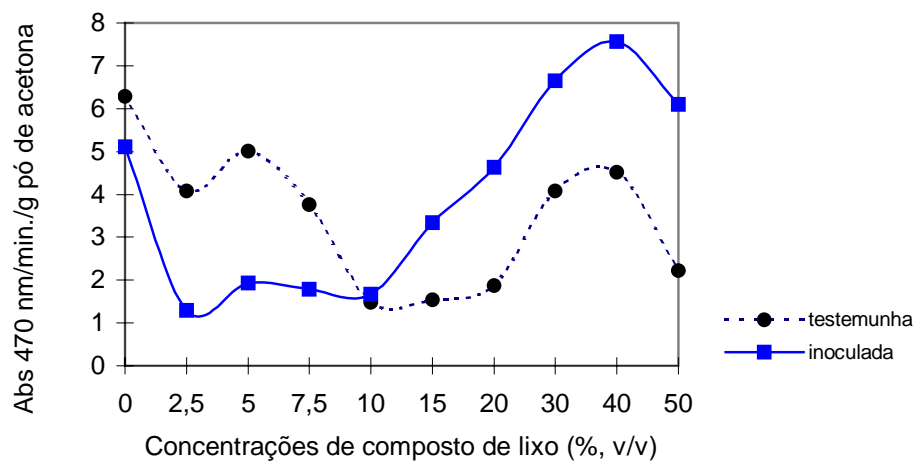


Figura 18 - Atividade média da peroxidase em diferentes concentrações de composto de lixo urbano durante 32 dias após a inoculação das plantas.

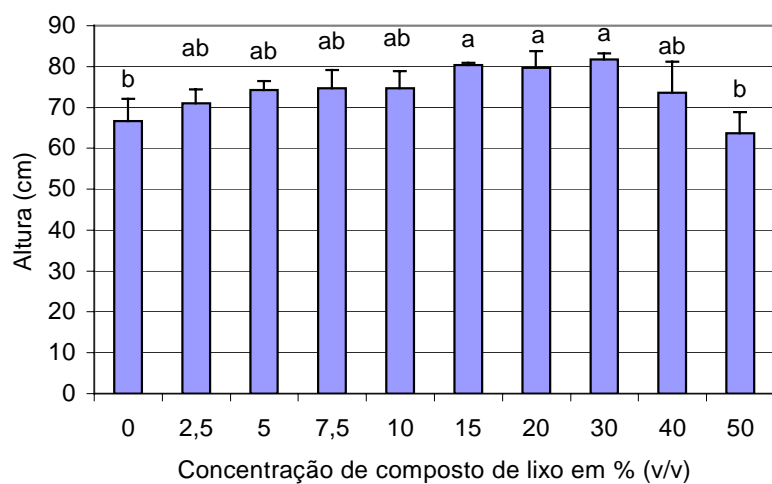


Figura 19 – Efeito do composto de lixo na altura das plantas de cafeeiro.

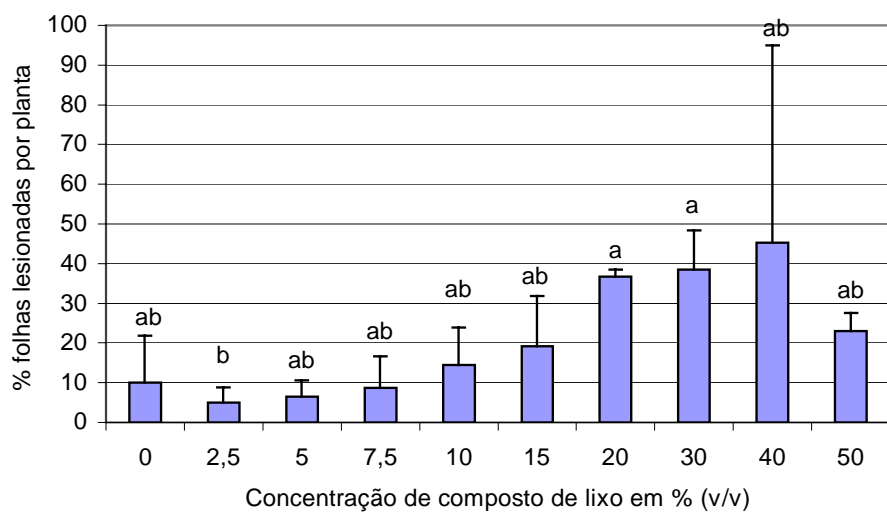


Figura 20 – Efeito do composto de lixo na porcentagem de folhas lesionadas por planta.

4.3.3 Atividade enzimática da polifenoloxidase nas plantas de café desenvolvidas no substrato com composto de lixo

A atividade da polifenoloxidase foi determinada inicialmente nos extratos enzimáticos preparados a partir do pó de acetona. As leituras realizadas por meio de espectrofotometria a 480 nm, pela oxidação do substrato L-Dopa não foram eficientes. Os resultados obtidos em variação da absorbância foram muito baixos ou mesmo sempre nulos.

Posteriormente, foram realizadas leituras das mesmas amostras congeladas em tubos Eppendorfs a $-75\text{ }^{\circ}\text{C}$, empregando-se a metodologia proposta por Mazzafera & Robinson (2000). As leituras realizadas do consumo de oxigênio, no eletrodo de oxigênio, também não foram eficientes nas amostras provenientes do pó de acetona. Quando a atividade enzimática da PPO foi realizada em extrato bruto de folhas coletadas das plantas do mesmo experimento os resultados foram promissores. Novos pós de acetona foram preparados para verificar o efeito do tempo de armazenamento, mas a atividade enzimática geralmente permaneceu nula. Notou-se que os pós de acetona provenientes de plantas de concentrações altas do lodo de esgoto ou do composto de lixo apresentaram um escurecimento durante a secagem no interior do dissecador. Estes tecidos foliares mais tenros oxidaram afetando a PPO e/ou ocorreu uma ação direta da acetona na enzima. Portanto, as amostras preparadas com o pó de acetona afetaram a atividade da PPO, não sendo uma metodologia adequada para a sua determinação. A partir destes resultados, foram realizadas novas coletas de folhas nos experimentos de lodo de esgoto e de composto de lixo para verificar o efeito destas matérias orgânicas na atividade da PPO. Os resultados obtidos nestas avaliações não fazem parte do primeiro ciclo da doença nas plantas dos dois experimentos realizados. Por outro lado, o efeito do composto de lixo e do lodo foram comparados entre as concentrações de cada experimento.

A atividade da PPO no experimento com composto de lixo, foi realizada empregando-se a segunda metodologia 94 dias após a inoculação das plantas e 60 dias após a avaliação da doença nas plantas.

A atividade total da PPO nas plantas não inoculadas apresentou uma tendência de redução com o aumento da concentração de composto de lixo até a

concentração de 10%. A partir da concentração de 15% ocorreu uma tendência de aumento da atividade total da PPO. As concentrações de 7,5 e 40% não se enquadraram nas respectivas tendências observadas. A testemunha absoluta apresentou valor superior da PPO em relação as concentrações de 2,5; 5; 10; 15; 20 e 40% e inferiores para as concentrações de 7,5; 30 e 50% (Figura 21). Nas plantas inoculadas a atividade total da PPO na testemunha foi inferior a testemunha absoluta. A atividade da PPO apresentou uma tendência de redução até a concentração de 15%. A partir da concentração de 15% ocorreu uma tendência de aumento da atividade da PPO, exceto para a concentração de 20% (Figura 21). Provavelmente, o fungo ainda estava colonizando mais lentamente os tecidos foliares das plantas nas concentrações de 20 a 50%, determinando a reação da planta.

A atividade específica da PPO nas plantas não inoculadas, no experimento de composto de lixo, apresentou um aumento da testemunha absoluta para a concentração de 5%, seguida de um decréscimo até a concentração de 10%. Posteriormente, apresentou uma tendência de aumento de acordo com as concentrações crescentes de composto de lixo, exceto para as concentrações de 30 e 50% (Figura 21).

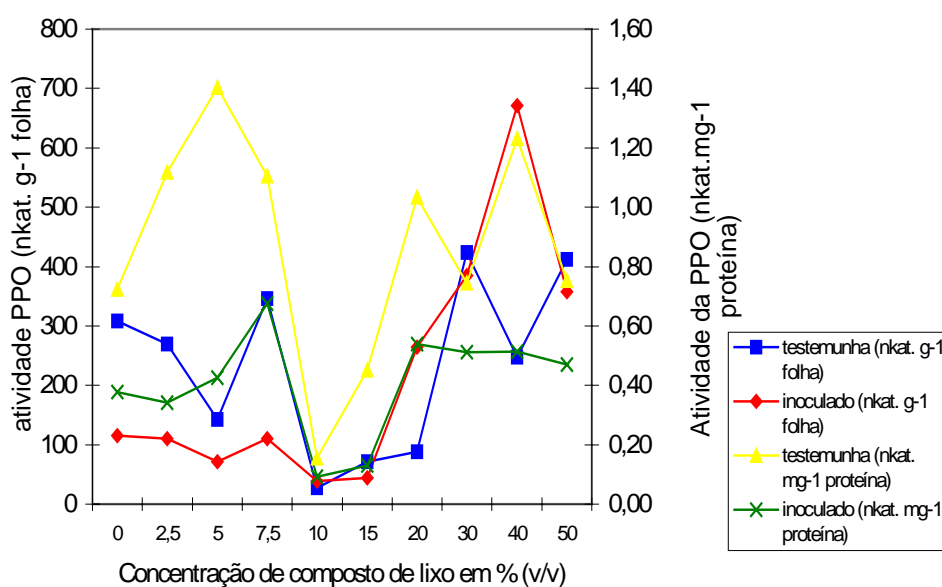


Figura 21 – Efeito do composto de lixo na atividade total e específica da polifenoloxidase 94 dias após a inoculação das plantas.

Nas plantas inoculadas a atividade específica da PPO apresentou um aumento da testemunha até a concentração de 7,5% e diminuiu em seguida até a concentração de 15%. A partir desta concentração a atividade da PPO aumentou e praticamente permaneceu constante (Figura 21). A atividade específica da PPO nas plantas inoculadas em relação às não inoculadas foi menor para todas as concentrações de composto de lixo (Figura 21).

Na análise química foliar das plantas desenvolvidas no substrato com o composto de lixo apenas o teor de manganês diminuiu significativamente com as concentrações crescentes do composto de lixo ($R^2 = - 0,86$) (Tabela 31). Os teores dos demais elementos não tiveram ajustes significativos ao modelo de regressão linear com as concentrações crescentes de composto de lixo (Tabela 31). Entre todos os elementos, o níquel aumentou não significativamente o seu teor no tecido foliar com as concentrações de composto de lixo ($R^2 = 0,52$).

Na análise da atividade total e específica da PPO nas plantas desenvolvidas em substrato com o composto de lixo, as menores atividades foram obtidas nas concentrações de 10 e 15%. No entanto, nenhum dos elementos analisados no tecido foliar apresentou valores que justificassem a redução da atividade enzimática (Figura 21 e Tabela 31).

4.3.4 Atividade enzimática da polifenoloxidase nas plantas de café desenvolvidas em substrato com lodo de esgoto

A atividade total da polifenoloxidase nas plantas não inoculadas foi maior na ausência de lodo de esgoto (testemunha absoluta) (Figura 22). A atividade da PPO decresceu até a concentração de 10% e aumentou em seguida até a concentração de 20%. Nas plantas inoculadas a atividade total da PPO na testemunha foi inferior a da testemunha absoluta. Nas concentrações de 2,5 e 5% ocorreram os menores valores da PPO enquanto que nas concentrações de 7,5% a 20% ocorreu uma tendência de aumento da atividade. As maiores atividades da PPO foram observadas nas concentrações de 15 e 20%. A atividade total dessas concentrações também foram superiores a atividade total da testemunha absoluta (Figura 22).

Tabela 31 – Análise química do tecido foliar das plantas desenvolvidas nas concentrações crescentes do composto de lixo.

Concentração ¹	N	K	P	Ca	Mg	B	Cu	Fe	Mn	Zn	S	Cd	Cr	Ni	Pb
% (v/v)	g/kg	g/kg	g/kg	g/kg	g/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	g/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg
0,0	17,0	26,9	2,2	24,6	7,1	75,1	25,1	313	105	14,8	3,7	0,1	2,2	0,1	0,1
2,5	15,6	18,3	1,4	19,9	4,7	88,8	15,8	253	58	7,6	3,7	0,1	2,5	0,1	0,1
5,0	16,1	21,5	1,8	27,2	7,4	85,3	25,3	188	65	9,3	3,7	0,1	4,3	2,8	0,1
7,5	16,5	24,8	1,7	28,1	7,0	91,1	27,4	190	49	12,0	3,7	0,1	0,1	0,1	0,1
10,0	14,4	19,4	1,6	30,4	7,2	86,6	17,6	172	34	10,9	3,7	0,1	2,2	0,3	0,1
15,0	16,5	22,1	1,7	29,2	6,8	94,8	23,4	210	41	10,3	3,7	0,1	0,1	5,6	0,1
20,0	16,5	25,3	1,7	29,0	6,2	86,6	20,8	233	35	12,3	3,7	0,5	1,5	1,0	0,1
30,0	20,2	26,4	1,6	26,6	5,2	72,5	18,2	275	8	14,1	3,6	0,3	0,1	5,9	0,1
40,0	20,6	25,8	1,6	27,7	5,1	76,2	14,5	295	9	14,7	3,4	0,1	4,3	3,3	0,1
50,0	31,7	30,1	1,7	27,6	4,6	69,8	14,6	907	8	16,7	2,4	0,1	6,5	6,5	0,1
R ²	0,48	0,30	-0,13	0,25	-0,30	-0,19	-0,35	0,28	-0,86	0,35	-0,41	0,09	0,08	0,52	0,00

Instituto Agrônômico - IAC Centro de Solos e Recursos Ambientais. Extratores: K, P, Ca, Mg, B, Cu, Fe, Mn, Zn, Cd, Cr, Ni, Pb: Via seca; S: Nitroper. ¹Concentração de composto de lixo nos vasos. R² = Coeficiente de determinação da análise de regressão linear entre as concentrações de composto de lixo e os valores dos elementos analisados no tecido foliar. Análise realizada 88 dias após a inoculação das plantas.

O lodo de esgoto diminuiu a atividade total da PPO nas plantas não inoculadas em 42,1 a 99,8% ($R^2 = -0,29$). Nas plantas inoculadas o lodo de esgoto diminuiu a atividade da PPO em 23,2 a 80,1% nas concentrações de 2,5 a 12,5%. No entanto, apresentou uma tendência de aumento da PPO a partir da concentração de 7,5% ($R^2 = 0,46$) (Figura 22).

A atividade específica da PPO nas plantas não inoculadas foi maior na testemunha absoluta. Nas concentrações de 2,5 à 12,5% a atividade diminuiu e, aumentou nas concentrações de 15 e 20% (Figura 22). Nas plantas inoculadas a atividade específica da PPO foi maior na testemunha em relação as demais concentrações. Em termos biológicos, a PPO da testemunha foi mais pura, necessitando de uma menor quantidade de proteína para uma mesma atividade.

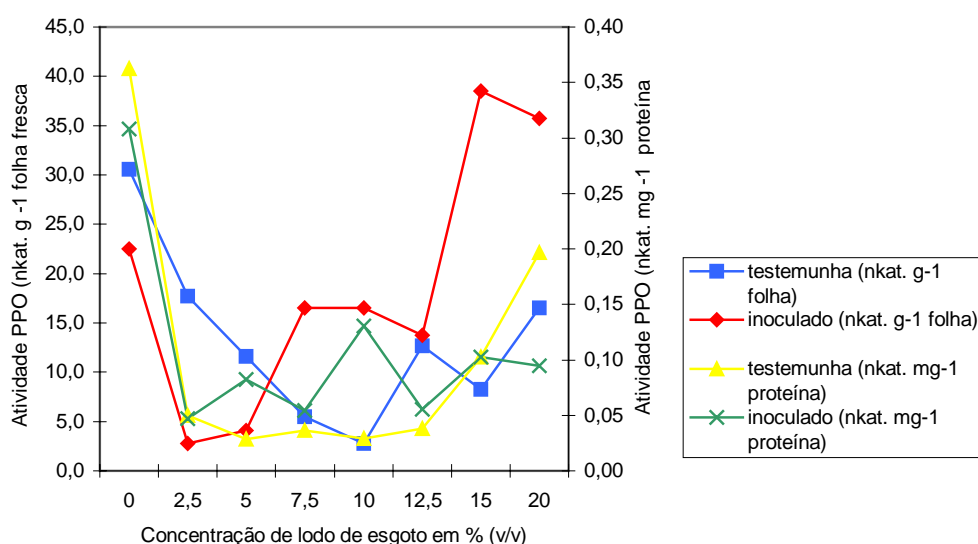


Figura 22 – Efeito do lodo de esgoto na atividade total e específica da polifenoloxidase 160 dias após a inoculação das plantas

Nas plantas desenvolvidas em substrato com o lodo de esgoto, as maiores atividades totais e específicas nas plantas inoculadas e não inoculadas foram nas testemunhas; exceto na atividade total das plantas inoculadas, para as concentrações de 15 e 20% de lodo de esgoto.

5 DISCUSSÃO

5.1 Efeito de fontes de matéria orgânica na Ferrugem do cafeeiro

O uso de altas doses de matéria orgânica causou a morte, após o transplante das mudas: de 100% das plantas no experimento com lodo de esgoto nas concentrações de 30, 40 e 50% (Tabela 6); de 70, 90 e 100% das plantas nas concentrações de 30, 40 e 50%, respectivamente, de cama de aves (Tabela 19); de 100% das plantas na concentração de 50% de esterco bovino (Tabela 23); de 20% das mudas na concentração de 50% de esterco de ovino. A morte das plantas ocorridas com o lodo de esgoto após o transplante foram, possivelmente, causadas pelo excesso de umidade retida nos substratos dos vasos e por excesso de compostos químicos como o nitrogênio. A morte das plantas com a cama de aves foi, possivelmente, devido ao alto teor de nitrogênio disponível e à salinização. Na análise química da cama de aves o teor de nitrogênio foi de 37,5 g Kg⁻¹ (Tabela 5). Esse valor corresponde a uma quantidade de 116, 136, 219 e 250%, respectivamente, aos teores de nitrogênio presentes nos esterco de suíno, de ovino, de bovino e do composto de lixo (Tabela 5). Os sintomas característicos em plantas de café, como pontas e margens das folhas com manchas irregulares e secas, ocasionados pela salinização foram verificados nas mudas desenvolvidas no substrato com a cama de aves (Malavolta, 1987). Apesar da constatação visual dos sintomas de salinização, a condutividade elétrica média no substrato foi de 0,268 e 0,242 dS m⁻¹, respectivamente, para as concentrações de 30 e 40% (Tabela 22). No entanto, esses valores foram inferiores

aos encontrados nas demais matérias orgânicas nas quais não ocorreram mortes das plantas. As mortes das plantas com os esterco de bovino e ovino foram atribuídas ao efeito da salinização do substrato.

Nos diferentes experimentos com as fontes de matéria orgânica, o teor de nitrogênio foliar total foi a única variável que teve aumento significativo com as concentrações crescentes de todas as matérias orgânicas testadas (Tabela 7). No entanto, o teor de nitrogênio foliar total e o desenvolvimento das plantas variaram conforme a matéria orgânica e a sua concentração utilizada no substrato (Tabelas 9, 13, 17, 21, 25 e 29).

Em todas as testemunhas dos experimentos o teor de nitrogênio total foliar foi considerado deficiente, exceto no esterco de ovino que foi adequado (Malavolta, 1987). Com o esterco de suíno e o composto de lixo também ocorreram valores considerados deficientes nas concentrações de 2,5; 5,0; 7,5 e 2,5; 7,5%, respectivamente. Os teores de N foram considerados excessivos para: lodo de esgoto, esterco bovino e esterco de ovino (> 2,5%); composto de lixo (> 5%); esterco de suíno (> 15%); e cama de aves (> 7,5%). Esta diferença se deve às origens dos materiais, aos teores de nitrogênio, de matéria orgânica e da relação C:N de cada fonte de matéria orgânica as quais forneceram diferentes quantidades de nitrogênio para as plantas (Lumsden et., 1983; Hoitink & Fahy, 1986; Pereira et al., 1996). Estes dados estão de acordo com os relatados por Corrêa (2001) que obteve diferentes teores de nutrientes no tecido foliar de mudas de cafeeiro com fontes de matéria orgânica. As deficiências de nitrogênio das plantas não foram corrigidas por meio de adubação química foliar para não interferir na Ferrugem que é uma doença da parte aérea das plantas.

O aumento no teor de N foliar total no experimento com o esterco de suíno, na primeira inoculação, não resultou em uma tendência de aumento no NL/FL ($R^2 = -0,05$) (Tabelas 11 e 14). Por outro lado, nas concentrações de 2,5 a 10% de esterco de suíno ocorreu um aumento no NL/FL de até 263% em relação a testemunha (Tabela 11). Provavelmente, outros fatores interferiram na %FL e no NL/FL nas concentrações de 20; 30; 40 e 50% de esterco de suíno (Tabelas 11 e 12). O esterco de suíno teve na análise química altos teores de Ca, Zn, Cu e Fe (Tabela 5) os quais podem ter interferido na microbiota do substrato e na fisiologia da planta diminuindo a %FL e o NL/FL. As

concentrações crescentes de esterco de suíno tiveram uma tendência não significativa de aumento na altura das plantas nas três inoculações ($R^2 = 0,31$; $R^2 = 0,25$ e $R^2 = 0,08$, respectivamente) a qual tende a ser nula com o decorrer do tempo (Tabela 13). Também, não teve uma tendência significativa de aumentar a hidrólise de FDA no substrato dos vasos na primeira inoculação ($R^2 = 0,05$) (Tabela 14). No entanto, ao comparar o teor de $32,1 \text{ g Kg}^{-1}$ de nitrogênio existente no esterco de suíno com os teores de N existentes nas outras fontes de matéria orgânica, verifica-se que esse teor foi superior aos existentes no composto de lixo, no esterco de bovino e no esterco de ovino (Tabela 5).

O lodo de esgoto diminuiu a altura das plantas de forma não significativa na primeira ($R^2 = - 0,46$) e significativamente na segunda e na terceira inoculação ($R^2 = - 0,76$ e $R^2 = - 0,83$), com tendência à uma maior diminuição com o decorrer do tempo (Tabela 9). No entanto, ocorreu aumento na altura das plantas de: 48,7; 22,9 e 31,5% nas concentrações de 2,5; 5 e 7,5%, respectivamente, na primeira inoculação; de 17,9% na concentração de 2,5% na segunda inoculação e de 15,1% na concentração de 2,5% na terceira inoculação. Este aumento na altura das plantas, nas menores concentrações de lodo de esgoto, corresponderam a um maior desenvolvimento vegetativo das plantas, com um número maior de folhas e ramos. Também as plantas desenvolvidas nessas concentrações de lodo de esgoto tiveram uma coloração verde escura intensa nas folhas em relação a uma coloração verde amarelada das testemunhas. Estes dados estão de acordo com os relatados por Santos (2001), Leoni (2002) e com a bibliografia que sugere melhores desenvolvimentos das plantas crescendo em solos com incorporação de matéria orgânica de diversas origens (Bettiol & Krügner, 1984; Kim et al., 1997; Pascual et al., 2000).

Um bom desenvolvimento das plantas, em baixas concentrações de matéria orgânica, também foi verificado com o esterco de suíno, composto de lixo, cama de aves, esterco de bovino e esterco de ovino (Tabelas 13, 17, 21, 25 e 29). No entanto, as concentrações crescentes de esterco de bovino ($R^2 = - 0,19$; $R^2 = - 0,05$ e $R^2 = - 0,23$, respectivamente) e de ovino ($R^2 = - 0,14$; $R^2 = - 0,01$ e $R^2 = - 0,08$, respectivamente) tiveram tendências não significativas de diminuir a altura das plantas nas três inoculações (Tabelas 25 e 29). O efeito do composto de lixo na altura das plantas foi variável nas três inoculações, sendo que a tendência foi de diminuir não significativamente a altura das plantas na primeira ($R^2 = - 0,58$) e na segunda ($R^2 = - 0,12$) inoculação e, na terceira foi de

aumentar não significativamente a altura das plantas ($R^2 = 0,02$). O efeito do composto de lixo no decorrer do tempo foi de não interferir negativamente na altura das plantas (Tabela 17). A cama de aves teve uma tendência não significativa no aumento da altura das plantas nas três inoculações ($R^2 = 0,21$; $R^2 = 0,01$ e $R^2 = 0,02$, respectivamente); com tendência de não interferir na altura das plantas no decorrer do tempo (Tabela 21)

Nas maiores concentrações de lodo de esgoto, composto de lixo, esterco de bovino e de ovino a altura das plantas em relação à testemunha diminuiu, o que pode ser devido à fitotoxicidade como reportado por outros autores quando grandes volumes de matéria orgânica são incorporadas ao solo e/ou quando estas não estão bem compostadas (Casale et al., 1995; Widmer et al., 1998; Aryantha et al., 2000). Segundo Widmer et al. (1998), esse efeito negativo pode desaparecer com o passar do tempo e num prazo maior estimular o desenvolvimento da cultura.

O efeito do composto de lixo em diminuir a altura das plantas em alta concentração variou entre: 0,4 à 29,0% na primeira inoculação, de 7 à 9,3% na segunda inoculação e de 4,5% na terceira inoculação (Tabela 17). Este resultado está de acordo com o de Costa et al. (1997) obtido em doses máximas aplicadas de 60 e 90 Mg ha⁻¹ em cultivo de cenoura. Estes autores reportaram uma diminuição acentuada no crescimento das plantas, o que foi atribuído aos altos valores de pH e condutividade elétrica, bem como ao teor considerado fitotóxico de Cu encontrado na parte aérea. A principal limitação que o composto orgânico de lixo urbano ocasionou no cultivo da cenoura foi o seu efeito negativo no crescimento da planta. O composto aumentou os teores de Zn, Cu e Cd na matéria seca das plantas, todavia apenas o Cu atingiu teor considerado fitotóxico na máxima dose aplicada. A aplicação de composto de lixo reduziu linearmente a concentração de Mn nas folhas de cafeeiro ($R^2 = - 0,86$) (Tabela 31). Provavelmente, a quantidade de matéria orgânica adicionada por este composto e o aumento do pH do substrato reduziram a disponibilidade do Mn, o que resultou em menor acúmulo desse metal no tecido vegetal. Mugwira (1979) também constatou redução na concentração de Mn em plantas de milho com o aumento das doses de esterco de curral, devido ao aumento do pH proporcionado pelo esterco. Do mesmo modo, Vitti & Mello (2002) obtiveram diminuição na concentração de Mn em folhas de tomateiro com a utilização de doses crescentes de composto de lixo urbano.

O efeito do lodo de esgoto no pH do substrato teve uma tendência em diminuir os seus valores ($R^2 = - 0,31$) (Tabela 10). A diminuição do pH do substrato com a incorporação do lodo de esgoto está de acordo com o relatado por Leoni (2002) em diferentes experimentos em casa de vegetação e campo. O mesmo foi relatado por Abrahão (1992), Carmo (2001), Santos (2001) e Schoenmaker (2001) quando o lodo de esgoto, não calado, foi incorporado ao solo. De acordo com Carmo (2001), a diminuição dos valores de pH na solução do solo deve-se à liberação de $N-NH_4^+$ durante o processo de mineralização do lodo no solo, e os altos teores de NH_4^+ podem indicar uma maior liberação de H^+ para o meio promovendo acidificação. Oliveira (2000), revisando vários trabalhos, cita também como causa da acidificação do solo a provável oxidação de sulfitos e a produção de ácidos orgânicos durante a degradação do resíduo.

A tendência do composto de lixo, dos esterco de suíno, bovino e ovino e da cama de aves foi aumentar significativamente o valor do pH no substrato, exceto a cama de aves que o aumento não foi significativo ($R^2 = 0,98$; $R^2 = 0,90$; $R^2 = 0,90$; $R^2 = 0,92$ e $R^2 = 0,16$; respectivamente) (Tabelas 7, 18, 14, 26, 30 e 22). O aumento do pH do substrato obtido com as fontes de matéria orgânica está de acordo com Mazur et al. (1993), Meloni et al. (1995), Costa et al. (1997) e Mesquita Filho et al. (2002). Entre as matérias orgânicas testadas, a cama de aves apresenta pequena amplitude nos valores do pH (Tabela 22). Este resultado não está de acordo com o relatado por Vitti & Melo (2002) no qual a cama de aves reduziu o pH do solo quando aplicada nas dosagens de 0; 2,9; 4,4; e 5,9 $Mg\ ha^{-1}$. Também, discorda de Asiegbu & Oikeh (1995) que relataram aumento no pH do solo após 52 dias da adição de 10; 20 e 30 $Mg\ ha^{-1}$ de esterco de galinha ou de coelho.

A tendência do lodo de esgoto, do esterco de bovino e de ovino foi aumentar significativamente a condutividade elétrica do substrato ($R^2 = 0,97$; $R^2 = 0,78$ e $R^2 = 0,76$; respectivamente) (Tabelas 7, 10, 26 e 30). A tendência com o esterco de suíno, com o composto de lixo e com a cama de aves foi aumentar não significativamente a condutividade elétrica do substrato ($R^2 = 0,41$; $R^2 = 0,59$ e $R^2 = 0,46$; respectivamente) (Tabelas 7, 14, 18 e 22). O aumento da condutividade elétrica obtido com essas fontes de matéria orgânica está de acordo com o reportado por Oliveira (2000), Carmo (2001), Santos (2001), Schoenmaker (2001) e Leoni (2002). A condutividade elétrica nos substratos testados não atingiu 2 $dS\ m^{-1}$ que caracterizam os solos salinos (Tabelas 10, 14, 18, 22, 26 e

30) (Richards, 1954; Lopes, 1989; Widmer et al., 1998). As medidas de condutividade elétrica são freqüentemente utilizadas para avaliar a concentração de sais solúveis no solo. No caso de solos salinos, o crescimento e o desenvolvimento das plantas são diretamente afetados pela ocorrência de alguns íons, desequilíbrios nutricionais e principalmente pelas dificuldades na absorção de água e nutrientes devido ao aumento da pressão osmótica da solução do solo (Fageria, 1984). Estas alterações, possivelmente, ocorreram nos experimentos com o lodo de esgoto, com o composto de lixo, com a cama de aves e com o esterco de bovino, pois a altura das plantas foram diminuídas em relação à testemunha (Tabelas 9, 17, 21 e 25). O aumento da condutividade elétrica com a disposição do lodo de esgoto e com o composto de lixo em solos agrícolas foi relatado por Episten et al. (1976) e foram atribuídos aos altos teores de sais presentes nos resíduos. Estes autores relataram que o aumento da condutividade elétrica foi devido a grande concentração de íons de Ca^{+2} , Mg^{+2} e Cl^{-1} presentes, bem como a presença de íons NO_3^- e NH_4^+ . Por outro lado, diferenças na condutividade elétrica ocorrem entre os diversos tipos de solos, as quais provavelmente estão relacionadas aos diferentes potenciais para a mineralização do carbono e do nitrogênio orgânico presente no resíduo. A condutividade elétrica pode variar em função da composição, taxas e freqüência de aplicação dos resíduos, do regime pluviométrico da localidade e da capacidade de drenagem dos solos. O potencial em proporcionar, mesmo que temporariamente, condições de salinidade nos solos existe e as conseqüências dessas alterações no solo são variáveis com a capacidade de tolerância de cada espécie vegetal. Assim, o potencial de salinização dos resíduos é um fator de preocupação quando da disposição dos mesmos em solos agrícolas e o mesmo deve ser considerado em estratégias de manejo de resíduos (Oliveira, 2000).

O efeito do lodo de esgoto, do esterco de suíno e de ovino foi uma tendência em aumentar a atividade microbiana total no substrato determinada por meio da hidrólise de FDA ($R^2 = 0,74$; $R^2 = 0,05$ e $R^2 = 0,06$; respectivamente) (Tabelas 7, 10, 14 e 30). A tendência significativa obtida com o lodo de esgoto não promoveu o controle do fungo na parte aérea das plantas por meio da indução de resistência sistêmica (Tabelas 6, 7 e 10). Possivelmente, a microbiota presente no substrato com o lodo de esgoto não produziu compostos capazes de ativar as rotas metabólicas de defesa da planta. No entanto, a microbiota foi adaptada aos crescentes valores da CE e ao pH ácido do substrato (Tabela

10). Uma tendência contrária foi obtida com o composto de lixo, com a cama de aves e com o esterco bovino que diminuíram a atividade microbiana total no substrato ($R^2 = - 0,88$; $R^2 = - 0,18$ e $R^2 = - 0,60$; respectivamente) (Tabelas 7, 18, 22 e 26). Possivelmente, a tendência significativa obtida com o composto de lixo deve estar relacionada a algum componente tóxico presente no composto de lixo, ao alto teor de ferro ou ao baixo teor de nitrogênio (15 g Kg^{-1}) ($R^2 = - 0,88$) (Tabela 5). Por outro lado, a diminuição da atividade microbiana total no substrato teve alta correlação com a condutividade elétrica ($r = - 0,72$) e com o pH ($r = - 0,92$) do substrato de composto de lixo. A tendência não significativa em diminuir a atividade microbiana total com a cama de aves deve estar relacionado a algum resíduo de produto químico (antibióticos) e ao alto teor de ferro presente no esterco ($R^2 = - 0,18$) (Tabelas 5 e 7). A cama de aves teve o maior teor de nitrogênio entre as fontes de matéria orgânica estudadas ($37,5 \text{ g Kg}^{-1}$) (Tabela 5), o qual poderia estimular a atividade microbiana no substrato.

Na maior parte dos modelos de supressão de doenças a estimulação da microbiota na rizosfera ou a indução de reações de defesa nos tecidos da planta hospedeira são considerados responsáveis pelos efeitos benéficos (Harman & Lumsden, 1990). A indução de resistência sistêmica por esses mecanismos não foi constatada no presente estudo com o lodo de esgoto, esterco de suíno e esterco de ovino que promoveram o aumento da atividade microbiana total no substrato (Tabelas 7, 10, 14 e 30). O controle da Ferrugem foi obtido apenas em algumas concentrações das fontes de matéria orgânica estudadas. Esperava-se que o controle da doença fosse crescente e linear com as crescentes concentrações estudadas e semelhante nas três inoculações realizadas. No entanto, o controle da doença obtido foi isolado em algumas concentrações das fontes de matéria orgânica e não constante nas três inoculações realizadas. O esterco de suíno teve uma tendência não significativa de diminuir o NL/FL nas três inoculações (Tabelas 7 e 11) e o controle da doença variou entre 15 a 90% (Tabela 11). Na primeira inoculação, o controle foi nas concentrações de 30 e 40%; na segunda inoculação foi nas concentrações de 30, 40 e 50% e na terceira inoculação o controle foi nas concentrações de 7,5; 10; 30 e 40%. Por outro lado, ocorreu um aumento máximo no NL/FL de 263, 222 e 217% nas concentrações de 10, 10 e 5%, respectivamente, para primeira, segunda e terceira inoculações. Possivelmente, fatores como os nutricionais alteram o metabolismo das plantas

determinando o controle da doença (Pereira et al., 1986). O composto de lixo teve uma tendência não significativa em aumentar o NL/FL nas três inoculações realizadas (Tabelas 7 e 15). O controle da doença variou de 20 a 40% nas concentrações de 2,5; 5; 10 e 15% na segunda inoculação (Tabela 15). Por outro lado, ocorreu aumento máximo no NL/FL de 470, 46 e 912%, respectivamente, na primeira, na segunda e na terceira inoculação (Tabela 15). A cama de aves teve uma tendência não significativa em aumentar o NL/FL nas três inoculações (Tabelas 7 e 19). O controle da doença foi obtido nas concentrações de 2,5; 7,5 e 15% na segunda inoculação (Tabela 19). Por outro lado, ocorreu aumento máximo no NL/FL de 122, 62 e 158%, respectivamente, na primeira, na segunda e na terceira inoculação (Tabela 19). O esterco de bovino teve uma tendência não significativa de diminuir o NL/FL na primeira e na segunda inoculações e aumentar não significativamente na terceira inoculação (Tabelas 7 e 23). O controle da doença foi de 42 e 28% na concentração de 40% da primeira e da segunda inoculação, respectivamente (Tabela 23). Por outro lado, ocorreu aumento máximo no NL/FL de 49, 55 e 200%, respectivamente, para a primeira, segunda e terceira inoculação. O esterco de ovino teve uma tendência significativa em aumentar o NL/FL na primeira e na segunda inoculação e, na terceira foi diminuir não significativamente (Tabelas 7 e 27). O controle da doença foi de 19 e 36% nas concentrações de 40 e 50%, respectivamente, na terceira inoculação. Por outro lado, ocorreu aumento máximo no NL/FL de 163, 300 e 57%, respectivamente, para a primeira, segunda e terceira inoculações (Tabela 27).

O lodo de esgoto não promoveu o controle da doença (Tabela 6). O efeito do lodo de esgoto foi uma tendência em aumentar significativamente o NL/FL na primeira e na segunda inoculação (Tabelas 6 e 7). De acordo com Vieira (2000), o processo de mineralização do nitrogênio em solo suplementado com lodo de esgoto foi intenso e aumentou com as maiores dosagens do lodo de esgoto. Deste modo, o aumento do NL/FL com as concentrações crescentes de lodo de esgoto pode estar relacionado a grande quantidade de nitrogênio fornecida pelo lodo de esgoto. O lodo de esgoto também teve comportamento distinto em relação as demais fontes de matéria orgânica quanto a porcentagem de folhas lesionadas por planta. Na segunda e na terceira inoculação o lodo de esgoto diminuiu significativamente a %FL (Tabela 8). Por outro lado, o composto de lixo teve tendência significativa em aumentar a %FL na primeira e na terceira inoculação

(Tabela 16), enquanto que o esterco de bovino teve tendência significativa em aumentar a %FL na primeira e na segunda inoculação (Tabela 24). O esterco de suíno, a cama de aves e o esterco de ovino não influenciaram significativamente na %FL (Tabela 7). Em termos epidimiológicos a tendência em diminuir da %FL seria o desejável para a cultura, pois diminuiria a severidade da doença. O aumento da severidade da Ferrugem pode levar ao aumento dos ciclos secundários por ser uma doença policíclica.

O efeito das fontes de matéria orgânica na esporulação das lesões nas folhas lesionadas foi variável e não constante nas três avaliações, exceto para o esterco de ovino (Figuras 5, 6, 7, 8, 9 e 10): o lodo de esgoto aumentou significativamente a esporulação na segunda e na terceira avaliação ($R^2 = 0,67$ e $R^2 = 0,85$; respectivamente); o esterco de suíno retardou significativamente a esporulação na primeira e na segunda avaliação ($R^2 = - 0,66$ e $R^2 = - 0,64$; respectivamente); o esterco de bovino aumentou significativamente a esporulação na primeira avaliação ($R^2 = 0,64$) e retardou significativamente a esporulação na terceira avaliação ($R^2 = - 0,66$); o composto de lixo e a cama de aves não influenciaram significativamente na esporulação das lesões; o esterco de ovino retardou não significativamente na primeira e significativamente na segunda e na terceira avaliação ($R^2 = - 0,52$; $R^2 = - 0,77$ e $R^2 = - 0,88$; respectivamente). Em termos epidimiológicos, o atraso na esporulação das lesões nas folhas de cafeeiro seria desejável, o que leva a retardar o início de uma epidemia por ser uma doença policíclica. No entanto, este resultado foi obtido em experimento desenvolvido no interior de casa de vegetação, necessitando de uma avaliação futura em condições de campo. As três avaliações na esporulação das lesões não foram feitas à intervalos de tempo pré determinados entre elas devido à evolução da doença, no decorrer do tempo, variar de acordo com a fonte de matéria orgânica e as condições ambiente na casa de vegetação.

O comportamento diferenciado das fontes de matéria orgânica nas variáveis estudadas permitiu concluir que a natureza química e as dosagens influenciaram no desenvolvimento da planta, no NL/FL e na %FL. O efeito da adubação orgânica e mineral sobre o desenvolvimento de doenças de plantas foi relatado para diversos patossistemas (Zambolim & Ventura, 1993; Pereira et al., 1996; Malavolta, 1998; Pozza et al. 2001; Tanaka et al., 2002). No entanto, efeitos promissores no controle da Ferrugem com as diferentes matérias orgânicas não foram obtidos no presente estudo. Portanto, na

recomendação da adubação nitrogenada e orgânica deve-se levar em consideração o teor de matéria orgânica do solo e as características químicas da fonte de matéria orgânica, sem o que, a adubação pode resultar em plantas com condições nutricionais propícias para o desenvolvimento da Ferrugem.

Solos com uma grande quantidade de matéria orgânica têm uma microbiota ativa e complexa associada com uma habilidade a suprimir os patógenos das plantas (Aryantha et al., 2000). Os compostos e os esterco contêm uma população própria de microrganismos e a mesma varia durante a compostagem. Dependendo da taxa de decomposição e da qualidade, os compostos podem resultar, após a incorporação ao solo, em conducentes ou supressivos às doenças (Hoitink et al., 1996; Hoitink & Boehm, 1999). De acordo com Aryantha et al. (2000), o conteúdo de matéria orgânica é necessário, mas isoladamente não é uma condição suficiente, para induzir a supressividade. Embora todas as fontes de matéria orgânica tenham elevado o conteúdo de nitrogênio foliar, as respostas em relação à doença foram diferentes. Apesar da matéria orgânica provida pelos esterco terem alta qualidade por causa de seu conteúdo celulolítico e nível de energia para suportar o crescimento de uma microbiota supressiva, efeitos promissores no controle da Ferrugem não foram obtidos. Estas diferenças obtidas conforme a matéria orgânica confirmam a complexa natureza da supressão da doença, a qualidade dinâmica dos compostos de diferentes maturidades e a importância do conhecimento das diferentes condições ambiente (Hoitink & Boehm, 1999).

O aumento da atividade total microbiana obtido pela incorporação das fontes de matéria orgânica ao solo não foram suficientes para se obter a supressividade à Ferrugem. De acordo com Chen et al. (1987; 1988), uma atividade microbiana de $3,2 \mu\text{g}$ de FDA hidrolisado $\text{minuto}^{-1} \text{ g solo seco}^{-1}$ foi necessária para obter supressividade a patógenos do solo. Por outro lado, as hidrólises de FDA obtidas neste estudo variaram conforme a fonte de matéria orgânica: de $3,0-5,7 \mu\text{g}$ de FDA hidrolisado $\text{minuto}^{-1} \text{ g solo seco}^{-1}$ com o lodo de esgoto; de $2,9-5,1 \mu\text{g}$ de FDA hidrolisado $\text{minuto}^{-1} \text{ g solo seco}^{-1}$ com o esterco de suíno; de $1,9-3,3 \mu\text{g}$ de FDA hidrolisado $\text{minuto}^{-1} \text{ g solo seco}^{-1}$ com a cama de aves; de $2,0-3,1 \mu\text{g}$ de FDA hidrolisado $\text{minuto}^{-1} \text{ g solo seco}^{-1}$ com o esterco bovino; de $2,4-3,3 \mu\text{g}$ de FDA hidrolisado $\text{minuto}^{-1} \text{ g solo seco}^{-1}$ com o esterco de ovino e de $1,5-3,3 \mu\text{g}$ de FDA hidrolisado $\text{minuto}^{-1} \text{ g solo seco}^{-1}$ com o composto de lixo. Apesar dos valores

excederam ao nível geral suficiente para a supressividade de patógenos do solo, não foi obtido o controle significativo da Ferrugem. Este fato demonstra a complexidade da indução de resistência sistêmica às doenças da parte aérea das plantas por meio do aumento da atividade microbiana total no substrato.

5.2 Efeito do lodo de esgoto e do composto de lixo nas atividades enzimáticas do cafeeiro

A atividade da peroxidase (POX) nas folhas de cafeeiro desenvolvido em concentrações crescentes de lodo de esgoto foi variável. As maiores atividades da POX nas plantas inoculadas promoveram um controle da doença de 20,6 e 86,6% nas concentrações de 12,5 e 15%, respectivamente (Figuras 11 e 13). Nas mesmas concentrações, a porcentagem de folhas lesionadas por planta diminuiu em 63,2 e 74,5% em relação a testemunha, respectivamente (Figura 14). Devido ao controle obtido pode-se concluir que a peroxidase participa dos mecanismos de indução de resistência sistêmica no cafeeiro atacado pela Ferrugem. O aumento da atividade da POX nas concentrações de 12,5 e 15% das plantas inoculadas ocorreram aos três dias após a inoculação (Figura 11). A época na qual ocorre o aumento da atividade da POX está diretamente relacionada com o impedimento do desenvolvimento do fungo no tecido foliar e conseqüente controle da doença (Maxemiuc-Naccache & Dietrich, 1985). Assim, o controle obtido nas concentrações de 12,5 e 15% de lodo de esgoto podem estar ligados a este aumento da peroxidase no início do processo de infecção da doença. O aumento da atividade da POX aos 25 dias após a inoculação das plantas, pode estar associado ao concomitante início da esporulação das lesões observado visualmente nas folhas. Considerando a média da atividade da peroxidase, na testemunha e nas plantas inoculadas, o efeito do lodo de esgoto não foi negativo para as reações de defesa da planta ($R^2 = 0,11$ e $R^2 = 0,64$; respectivamente) (Figura 12).

Para o composto de lixo a atividade da peroxidase nas folhas de cafeeiro foi variável. A atividade média da POX na testemunha diminuiu não significativamente em todas as concentrações ($R^2 = - 0,24$) (Figura 18). Por outro lado, atividade média da POX nas plantas inoculadas aumentaram não significativamente ($R^2 =$

0,47) (Figura 18). Também nas plantas inoculadas a atividade média da POX foi inferior a da testemunha nas concentrações de 0 a 10%. Deste modo, o composto de lixo interferiu de modo negativo na atividade da peroxidase mais nitidamente nas plantas testemunhas. A diminuição da atividade da POX pode estar relacionada a um desbalanço nutricional no tecido foliar do cafeeiro, o qual modifica as reações bioquímicas de defesa da planta (Figura 31). No entanto, o composto de lixo não prejudicou o desenvolvimento das plantas, exceto na concentração de 50% (Figura 19).

O aumento rápido ou pico da atividade da peroxidase comum em interações incompatíveis (Silva et al., 2000; 2001) não foi detectado na interação compatível estudada mesmo modificando os intervalos das coletas (Figuras 11 e 16). O efeito da presença do patógeno, por meio da inoculação das plantas, na reação de defesa do hospedeiro foi pequeno provavelmente devido ao estudo ter sido realizado com uma interação compatível entre o patógeno e o hospedeiro. Este comportamento está de acordo com os relatados por Silva et al. (2001) em que mecanismos bioquímicos de defesa imediatos, no máximo 24 horas após a inoculação, com um pico na atividade da peroxidase são característicos apenas de interações incompatíveis de *C. arabica* e *H. vastatrix*, denominados de reação de hipersensibilidade. No entanto, outras modificações no metabolismo do hospedeiro podem ocorrer no decorrer do processo de infecção. Durante a colonização do tecido do hospedeiro pelo patógeno, os mecanismos de defesa atuam e podem bloquear parcialmente ou totalmente seu desenvolvimento. Esta reação de defesa, mais tardia ao início da infecção ocorreu na interação compatível estudada, mas não impediu a esporulação do patógeno.

Maxemiuc-Naccache & Dietrich (1985) relataram que a atividade da POX na cultivar Mundo Novo foi crescente e linear na testemunha e nas plantas inoculadas no decorrer dos 28 dias do estudo, com a atividade na testemunha ligeiramente inferior à das plantas inoculadas. No presente estudo, a atividade da POX de modo geral, também não diferiu entre as testemunhas e as plantas inoculadas. Por outro lado, elas não foram crescentes e lineares durante o período de estudo, possivelmente, devido à influência dos fatores ambientais. As variações na atividade da POX podem estar relacionadas com a interferência da temperatura e da umidade relativa do ar nos mecanismos bioquímicos de

defesa da planta. Estes fatores foram apenas monitorados durante a condução do experimento.

A atividade total da polifenoloxidase (PPO) nas plantas inoculadas e desenvolvidas no substrato com lodo de esgoto foi devido a uma reação de defesa da planta em relação a presença do patógeno no tecido foliar (Figura 22). Mesmo 160 dias após a inoculação das plantas ocorreu uma atividade da PPO no tratamento inoculado superior ao não inoculado, o que pode estar relacionado a uma possível colonização do patógeno e uma conseqüente reação da planta. Provavelmente, nas duas concentrações iniciais das plantas inoculadas, devido ao período de tempo transcorrido entre a inoculação e a avaliação, não ocorreu reação da planta porque o patógeno já pode ter colonizado totalmente o tecido foliar (Figura 22). O efeito da inoculação e a presença do fungo no interior do tecido foliar demonstrou uma reação de defesa da planta mesmo em uma interação compatível. Para um melhor esclarecimento das interações ocorridas entre o lodo de esgoto e a doença, sugere-se que novos estudos sejam realizados com um acompanhamento da atividade da PPO, logo após a inoculação das plantas. Simultaneamente às análises enzimáticas poderia ser realizado um estudo histológico para acompanhar a colonização do fungo no interior do tecido foliar. Assim, seria possível associar as etapas da colonização do fungo com as reações da planta (Silva et al., 1999; Pharand et al., 2002). Nas concentrações de 15 e 20% de lodo de esgoto no substrato ocorreram aumentos na atividade da PPO de 179 e 166%, respectivamente, em relação a testemunha. Também em termos comparativos seria ideal incluir no ensaio um tratamento de plantas com resistência à Ferrugem. Deste modo, seria possível a comparação da atividade das enzimas nas plantas resistentes em relação as suscetíveis.

Ao comparar a atividade total da PPO nas plantas desenvolvidas em substrato com composto de lixo com as desenvolvidas com o lodo de esgoto, verificou-se que em todas as concentrações e, principalmente nas não inoculadas, ocorreu diminuição na atividade total da PPO no ensaio de lodo de esgoto (Figuras 21 e 22). Possivelmente, esta baixa atividade seja devido ao tempo decorrido entre a inoculação das plantas e a coleta das folhas para a análise da atividade enzimática. Por outro lado, o composto de lixo não afetou o desenvolvimento das plantas, o que ocorreu com as concentrações crescentes de lodo de esgoto ($R^2 = 0,02$; $R^2 = - 0,67$) (Figuras 19 e 15).

A peroxidase e a polifenoloxidase estão envolvidas no processo de resistência do cafeeiro à Ferrugem. Nesse estudo o lodo de esgoto e o composto de lixo interferiram na fisiologia da planta modificando a atividade dessas enzimas no decorrer das coletas de folhas. As concentrações de lodo de esgoto e de composto de lixo, bem como o patógeno no interior do tecido vegetal, proporcionaram alterações na atividade das enzimas POX e PPO (Figuras 10, 14, 18, 22, 26 e 30). Deste modo, a existência de atividade da POX no tecido de cafeeiro deste estudo está de acordo com os reportados por Maxemiuc-Naccche & Dietrich (1985), Mazzafera (1987) e Silva et al. (2000) e discorda do reportado por Guzzo et al. (1999).

O aumento do nitrogênio foliar total em todas as fontes de matéria orgânica (Tabelas 8, 10, 11, 12, 13 e 14) interferiu na fisiologia das plantas e aumentou diferentemente o número de lesões por folha lesiona das plantas de café. O aumento do NL/FL, possivelmente, pode ser devido aos diferentes conteúdos de nitrogênio fornecido por cada tipo de matéria orgânica e as alterações induzidas no metabolismo primário e secundário das plantas. De acordo com Sander & Heitefuss (1998), altas concentrações de nitrogênio na forma de nitrato, causou uma redução dos ácidos hidrocínâmicos em cultivo hidropônico de plantas de trigo, inoculadas com *Erysiphe graminis* f.sp. *tritici* e resultou no aumento do número de pústulas e esporulação por unidade de área, comparado a uma baixa intensidade da doença quando as plantas foram cultivadas em baixas doses de nitrogênio. Também foi relatado por Kiraly (1964) que o conteúdo total de compostos fenólicos decresce em trigo com a alta fertilização de nitrogênio. As razões para tais comportamentos devem estar associadas a uma competição entre as rotas dos metabolismos primários e secundários sob tais condições. No período de rápido desenvolvimento da planta, como no caso de altas doses de nitrogênio, a fenilalanina, por exemplo, segue preferencialmente para a síntese de proteína do que para a síntese de fenilalanina-amônia-liase. Patógenos obrigatórios tais como as Ferrugens e os Oídios ganham, aparentemente, vantagem por uma melhor provisão de nutrientes da planta hospedeira, além de enfrentar uma baixa concentração de substâncias com possíveis efeitos inibitórios (Sander & Heitefuss, 1998).

6 CONCLUSÕES

O lodo de esgoto, o composto de lixo urbano, o esterco de suíno, o esterco de bovino, o esterco de ovino e a cama de aves incorporados no solo para a produção de mudas não induziram resistência sistêmica à Ferrugem do cafeeiro.

Com o aumento das doses de lodo de esgoto, do composto de lixo urbano, dos estercos de bovino, de ovino, de suíno e da cama de aves, incorporados no solo, houve aumento no teor de nitrogênio total foliar.

O lodo de esgoto incorporado ao solo não interferiu na atividade da peroxidase avaliada no tecido foliar do cafeeiro, enquanto que o composto de lixo urbano diminuiu a sua atividade.

O lodo de esgoto e o composto de lixo urbano diminuiu a atividade da polifenoloxidase.

O lodo de esgoto, o esterco de suíno e o esterco de ovino aumentou a atividade microbiana total no substrato.

O lodo de esgoto acidificou o substrato para a produção de mudas de cafeeiro.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRAHÃO, E. C. **Efeito de doses de lodo de esgoto sobre a fertilidade, atividade de amilase e celulase de um Latossolo Vermelho-Escuro textura média.** 1992. 110 p. Trabalho de Graduação. Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias-UNESP, Jaboticabal, 1992.

AGRIOS, G. N. **Plant Pathology.** New York: Academic Press, 1988. 803 p.

ALEXANDER, D.; STINSON, J.; PEAR, J.; GLASCOCK, C.; WARD, E.; GOODMAN, R.; RYALS, J. A new multigene family inducible by tobacco mosaic virus or salicylic acid in tobacco. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, St. Paul, v. 5, p. 513-515, 1992.

ALIBERT, G.; RANJEVA, R.; BOUDET, A M. Organisation subcellulaire des voies de synthèse des composés phénoliques. **Physiologie Vegetale**, Paris, v. 15, p. 275-301, 1977.

ALMARIO, M. F. Estudio de la actividad de la fenilalanina amonia-liasa en presencia del patógeno en variedades de cafetos resistentes y susceptibles a *Hemileia vastatrix* Berk. & Br. 1992. Tese (Licenciatura em Química) - Universidad Nacional da Colombia, Bogota, 1992.

AMORIM, H. V; ALVARES, M. L. M.; LOPES, C. R.; CARVALHO, A.; MONACO, L. C. Análise de compostos fenólicos em folhas de cafeeiro resistentes e susceptíveis à

Hemileia vastatrix. **Turrialba**, San Jose, v. 28, p.57-60, 1978.

ANDREOLI, C. V.; PEGORINI, E. S. Gestão de bioossólidos: Situação e perspectivas. In: SEMINÁRIO SOBRE GERENCIAMENTO DE BIOSSÓLIDOS DO MERCOSUL, 1., 1998, Curitiba. **Anais...** Curitiba: SANEPAR/ABES, 1998. p. 11-18.

ANDREOLI, C. V.; PEGORINI, E. S. Gestão pública do uso agrícola do lodo de esgoto. In: BETTIOL, W.; CAMARGO, O. A. (Ed.) **Impacto ambiental do uso agrícola do lodo de esgoto**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2000. cap. 18, p. 281-312.

ANDREWS, J. H., BERBEE, F. M., NORDHEIM, E. V. Microbial antagonism to the imperfect stage of the apple scab pathogen, *Venturia inaequalis*. **Phytopathology**, St. Paul, v. 73, p. 228-234, 1983.

ARYANTHA, I. P.; CROSS, R.; GUEST, D. I. Suppression of *Phytophthora cinnamomi* in potting mixes amended with uncomposted and composted animal manures. **Phytopathology**, St. Paul, v. 90, n. 7, p. 775-782, 2000.

ASADA, Y.; HIGUCHI, T.; MATSUMOTO, I. Biosynthesis of lignin Japanese radish root infected by dowry mildew fungus. In: TOMIYAMA, K.; DALY, J. M.; URITANI, I.; OKU, H.; OUCHI, S. (Ed.). **Biochemical and cytology of plant-parasite interaction**. Amsterdam: Elsevier, 1976. p. 195-212.

ASIEGBU, J. E.; OIKEH Evaluation of chemical composition of manures from different organic wastes and their potential for supply of nutrients to tomato in tropical Ultisol. **Biological Agriculture and Horticulture**, v. 12, p. 47-60, 1995.

AZEVEDO, M. S. F. R.; LIMA, P. C.; ESPÍNDOLA, J. A. A.; MOURA, W., M. Conversão de cafezais concencionais em orgânicos. **Informe Agropecuário**. v. 23, n. 214/215, p. 53-61, 2002.

BETTIOL, W. Biocontrole na filosfera: problemas e perspectivas. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, v. 5, p. 59-97, 1997.

BETTIOL, W. Doses crescentes de lodo de esgoto aumentam a incidência da podridão do colmo do milho causada por *Fusarium*. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 28, p. 142, 2002.

BETTIOL, W.; CARVALHO, P. C. T. Utilização do lodo de esgoto primário e fertilizante IPT na cultura do milho. **Fertilizantes**, São Paulo, v. 4, n. 1, p. 14-15, 1982.

BETTIOL, W.; KRÜGNER, T. L. Influência do lodo de esgoto na severidade da podridão de raiz do sorgo causada por *Pythium arrhenomanes*. **Summa Phytopathologica**, Piracicaba, v. 10, p. 243-251, 1984.

BOEHM, M. J.; HOITINK, H. A. J. Sustainance of microbial activity in potting mixes and its impact on severity of *Pythium* root rot of *Poinsettia*. **Phytopathology**, St. Paul, v. 82, n. 3, p. 259-264, 1992.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, New York, v. 72, p. 248-254, 1976.

BRYNGELSSON, T.; COLLINGE, D. B. Biochemical and molecular analyses of the response of barley to infection by powdery mildew. In: SHEWRY, P. R. (Ed.). **Barley: genetics, biochemistry, molecular biology and biotechnology**. Wallingford: CAB International, 1992. p. 459-480.

CAHILL, D. M.; MCCOMB, J. A. A comparison of changes in phenylalanine ammonia-lyase activity, lignin and phenolic synthesis in the roots of *Eucalyptus calophylla* (field resistant) and *E. marginata* (susceptible) when infected with *Phytophthora cinnamomi*. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v. 40, p. 315-332, 1992.

CAMARGO, O. A. de; MONIZ, A. C.; JORGE, J. A.; VALADARES, J. M. A. S. **Métodos de análise química, mineralógica e física de solos do Instituto Agronômico de Campinas**. Campinas: Instituto Agronômico, 1986. 94p. (IAC. Boletim Técnico, 106).

CANABARRO, M. Cidades. **Administração e vida comunitária**. 1995. p. 5.

CARDOSO, R. M. L. **Novas raças fisiológicas de *Hemileia vastatrix* Berk. et Br. no Brasil, métodos de identificação, e detecção de grupos fisiológicos em cafeeiros derivados do híbrido do Timor.** 1986. 111 p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1986.

CARMO, J. B. do. **Impacto da aplicação de biossólidos nas atividades microbianas do solo.** Piracicaba, 2001. 105 p. Dissertação (Mestrado), Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2001.

CASALE, W.L.; MINASSIAN, V.; MENGE, J.A.; LOVATT, C.J.; POND, E.; JOHNSON, E.; GUILLEMET, F. Urban and agricultural wastes for use as mulches on avocado and citrus and for delivery of microbial biocontrol agents. **Journal of Horticultural Science**, v. 70, n. 2, p. 315-352, 1995.

CATESSON, A. M.; IMBERTY, A; GOLDBERG, R; CZANINSKI, Y. Nature, localisation and specificity of peroxidases involved in lignification processes. In: GREPPIN, H.; PENEL, C.; GASPAR, TH. (Ed.). **Molecular and physiological aspects of plant peroxidases.** Genève: Université de Genève, 1986. p. 189-198.

CENTRO NACIONAL DE REFERÊNCIA EM GESTÃO AMBIENTAL URBANA. **Utilização agrícola do lodo de esgoto como fertilizante.** Disponível em: <<http://www.bsi.com.br/unilivre/experiencias/015.html>>. Acesso em: 04 nov.1998.

CHABOUSSOU, F. **Plantas doentes pelo uso de agrotóxicos: a teoria da trofobiose.** Porto Alegre: L&PM, 1985. 256 p.

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**, St. Paul, v. 78, p. 1447-1450, 1988.

CHEN, W., HOITINK, H. A. J., SCHMITTHENNER, A. F. Factors affecting suppression of *Pythium* damping-off in container media amended with composts. **Phytopathology**, St Paul, v. 77, p. 755-760, 1987.

CHEVERRY, C.; MENETRIER, Y.; BORLOY, J.; HEBUIT, M. **Distribuição do chorume de suíno e fertilização**. Curitiba: ACARPA, 1986. 43 p.

COMPANHIA DE SANEAMENTO DO PARANÁ. **Manual técnico para a utilização agrícola de lodo de esgoto no Paraná**. Curitiba: SANEPAR, 1997. 96 p.

COMPANHIA DE TECNOLOGIA E SANEAMENTO AMBIENTAL. **Aplicação de biossólidos de sistemas de tratamento biológico em áreas agrícolas – critérios para projeto e operação**. São Paulo: CETESB, 1999. 33 p. (CETESB. P 4.230).

CORRÊA, J. C. **Utilização de resíduos industriais e urbanos na composição de substrato para mudas de café**. 2001. 189p. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Ciências Agrônômicas – UNESP, Botucatu, 2001.

COSTA, C. A. da; CASALI, V. W. D.; LOURES, E. G.; CECON, P. R.; JORDÃO, C. P. Teor de zinco, cobre e cádmio em cenoura em função de doses crescentes de composto de lixo urbano. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 15, n. 1, p. 10-14, 1997.

COSTA, W. M.; ESKES, A. B.; RIBEIRO, I. J. A. Avaliação do nível de resistência do cafeeiro a *Hemileia vastatrix*. **Bragantia**, Campinas, v. 37, n. 4, p. 23-29, 1978.

DE MEYER, G.; BIGIRIMANA, J.; ELAD, Y.; HOFTE, M. Induced systemic resistance in *Trichoderma harzianum* T39 biocontrol of *Botrytis cinerea*. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 104, p. 279-286, 1998.

DELANEY, T. P. Genetic dissection of acquired resistance to disease. **Plant Physiology**, Bethesda, v. 113, p. 5-12, 1997.

DRAETTA, I. S.; LIMA, D. C. Isolamento e caracterização das polifenoloxidasas do café. **Coletânea do Instituto de Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 7, p. 13-28, 1976.

DRY, I. B.; ROBINSON, S. P. Molecular cloning and characterisation of grape berry polyphenol oxidase. **Plant Molecular Biology**, Dordrecht, v. 26, p. 495-502, 1994.

EPISTEN, E.; TAYLOR, J. M.; CHANEY, R. L. Effects of sewage sludge and sludge compost applied to soil on some soil physical and chemical properties. **Journal of Environmental Quality**, Madison, v. 5, n. 4, p. 422-426, 1976.

ESKES, A. B. Resistance. In: KUSHALAPPA, A. C.; ESKES, A. B. **Coffee rust: epidemiology, resistance, and management**. Boca Raton: CRC Press, 1989. p. 171-291.

FAGERIA, N. K. Salinidade dos solos e sua influência na cultura do arroz. In: FAGERIA, N. K. **Adubação e nutrição mineral da cultura do arroz**. Goiânia: EMBRAPA-CNPAP, 1984. p. 302-330.

FERRO NETO, A. Produção racional de composto de lixo urbano. In: SEMINÁRIO SOBRE USO DE RESÍDUOS INDUSTRIAIS E URBANOS EM FLORESTAS, 1., 1994, Botucatu. **Trabalhos apresentados...** Botucatu: FCA/UNESP, 1994. p. 1-14.

FLOR, H. H. Host-parasite interaction in flax rust, its genetics and other implications. **Phytopathology**, St. Paul, v. 45, p. 680-685, 1955.

FRIEND, J. Lignification in infected tissue. In: FRIEND, J.; THRELFALL, D. R. (Ed.). **Biochemical aspects of plant parasite relationships**. New York: Academic Press, 1976. p. 291-303.

FRIEND, L.; REYNOLDS, S. B.; AVERYARD, M. A. Phenylalanine ammonia-lyase, chlorogenic acid and lignin in potato tuber tissue inoculated with *Phytophthora infestans*. **Physiological Plant Pathology**, London, v. 3, p. 495-507, 1973.

GASPAR, Th. Integrated relationships of biochemical and physiological peroxidase activities. In: GREPPIN, H.; PENEL, C.; GASPAR, Th. (Ed.). **Molecular and physiological aspects of plant peroxidases**. Genève: Université de Genève - Centre de Botanique, 1986. p. 455-468.

GASPAR, Th.; PENEL, C.; THORPE, T.; GREPPIN, H. **Peroxidases 1970-1980. A survey of their biochemical and physiological roles in higher plants**. Genève: Université de Genève - Centre de Botanique, 1982. 324 p.

GILLMAN, G. P.; BELL, L. C. Soil solution studies on weathered soils from tropical North Queensland. **Australian Journal of Soil Research**, Victoria, v. 16, n. 1, p. 67-77, 1978.

GÖULACH, J.; VOLRATH, S.; KNAUF-BEITER, G.; HENGY, G.; BECKHOVE, U.; KOGEL, K. H.; OOSTENDORP, M.; STAUB, T.; WARD, E.; KESSMANN, H.; RYALS, J. Benzothiadiazole, a novel class of inducers of systemic acquired resistance, activates gene expression and disease resistance in wheat. **The Plant Cell**, Baltimore, v. 8, p. 629-643, 1996.

GROSSI, M. G. L. **Avaliação da qualidade dos produtos obtidos de usina de compostagem brasileiras de lixo doméstico através da determinação de metais pesados e substâncias orgânicas tóxicas**. 1993. 222 p. Tese (Doutorado) – Instituto de Química, Universidade de São Paulo, 1993.

GUEDES, M. E. M. Formação de fitalexinas em interações incompatíveis *Coffea arabica*-*Hemileia vastatrix*. In: SIMPÓSIO SOBRE FERRUGENS DO CAFEEIRO, 1983, Oeiras. **Anais...** Oeiras, 1984. p. 207-216.

GUEDES, M. E. M. Isozyme studies in compatible and incompatible *Coffea arabica*-*Hemileia vastatrix* interactions. **Brotéria Genética**, Lisboa, v. 9, p. 83-92, 1988.

GUEDES, M. E. M.; RODRIGUES, C. J. JR. Disc electrophoretic patterns of phenoloxidase from leaves of coffee cultivates. **Portugaliae Acta Biologica**, Lisboa, v. 13, p. 169-178, 1974.

GUEDES, M. E. M.; SILVA, A. M.; CAVALEIRO, J. A. S. Phytoalexins accumulation in *Coffea arabica* L. under pathogenic infection. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 85, n. 3, part. 2, p. 76, 1992.

GUEDES, M. E. M.; SILVA, A. M.; CAVALEIRO, J. A. S.; GUERRA-GUIMARAES, L. Total phenols and phytoalexins accumulations in coffee leaves infected with *Hemileia vastatrix* Berk. & Br. and *Pseudomonas syringae*. **Acta Horticulturae**, The Hague, v. 381, p. 561-564, 1994.

GUEDES, M. E. M; MORAIS, M. L.; MARTINS, M. S. Production of stress metabolites in coffee leaves infiltrated with *Pseudomonas syringae*. **Garcia de Orta, Série Estudos Agronomicos**, Lisboa, v. 9, p. 243-248, 1982.

GUZZO, S. D.; BACH, E. E.; MARTINS, E. M. F.; MORAES, W. B. C. Crude exopolysaccharides (EPS) from *Xanthomonas campestris* pv. *manihotis*, *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* and commercial xanthan gum as inducers of protection in coffee plants against *Hemileia vastatrix*. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v. 139, p. 119-128, 1993.

GUZZO, S. D.; HAKAKAVA, R.; KIDA, K.; KAYOKO, ; MARTINS, E. M., ROVERATTI, D. S. Proteção de cafeeiros contra *Hemileia vastatrix* por cloreto de benzalcônico (composto de amônio quaternário). **Summa Phytopathologica**, Jaboticabal, v. 25, n. 4, p. 339-345, 1999.

GUZZO, S. D.; MARTINS, E. M. F. Local and systemic induction of β -1,3-glucanase and chitinase in coffee leaves protected against *Hemileia vastatrix* by *Bacillus thuringiensis*. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v. 144, p. 449-454, 1996.

GUZZO, S. D.; MARTINS, E. M. F.; MORAES, W. B. C. Induced protection of coffee plants to *Hemileia vastatrix*. I. Partial purification of the extracellular inducer from heat-killed urediniospores of the pathogen. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 12, n. 4, p. 377-385, 1987.

HADAR, Y.; MANDELBAUM, R. Suppressive compost for biocontrol of soilborne plant pathogens. **Phytoparasitica**, Bet Dagan, v. 20, p. 113-116, 1986.

HADAR, Y.; MANDELBAUM, R.; GORODECKI, B. Biological control of soilborne plant pathogens by suppressive compost. In: TJAMOS, E. C.; PAPAVIDAS, G.C.; COOK, R. J. **Biological control of plant diseases: progress and challenges for the future**. New York: Plenum Press, 1992. p. 79-83.

HAMMERSCHMID, R.; NUCKLES, E. M.; KUC, J. Association of enhanced peroxidase activity with induced systemic resistance of cucumber to *Colletotrichum lagenarium*. **Physiological Plant Pathology**, London, v. 20, p. 73-82, 1982.

HAMMOND-KOSACK, K. E., JONES, J. D. G. Resistance gene-dependent plant defense responses. **The Plant Cell**, Baltimore, v. 8, p. 1773-1791, 1996.

HAN, D. Y.; COPPLIN, D. L.; HOITNK, H. A. J. Partial characterization of systemic acquired resistance induced in radish by *Pantoea agglomerans* strain E278Ar. **Phytopathology**, St. Paul, v. 88, S36, 1998. (Abstr.)

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**, St. Paul, v. 90, n. 4, 327-332, 2000.

HANSON, K. R.; HAVIR, E. A. Phenylalanine ammonia-lyase. In: STUMPF, P. K.; CONN, E. E. (Ed.). **Secondary plant products**. v. 7. The biochemistry of plants: a comprehensive treatise. New York: Academic Press, 1981. p. 577-625.

HARMAN, G. E.; LUMSDEN, R. B. Biological disease control In: LYNCH, J. M. **The rhizosphere**. Chichester: J. Wiley & Sons, 1990. p. 259-280.

HEATH, M. C. Current concepts of the determinants of plant-fungal specificity. In: KOHMOTO, K.; YODER O. C. (Ed.). **Host-specific toxin: biosynthesis receptor and molecular biology**. Tottori: Tottori University, 1994. p. 3-21.

HEIM, D.; NICHOLSON, R. L.; PASCHOLATI, S. F.; HAGERMAN, A. E.; BILLETT, W. Etiolated maize mesocotyls: a tool for investigating disease interactions. **Phytopathology**, St. Paul, v. 73, p. 424-428, 1983.

HOFFLAND, E.; HAKULINEN, J.; van PELT, J. A. Comparison of systemic resistance induced by avirulent and nonpathogenic *Pseudomonas* species. **Phytopathology**, St. Paul, v. 86, p. 757-762, 1996.

HOFFLAND, E.; PIETERSE, C. M. J.; BIK, L.; van PELT, J. A. Induced systemic resistance in radish is not associated with accumulation of pathogenesis-related proteins. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v. 46, p. 309-320, 1995.

HOITINK, H. A. J. Composted bark: a lightweight growth medium with fungicidal properties. **Plant Disease**, St. Paul, v. 64, p. 142-147, 1980.

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

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

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

HOITINK, H., A., J.; BOEHM, M. J. Control within the context of soil microbial communities: a substrate-dependent phenomenon. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 37, p. 427-446, 1999.

HOITINK, H., A., J.; MADDEN, L. V., BOEHM, M. J. Relationships among organic matter decomposition level, microbial species diversity, and soilborne disease severity. In: HALL, R. (Ed.) **Principles and practice of managing soilborne plant pathogens**. St. Paul: The American Phytopathological Society Press, 1996. p. 237-249.

HUGH JONES, D. Phenylalanine ammonia-lyase: regulation of its induction, and its role in plant development. **Phytochemistry**, Elmsford, v. 23, p. 1349-1359, 1984.

INGHAM, J. L. Disease resistance in higher plants. The concept of pre-infectious and post-infectious resistance. **Phytopathology**, St. Paul, v. 78, p. 314-335, 1973.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Produção da pecuária municipal**. Rio de Janeiro, 1999. 80 p.

JANISIEWCZ, W. J. Biocontrol of postharvest diseases of apples with antagonistic mixtures. **Phytopathology**, St. Paul, v. 78, p. 194-198, 1988.

KELLER, H.; BONNET, P.; GALIANA, E.; PRUVOT, L.; FRIEDRICH, L.; RYALS, J.; RICCI, P. Salicylic acid mediates elicitor-induced systemic acquired resistance, but not necrosis in tobacco. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, St. Paul, v. 9, p. 696-703, 1996.

KESSMANN, H.; STAUB, T.; HOFFMAN, C.; MAETZKE, T.; HERZOG, J.; WARD, E.; UKNES, S.; RYALS, J. Induction of systemic acquired resistance in plants by chemicals. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 32, p. 439-459, 1994.

KIEHL, E. J. **Fertilizantes orgânicos**. Piracicaba: Editora Agronômica Ceres, 1985. 492 p.

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

KIRALY, Z. Effect of nitrogen fertilization on phenol metabolism and stem rust susceptibility of wheat. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v. 51, p. 252-261, 1964.

KLOPPER, J. W.; TUZUN, S.; KUC, J. A. Proposed definitions related to induced disease resistance. **Biocontrol Science and Technology**, New York, v. 2, p. 349-351, 1992.

KRAUSE, M. S.; DE CUESTER, T. J. J.; HAN, D. Y.; MUSSELMAN, C. A.; HOITINK, H. A. J. Systemic acquired resistance induced by composts: a highly specific phenomenon. **Phytopathology**, St. Paul, v. 88, S49, 1998. (Abstr.)

KUC, J. Systemic induced resistance. **Aspects of Applied Biology**, Dundee, v. 42, p. 235-242, 1995.

KUNZ, W.; SCHURTER, R.; MAETZKE, T. The chemistry of benzothiadiazole plant activators. **Pesticide Science**, Oxford, v. 50, p. 275-282, 1997.

LAMB, C. J.; BELL, J.; NORMAN, P.; LAWTON, M. A; DIXON, R A; ROWELL, P.; BAILEY, J. A. In: CIFFERI, O.; DURE, L. (Ed.). **Structure and function of plant genomes**. New York: Plenum Press, 1983. p.55. (NATO-ASI Symposium Series, 63).

LAZARROVITS, V.; WARD, W. B. Polyphenoloxidase activity in soybean hypocotyls at sites inoculated with *Phytophthora megasperma* f. sp. *glycinea*. **Physiological Plant Pathology**, London, v. 21, p. 227-236, 1982.

LEONI, C. V. **Indução de supressividade a *Phytophthora nicotianae* em mudas de limão cravo com lodo de esgoto**. 2002, 66 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia - Área de Concentração Fitopatologia) Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2002.

LEWIS, N. G.; YAMAMOTO, E. Lignin: occurrence, biogenesis and biodegradation. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 41, p. 455-496, 1990.

LIMA, J. S.; LICHTIG, J.; OLIVEIRA, E.; MENK, J. R. F. Composto feito de lixo pode contaminar hortaliças. **Ciência Hoje**, São Paulo, v. 24, p. 57-59, 1998.

LIU, L.; KLOPPER, J. W.; TUZUN, S. Induction of systemic resistance in cucumber against Fusarium wilt by plant growth-promoting rhizobacteria. **Phytopathology**, St. Paul, v. 85, p. 695-698, 1995a.

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

LOPES, M. S. Salinidade: quais as conseqüências. **Lavoura Arrozeira**, Porto Alegre, v. 42, n. 383, p. 6-10, 1989.

LOURENÇO, R. S.; ANJOS, A.R.M.; LIBARDI, P. L.; MEDRANO, M. J. S., Efeito do lodo de esgoto na produtividade de milho e feijão, no sistema de produção da bracinga. **SANARE**, Curitiba, v. 5, p. 90-92, 1996.

LUDOVICE, M. L. Uso e disposição final de lodos orgânicos – biossólidos. In: SEMINÁRIO INTERNACIONAL DE TRATAMENTO E DISPOSIÇÃO FINAL DE ESGOTOS SANITÁRIOS-TECNOLOGIA E PERSPECTIVAS PARA O FUTURO, 1996, Brasília, DF. **Anais...** Brasília, 1996. p. 85-96.

LUDUVICE, M. L. Gestão de biossólidos e o Mercosul. In: SEMINÁRIO SOBRE GERENCIAMENTO DE BIOSSÓLIDOS DO MERCOSUL, 1., 1998, Curitiba. **Palestras...** Curitiba: SANEPAR/ABES, 1998. p. 9-10.

LUMSDEN, R. D.; MILLNER, P. D.; LEWIS, J. A. Supression of lettuce drop caused by *Sclerotinia minor* with composted sewage sludge. **Plant Disease**, St. Paul, v. 70, n. 3, p. 197-201, 1986.

LUMSDEN, R. D.; LEWIS, J. A.; MILLNER, P. D. Effect of composted sewage sludge on several soilborne pathogens and disease. **Phytopathology**, St. Paul, v. 73, n. 11, p. 1543-1548, 1983.

MADAMANCHI, N.R., KUC, J. Induced systemic resistance in plants. In: COLE, G. T.; HOCH, H. C. (Ed.). **The fungal spore and disease initiation in plants and animals**. New York: Plenum Press, 1991. p. 347-362.

MALAVOLTA, E. Adubação mineral e sua relação com as doenças das plantas – a visão de um nutricionista de plantas. In: WORKSHOP – A INTERFACE SOLO-RAIZ (RIZOSFERA) E RELAÇÕES COM A DISPONIBILIDADE DE NUTRIENTES, A NUTRIÇÃO E AS DOENÇAS DE PLANTAS, 1998, Piracicaba. **Anais ...** Piracicaba: Potafós/Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, 1998. p. 1-60.

MALAVOLTA, E. **Manual de calagem e adubação das principais culturas**. São Paulo: Ed. Agronômica Ceres, 1987. p. 295-347.

MANDELBAUM, R.; GORODECKI, B., HADAR, Y. Suppression of *Rhizoctonia solani* and *Sclerotium rolfsii* diseases in container media containing composted separated cattle manure and composted grape marc. **Crop Protection**, Newcastle, v. 9, p. 271-274, 1990.

MARTINS, E. M. F.; DAGMAR, S. R.; BERETTA, M. J. G.; MORAES, W. B. C. Indução da síntese de compostos tipo-fitalexinas em folhas de cafeeiro. In: CONGRESSO PAULISTA DE FITOPATOLOGIA, 5., 1982, Piracicaba. **Resumos...** Piracicaba, 1982. p. 30.

MARTINS, E. M. F.; ROVERATTI, D. S.; MORAES, W. B. C. Elicitation of stress metabolites in coffee leaves by a non-pathogen. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 11, p. 683-695, 1986.

MARTINS, E. M. F.; TIURZY, R.; MORAES, W. B. C. Histological studies of compatible and incompatible interactions of coffee leaves and *Hemileia vastatrix*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 10, p. 627-636, 1985a.

MARTINS, E.M.F.; BERETTA, M. J. G.; ROVERATTI, D.S.; MORAES, W.B.C. Comparative induced protection to *Hemileia vastatrix* in coffee plants by non-specific inducers from different fungal and bacterial origins. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 10, p. 521-529, 1985b.

MATERN, V.; GRIMMIG, B. Polyphenols in plant pathology. In: SCALBERT, A. (Ed.). **Polyphenolic phenomena**. Paris: INRA Editions, 1993. p. 143-147.

MAXEMIUC-NACCACHE, V.; DIETRICH, S. M. C. Changes in phenols and oxidative enzymes in resistant and susceptible *Coffea arabica* inoculated with *Hemileia vastatrix* (coffee rust). **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 8, p.185-190, 1985.

MAYAMA, S.; TANI, T.; MATSUURA, Y; UENO, T.; FUKAMI, H. The production of phytoalexins by oat in response to crown rust, *Puccinia coronata* f. sp. *avenae*. **Physiological Plant Pathology**, London, v. 19, p. 217-226, 1981.

MAZUR, N., VELLOSO, A. C. X.; SANTOS, G. A. Efeito do composto de resíduo urbano no pH e alumínio trocável em solo ácido. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v. 7, p. 157-159, 1983.

MAZZAFERA, P. **Estudos sobre a resistência induzida no complexo *Coffea arabica* L. – *Hemileia vastatrix* Berk. et Br. (Café-Ferrugem).** 1987. 127 p. Dissertação (Mestrado) –Unicamp, Campinas, 1987.

MAZZAFERA, P.; MAGALHAES, A. C. N. Resistência induzida no complexo *Coffea arabica* L. *Hemileia vastatrix* Berk. & Br. fenóis e enzimas. **Turrialba**, San Jose, v. 39, p. 334-345, 1989.

MAZZAFERA, P.; ROBINSON, S. P. Characterization of polyphenol oxidase in coffee. **Phytochemistry**, Elmsford, v. 55, p. 285-296, 2000.

MEDEIROS, M. A. P. X. L.; GUEDES, M. E. M.; BARROS E SOUSA, M. L. Has caffeine a role in the resistance of coffee to the orange rust? In: COLLOQUE DE L'ASSOCIATION SCIENTIFIQUE INTERNATIONALE DU CAFÉ (ASIC), 13., 1989, Cali. **Anales...** Cali: ASIC, 1989. p. 733-744.

MEERA, M. S.; SHIVANNA, M. B.; KAGEYAMA, K.; HYAKUMACHI, M. Plant growth promoting fungi from zoysiagrass rhizosphere as potencial inducers of systemic resistance in cucumbers. **Phytopathology**, St. Paul, v. 84, p. 1399-1406, 1994.

MELO, J. M.; MARQUES, M. O. Potencial do lodo de esgoto como fonte de nutrientes para as plantas. In: BETTIOL, W.; CAMARGO, O. A. (Ed.) **Impacto ambiental do uso agrícola do lodo de esgoto.** Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2000. cap. 5, p. 109-141.

MELO, W. J.; MARQUES, M. O.; MELO, V. P. O uso agrícola do biossólido e as propriedades do solo. In: TSUTIYA, M. T.; CAMPARINI, J. B.; SOBRINHO, P. A.; HESPANHOL, I.; CARVALHO, P. C. T.; MELFI, A. J.; MELO, W. J.; MARQUES, M. O. **Biossólidos na agricultura.** São Paulo: SABESP, 2001. p. 289-363.

MELO, W.J.; MARQUES, M. O.; SILVA, F. C.; BOARETTO, A. E. Uso de resíduos sólidos urbanos na agricultura e impactos ambientais (compact disc) In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, 26., 1997, Rio de Janeiro. **Anais...** Rio de Janeiro: SBCS, 1997. p. 1-25.

MENEZES, J. F. S.; ANDRADE, C. L. T.; ALVARENGA, R. C.; KONZEN, E., PIMENTA, F. F. **Utilização de resíduos orgânicos na agricultura**. Disponível em: <<http://www.planetaorganico.com.br/trabjune.html>>. Acesso em: 03 jul. 2002.

MESQUITA FILHO, M. V., SOUZA, A. F.; MOITA, A. W.; RAMAGEM, R. D. Produção comercializável e teores de Cu e Zn em cenoura em decorrência da ação residual de fósforo e composto de lixo em solo sob cerrado. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 20, n. 2, p. 153-157, 2002.

MÉTRAUX, J. P.; SIGNER, H.; RYALS, J.; WARD, E.; WYSS-BENZ, M.; GAUDIN, J.; RACHSDORF, K.; SCHMID, E.; BLUM, W.; INVERARDI, B. Increase in salicylic acid at the onset of systemic acquired resistance in cucumber. **Science**, Washington, v. 250, p. 1004-1006, 1990.

MITTER, N.; KAZAN, K.; WAY, H. M.; BROEKART, W. F.; MANNERS, J. M. Systemic induction of an Arabidopsis plant defensin gene promoter by tobacco mosaic virus and jasmonic acid in transgenic tobacco. **Plant Science**, Limerick, v. 136, p. 169-180, 1998.

MORAES, W. B. C. Análise retrospectiva da cafeicultura no Brasil e da pesquisa sobre bioquímica da ferrugem do cafeeiro. In: SIMPÓSIO SOBRE AS FERRUGENS DO CAFEIEIRO, 1983, Oeiras. **Anais...** Oeiras, 1984. p. 183-203.

MORAES, W. B. C.; MARTINS, E. M. F.; MUSUMECI, M. R.; BERETTA, M. J. G. Induced protection to *Hemileia vastatrix* in coffee plants. **Summa Phytopathologica**, Piracicaba, v. 2, p. 39-43, 1976.

MORAES, W. B. C.; MUSUMECI, M. R.; CONTI, E. D.; GROHMANN, A.; MARTINS, E. M. F. Aspectos do mecanismo bioquímico da resistência dos cafeeiros ao fungo *H. vastatrix*. **Separata Sociedade Brasileira Fitopatologia**, v. 4, p. 27-28, 1971.

MUGWIRA, L. M. Residual effects dairy cattle manure on millet and rye forage and soil properties. **Journal of Environmental Quality**, Madison, v. 8, p. 251-255, 1979.

NICHOLSON, R L; HIPSKIND, J.; MANAU, R. M. Protection against phenol toxicity by the spore mucilage of *Colletotrichum graminicola*, an aid to secondary spread. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v. 35, p. 243-252, 1989.

OKEY, E. N.; DUCAN, E. J.; SIRJU-CHARRAN, G.; SREENIVASAN, T. N. Phytophthora canker resistance in cacao: role of peroxidase, polyphenoloxidase and phenylalanine ammonia-lyase. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v. 145, n. 7, p. 295-299, 1997.

OLIVEIRA, E. L. de; PARIZOTTO, M. L. V. **Características e uso fertilizante do esterco de suíno**. Londrina: IAPAR, 1994. 24p. (IAPAR. Circular, 83).

OLIVEIRA, F.C. **Disposição de lodo de esgoto e composto de lixo urbano num latossolo vermelho-amarelo cultivado com cana-de-açúcar**. Piracicaba, 2000. 247 p. Tese (Doutorado); Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo. Piracicaba, 2000.

OUCHI, S. Induction of resistance or susceptibility. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 21, p. 289-315, 1983.

PALVA, T. K.; HURTIG, M.; SAINDRENAN, P.; PALVA, E. T. Salicylic acid induced resistance to *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* in tobacco. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, St. Paul, v. 7, p. 356-363, 1994.

PARK, C. S.; PAULITZ, T. C., BAKER, R. Biocontrol of *Fusarium* wilt of cucumber resulting from interactions between *Pseudomonas putida* and nonpathogenic isolates of *Fusarium oxysporum*. **Phytopathology**, St. Paul, v. 78, p. 190-194, 1988.

PARRA, M. S.; OLIVEIRA, E. L. de; CASTRO FILHO, C. de; MIYAZAWA, M. S.; OLIVEIRA, E. L. de. Respostas do feijoeiro ao uso do chorume de suínos. In: REUNIÃO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO, 6., 1999, Salvador. **Anais...** Goiânia: Embrapa Arroz e Feijão, 1999. p. 862-865. (Embrapa Arroz e Feijão. Documentos, 99).

PARRA, M. S.; OLIVEIRA, E. L. de; PAVAN, M. A. Frações de fósforo no solo associadas à aplicação de chorume de suínos. In: REUNIÃO BRASILEIRA DE FERTILIDADE DO SOLO E NUTRIÇÃO DE PLANTAS, 23., 1998, Lavras. **Resumos...** Lavras: UFLA/SBCS, 1998. p. 69.

PASCUAL, J.A.; HERNANDEZ, T.; GARCIA, C.; DE LEIJ, F.A.A.M.; LYNCH, J.M. Long-term suppression of *Pythium ultimum* in arid soil using fresh and composted municipal wastes. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 30, p. 478-484, 2000.

PEARCE, R B.; RIDE, J. P. Elicitors of the lignification respon of wheat. **Annals of Applied Biology**, Cambridge, v. 89, p. 306, 1978.

PEARCE, R. B.; RIDE, J. P. Specificity of induction of the lignification response in wounded wheat leaves. **Physiological Plant Pathology**, London, v. 16, p. 197-204, 1980.

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

PHARAND, B.; CARISSE, O.; BENHAMOU, N. Cytological aspects of compost-mediated induced resistance against Fusarium Crown and Root Rot in tomato. **Phytopathology**, St. Paul, v. 92, n. 4, p. 424-438, 2002.

PIETERSE, C. M. J.; van WEES, S. C. M.; HOFFLAND, E.; van PELT, J. A.; van LOON, L.C. Systemic resistance in Arabidopsis induced by biocontrol bacteria is independent of salicylic acid accumulation and pathogenesis-related gene expression. **The Plant Cell**, Baltimore, v. 8, p. 1225-1237, 1996.

PIETERSE, C. M. J.; van WEES, S. C. M.; 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*. **The Plant Cell**, Baltimore, v. 10, p. 1571-1580, 1998.

POZZA, A. A. A.; GUIMARÃES, P. T. G.; POZZA, A. E.; ROMANIELLO, M. M.; CARVALHO, J. G. Efeito de substratos e adubações de mudas de cafeeiro em tubetes na produção e na intensidade de cercosporiose. **Summa Phytopathologica**, Jaboticabal, v. 27, p. 343-347, 2001.

RAHE, J. E.; KUC, J.; CHIEN-MEI CHUANG. Cinnamic acid production as a method of assay for phenylalanine ammonia-lyase in acetone powders of *Phaseolus vulgaris*. **Phytochemistry**, Elmsford, v. 9, p. 1909-1915, 1970.

RAUPACH, G. S.; LIU, L.; MURPHY, J. F.; TUZUN, S.; KLOEPPER, J. W. Induced systemic resistance in cucumber and tomato against cucumber mosaic cucumovirus using plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR). **Plant Disease**, St. Paul, v. 80, p. 891-894, 1996.

RIBEIRO, I. J. A.; BERGAMIM-FILHO, A.; CARVALHO, P. C. T. Avaliação da resistência horizontal a *Hemileia vastatrix* Berk. Et Br. Em cultivares de *Coffea arabica* L. em condições naturais de epidemia. **Summa Phytopathologica**, Piracicaba, v. 7, n. 1/2, p. 80-95, 1981.

RIBEIRO, I. J. A.; MONACO, L. C.; TISSELLI-FILHO, O.; SUGIMORI, M. H. Efeito da alta temperatura no desenvolvimento da *Hemileia vastatrix* em cafeeiro suscetível. **Bragantia**, Campinas, v. 37, n. 2, p. 10-16, 1978.

RICHARDS, L. A. (Editor) **Diagnostico y rehabilitacion de suelos salinos y sodicos** México: Secretaria de Agricultura y Ganaderia-Instituto Nacional de Investigaciones Agricolas, 1954. 172 p. (Manual de Agricultura, n. 60)

RIDE, J. P. Lignification in wounded wheat leaves in response to fungi and its possible role in resistance. **Physiological Plant Pathology**, London, v. 5, p. 125-134, 1975.

RIDE, J. P. The role of the cell wall alterations in resistance to fungi. **Annals of Applied Biology**, Cambridge, v. 89, p. 302-306, 1978.

RIJO, L. Histopathology of the hypersensitive reaction *t* (tumefaction) induced on *Coffea*

spp. by *Hemileia vastatrix* Berk. & Br. **Agronomia Lusitana**, Oeiras, v. 33, p. 427-431, 1972.

RIJO, L.; RODRIGUES JR., C. J. Processo de infecção da *Hemileia vastatrix* Berk. & Br. em cultivares susceptíveis e resistentes de *Coffea arabica* L. **Garcia de Orta. Série Estudos Agronomicos**, Lisboa, v. 5, p. 23-24, 1978.

RIJO, L.; RODRIGUES JR., C. J.; SILVA, M. C.; VASCONCELOS, M. I. Does gene SH5 confer to certain coffee-rust associations a reaction near immunity? A histopathological study. **Cafe Cacao Thé**, Paris, v. 35, p. 167-176, 1991.

RIJO, L.; VASCONCELOS, M. I. Formação de calose e lignina em combinações incompatíveis *Coffea* spp. - *H. vastatrix*. In: SIMPÓSIO SOBRE FERRUGENS DO CAFEIEIRO, 1983, Oeiras. **Anais...** Oeiras, 1984. p. 269-279.

RODELLA, A. A.; ALCARDE, J.C. Legislação sobre micronutrientes e metais pesados. In: SIMPÓSIO SOBRE MICRONUTRIENTES E ELEMENTOS TÓXICOS NA AGRICULTURA, 1., 1999, Jaboaticabal. **Palestras apresentadas...** Jaboaticabal: FCAV/UNESP, 1999. p..

RODRIGUES JR., C. J. **Mecanismos de resistência das plantas aos agentes patogénicos**. Lisboa: Junta de Investigação Científica do Ultramar, 1980. 67 p.

RODRIGUES JR., C. J. ; LEWIS, B. G.; MEDEIROS, E. F. Relationship between a phytoalexin-like response in coffee leaves (*Coffea arabica* L.) and compatibility with *Hemileia vastatrix* Berk. & Br. **Physiological Plant Pathology**, London, v. 6, p. 35-41, 1975b.

RODRIGUES JR., C. J. ; RIJO, L.; MEDEIROS, E. F. Induction of flecks and tumefactions on coffee leaves by incompatible and compatible, viable and non-viable uredospore of *Hemileia vastatrix* and other rusts, and by their leachates. **Garcia de Orta. Série Estudos Agronomicos**, Lisboa, v. 9, p. 105-110, 1982.

RODRIGUES JR., C. J.; BETTENCOURT, A. J.; RIJO, L. Races of the pathogen and resistance to coffee rust. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 13, p. 49-70, 1975a.

ROSS, A F. Systemic acquired resistance induced by localized virus infections in plants. **Virology**, New York, v. 14, p. 340-358, 1961.

ROVERATTI, D. S.; TEIXEIRA, A. R. R.; MORAES, W. B. C. *Bacillus thuringiensis* – A new perspective for an induced protection to coffee leaf rust. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v. 126, p. 149-159, 1989.

RYALS, J.; NEUENSCHWANDER, U. H.; WILLITS, M. G.; MOLINA, A.; STEINER, H. Y.; HUNT, M. D. Systemic acquired resistance. **The Plant Cell**, Baltimore, v. 8, p. 1809-1819, 1996.

RYALS, J.; UKNES, S.; WARD, E. Systemic acquired resistance. **Plant Physiology**, Bethesda, v. 104, p. 1109-1112, 1994.

SANDER, J. F.; HEITEFUSS, R. Susceptibility to *Erysiphe graminis* f. sp. *tritici* and phenolic acid content of wheat as influenced by different levels of nitrogen fertilization. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v. 146, p. 495-507, 1998.

SANTOS, I. **Efeito do lodo de esgoto sobre a atividade microbiana e fitopatógenos habitantes do solo**. 2001, 82 p. Tese (Doutorado em Agronomia - Área de concentração Proteção de Plantas). Faculdade de Ciências Agrônomicas – UNESP, Botucatu, 2001.

SAS INSTITUTE INC. **SAS-Statistical Analysis System** (software). SAS/STAT[®] User's Guide, Version 8. Cary: SAS Institute, 1999. p. 1162-1165.

SCHOENMAKER, I. A. S. **Solarização do solo associada à incorporação de matérias orgânicas para o controle de *Pytium* sp.** 2001. 50 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia - Área de Concentração Fitopatologia) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2001.

SIEVERS, S.; ABLANQUE, E.; BAUTISTA, E.; CHAPARRO, F.; GUTIÉRREZ, J.; HAVERKAMP, J.; DE PEÑA, M.; POSADA, E.; ROJAS, M. A. L.; SPETTEL, B.; ZAMUDIO, V.; QUIJANO RICO, M. Relationship between genetics and chemistry in the system *Coffea* spp. / *Hemileia vastatrix*. In: COLLOQUE DE L'ASSOCIATION SCIENTIFIQUE INTERNATIONALE DU CAFÉ (ASIC), 9., 1980, Londres. **Anales...** Londres: ASIC, 1980. p. 671-680.

SILVA, M. C.; GUERRA-GUIMARÃES, L.; NICOLE, M. R.; RODRIGUES JR, C. J. Caracterização citológica e bioquímica da resistência do cafeeiro à ferrugem alaranjada. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 26, supl., p. 453, 2001.

SILVA, M. C.; GUERRA-GUIMARÃES, L.; NICOLE, M.; VÁRZEA, V.; MARQUES, D. V.; GEIGER, J. P.; RODRIGUES JR, C. J. The role of peroxidase activity in the hypersensitive reaction of *Coffea arabica* plants with complete resistance to orange rust (*Hemileia vastatrix*). In: SYMPOSIUM "DURABLE RESISTANCE: KEY TO SUSTAINABLE RESISTANCE", 2000, Wageningen, Netherlands. **Abstracts...** Wageningen, 2000. p. 3.

SILVA, M. C.; NICOLE, M.; RIJO, L.; GEIGER, J. P.; RODRIGUES JR, C. J. Cytochemical aspects of the plant-rust fungus interface during the compatible interaction *Coffea arabica* (cv. Caturra)-*Hemileia vastatrix* (race III). **International Journal of Plant Sciences**. Chicago, v. 160, n. 1, p. 79-91, 1999.

SILVA, M. C.; RIJO, L.; RODRIGUES, C. J. JR.; VASCONCELOS, M. I. Histological study of the heterozygosity effect of coffee resistance genes S_H1 and S_H4S_H5 towards *Hemileia vastatrix*. **Brotéria Genética**, Lisboa, v. 13, p. 169-184, 1992.

SOCCOL, V. T.; PAULINO, R. C. Riscos de contaminação do agroecossistema com parasitos pelo uso do lodo de esgoto. In: BETTIOL, W.; CAMARGO, O. A. **Impacto ambiental do uso agrícola do lodo de esgoto**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2000. p. 245-258.

SOUTHERTON, S. G.; DEVERALL, B. J. Histochemical and chemical evidence for lignin

accumulation during the expression of resistant to leaf rust fungi in wheat. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v. 36, p. 483-494, 1990.

SPENCER, S.; BENSON, D. M. Pine bark, hardwood bark compost, and peat amendment effects on development of *Phytophthora* spp. and lipine root rot. **Phytopathology**, St. Paul, v. 72, p. 346-351, 1982.

SPURR, H. W. Protective applications of conidia of nonpathogenic *Alternaria* sp. isolates for control of tobacco brown-spot disease. **Phytopathology**, St. Paul, v. 67, p. 128-132, 1977.

STICHER, L.; MAUCH-MANI, B.; MÉTRAUX, J. P. Systemic acquired resistance. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 35, p. 235-270, 1997.

STRAUS, E. L. Normas da utilização de lodos de esgoto na agricultura. In: BETTIOL, W.; CAMARGO, O. A. **Impacto ambiental do uso agrícola do lodo de esgoto**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2000. p. 215-224.

TANAKA, M. A. S.; PASSOS, F. A.; FEITOSA, C. T., TANAKA, R. T. Efeito da adubação mineral e orgânica do morangueiro sobre a antracnose do rizoma, causada por *Colletotrichum fragariae*. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 28, n. 3, p. 236-241, 2002.

TEDESCO, M. J.; VOLKWEISS, S. J.; BOHNEN, H. **Análises de solo, plantas e outros materiais**. Porto Alegre: UFRGS - Faculdade de Agronomia, 1995. 174 p. (Boletim Técnico, 5)

TIBURZY, R.; MARTINS, E. M. F.; MORAES, W. B. C. Visualization of *Hemileia vastatrix* structures in coffee leaves by fluorescence microscopy. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 8, p. 461-466, 1983.

TOBAR, C. M.; ZAMORA, E. H. **Determinación de la fenilalanina amonio-liasa en extractos de hojas de cuatro variedades de cafeto y en otros tejidos vegetales**. 1982. Tesis (Licenciatura em Química) - Universidade Nacional da Colombia, Bogota, 1982.

TRÄNKNER, A. Use of agricultural and municipal organic wastes to develop suppressiveness to plant pathogens. In: TJAMOS, E. C.; PAPAVIDAS, G.C.; COOK, R. J. **Biological control of plant diseases: progress and challenges for the future**. New York: Plenum Press, 1992. p. 35-83.

TUZUN, S.; KUC, J. Persistence of systemic resistance to blue mold in tobacco plants derived via tissue culture. **Phytopathology**, St. Paul, v. 77, p. 1032-1035, 1987.

TUZUN, S.; RAO, M. N.; VOGELI, U.; SCAHARDL, D. L.; KUC, J. Induced systemic resistance to blue mold: early infection and accumulation of β -1,3-glucanases, chitinases and other pathogenesis-related proteins (b-proteins) in immunized tobacco. **Phytopathology**, St. Paul, v. 79, p. 979-983, 1989.

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

van LOON, L. C.; BAKKER, P. A. H. M.; PIETERSE, C. M. J. Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 36, p. 453-483, 1998.

van RAIJ, B.; CANTARELA, H.; QUAGGIO, J. A.; FURLANI, A.M.C. **Recomendações de adubação e calagem para o estado de São Paulo**. Campinas: IAC, 1986. 285 p. (IAC. Boletim Técnico, 100).

van WEES, S. C. M. **Rhizobacteria-mediated induced systemic resistance in *Arabidopsis*: Signal transduction and expression**. 1999. Ph.D. Dissertation - Utrecht University, Utrecht, The Netherlands, 1999.

van WEES, S. C.M.; PIETERSE, C. M. J.; TRIJSSENNAR, A.; van 'T WESTENDE, Y. A. M.; HARTOG, F.; van LOON, L. C. Differential induction of systemic resistance in *Arabidopsis* by biocontrol bacteria. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, St. Paul, v. 10, p. 716-724, 1997.

VERNOOIJ, B.; FRIEDRICH, L.; GOY, P. A.; STAUB, T.; KESSMAN, H.; RYALS, J. 2,6-Dichloroisonicotinic acid-induced resistance to pathogens without the accumulation of salicylic acid. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, St. Paul, v. 8, p. 228-234, 1995.

VIEIRA, R. F. Atividade microbiana e mineralização de nitrogênio em solo suplementado com lodo de esgoto. **Pesquisa em Andamento**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, n. 8, p. 1-2, 2000.

VITTI, G. C.; MELLO, S. Desenvolvimento do tomateiro e modificações nas propriedades químicas do solo em função da aplicação de resíduos orgânicos, sob cultivo protegido. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 20, n. 2, p. 200-206, 2002.

WALLACE, A.; WALLACE, G. A. A possible flaw in EPA'S 1993 new sludge rule due heavy metal interactions. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, New York, v. 25, n. 1-2, p. 129-135, 1994.

WARD, E. R.; UKNES, S. J.; WILLIAMS, S. C.; DINCHER, S. S.; WIDERHOLD, D. L., ALEXANDER, D. C.; AHL-GOY, P.; MÉTRAUX, J. P.; RYALS, J. A. Coordinate gene activity in response that induce systemic acquired resistance. **The Plant Cell**, Baltimore, v. 3, p. 1085-1094, 1991.

WEI, G.; KLOEPPER, J. W.; TUZUN, S. Induced systemic resistance to cucumber diseases and increased plant growth by plant-promoting rhizobacteria under field conditions. **Phytopathology**, St. Paul, v. 86, p. 221-224, 1996.

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

WIDMER, T. L.; GRAHAM, J. H.; MITCHELL, D. J. Composted municipal waste reduces infection of citrus seedlings by *Phytophthora parasitica*. **Plant Disease**, St. Paul, v. 82, n. 6, p. 683-688, 1998.

YAMAMOTO, H.; HOKIN, H.; TANI, T.; KADOTA, G. Phenylalanine ammonia-lyase in

relation to the crown rust resistance of oat leaves. **Phytopathologische Zeitschrift**, Berlin, v. 90, p. 203-211, 1977.

ZAMBOLIM, L.; CHAVES, G. M. Efeito de baixas temperaturas e do binômio temperatura umidade relativa sobre a viabilidade dos uredosporos de *Hemileia vastatrix* Berk. et Br. e *Uromyces phaseoli typica* Arth. **Experientiae**, Viçosa, v. 17, n. 7, p. 151-184, 1974.

ZAMBOLIM, L.; VENTURA, J. A. Resistência a doenças induzida pela nutrição mineral das plantas. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, v. 1, p. 275-319, 1993.

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

ZHANG, W.; HAN DY, S.; DICK, W.A.; DAVIS, K. R.; HOITINK, H. A. J. Compost and compost water extrac-induced systemic acquired resistance in cucumber and *Arabidopsis*. **Phytopathology**, St. Paul, v. 88, p. 450-455, 1998.