



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

**BIOCHAR DE LODO DE ESGOTO E *Trichoderma afroharzianum* NO
CONTROLE DE FUNGOS FITOPATOGÊNICOS**

ALYSON SILVA DE ARAUJO

TESE DE DOUTORADO EM AGRONOMIA

BRASÍLIA/ DF
AGOSTO/2022



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

**BIOCHAR DE LODO DE ESGOTO E *Trichoderma afroharzianum* NO
CONTROLE DE FUNGOS FITOPATOGÊNICOS**

ALYSON SILVA DE ARAUJO

ORIENTADOR: LUIZ EDUARDO BASSAY BLUM
COORIENTADOR: CÍCERO CÉLIO DE FIGUEIREDO

TESE DE DOUTORADO EM AGRONOMIA

BRASÍLIA/ DF
AGOSTO/2022



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

**BIOCHAR DE LODO DE ESGOTO E *Trichoderma afroharzianum* NO
CONTROLE DE FUNGOS FITOPATOGÊNICOS**

ALYSON SILVA DE ARAUJO

TESE DE DOUTORADO SUBMETIDA AO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA, COMO PARTE DOS REQUISITOS NECESSÁRIOS À OBTENÇÃO DO GRAU DE DOUTOR EM AGRONOMIA.

APROVADA POR:

LUIZ EDUARDO BASSAY BLUM (Orientador)

Professor Doutor (FAV - UnB), E-mail: luizblum@unb.br

HELSON MARIO MARTINS DO VALE

Professor Doutor (Universidade de Brasília – UnB), E-mail: helson@unb.br

SUELI CORRÊA MARQUES DE MELLO

Pesquisadora Doutora (Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia), E-mail: sueli.mello@embrapa.br

ALESSANDRA MONTEIRO DE PAULA

Professora Doutora (FAV - UnB), E-mail: ampaula21@gmail.com

BRASÍLIA/DF, 31 DE AGOSTO DE 2022.

FICHA CATALOGRÁFICA

ARAUJO, Alyson Silva de

“BIOCHAR DE LODO DE ESGOTO E *Trichoderma afroharzianum* NO CONTROLE DE FUNGOS FITOPATOGÊNICOS”.

Orientação: Luiz Eduardo Bassay Blum, Brasília, 2022. 160 p.: il.

Coorientação: Cícero Célio de Figueiredo

Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade de Brasília / Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, 2022.

1. Bioossólido. 2. Controle biológico. 3. *Solanum lycopersicum*. 4. *Trichoderma afroharzianum*.

I. Blum, L. E. B. II. Dr.

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

ARAUJO, A.S. de. **Biochar de lodo de esgoto e *Trichoderma afroharzianum* no controle de fungos fitopatogênicos.** Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, 2022, 160 páginas. Tese de Doutorado em Agronomia.

CESSÃO DE DIREITOS

Nome do Autor: ALYSON SILVA DE ARAUJO

Título da Tese de Doutorado: Biochar de lodo de esgoto e *Trichoderma afroharzianum* no controle de fungos fitopatogênicos.

Grau: Doutor **Ano:** 2022

É concedida à Universidade de Brasília de Brasília permissão para reproduzir cópias desta tese de doutorado para única e exclusivamente propósitos acadêmicos e científicos. O autor reserva para si os outros direitos autorais de publicação. Nenhuma parte desta tese de doutorado pode ser reproduzida sem a autorização por escrito do autor. Citações são estimuladas, desde que citada à fonte.

ALYSON SILVA DE ARAUJO

CPF: 030.249.801-05

QNO 04 Conjunto F casa 26

CEP: 72.250.406 Ceilândia, DF. Brasil

(61) 98187-9790 / e-mail: alyson.sa92@gmail.com

Dedico este trabalho a toda minha família, em especial aos meus pais Antonio Carlos e Zenaide Pereira e, a todos que contribuíram de alguma forma para minha formação.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por todas as bênçãos que têm colocado em minha vida.

Aos meus pais – Antonio Carlos e Zenaide Pereira, por todos os ensinamentos, apoio, dedicação e contribuições em todo meu processo estudantil.

A minha família por se manterem ao meu lado em todas as fases da minha vida, em momentos bons e ruins. Principalmente meu irmão Anderson Carlos que sempre esteve ao meu lado me motivando a lutar por todos meus sonhos.

A minha namorada Giovanna Fonseca, que nos últimos anos esteve ao meu lado e participou de diferentes formas em todo meu processo de aprendizado, pelo companheirismo e, incentivando a continuar trilhar os caminhos que sempre almejei.

Agradeço ao professor Dr. Luiz Eduardo Bassay Blum, por apoiar essa linha de pesquisa, orientando os diferentes ensaios desenvolvidos, sugerindo relevantes ideias para condução do doutorado, como também, por sua prontidão em ajudar em quaisquer momentos.

Agradeço em especial ao professor Dr. Cícero Célio de Figueiredo, sendo um exemplo a ser seguido, tanto por sua dedicação, comprometimento, seriedade e motivação, como também, por contribuir efetivamente no profissional que me tornei.

A todos que passaram pelo Laboratório de Estudo da Matéria Orgânica do Solo e que se tornaram grandes amigos, em destaque à Helen Neves, Letícia Pereira, Thamires Dutra, Jhon Kennedy, Thais França, Stênio Souza, Sara Rocha, Thais Coser, Jóisman Fachini, Luiz Zancanaro e Priscila Reis.

A toda equipe do Departamento de Fitopatologia da Universidade de Brasília que colaboraram em diferentes etapas dos experimentos realizados e à equipe da Estação Experimental de Biologia – UnB, colaborando na condução do experimento em telado.

A toda equipe da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, em especial à pesquisadora Sueli Correa Marques de Mello por todos os seus ensinamentos.

A toda equipe do Laboratório de Fisiologia Vegetal da Universidade de Brasília, em especial à professora Sarah C. Caldas Oliveira por todos os ensinamentos e contribuições.

A toda equipe da Embrapa Hortaliças, em especial ao Juscimar da Silva, pelos ensinamentos e colaboração no desenvolvimento deste trabalho.

Ao apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) e à Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal (FAP-DF).

Muito Obrigado!

RESUMO

O biochar de lodo esgoto (BLE) é um material que tem ganhado destaque por associar diferentes benefícios ao sistema agrícola, visto seu papel no incremento de nutrientes no solo, redução da disponibilidade de metais pesados, incremento em produção de biomassa e produtividade e, controle de diferentes fitopatógenos habitantes de solo. A possibilidade de controle de fitopatógenos habitantes de solo através do uso do BLE abre oportunidade para incorporação de mais uma ferramenta no manejo desses microrganismos em sistemas produtivos. Visto também, que o uso desse material em combinação com microrganismos benéficos, como o *Trichoderma*, tem potencializado o efeito de controle de fitopatógenos, como também, estimulado o maior desenvolvimento das plantas. O objetivo neste trabalho foi avaliar a capacidade *in vitro* do BLE inibir o crescimento de diferentes fitopatógenos, como também, seu efeito em combinação com o *T. afroharzianum* para controle de *Sclerotium rolfsii* em tomateiro (*Solanum lycopersicum*), buscando compreender os diferentes mecanismos envolvidos. Neste trabalho foram realizados quatro experimentos. No primeiro experimento foi avaliado o efeito de diferentes doses de BLE (0; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 e 1% m/v) no controle *in vitro* de *Fusarium oxysporum*, *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* (isolado CEN1456), *Macrophomina phaseolina* (isolado 429), *Sclerotinia sclerotiorum*, *S. sclerotiorum* (isolado CEN1147), *Sclerotium rolfsii* (isolado CEN216), *Sclerotium cepivorum* (isolado CEN1357) e *Rhizoctonia solani*. No segundo experimento, observou-se o efeito do BLE (na concentração de 0,6% m/v) + *T. afroharzianum* no controle *in vitro* do *S. rolfsii*. No terceiro experimento, foi avaliado o efeito da combinação BLE + *T. afroharzianum* na produção de mudas de tomate, na ausência e presença do fitopatógeno *S. rolfsii*. No quarto experimento, foi avaliado o efeito do BLE + *T. afroharzianum* no controle de *S. rolfsii* em tomateiro, objetivando compreender os possíveis mecanismos envolvidos nesse manejo. O terceiro e quarto experimento foram constituídos pelos seguintes tratamentos: 1) Controle: sem aplicação de BLE ou *T. afroharzianum*; 2) Aplicação de BLE exclusivo; 3) Aplicação de *T. afroharzianum*; 4) BLE + *T. afroharzianum*; 5) controle + inoculação do patógeno; 6) BLE + patógeno; 7) *T. afroharzianum* + patógeno; 8) BLE + *T. afroharzianum* + patógeno. Os resultados do primeiro experimento demonstraram que os biochars apresentam efeito inibitório ao crescimento micelial dos diferentes fungos avaliados, com doses específicas para cada microrganismo. No segundo experimento, foi possível observar que a combinação BLE + *T. afroharzianum* potencializa a inibição do crescimento micelial do *S. rolfsii*, resultado superior ao uso isolado de cada um. No terceiro experimento, a combinação BLE + *T. afroharzianum* foi responsável pelo maior desenvolvimento das mudas

de tomate, garantindo maior produção de biomassa, tanto de parte aérea como raiz, na ausência ou presença do fitopatógeno. No quarto experimento, foi possível observar que a combinação BLE + *T. afroharzianum* afetou diferentes parâmetros da relação solo x planta x fitopatógeno, como por exemplo, melhoria da fertilidade do solo, em especial o fósforo (P), maior desenvolvimento e produção de biomassa pelas plantas de tomate, aumento da produção de metabólitos secundários pelas plantas e, maior sobrevivência de plantas inoculadas com o fitopatógeno. Esse experimento demonstrou que a utilização do BLE associado ao *T. afroharzianum* é uma ferramenta promissora para o manejo do tomateiro, podendo minimizar os danos causados pelo fitopatógeno *S. rolfsii*.

Palavras-chave: controle biológico, *Solanum lycopersicum*, *Trichoderma afroharzianum*.

ABSTRACT

Sewage sludge biochar (SSB) is a material that has gained prominence for associating different benefits to the agricultural system, given its role in increasing soil nutrients, reducing the availability of heavy metals, increasing biomass production and productivity, and controlling of different soilborne phytopathogens. The possibility of controlling soilborne phytopathogens through the use of SSB opens an opportunity for the incorporation of yet another tool in the management of these microorganisms in production systems. Also seen that the use of this material in combination with beneficial microorganisms, such as *Trichoderma*, has potentiated the effect of controlling phytopathogens, as well as stimulating the greater development of plants. The objective of this work was to evaluate the *in vitro* ability of SSB to inhibit the growth of different phytopathogens, as well as its effect in combination with *T. afroharzianum* to control *Sclerotium rolfsii* in tomato (*Solanum lycopersicum*), seeking to understand the different mechanisms involved. In this work, four experiments were carried out. In the first experiment, the effect of different doses of SSB (0; 0.2; 0.4; 0.6; 0.8 and 1% w/v) on the *in vitro* control of *Fusarium oxysporum*, *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* (strain CEN1456), *Macrophomina phaseolina* (strain 429), *Sclerotinia sclerotiorum*, *S. sclerotiorum* (strain CEN1147), *Sclerotium rolfsii* (strain CEN216), *Sclerotium cepivorum* (strain CEN1357) and *Rhizoctonia solani*. In the second experiment, the effect of SSB (at a concentration of 0.6% w/v) + *T. afroharzianum* on the *in vitro* control of *S. rolfsii* was observed. In the third experiment, the effect of the combination SSB + *T. afroharzianum* on the production of tomato seedlings was evaluated, in the absence and presence of the phytopathogen *S. rolfsii*. In the fourth experiment, the effect of SSB + *T. afroharzianum* on the control of *S. rolfsii* in tomato was evaluated, aiming to understand the possible mechanics involved in this management. The third and fourth experiments consisted of the following treatments: 1) Control: without application of SSB or *T. afroharzianum*; 2) Exclusive SSB application; 3) Application of *T. afroharzianum*; 4) SSB + *T. afroharzianum*; 5) control + pathogen inoculation; 6) SSB + pathogen; 7) *T. afroharzianum* + pathogen; 8) SSB + *T. afroharzianum* + pathogen. The results of the first experiment showed that the biochars have an inhibitory effect on the mycelial growth of the different fungi evaluated, with specific doses for each microorganism. In the second experiment, it was possible to observe that the combination SSB + *T. afroharzianum* potentiates the inhibition of the mycelial growth of *S. rolfsii*, a result superior to the isolated use of each one. In the third experiment, the combination SSB + *T. afroharzianum* was responsible for the greater development of tomato seedlings, ensuring greater biomass production, both shoots and

roots, in the absence or presence of the phytopathogen. In the fourth experiment, it was possible to observe that the combination SSB + *T. afroharzianum* affected different parameters of the soil x plant x phytopathogen relationship, such as improved soil fertility, especially phosphorus (P), greater development and production of biomass by tomato plants, increased production of secondary metabolites by plants and greater survival of plants inoculated with the phytopathogen. This experiment demonstrated that the use of SSB associated with *T. afroharzianum* is a promising tool for tomato management, which can minimize the damage caused by the phytopathogen *S. rolfsii*.

Keywords: biological control, *Solanum lycopersicum*, *Trichoderma afroharzianum*.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I

- Figura 1.** Inibição do crescimento micelial do fungo *Sclerotium rolfii* acarretada pelo enriquecimento do meio de cultura BDA com biochar de lodo de esgoto produzido a 300 (a) e 500 °C (b).....56
- Figura 2.** Crescimento micelial *in vitro* dos fungos *Fusarium oxysporum*, *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* (CEN1456) e *Macrophomina phaseolina* (isolado 429) na presença de BLEs obtidos a 300 e 500 °C. Letras iguais indicam ausência de diferença significativa pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). As barras de erro indicam o desvio padrão da média ($n = 5$).57
- Figura 3.** Crescimento micelial *in vitro* dos fungos *Sclerotinia sclerotiorum*, *S. sclerotiorum* (CEN1147) e *Sclerotium cepivorum* (CEN1357) na presença de BLEs obtidos a 300 e 500 °C. Letras iguais indicam ausência de diferença significativa pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). As barras de erro indicam o desvio padrão da média ($n = 5$).58
- Figura 4.** Crescimento micelial *in vitro* dos fungos *Sclerotium rolfii* (CEN216), *Rhizoctonia solani* e *Trichoderma afroharzianum* (CEPA T-22) na presença de BLEs obtidos a 300 e 500 °C. Letras iguais indicam ausência de diferença significativa pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). As barras de erro indicam o desvio padrão da média ($n = 5$).59

CAPÍTULO II

- Figura 5.** Pareamento de espécies em meio de cultura sem e com BLE [0,6%]. T1: *Sclerotium rolfii* em BDA (controle); T2: *S. rolfii* em BDA + BLE; T3: *S. rolfii* x *Trichoderma afroharzianum* em BDA; T4: *S. rolfii* x *T. afroharzianum* em BDA + BLE. SR - *S. rolfii*. Letras iguais indicam ausência de diferença significativa entre tratamentos, em cada tempo avaliado, de acordo com o teste de Duncan ($p < 0,05$).....84
- Figura 6.** Comprimento da parte aérea e raízes (cm) das mudas de tomate cv. Coração de Boi (marca Feltrin®) em substrato sem e com *Sclerotium rolfii*. T1: Controle absoluto: sem aplicação de BLE ou *Trichoderma afroharzianum*; T2: Aplicação de BLE exclusivo; T3: Aplicação de *T. afroharzianum*; T4: BLE + *T. afroharzianum*; T5: Controle + patógeno; T6: BLE + patógeno; T7: *T. afroharzianum* + patógeno; T8: BLE + *T. afroharzianum* + patógeno. Médias com letras iguais indicam ausência de diferença significativa entre tratamentos pelo teste de Duncan ($p < 0,05$).....87

Figura 7. Massa fresca (A) e massa seca (B) da parte aérea e raízes de mudas de tomate cv. Coração de Boi (marca Feltrin®) em substrato sem e com *Sclerotium rolfsii*. T1: Controle absoluto: sem aplicação de BLE ou *Trichoderma afroharzianum*; T2: Aplicação de BLE exclusivo; T3: Aplicação de *T. afroharzianum*; T4: BLE + *T. afroharzianum*; T5: Controle + patógeno; T6: BLE + patógeno; T7: *T. afroharzianum* + patógeno; T8: BLE + *T. afroharzianum* + patógeno. Médias com letras iguais indicam ausência de diferença significativa entre tratamento de acordo com o teste de Duncan ($p < 0,05$). 88

CAPÍTULO III

Figura 8. Comprimento de parte aérea e raiz 70 dias após transplântio das mudas de tomate. T1: Controle: sem aplicação de BLE ou *T. afroharzianum*; T2: Aplicação de BLE exclusivo; T3: Aplicação de *T. afroharzianum*; T4: BLE + *T. afroharzianum*; T5: Controle + patógeno; T6: BLE + patógeno; T7: *T. afroharzianum* + patógeno; T8: BLE + *T. afroharzianum* + patógeno. Letras iguais indicam ausência de diferença significativa entre tratamentos de acordo com o teste de Duncan ($p < 0,05$). 110

Figura 9. Massa fresca (A) e massa seca (B) de parte aérea e raiz 70 dias após transplântio das mudas de tomate. T1: Controle: sem aplicação de BLE ou *T. afroharzianum*; T2: Aplicação de BLE exclusivo; T3: Aplicação de *T. afroharzianum*; T4: BLE + *T. afroharzianum*; T5: Controle + patógeno; T6: BLE + patógeno; T7: *T. afroharzianum* + patógeno; T8: BLE + *T. afroharzianum* + patógeno. Letras iguais indicam ausência de diferença significativa entre tratamentos de acordo com o teste de Duncan ($p < 0,05$). 111

Figura 10. Teores de Fenóis Totais (A) e Flavonoides (B) 70 dias após transplântio das mudas de tomate. T1: Controle: sem aplicação de BLE ou *T. afroharzianum*; T2: Aplicação de BLE exclusivo; T3: Aplicação de *T. afroharzianum*; T4: BLE + *T. afroharzianum*; T5: Controle + patógeno; T6: BLE + patógeno; T7: *T. afroharzianum* + patógeno; T8: BLE + *T. afroharzianum* + patógeno. Letras iguais indicam ausência de diferença significativa entre tratamentos de acordo com o teste de Duncan ($p < 0,05$). 114

Figura 11. Sobrevivência de plantas de tomate 70 dias após transplântio. T1: Controle: sem aplicação de BLE ou *T. afroharzianum*; T2: Aplicação de BLE exclusivo; T3: Aplicação de *T. afroharzianum*; T4: BLE + *T. afroharzianum*; T5: Controle + patógeno; T6: BLE + patógeno; T7: *T. afroharzianum* + patógeno; T8: BLE + *T. afroharzianum* + patógeno. Letras iguais indicam ausência de diferença significativa entre tratamentos de acordo com o teste de Duncan ($p < 0,05$). As barras de erro representam o desvio padrão da média ($n=4$). 118

Figura 12. Teores de macronutrientes no solo ao final do experimento (Ca^{2+} (A), Mg^{2+} (B), P (C) e K (D)). T1: Controle: sem aplicação de BLE ou *T. afroharzianum*; T2: Aplicação de BLE exclusivo; T3: Aplicação de *T. afroharzianum*; T4: BLE + *T. afroharzianum*; T5: Controle + patógeno; T6: BLE + patógeno; T7: *T. afroharzianum* + patógeno; T8: BLE + *T. afroharzianum* + patógeno. Letras iguais indicam ausência de diferença significativa entre tratamentos de acordo com o teste de Duncan ($p < 0,05$). As barras de erro representam o desvio padrão da média ($n=4$). 121

ANEXO

Figura 13. Plantas de tomate com 3 (A), 17 (B) e 20 dias (C) após transplântio das mudas. 158

Figura 14. Comparativo de diferentes tratamentos no manejo de plantas de tomate. T1: Controle absoluto: sem aplicação de BLE ou *Trichoderma afroharzianum*; T2: Aplicação de BLE exclusivo; T3: Aplicação de *T. afroharzianum*; T4: BLE + *T. afroharzianum*. 158

Figura 15. Comparativo de diferentes tratamentos no manejo de plantas de tomate inoculadas com o fitopatógeno *Sclerotium rolfsii*. T1: Controle absoluto: sem aplicação de BLE ou *Trichoderma afroharzianum*; T5: Controle + patógeno; T6: BLE + patógeno; T7: *T. afroharzianum* + patógeno; T8: BLE + *T. afroharzianum* + patógeno. 158

Figura 16. Raízes de plantas de tomate em diferentes tratamentos. T1: Controle absoluto: sem aplicação de BLE ou *Trichoderma afroharzianum*; T2: Aplicação de BLE exclusivo; T3: Aplicação de *T. afroharzianum*; T4: BLE + *T. afroharzianum*. 159

Figura 17. Raízes de plantas de tomate inoculadas com o fitopatógeno *Sclerotium rolfsii* e, submetidas a diferentes tratamentos para controle da doença. T5: Controle + patógeno; T6: BLE + patógeno; T7: *T. afroharzianum* + patógeno; T8: BLE + *T. afroharzianum* + patógeno. .. 159

Figura 18. Planta apresentando sintoma de murcha decorrente da inoculação do fitopatógeno *Sclerotium rolfsii* (A). Crescimento micelial do fitopatógeno no colo da planta de tomate (B). Formação de esclerócios de *S. rolfsii* (C). 159

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I

Tabela 1. Propriedades físico-químicas do lodo de esgoto e dos biochars utilizados no estudo.	53
Tabela 2. Percentual de controle acarretado pelo uso de biochar de lodo de esgoto.....	62

CAPÍTULO II

Tabela 3. Propriedades físico-químicas do lodo de esgoto (LE) e do biochar (BLE 300 °C) utilizado no estudo.....	80
-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----

CAPÍTULO III

Tabela 4. Propriedades físico-químicas do lodo de esgoto (LE) e do biochar (BLE 300 °C) utilizado no estudo.....	104
Tabela 5. Características físico-químicas de amostras de solo corrigidas que foram utilizadas no experimento.	105
Tabela 6. Parâmetros fotossintéticos determinados 50 dias após transplântio das mudas. ...	116
Tabela 7. Caracterização físico-química dos solos ao final do experimento.....	120

ANEXO

Tabela 8. Uso de diferentes biochars e seus efeitos no patossistema.	135
----------------------------------------------------------------------------------	-----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Al – ALUMÍNIO

ANA – AGÊNCIA NACIONAL DE ÁGUAS

ANOVA – ANÁLISE DE VARIÂNCIA

B – BORO

BCH – BIOCHAR

BCH 300 – BIOCHAR PIROLISADO A 300 °C

BCH 500 – BIOCHAR PIROLISADO A 500 °C

BDA – BATATA-DEXTROSE-ÁGAR

BIOCHAR 300 – BIOCHAR PIROLISADO A 300 °C

BIOCHAR 500 – BIOCHAR PIROLISADO A 500 °C

BLE – BIOCHAR DE LODO DE ESGOTO

C – CARBONO

Ca – CÁLCIO

CLAE – CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA

CONAMA - CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE

COT – CARBONO ORGÂNICO TOTAL

CTC – CAPACIDADE DE TROCA CATIONICA

Cu – COBRE

DBO - DEMANDA BIOQUÍMICA DE OXIGÊNIO

ETE – ESTAÇÃO DE TRATAMENTO DE ESGOTO

Fe – FERRO

H – HIDROGÊNIO

ISR – RESISTÊNCIA SISTÊMICA INDUZIDA

K – POTÁSSIO

LE – LODO DE ESGOTO

m% – PORCENTAGEM DE SATURAÇÃO POR ALUMÍNIO

MP – METAL PESADO

Mg – MAGNÉSIO

Mn – MANGANÊS

MO – MATÉRIA ORGÂNICA

MOT – MATÉRIA ORGÂNICA TOTAL

N – NITROGÊNIO

P – FÓSFORO

PRNT - PODER RELATIVO DE NEUTRALIZAÇÃO TOTAL

S – ENXOFRE

SAR – RESISTÊNCIA SISTÊMICA ADQUIRIDA

SB – SOMA DE BASES

T – CTC A pH 7

t – CTC EFETIVA

V% - PERCENTUAL DE SATURAÇÃO POR BASES

Zn – ZINCO

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL	20
2. REVISÃO DE LITERATURA	23
2.1. Lodo de esgoto e seu potencial agrícola	23
2.2. Biochar e seus benefícios agroambientais	24
2.3. Biochar: uma alternativa para controle de fitopatógenos	26
2.4. <i>Trichoderma</i> : benefícios para agricultura e interações com biochar.....	30
2.5. Tomate: principais aspectos da cultura	32
3. HIPÓTESES	34
4. OBJETIVOS	34
4.1. Objetivo geral	34
4.2. Objetivos específicos	34
CAPÍTULO I	48
6. EFEITOS DO BIOCHAR DE LODO DE ESGOTO SOBRE FUNGOS FITOPATOGÊNICOS E MICRORGANISMOS BENÉFICOS.....	49
6.1. RESUMO	49
6.2. ABSTRACT	49
6.3. INTRODUÇÃO	50
6.4. MATERIAL E MÉTODOS	52
6.4.1. Produção e caracterização dos biochars	52
6.4.2. Bioensaio: biochar e o crescimento <i>in vitro</i> de fungos habitantes de solo	54
6.4.3. Análise estatística	55
6.5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	56
6.5.1. Percentual de controle dos microrganismos versus temperatura de pirólise	62
6.5.2. Características físico-químicas que afetam a capacidade de inibição dos biochars	63
6.6. CONCLUSÃO	66

6.7. REFERÊNCIAS.....	67
CAPÍTULO II.....	74
7. BIOCHAR DE LODO DE ESGOTO E <i>Trichoderma afroharzianum</i> NO CONTROLE DE <i>Sclerotium rolfsii</i> em MUDAS DE TOMATE.....	75
7.1. RESUMO	75
7.2. ABSTRACT	76
7.3. INTRODUÇÃO.....	76
7.4. MATERIAL E MÉTODOS	79
7.4.1. Obtenção e caracterização dos biochar.....	79
7.4.2. Biochar de lodo de esgoto e <i>Trichoderma afroharzianum</i> na inibição do crescimento micelial de <i>Sclerotium rolfsii</i>	81
7.4.3. Efeito do biochar e <i>T. afroharzianum</i> em mudas de tomate.....	82
7.4.4. Análise estatística	83
7.5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	83
7.5.1. Biochar de lodo de esgoto e <i>Trichoderma afroharzianum</i> na inibição do crescimento micelial de <i>Sclerotium rolfsii</i>	83
7.5.2. Efeito do biochar e <i>T. afroharzianum</i> em mudas de tomate.....	86
7.6. CONCLUSÃO	89
7.7. REFERÊNCIAS.....	90
CAPÍTULO III	98
8. BIOCHAR DE LODO DE ESGOTO E <i>Trichoderma afroharzianum</i> NO CONTROLE DA PODRIDÃO DE ESCLERÓCIO EM TOMATEIRO: COMPREENDENDO MODOS DE AÇÃO.....	99
8.1. RESUMO	99
8.2. ABSTRACT	100
8.3. INTRODUÇÃO.....	100
8.4. MATERIAL E MÉTODOS	102
8.4.1. Obtenção e caracterização do biochar	102

8.4.2. Biochar de lodo de esgoto e <i>T. afroharzianum</i> no controle de <i>S. rolfsii</i> em tomateiro.....	104
8.4.2.1. Avaliações de indicadores biométricos do tomate	107
8.4.2.2. Avaliações de metabólitos secundários produzidos pelas plantas.....	107
8.4.2.3. Avaliações de parâmetros fotossintéticos.....	108
8.4.2.4. Avaliação de controle da doença.....	108
8.4.2.5. Análise química dos solos	109
8.4.2.6. Análise estatística	109
8.5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	109
8.5.1. Biochar de lodo de esgoto e <i>T. afroharzianum</i> no controle de <i>S. rolfsii</i> em tomateiro.....	109
8.5.1.1. Avaliações de indicadores biométricos de plantas de tomate	109
8.5.1.2. Avaliações de metabólitos secundários produzidos pelas plantas.....	113
8.5.1.3. Avaliações de parâmetros fotossintéticos.....	115
8.5.1.4. Avaliação do controle da doença.....	118
8.5.1.5. Análise química dos solos	120
8.6. CONCLUSÃO.....	124
8.7. REFERÊNCIAS.....	124
9. ANEXO.....	132
9.1. Biochar x doenças de plantas: uma análise bibliométrica	132
9.2. REFERÊNCIAS.....	151
10. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	160

1. INTRODUÇÃO GERAL

O Brasil é o maior consumidor mundial de agrotóxicos (MMA, 2017). Em 2018, foram comercializadas cerca de 550 mil toneladas de ingredientes ativos (IBAMA, 2018). Esse resultado demonstrou um incremento de 1,72% nas vendas internas se comparadas ao ano anterior. Entretanto, os problemas causados ao ambiente pelos produtos químicos têm estimulado o estudo de técnicas e o desenvolvimento de novas possibilidades, como produtos biológicos para o controle de doenças de plantas, considerados de menor potencial ofensivo ao meio ambiente (BROETTO et al., 2014).

Entre as alternativas, a utilização de resíduos orgânicos pode reduzir os fitopatógenos do solo pelo estímulo da atividade da biota benéfica, favorecendo o desenvolvimento de diferentes tipos de agentes de biocontrole, como também, pela ação de compostos provenientes da decomposição da matéria orgânica (BETTIOL e MORANDI, 2009). Além disso, a melhoria dos teores de nutrientes do solo, em especial, pelo suprimento de fósforo, tem possibilitado maior controle de doenças de plantas (FERREIRA et al., 2015).

No Brasil, contabilizando a carga de esgotos com base na Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO), estima-se que 9,1 mil toneladas de DBO são geradas por dia (ANA, 2017). Dentre as disposições dadas ao lodo de esgoto, destacam-se a incineração, o reuso na agricultura, a acomodação em aterros e o reaproveitamento no setor de construção civil (COLLIVIGNARELLI et al., 2019). O aproveitamento do lodo já é realizado em diversos países há bastante tempo, sendo o reuso agrícola o mais empregado. Entretanto, no Brasil, as alternativas de reuso ainda são pouco utilizadas e a destinação mais comum é o aterro sanitário, em que o processamento e a disposição final do lodo podem representar até 60% do custo operacional de uma ETE (Estação de Tratamento de Esgoto) (PORTAL TRATAMENTO DE ÁGUA, 2018).

Apesar do reconhecido papel do LE (lodo de esgoto) na fertilização de solos, a ocorrência de microrganismos patogênicos, somada à presença de metais potencialmente tóxicos restringem o uso do LE *in natura* a poucos destinos. No Brasil, as normas para uso agrícola do LE estão presentes na Resolução N° 375 de 2006 do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA, 2006). Quando usado de forma inadequada, o LE pode causar acúmulo de metais pesados nos solos, que podem ser absorvidos pelas plantas em quantidade suficiente para afetar negativamente o seu desenvolvimento e/ou a saúde dos consumidores (CHANG et al., 1997; YUAN et al., 2015; KCHAOU et al., 2018).

O tratamento térmico tem sido apresentado como uma opção para viabilizar e ampliar a utilização do LE, favorecendo a eliminação de patógenos e componentes orgânicos perigosos presentes no material (CABALLERO et al., 1997; OZDEMIR et al., 2018). O tratamento térmico por pirólise consiste na termodegradação de materiais sob condições controladas de oxigenação, resultando em um produto sólido, rico em carbono, denominado biochar (SOHI, 2012; SAMOLADA e ZABANIOTOU, 2014; MARSHALL et al., 2019; TIAN et al., 2019) ou biocarvão. Além do produto sólido oriundo de tal processo, observa-se a geração de um material líquido, o bio-óleo, e de uma fração gasosa composta por H₂, CO, CO₂, CH₄, C₂H₄ e C₂H₆ (KARAYILDIRIM et al., 2006; FONTS et al., 2008; CAI et al., 2018).

A produção de biochar a partir de lodo de esgoto tem se destacado das demais matérias-primas por estabelecer uma finalidade a um material produzido diariamente, entretanto com uso limitado por legislação específica. Quando aplicado ao solo, o BLE tem proporcionado maior desenvolvimento de plantas (GONZAGA et al., 2018) e aumento de produtividade (FARIA et al., 2018).

O biochar contribui para a melhoria dos atributos físicos do solo (DUARTE et al., 2019), redução da perda de nutrientes por lixiviação (YUAN et al., 2016), adição de nutrientes disponíveis para as plantas (FARIA et al., 2018), correção da acidez do solo (DEENIK e COONEY, 2016), sequestro de carbono (SÁNCHEZ-GARCÍA et al., 2019), redução das emissões de gases de efeito estufa do solo (CAYUELA et al., 2013) e melhoria da sincronia temporal entre a demanda das culturas por nitrogênio (N) e a disponibilidade de N oriundo do solo (YU et al., 2018).

Além de melhorar as propriedades físicas, químicas e biológicas do solo, a possibilidade do biochar (BCH), quando adicionado ao solo, provocar uma inibição ou mesmo suprimir fitopatógenos e, conseqüentemente, reduzir a severidade, ou até mesmo evitar o acometimento de doenças em plantas, tem despertado a atenção em diferentes estudos (COPLEY et al., 2015; JAISWAL et al., 2017; ROGOVSKA et al., 2017).

A matéria-prima e a temperatura de pirólise adotadas na produção do BCH são fatores que influenciam nas características finais do produto, e, conseqüentemente, na capacidade do BCH de controlar doenças de plantas. Biochars produzidos com matérias-primas distintas e em diferentes temperaturas apresentam variações no controle de determinadas doenças, como no caso do ‘damping-off’ (*Rhizoctonia solani*) (JAISWAL et al., 2014). Além disso, ação do BCH no controle de doenças também é dependente da concentração usada. Concentrações mais elevadas do BCH se tornaram ineficazes, ou mesmo favoreceram a doença, demonstrando uma

interação significativa entre matéria-prima e concentração do BCH para controle de ‘damping-off’.

Ainda são incipientes os trabalhos sobre o efeito do BCH no controle de doenças. Há dúvidas se os efeitos do BCH sobre o controle de patógenos são de forma direta, indireta ou a combinação de ambas. Nesse sentido, a interação do BCH com microrganismos benéficos tem sido estudada e avaliada quanto aos seus efeitos sobre crescimento de plantas cultivadas. Solos que receberam BCH favoreceram a maior sobrevivência e crescimento da população de *Trichoderma* spp. em relação ao solo sem adição de BCH (GRABER et al., 2010; VECSTAUDZA et al., 2018).

As espécies do fungo *Trichoderma* são amplamente reconhecidas pela capacidade de estimular o crescimento e a produtividade das plantas (SINGH et al., 2015). Os mecanismos associados a este fato envolvem: aumento da disponibilidade de nutrientes no solo (ZHANG et al., 2019); a eficiência e reciclagem de nutrientes (MERCL et al., 2019); liberação de compostos estimuladores de crescimento (HERRERA-JIMÉNEZ et al., 2018); e o controle de doenças (BADER et al., 2019).

O biochar afeta a estrutura e diversidade microbológica do solo, e essa interação favorece determinados gêneros de microrganismos, tais como *Pseudomonas*, *Bacillus* e *Trichoderma*, sendo estes organismos associados à promoção de crescimento de plantas, supressão de doenças e outros possíveis papéis ecológicos (JAISWAL et al., 2018c). Dentre esses microrganismos, o gênero *Trichoderma* tem se destacado por apresentar diferentes espécies e mecanismos de controle de fitopatógenos (CONTRERAS-CORNEJO et al., 2016). Os resultados obtidos da interação de biochar com *Trichoderma* spp. têm demonstrado maior capacidade de controle de doenças de plantas (ARAUJO et al., 2019a), como também, redução da população de fungos potencialmente fitopatogênicos (VECSTAUDZA et al., 2018; ARAUJO et al., 2019a).

Este estudo está embasado na capacidade do biochar de lodo de esgoto (BLE) controlar fungos fitopatogênicos através de sua interferência direta no crescimento desses microrganismos. Além disso, este trabalho aborda os efeitos indiretos associados à combinação BLE + *T. afroharzianum* no controle de *S. rolfsii* em tomateiro, resultado decorrente das alterações no ambiente de crescimento da planta e pela capacidade de potencializar os efeitos do controle biológico exercido pelo *T. afroharzianum* na supressão do fitopatógeno, como também, no estímulo à produção de mecanismos de defesa pelas plantas.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Lodo de esgoto e seu potencial agrícola

O Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento (SNIS, 2019) divulgou que o atendimento por redes de esgotos no Brasil alcançou em 2018 uma população urbana de 105,5 milhões de habitantes, um acréscimo de 1,9% em comparação com o ano de 2017.

No Brasil, contabilizando a carga de esgotos com base na Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO), estima-se que 9,1 mil toneladas de DBO são geradas por dia (ANA, 2017). Deste total, apenas 43% da população brasileira possui esgoto coletado e tratado. Destaca-se ainda que 18% da população têm seu esgoto coletado e não tratado, caracterizando um atendimento precário. Além disso, 27% não possuem coleta nem tratamento.

O Ranking do Saneamento no Brasil, publicado pelo Instituto Trata Brasil (2019), apontou que aproximadamente 13 milhões de crianças e adolescentes não têm acesso ao saneamento básico no país. O relatório demonstra que apenas 10,24% da população da região norte é atendida pelo sistema de coleta de esgoto. Os melhores resultados foram observados na região Sudeste, onde o sistema contempla 78,56% da população.

As regiões Sul, Nordeste e Centro-Oeste apresentam índices semelhantes de coleta, atendendo cerca de metade da população urbana dessas regiões, com maior nível de tratamento no Centro-Oeste (ANA, 2017). Dentre as unidades federativas que compõem a região Centro-Oeste, o Distrito Federal destaca-se por atender 83% da população com a sistema de coleta de esgoto, e proporcionar o tratamento de todo o volume coletado.

No Distrito Federal, o sistema de coleta e tratamento de lodo de esgoto (LE) é de responsabilidade da Companhia de Saneamento Ambiental do DF (CAESB), que opera com 17 estações de tratamento de esgoto (ETEs) (CAESB, 2018). As ETEs têm a finalidade de promover um tratamento adequado dos resíduos líquidos domésticos e industriais, utilizando processos físicos, químicos ou biológicos, em conformidade com os padrões exigidos pela legislação ambiental, para que possam retornar a natureza sem ocasionar problemas ambientais e à saúde humana (CAESB, 2019).

O sistema de esgotamento do Distrito Federal destaca-se das demais unidades federativas do Brasil, pois 87% dos esgotos tratados são a nível terciário, que inclui a remoção de nutrientes. O produto resultante do tratamento de esgoto é chamado de biossólido. Um destino adequado para este produto representa interesse de toda a sociedade.

Atualmente, entre as principais destinações dadas ao lodo de esgoto, destacam-se a incineração, o depósito em aterros, a aplicação ao solo agrícola e o reaproveitamento no setor de construção civil (COLLIVIGNARELLI et al., 2019). O aproveitamento desse material para fins de reuso na agricultura é realizado em diferentes países da Europa há bastante tempo. Nos países da União Europeia, 26% do lodo de esgoto é usado diretamente na agricultura e mais 18% destinado para compostagem ou processo similar (EUROSTAT, 2019). Entretanto, no Brasil, as alternativas de reuso ainda são pouco utilizadas e a destinação mais comum é o aterro sanitário, em que o processamento e a disposição final do lodo podem representar até 60% do custo operacional de uma ETE (PORTAL TRATAMENTO DE ÁGUA, 2018).

O alto teor de MO no LE e a presença de macro e micronutrientes (ALVARENGA et al., 2016), principalmente nitrogênio (RIGBY et al., 2016) e fósforo (HERZEL et al., 2016), promovem a melhoria de propriedades físico-químicas (ZUO et al., 2019) e biológicas do solo (LLORET et al., 2016). O uso do LE para fornecimento de nutrientes, principalmente P (WOLLMANN et al., 2018), visa a menor dependência por fertilizantes minerais, principalmente os fosfatados, viabilizando a redução dos custos de produção agrícola. Além disso, a incorporação de LE ao solo tem proporcionado maior desenvolvimento de plantas (KCHAOU et al., 2018).

O uso do LE em áreas agrícolas tem se mostrado uma das melhores alternativas para destinação final de tal material, que possui baixo custo, reutilização de nutrientes e menor dependência de fertilizantes minerais.

2.2. Biochar e seus benefícios agroambientais

Embora o uso do LE associe diversos benefícios quando aplicado no solo, a ocorrência de microrganismos patogênicos, somada à presença de metais potencialmente tóxicos restringem o uso do LE *in natura* a poucos destinos, sendo tal uso controlado por legislação específica, como a Resolução N° 375 de 2006 do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA, 2006). O tratamento térmico é uma opção para viabilizar e ampliar a utilização do LE, favorecendo a eliminação de patógenos e componentes orgânicos perigosos presentes no material (CABALLERO et al., 1997; OZDEMIR et al., 2018).

O tratamento térmico por pirólise consiste na decomposição térmica de materiais sob condições controladas de oxigenação, resultando em um produto sólido, rico em carbono, denominado biochar (SOHI, 2012; SAMOLADA & ZABANIOTOU, 2014; MARSHALL et al., 2019; TIAN et al., 2019) ou biocarvão. Além do produto sólido oriundo de tal processo,

observa-se a geração de um material líquido, o bio-óleo, e de uma fração gasosa composta por H₂, CO, CO₂, CH₄, C₂H₄ e C₂H₆ (KARAYILDIRIM et al., 2006; FONTS et al., 2008; CAI et al., 2018).

Diferentes matérias-primas podem ser utilizadas para produção de BCH, como: biomassa lenhosa retirada da compostagem (HARTLEY et al., 2016), restos vegetais da produção agrícola (RAJAPAKSHA et al., 2019), serragem e casca de madeira (DOMINGUES et al., 2017), além de resíduos urbanos como o lodo de esgoto (YUAN et al., 2015; FIGUEIREDO et al., 2018). Esta diversidade de matérias-primas utilizadas sob diferentes condições resulta em produtos com propriedades variadas.

O uso do biochar contribui para alterações em atributos físicos do solo, como: agregação, porosidade total, diâmetro dos poros, distribuição granulométrica e densidade (DOWNIE et al., 2009; IGALAVITHANA et al., 2017; DUARTE et al., 2019). Essas características contribuem para a maior disponibilidade de água na rizosfera, podendo resultar em maior desenvolvimento das plantas.

Os benefícios agroambientais proporcionados pelo uso do BCH estimulado a realização de diferentes estudos, objetivando a redução da perda de nutrientes por lixiviação (YUAN et al., 2016), adição de nutrientes disponíveis para as plantas (FARIA et al., 2018) e calagem do solo (DEENIK e COONEY, 2016). A interferência do BCH sobre propriedades químicas do solo tem garantido respostas fisiológicas nas plantas, sendo explicado pelo fato do BCH aumentar os teores disponíveis de fósforo (FRIŠTÁK et al., 2018), potássio (AMIN e EL-EYUON, 2016), cálcio e magnésio (ABDUL e ABDUL, 2017), e ainda favorecer maior eficiência no uso dos nutrientes.

Biochars oriundos de diferentes matérias-primas têm sido referência em pesquisas envolvendo sequestro de carbono (KOOKANA et al., 2011; SÁNCHEZ-GARCÍA et al., 2019) e redução das emissões de gases de efeito estufa do solo, especialmente do óxido nitroso (SINGH et al., 2010; CAYUELA et al., 2013). A aplicação de fertilizantes nitrogenados em combinação com o BCH tem sido proposta para melhorar a sincronia temporal entre a demanda das culturas por nitrogênio (N) e a disponibilidade de N oriundo do solo, aumentando a eficiência de seu uso e redução dos impactos ao meio ambiente causados pelo excesso de adubação nitrogenada (CLOUGH et al., 2013; YU et al., 2018).

A produção de biochar a partir de lodo de esgoto tem se destacado das demais matérias-primas por viabilizar o uso e estabelecer uma finalidade a um material produzido diariamente, entretanto com uso limitado por legislação específica. Quando aplicado ao solo, o BLE tem

proporcionado maior desenvolvimento de plantas (GONZAGA et al., 2018) e aumento de produtividade em espécies comerciais, como o milho (FARIA et al., 2018).

A utilização do LE de forma inadequada pode causar acúmulo de metais pesados nos solos, que podem ser absorvidos pelas plantas em quantidade suficiente para afetar negativamente o seu desenvolvimento e/ou a saúde dos consumidores (CHANG et al., 1997; de MELO et al., 2007; YUAN et al., 2015; KCHAOU et al., 2018). Uma das preocupações consideradas na produção de biochar a partir de lodo de esgoto é esse possível aumento na concentração de metais pesados (MPs) devido ao processo de pirólise, em que foram observados níveis mais altos desses elementos no BLE em comparação ao LE (FIGUEIREDO et al., 2019a). Entretanto, os mesmos autores demonstraram que biochars produzidos em temperaturas mais elevadas (500 °C) proporcionam uma imobilização/retenção de MPs disponíveis, fração absorvida diretamente pelas plantas, tornando-os indisponíveis. A imobilização desses elementos potencialmente tóxicos resulta em menor biodisponibilidade e mobilidade no solo (UCHIMIYA et al., 2011; BOGUSZ et al., 2019).

Além dos benefícios já citados, pesquisas envolvendo o uso do BCH na área de fitopatologia vem crescendo nos últimos anos, sendo realizados estudos para avaliar sua capacidade no controle de doenças de plantas, principalmente as relacionadas com patógenos de solo. A efetividade no controle de tais doenças pelo BCH tem associado tal característica ao tipo de matéria-prima utilizada para sua produção, à temperatura de pirólise e à concentração/quantidade de BCH utilizados no experimento (JAISWAL et al., 2015).

2.3. Biochar: uma alternativa para controle de fitopatógenos

O Brasil, os Estados Unidos e a China são descritos como maiores consumidores de agrotóxicos no ranking mundial (FAO, 2020). O Brasil foi responsável pelo comércio de, aproximadamente, 550 mil toneladas de ingredientes ativos no ano de 2018 (IBAMA, 2018). Esse resultado demonstrou um incremento de 1,72% nas vendas internas se comparadas ao ano anterior. Entretanto, os problemas causados ao ambiente pelos produtos químicos têm estimulado o estudo de novas tecnologias e o desenvolvimento de métodos alternativos de controle de doenças de plantas, considerados menos danosos ao meio ambiente (BROETTO et al., 2014).

A possibilidade do BCH, quando adicionado ao solo, provocar uma inibição ou mesmo suprimir fitopatógenos e, conseqüentemente, reduzir a severidade, ou até mesmo evitar o acometimento de doenças em plantas, tem despertado a atenção em diferentes estudos

(COPLEY et al., 2015; JAISWAL et al., 2017; ROGOVSKA et al., 2017). Apesar do crescente interesse, ainda são poucos os trabalhos focados em elucidar os efeitos do BCH no controle de doenças de plantas. Além disso, ainda há muitas dúvidas sobre a forma de ação do BCH. De acordo com os trabalhos realizados parece haver efeitos diretos, indiretos e a combinação de ambos.

A primeira evidência que relacionou a aplicação do BCH ao solo com uma possível capacidade de induzir ou de mediar a indução de resistência sistêmica em resposta a doenças causadas por patógenos foliares, foi descrita no experimento em casa de vegetação com as culturas de pimenta e de tomate (ELAD et al., 2010). Neste trabalho, os autores verificaram que as doenças como o mofo cinzento (*Botrytis cinerea*) e oídio (*Oidiopsis sicula*) foram reduzidas em parcelas que receberam biochar de madeira de citros.

Em um estudo realizado por George et al. (2016), foi relatado que BCHs produzidos a partir de diferentes matérias-primas (madeira de *Pinus sylvestris*, casca de *P. sylvestris*, pellets produzidos a partir de madeiras de coníferas e cascas de trigo-vermelho) quando aplicados ao solo, com exceção do BCH de madeira de *P. sylvestris*, possuíam um efeito positivo de controle, reduzindo as taxas de infecção das raízes pelo nematoide *Pratylenchus penetrans*, especialmente o BCH de casca de trigo-vermelho. Pelo menos, dois dos BCHs aplicados (de casca de trigo-vermelho e o de casca de pinheiro) provavelmente induziram resposta de defesa na planta, quer por SAR (resistência sistêmica adquirida) ou ISR (resistência sistêmica induzida), em cenoura contra infecções por *P. penetrans*.

Mehari et al. (2015), avaliando o patossistema tomate/*Botrytis cinerea*, verificaram que a indução de resistência mediada por BCH e a iniciação da expressão do gene relacionado com a defesa da planta era dependente do ácido jasmônico e correlacionado com a iniciação sistêmica de toda planta da rápida oxidação de resposta dependente de jasmonato. Estas características são específicas de ISR, normalmente envolvendo microrganismos benéficos da rizosfera. Consequentemente, o estudo demonstrou que o BCH favoreceu a colonização das raízes por organismos benéficos exercendo um papel essencial na indução de resistência em tomateiro contra a podridão cinzenta.

A matéria-prima e a temperatura de pirólise adotada no procedimento de produção do BCH são vistas como fatores que influenciam nas características/propriedades do produto. Resultados de diferentes estudos tem demonstrado que tais características influenciam no desenvolvimento dos fitopatógenos e/ou na severidade das doenças. Como consequência, deve-se observar a concentração ótima para controle de cada microrganismo.

Jaiswal et al. (2014) avaliando BCHs preparados a partir de duas matérias-primas (madeira de eucalipto e resíduos de casa de vegetação), e produzidos a 350 e 600 °C, verificaram que, em geral, concentrações relativamente baixas melhoram o desempenho de crescimento de plantas, como também, suprimem o “damping-off” causado por *R. solani*. Resultado semelhante foi observado por Araujo et al. (2019a), onde baixas concentrações de BLE (0,5 e 1,0%) promoveram inibição do crescimento micelial do fungo *Macrophomina phaseolina*, e em contrapartida, concentrações mais elevadas estimularam o crescimento do fitopatógeno.

Akhter et al. (2015) observaram que a resposta de crescimento de plantas de tomate e a supressão de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* com o uso do BCH é dependente do tipo de matéria-prima. Com base em estudos *in vitro*, esses autores verificaram sobre o crescimento e desenvolvimento de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*, que alterações do solo com materiais orgânicos como os compostos e BCHs têm se mostrado capazes de alterar exsudatos radiculares de tomate, e essas alterações podem ter um papel essencial na determinação da resposta da planta ao estresse da doença. A aplicação de adubo e biochars no solo influencia a qualidade e composição dos exsudatos das raízes no que diz respeito aos seus efeitos sobre os fungos que vivem no solo.

Graber et al. (2014) elencaram diferentes aspectos relacionados ao uso de biochar no controle de fitopatógenos. Tais autores propuseram que, ao ser adicionado ao solo o biochar altera o complexo sistema rizosfera-raiz-solo-patógeno em virtude de suas várias propriedades físicas e químicas, como conteúdo de nutrientes, capacidade de retenção de água, atividade redox, capacidade de adsorção, pH e conteúdo de compostos tóxicos e semelhantes a hormônios. Os impactos na microbiota da rizosfera podem ser definidos como plausível mecanismo indireto de controle de fitopatógenos (JAISWAL et al., 2018a).

Como é amplamente conhecido, o fornecimento de nutrientes melhora as propriedades morfológicas, histológicas e funcionais dos tecidos das plantas, como também, mantém um alto nível de compostos inibitórios em seus tecidos, permitindo respostas rápidas das plantas ao ataque de patógenos (DATNOFF et al., 2007). Por exemplo, o suprimento de P e Ca é claramente importante para o desenvolvimento das plantas, e conseqüentemente, a adoção de quantidades adequadas para cada cultura pode auxiliar na redução de doenças (WALTERS & BINGHAM, 2007; JIANG et al., 2013). A disponibilidade de nutrientes por meio da aplicação de biochar ao solo pode ser vista como um mecanismo que auxilia minimizando a incidência de doenças.

Plantas excessivamente adubadas podem apresentar maior susceptibilidade ao ataque de patógenos. Doses elevadas de N podem estimular o desenvolvimento de doenças, como por exemplo, a brusone em trigo, causada pelo fungo *Magnaporthe oryzae* Triticum (SILVA et al., 2019). Os autores citam como possibilidade de manejo desta doença o aprimoramento das técnicas de adubação nitrogenada. Em consonância com essa necessidade, o uso de BLE torna-se uma opção viável para o manejo de doenças (DUAN et al., 2020), uma vez que parece haver liberação lenta dos nutrientes (FIGUEIREDO et al., 2019b;), melhorando a sincronia entre a demanda e a disponibilidade de nutrientes para as plantas. Isso aliado à presença de matéria orgânica e às melhorias nas propriedades biológicas do solo tornam o biochar uma fonte de nutrientes mais adequada em relação aos adubos minerais (YOU et al., 2019).

Outro mecanismo indireto de controle de doenças de plantas associado ao uso do BCH contempla sua capacidade de adsorção/desativação de enzimas de degradação de parede celular e metabólitos tóxicos produzidos por fitopatógenos habitantes de solo (JAISWAL et al., 2018b). Essa propriedade do biochar auxilia no controle da doença reduzindo o contato dessas enzimas com as paredes celulares das raízes da planta. O biochar também pode minimizar significativamente a incidência de doenças via adsorção de exsudatos radiculares que exercem forte sinal quimiotático em relação ao microrganismo, interferindo na relação fitopatógeno-hospedeira (GU et al., 2017).

Estudos vêm demonstrando uma infinidade de pequenas e grandes moléculas orgânicas que podem individualmente ou em combinação suprimir ou estimular microrganismos habitantes de solo (SPOKAS et al., 2011; SUN et al., 2015). Os principais compostos identificados em biochars que apresentam efeitos adversos no crescimento e sobrevivência de microrganismos incluem: etilenoglicol e propilenoglicol, ácidos hidroxipropiônico e hidroxibutírico, ácido benzoico e o-cresol, quinonas (resorcinol e hidroquinona) e 2-fenoxietanol (GRABER et al., 2010; BUSS et al., 2015).

A análise de cromatografia gasosa/espectrometria de massa demonstrou que biochars produzidos em diferentes temperaturas e a partir de madeira de eucalipto e resíduos de casa de vegetação apresentam dois compostos orgânicos em comum: o ácido lático e o ácido glicólico (JAISWAL et al., 2015). Sabe-se que ambos compostos orgânicos apresentam atividade fungicida (ABBASI et al., 2009; HASSAN et al., 2015). Consequentemente, a presença de tais compostos orgânicos nos biochars pode ser uma das principais características responsável pelo efeito direto no controle de fungos fitopatogênicos.

2.4. *Trichoderma*: benefícios para agricultura e interações com biochar

As espécies do fungo *Trichoderma* são amplamente reconhecidas pela capacidade de estimular o crescimento e a produtividade das plantas (SINGH et al., 2015). Os mecanismos associados a este fato envolvem: aumento da disponibilidade de nutrientes no solo (ZHANG et al., 2019); a eficiência e reciclagem de nutrientes (MERCL et al., 2019); liberação de compostos estimuladores de crescimento (HERRERA-JIMÉNEZ et al., 2018); e o controle de doenças (BADER et al., 2019).

O fungo *Trichoderma* está entre os mais estudados e utilizados como agentes de biocontrole de doenças vegetais em todo o mundo. Esses microrganismos de vida livre e altamente interativos no solo, nas superfícies radiculares e no interior dos tecidos vegetais (RAJENDIRAN et al., 2010) apresentam atividade antagônica a diferentes fungos fitopatogênicos. A atividade de biocontrole pode ocorrer indiretamente, competindo por espaço e nutrientes, modificando as condições ambientais, produzindo antibióticos, inativando as enzimas do patógeno ou, diretamente, mediante o parasitismo (BENÍTEZ et al., 2004), que envolve eventos sequenciais complexos, incluindo reconhecimento, penetração e subsequente morte do hospedeiro (MUKHERJEE et al., 2012).

O controle biológico tem se destacado por ser uma alternativa eficaz para o manejo de diferentes fitopatógenos. Os benefícios dessa estratégia de controle de doenças estão associados ao fato de ser um método seguro, não poluir e não causar desequilíbrio ambiental e, principalmente, viabilizar sistemas mais sustentáveis, permitindo plantios subsequentes com menores problemas fitopatológicos (SCUDELER e VENEGAS, 2012).

O desenvolvimento de produtos biológicos para controle de pragas e doenças agrícolas cresceu mais de 70% no último ano no Brasil, movimentando R\$ 464,5 milhões ante R\$ 262,4 milhões em 2017 (MAPA, 2019). Este resultado é considerado o mais expressivo da história do setor e ultrapassa os índices apresentados pelo mercado internacional. O crescimento do mercado brasileiro de defensivos biológicos segue a tendência mundial de redução do uso de agroquímicos no controle de pragas e doenças nas lavouras.

Estudos demonstram que a eficácia do biocontrole por *Trichoderma* varia de acordo com o isolado adotado. Sain e Pandey (2016) descreveram que todos os isolados de *T. harzianum* utilizados no trabalho tinham um efeito antagonista sobre determinados agentes patogênicos ao tomateiro, como: *Pythium aphanidermatum*, *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*, *R. solani*, *Alternaria alternata* f. sp. *lycopersici*, *Phytophthora infestans* e *Septoria lycopersici*. Os autores verificaram também que a aplicação em formulação em pó (10% WP) dos isolados de

T. harzianum, via tratamento de sementes/aplicação no solo e aplicação foliar, era eficaz no manejo das doenças avaliadas.

Khaledi e Taheri (2016) observaram em um experimento *in vitro* que isolados de *Trichoderma* spp. se destacaram por inibir o crescimento micelial de *M. phaseolina*, com capacidade inibitória podendo variar de 20,2 a 58,7% de acordo com isolado estudado, alcançando melhores resultados os de *T. harzianum*. Os resultados desse estudo indicam que os isolados de *T. harzianum* aparentemente produzem compostos voláteis e não voláteis que suprimem o crescimento do fitopatógeno.

Khalili et al. (2016) verificaram que diferentes isolados de *T. harzianum* quando pareado com *M. phaseolina* promovem inibição do fitopatógeno em até 72%, além de demonstrar um excepcional hiperparasitismo de tais colônias. Outro fator importante destacado no trabalho faz referência a produção de compostos voláteis por parte dos isolados de *T. harzianum*, que geram uma supressão do crescimento da *M. phaseolina*, a uma taxa que varia de 43,30 a 63,36% de acordo com o isolado estudado.

O uso de material orgânico enriquecido com *Trichoderma* é eficiente no aumento do número de colônias desse microrganismo no solo, e como consequência, há maior capacidade de biocontrole de fitopatógenos (SIDDIQUEE et al., 2017). A adoção de diferentes materiais orgânicos em conjunto com *T. harzianum* tem se destacado por favorecer o desenvolvimento de populações microbianas, podendo auxiliar na recuperação da microbiota do solo em áreas degradadas (MBARKI et al., 2017). Tal associação entre compostos orgânicos e *T. harzianum* tem se mostrado altamente sustentável e com baixo custo. Várias propriedades físico-químicas e bioquímicas do solo mudam em resposta ao uso de materiais orgânicos com o *Trichoderma*, resultando em maiores teores de MO e nutrientes disponíveis, garantindo assim maior desenvolvimento das plantas (PANG et al., 2017).

O uso de biochar tem se destacado entre os materiais orgânicos por propiciar uma comunidade fúngica mais diversificada, favorecendo diferentes filos como Basidiomycota, Ascomycota e Mucoromycota (LI et al., 2020). Além disso, a alta porosidade do BCH pode fornecer um microambiente favorável ao desenvolvimento dos microrganismos. A incorporação de BCH ao solo aumenta a abundância relativa de fungos promotores de crescimento de plantas, em especial o *Trichoderma* (MUTER et al., 2017). Como também, tal material tem se mostrado um adequado veículo para incorporação de *T. viride* ao solo.

A adição de BCH ao solo está correlacionada às alterações na microbiota e os consequentes efeitos sobre o crescimento das plantas. Em solos que receberam BCH houve

maior sobrevivência e crescimento da população de *Trichoderma* spp. em relação ao solo controle (sem BCH) (GRABER et al., 2010; VECSTAUDZA et al., 2018).

A interação entre biochar e microrganismos benéficos, como o *Trichoderma*, demonstra a viabilidade de associação de diferentes mecanismos de inibição de fitopatógenos. Esta interação possibilita potencializar a capacidade de controle de doenças (ARAUJO et al., 2019a), favorecendo melhores resultados de desenvolvimento das plantas (ARAUJO et al., 2019b).

Os resultados obtidos da interação de biochar com *Trichoderma* spp. tem demonstrado maior capacidade de controle de doenças de plantas (ARAUJO et al., 2019a), como também, tem sido observado que em solos tratados com biochar e *Trichoderma* há uma redução da população de fungos potencialmente fitopatogênicos (VECSTAUDZA et al., 2018).

O biochar afeta a estrutura e diversidade microbiológica do solo, e essa interação favorece determinados gêneros de microrganismos, tais como *Pseudomonas*, *Bacillus* e *Trichoderma*, sendo estes organismos associados à promoção de crescimento de plantas, supressão de doenças e outros possíveis papéis ecológicos (JAISWAL et al., 2018c). Dentre esses microrganismos, o gênero *Trichoderma* tem se destacado por apresentar diferentes espécies e mecanismos de controle de fitopatógenos, além de seus metabólitos secundários liberados na rizosfera promoverem o crescimento das plantas (CONTRERAS-CORNEJO et al., 2016).

2.5. Tomate: principais aspectos da cultura

O tomate (*Solanum lycopersicum* L.) pertence à família das solanáceas, e é originário da América do Sul. É amplamente cultivado em diversos países, podendo ser consumida fresca ou processada. Além de seu valor econômico, o tomate destaca-se por suas propriedades nutricionais, sendo fonte de vitaminas E, C, A, e K, potássio e carotenoides, como licopeno e caroteno, que atuam como antioxidantes (EMBRAPA, 2006; ERBA et al., 2013).

A produção mundial de tomate na safra de 2017 foi 182,3 milhões de toneladas, abrangendo uma área de cultivo de 4,85 milhões de ha, com produtividade média de 37,59 t ha⁻¹ (FAO, 2019). Os maiores produtores mundiais de tomate foram: China (18,94%), Estados Unidos (7,09%), Índia (6,08%), Turquia (7,10%), Egito (4,05%), Itália (3,44%), Irã (2,48%), Espanha (2,23%), Brasil (1,96%) e México (1,61%). Em 2020, a produção de tomate abrangeu uma área de produção de, aproximadamente, 5 milhões de ha e uma produção de 187 milhões de toneladas (FAO, 2022).

O tomate é uma das principais olerícolas produzidas no Brasil, a área de tomate encerrou 2018 com queda de 11,8% frente à de 2017 (CEPEA, 2018). A redução se deve sobretudo à indústria, que diminuiu sua área em 17,6%, devido aos estoques elevados de polpa. A safra 2019 foi estimada em 4,075 milhões de toneladas, com área plantada de 58 mil hectares (IBGE, 2019). Para a safra de 2022, a área plantada de tomate é de, aproximadamente, 51 mil hectares e, uma produção estimada em 3,5 milhões de toneladas (IBGE, 2022).

Muitas doenças acometem o tomateiro, causando grande redução da produtividade e da qualidade do produto, característica que exige um tratamento preventivo das doenças (EMBRAPA, 2006). Dentre os principais fitopatógenos que atacam a cultura do tomateiro, destacam-se os fungos: *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Murcha-de-fusário), *Rhizoctonia solani* (Mela-de-rizoctonia), *Sclerotium rolfsii* (Podridão-de-esclerócio), *Sclerotinia sclerotiorum* (Podridão-de-esclerotínia), *Phytophthora infestans* (Requeima), *Septoria lycopersici* (Septoriose) e *Alternaria solani* (Pinta-preta).

A avaliação do custo de produção do tomate industrial na safra de 2019 revelou que, aproximadamente, 30% do gasto com a cultura estava relacionado com a aquisição de defensivos agrícolas para controle de pragas e doenças (IFAG, 2019). O investimento com fungicidas durante o ciclo da cultura representa um percentual de 18% do custo total de produção do tomate.

O alto custo de produção das culturas agrícolas, principalmente as olerícolas, e a complexidade do controle de fungos fitopatogênicos habitantes de solo direcionam à adoção de medidas alternativas e eficientes para manejo das doenças, reduzindo os custos e os impactos ao meio ambiente.

3. HIPÓTESES

- I. O BLE inibe o crescimento micelial de diferentes fungos fitopatogênicos habitantes de solo, apresentando uma concentração ótima para tal finalidade.
- II. Biochars produzidos em temperaturas mais elevadas apresentam maior capacidade de controle de fungos fitopatogênicos.
- III. A aplicação de BLE ao solo favorece o controle de *Sclerotium rolfsii*.
- IV. A associação BLE + *T. afroharzianum* aumenta a disponibilidade de nutrientes no solo.
- V. A combinação BLE + *T. afroharzianum* melhora a nutrição e o desenvolvimento da planta de tomate, além de potencializar o controle do fungo *S. rolfsii*.

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo geral

Avaliar o efeito direto do BLE no controle de diferentes fungos fitopatogênicos, como: *Fusarium oxysporum*, *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* (isolado CEN1456), *Macrophomina phaseolina* (isolado 429), *Sclerotinia sclerotiorum*, *S. sclerotiorum* (isolado CEN1147), *Sclerotium rolfsii* (isolado CEN216), *Sclerotium cepivorum* (isolado CEN1357), *Rhizoctonia solani*. Como também, os mecanismos indiretos associados ao BLE e a combinação BLE + *T. afroharzianum* na redução dos impactos negativos da doença causada por *S. rolfsii* em tomateiro.

4.2. Objetivos específicos

1. Avaliar o efeito direto do BLE na inibição do crescimento micelial de diferentes fungos fitopatogênicos habitantes de solo em meio de cultura BDA (Batata-Dextrose-Ágar) sintético.
2. Determinar o efeito da temperatura de pirólise na efetividade do biochar em inibir o crescimento micelial de diferentes fungos fitopatogênicos habitantes de solo.
3. Quantificar a concentração ótima de aplicação de BLE para o controle de diferentes fungos fitopatogênicos habitantes de solo.
4. Avaliar o efeito da combinação BLE + *T. afroharzianum* nas propriedades químicas do solo.
5. Avaliar o efeito da combinação BLE + *T. afroharzianum* nos índices agrônômicos do tomateiro.
6. Avaliar os mecanismos indiretos decorrentes do uso do BLE e *T. afroharzianum* no controle *S. rolfsii* em tomateiro.

REFERÊNCIAS

- ABBASI, P.A.; LAZAROVITS, G.; JABAJI-HARE, S. Detection of high concentrations of organic acids in fish emulsion and their role in pathogen or disease suppression. **Phytopathology**, v. 99, p. 274-281. 2009.
- ABDUL, R.N.F.; ABDUL, R.N.S. The effect of biochar application on nutrient availability of soil planted with MR219. **Journal of Microbial and Biochemical Technology**, v. 9, p. 583-586. 2017.
- AKHTER, A.; HAGE-AHMED, K.; SOJA, G.; STEINKELLNER, S. Compost and biochar alter mycorrhization, tomato root exudation, and development of *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*. **Frontiers in Plant Science**, v. 6 (529), p. 1-13. 2015.
- ALVARENGA, P.; FARTO, M.; MOURINHA, C. PALMA, P. Beneficial use of dewatered and composted sewage sludge as soil amendments: behaviour of metals in soils and their uptake by plants. **Waste Biomass Valor**, v. 7, p. 1189–1201. 2016.
- ANA. Agência Nacional de Águas (Brasil). Atlas esgotos: despoluição de bacias hidrográficas/Agência Nacional de Águas, Secretaria Nacional de Saneamento Ambiental. 88 p. il. 2017.
- ARAUJO, A. S. de; BLUM, L.E.B.; FIGUEIREDO, C.C. de. The synergistic effect of sewage sludge biochar and *Trichoderma harzianum* on soybean yield. **Australian Journal of Crop Science-AJCS**, v. 13 (07), p. 1183-1187. 2019b.
- ARAUJO, A.S. de; BLUM, L.E.B.; FIGUEIREDO, C.C. de. Biochar and *Trichoderma harzianum* for the control of *Macrophomina phaseolina*. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 62 (e19180259), p. 1-10. 2019a.
- BADER, A.N.; SALERNO, G.L.; COVACEVICH, F.; CONSOLO, V.F. Native *Trichoderma harzianum* strains from Argentina produce indole-3 acetic acid and phosphorus solubilization, promote growth and control wilt disease on tomato (*Solanum lycopersicum* L.). **Journal of King Saud University - Science**. p. 1-7. 2019.
- BENÍTEZ, T.; RINCÓN, A.M.; LIMÓN, M.C.; CODÓN, A.C. Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. **International Microbiology**, v. 7, p. 249-260. 2004.

BETTIOL, W.; MORANDI, M.A.B. Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas. In: BETTIOL, W.; GHINI, R.; MARIANO, R.R.L.; MICHEREFF, S.J.; MATTOS, L.P.V.; ALVARADO, I.C.M.; PINTO, Z.V. Supressividade a fitopatógenos habitantes do solo. **Jaguariúna: Embrapa Meio-Ambiente**, v.1, cap.12, p. 187-208. 2009.

BOGUSZ, A.; OLESZCZUK, P.; DOBROWOLSKI, R. Adsorption and desorption of heavy metals by the sewage sludge and biochar-amended soil. *Environmental Geochemistry and Health*. **Environmental Geochemistry and Health**, v. 41, p. 1663–1674. 2019.

BROETTO L.; COLTRO-RONCATO, S.; MEINERZ, C.C.; DILDEY, O.D.F.; PAZDIORA, P.C.; GONÇALVES, E.D.V.; MORAES, A.J. de; HENKEMEIER, N.P.; KUHN, O.J.; STANGARLIN, J.R. Crescimento micelial e produção de microescleródios de *Macrophomina phaseolina* confrontado com diferentes isolados de *Trichoderma* sp. **Scientia Agraria Paranaensis**, v. 13 (4), p. 310-317. 2014.

BUSS, W.; MAŠEK, O.; GRAHAM, M.; WÜST, D. Inherent organic compounds in biochar– Their content, composition and potential toxic effects. **Journal of Environmental Management**, v. 156, p. 150–157. 2015.

CABALLERO, J. A.; FRONT, R.; MARCILLA, A.; CONESA, J.A. Characterization of sewage sludges by primary and secondary pyrolysis. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**, v. 4041, p. 433–450. 1997.

CAESB. Companhia de Saneamento Ambiental do Distrito Federal. Disponível em: <www.caesb.df.gov.br/esgoto/sistemas-de-esgotamento.html>. Acesso em: 17 set. 2019.

CAESB. Companhia de Saneamento Ambiental do Distrito Federal. Relatório da administração – 2018. 66 p. il. 2018.

CAI, W.; LIU, R.; HE, Y.; CHAI, M.; CAI, J. Bio-oil production from fast pyrolysis of rice husk in a commercial-scale plant with a downdraft circulating fluidized bed reactor. **Fuel Processing Technology**, v. 171, p. 308–317. 2018.

CAYUELA, M. L.; SANCHEZ-MONEDERO, M. A.; ROIG, A.; HANLEY, K.; ENDERS, A.; LEHMANN, J. Biochar and denitrification in soils: when, how much and why does biochar reduce N₂O emissions? **Scientific Reports**, v. 3, p. 1-7. 2013.

CEPEA. Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada. Anuário 2018/2019 - Retrospectiva 2018 e Perspectiva 2019. 50 p. il. 2018.

CHANG, A.C.; HYUN, H.; PAGE, A.L. Cadmium uptake for swiss chard grown on composted sewage sludge treated field plots: plateau or time bomb? **Journal of Environmental Quality**, Standford, v. 26, p. 11-19. 1997.

CLOUGH, T.; CONDRON, L.; KAMMANN, C.; MÜLLER, C. A review of biochar and soil nitrogen dynamics. **Agronomy**, v. 3, p. 275–293. 2013.

COLLIVIGNARELLI, M.C.; CANATO, M.; ABBÀ, A.; MIINO, M.C. Biosolids: What are the different types of reuse? **Journal of Cleaner Production**, v. 238 (117844), p. 1-21. 2019.

CONAMA. **Conselho Nacional do Meio Ambiente**. Resolução Conama 375/06. Disponível em: <www.mma.gov.br/port/conama/res/res06/res37506.pdf>. Acesso em: 23 set. 2019.

CONTRERAS-CORNEJO, H.A.; MACÍAS-RODRÍGUEZ, L.; DEL-VAL1, E.; LARSEN, J. Ecological functions of *Trichoderma* spp. and their secondary metabolites in the rhizosphere: interactions with plants. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 92 (4), p. 1-21. 2016.

COPLEY, T.R.; ALIFERIS, K.A.; JABAJI, S. Maple bark biochar affects *Rhizoctonia solani* metabolism and increases damping-off severity. **Phytopathology**, v. 105 (10). 2015.

DATNOFF, L.E.; ELMER, W.H.; HUBER, D.M. Mineral nutrition and plant disease. **APS Press - The American Phytopathological Society**, 278 p. 2007.

De MELO, W. J.; AGUIAR, P.S., de MELO, G.M.P.; de MELO, V.P. Nickel in a tropical soil treated with sewage sludge and cropped with maize in a long-term field study. **Soil Biology and Biochemistry**, v 39 (6), p. 1341–1347. 2007.

DEENIK, J.L.; COONEY, M.J. The potential benefits and limitations of corn cob and sewage sludge biochars in an infertile oxisol. **Sustainability**, v. 8 (131), p. 1-18. 2016.

DOMINGUES, R.R.; TRUGILHO, P. F.; SILVA, C.A.; MELO, I.C.N.A. de; MELO, L.C.A.; MAGRIOTIS, Z.M.; SÁNCHEZ-MONEDERO, M.A. Properties of biochar derived from wood and high-nutrient biomasses with the aim of agronomic and environmental benefits. **PLoS One**, v. 12 (5): e0176884, p. 1-19. 2017.

DOWNIE, A.; CROSKY, A.; MUNROE, P. Physical properties of biochar. In: LEHMANN, J.; JOSEPH, S (ed). **Biochar for Environmental Management: Science and Technology**. Ed. Londres: Earthscan, v. 1, p. 13-32. 2009.

DUAN, X.Y.; CAO, Y.; LIU, T.Z.; LI, L.; WANG, B.; WANG, X.D. Nutrient stability and sorption of sewage sludge biochar prepared from co-pyrolysis of sewage sludge and stalks / mineral materials. **Environmental Pollutants and Bioavailability**, v. 32 (1), p. 12-18. 2020.

DUARTE, S. de J.; GLASER, B.; DE LIMA, R.P.; CERRI, C.E.P. Chemical, physical, and hydraulic properties as affected by one year of miscanthus biochar interaction with sandy and loamy tropical soils. **Soil Systems**, v. 3 (24), p. 1-19. 2019.

ELAD, Y.; DAVID, D.R.; HAREL, Y.M.; BORENSHTEIN, M.; KALIFA, H.B.; SILBER A, GRABER, E.R. Induction of systemic resistance in plants by biochar, a soil-applied carbon sequestering agent. **Phytopathology**, v. 100, p. 913–921. 2010.

EL-EYUOON, A.; AMIN, A.Z. Impact of corn cob biochar on potassium status and wheat growth in a calcareous sandy soil. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 47 (17), p. 2026-2033. 2016.

ELMER, W.H.; PIGNATELLO, J.J. Effect of biochar amendments on mycorrhizal associations and *Fusarium* crown and root rot of asparagus in replant soils. **Plant Disease**, v. 95, p. 960-966. 2011.

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Cultivo de Tomate para Industrialização. **Sistemas de Produção**, 1 - 2ª Edição. 2006. Disponível em:<https://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Tomate/TomateIndustrial_2ed/doencas.htm>. Acesso em: 17 set. 2019.

ERBA, D.; CASIRAGHI, M.C.; RIBAS-AGUSTÍ, A.; CÁCERES, R.; MARFÀ, O.; CASTELLARI, M. Nutritional value of tomatoes (*Solanum lycopersicum* L.) grown in greenhouse by different agronomic techniques. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 31, p. 245–251. 2013.

EUROSTAT. Sewage sludge production and disposal. **European Statistical Office, Luxembourg**. Disponível em: <<https://appsso.eurostat.ec.europa.eu/nui/submitViewTableAction.do>>. Acesso em: 22 jan. 2020.

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Disponível em: <<http://www.fao.org/faostat/en/#data/RP/visualize>>. Acesso em: 08 jan. 2020.

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Disponível em: <<http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC/visualize>>. Acesso em: 17 set. 2019.

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Disponível em: <<https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL/visualize>>. Acesso em: 13 jul. 2022.

FARIA, W.M.; FIGUEIREDO, C.C. de; COSER, T.R.; VALE, A.T.; SCHNEIDER, B.G. Is sewage sludge biochar capable of replacing inorganic fertilizers for corn production? Evidence from a two-year field experiment. **Archives of Agronomy and Soil Science**, v. 64 (4), p. 505-519. 2018.

FERREIRA, R.B.; RODRIGUES, A.A.C.; MORAES, F.H.R.; SILVA, E.K.C.; NASCIMENTO, I.O. Resíduos orgânicos no controle de *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae* em maracujazeiro amarelo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*). **Acta Biológica Colombiana**, v. 20 (3), p. 111-120. 2015.

FIGUEIREDO, C.; LOPES, H.; COSER, T.; VALE, A.; BUSATO, J.; AGUIAR, N.; NOVOTNY, E.; CANELLAS, L. Influence of pyrolysis temperature on chemical and physical properties of biochar from sewage sludge, **Archives of Agronomy and Soil Science**, v. 64 (6), p. 881-889. 2018.

FIGUEIREDO, C.C. de; CHAGAS, J.K.M.; da SILVA, J.; PAZ-FERREIRO, J. Short-term effects of a sewage sludge biochar amendment on total and available heavy metal content of a tropical soil. **Geoderma**, v. 344 (15), p. 31-39. 2019a.

FIGUEIREDO, C.C. de; COSER, T.R.; MOREIRA, T.N.; LEÃO, T.P.; VALE, A.T. do; PAZ-FERREIRO, J. Carbon mineralization in a soil amended with sewage sludge-derived biochar. **Applied Sciences**, v. 9 (21): 4481. 2019b.

FONTS, I.; JUAN, A.; GEA, G.; MURILLO, M.B.; SÁNCHEZ, J.L. Sewage sludge pyrolysis in fluidized bed, 1: influence of operational conditions on the product distribution. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 47(15), p. 5376–5385. 2008.

FRIŠTÁK, V.; PIPÍŠKA, M.; SOJA, G. Pyrolysis treatment of sewage sludge: A promising way to produce phosphorus fertilizer. **Journal of Cleaner Production**, v. 172, p. 1772-1778. 2018.

GEORGE, C.; KOHLER, J.; RILLIG, M.C. Biochars reduce infection rates of the root-lesion nematode *Pratylenchus penetrans* and associated biomass loss in carrot. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 95, p. 11-18. 2016.

GONZAGA, M.I.S.; MACKOWIAK, C.; de ALMEIDA, A.Q.; CARVALHO JÚNIOR, J.I.T. DE. Biocarvão de lodo de esgoto e seu efeito no crescimento e nas características morfológicas de mudas de eucalipto (*Eucalyptus grandis* W.Hill ex Maiden). **Ciência Florestal**, v. 28 (2), p. 687-695. 2018.

GRABER, E.R.; FRENKEL, O.; JAISWAL, A.K.; ELAD, Y. How may biochar influence severity of diseases caused by soilborne pathogens? **Carbon Management**, v. 5 (2), p. 169–183. 2014.

GRABER, E.R.; HAREL, Y.M.; KOLTON, M.; CYTRYN, E.; SILBER, A.; DAVID, D.R.; TSECHANSKY, L.; BORENSHTEIN, M.; ELAD, Y. Biochar impact on development and productivity of pepper and tomato grown in fertigated soilless media. **Plant and Soil**, v. 337 (1-2), p. 481–496. 2010.

GU, Y.; HOU, Y.; HUANG, D.; HAO, Z.; WANG, X.; WEI, Z.; JOUSSET, A.; TAN, S.; XU, D.; SHEN, Q.; XU, Y.; FRIMAN, V.-P. Application of biochar reduces *Ralstonia solanacearum* infection via effects on pathogen chemotaxis, swarming motility, and root exudate adsorption. **Plant and Soil**, v. 415 (1-2), p. 269–281. 2016.

HARTLEY, W.; RIBY, P.; WATERSON, J. Effects of three different biochars on aggregate stability, organic carbon mobility and micronutrient bioavailability. **Journal of Environmental Management**, v. 181, p. 1-9. 2016.

HASSAN, R.; EL-KADI, S.; SAND, M. Effect of some organic acids on some fungal growth and their toxins production. **International Journal of Advances in Biology**, v. 2 (1), p. 1-11. 2015.

HERRERA-JIMÉNEZ, E.; ALARCÓN, A.; LARSEN, J.; FERRERA-CERRATO, R.; CRUZ-IZQUIERDO, S.; FERRERA-RODRÍGUEZ, M.R. Comparative effects of two indole-producing *Trichoderma* strains and two exogenous phytohormones on the growth of *Zea mays* L., with or without tryptophan. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, v. 18 (1), p. 188-201. 2018.

HERZEL, H.; KRÜGER, O.; HERMANN, L.; ADAM, C. Sewage sludge ash - A promising secondary phosphorus source for fertilizer production. **Science of the Total Environment**, v. 542, p. 1136–1143. 2016.

IBAMA. Instituto Brasileiro do Meio Ambiente. **Boletim Anual de Produção, Importação, Exportação e Vendas de Agrotóxicos no Brasil: Boletim 2018**. Disponível em: <<https://ibama.gov.br/relatorios/quimicos-e-biologicos/relatorios-de-comercializacao-de-agrotoxicos#boletinsanuais>>. Acesso em: 08 jan. 2020.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Indicadores IBGE: Levantamento Sistemático da Produção Agrícola Estatística da Produção Agrícola**. Disponível em: <https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/2415/epag_2022_mar.pdf>. Acesso em: 25 jul. 2022.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Sistema IBGE de Recuperação Automática – SIDRA**. Disponível em: <<https://sidra.ibge.gov.br/home/lspa-/brasil>>. Acesso em: 18 set. 2019.

IFAG. Instituto para o Fortalecimento da Agropecuária de Goiás. **Estimativa de custo de produção tomate indústria 2019**. Disponível em: <<http://ifag.org.br/custos-de-producao>>. Acesso em: 24 set. 2019.

IGALAVITHANA, A.D.; OK, Y.S.; NIAZI, N.K.; RIZWAN, M.; AL-WABEL, M.I.; USMAN, A.R.A.; MOON, D.H. LEE, S.S. Effect of corn residue biochar on the hydraulic properties of sandy loam soil. **Sustainability**, v. 9 (266), p. 1-10. 2017.

INSTITUTO TRATA BRASIL. Ranking do saneamento 2019 (SNIS 2017). 128 p. 2019.

JAISWAL, A.K.; ELAD, Y.; CYTRYN, E.; GRABER, E.R.; FRENKEL, O. Activating biochar by manipulating the bacterial and fungal microbiome through pre-conditioning. **New Phytologist**, v. 219 (1), p. 363–377. 2018c.

JAISWAL, A.K.; ELAD, Y.; GRABER, E.R.; CYTRYN, E.; FRENKEL, O. Soil-borne disease suppression and plant growth promotion by biochar soil amendments and possible mode of action. **Acta Horticulturae**, v. 1207, p. 69–76. 2018a.

JAISWAL, A.K.; ELAD, Y.; GRABER, E.R.; FRENKEL, O. *Rhizoctonia solani* suppression and plant growth promotion in cucumber as affected by biochar pyrolysis temperature, feedstock and concentration. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 69, p. 110-118. 2014.

JAISWAL, A.K.; ELAD, Y.; PAUDE, I.; GRABER, E.R.; CYTRYN, E.; FRENKEL, O. Linking the belowground microbial composition, diversity and activity to soilborne disease suppression and growth promotion of tomato amended with biochar. **Scientific Reports**, v. 7 (44382), p. 1-17. 2017.

JAISWAL, A.K.; FRENKEL, O.; ELAD, Y.; LEW, B.; GRABER, E.R. Non-monotonic influence of biochar dose on bean seedling growth and susceptibility to *Rhizoctonia solani*: the “Shifted Rmax-Effect”. **Plant and Soil**, v. 395, p. 125–140. 2015.

JAISWAL, A.K.; FRENKEL, O.; TSECHANSKY, L.; ELAD, Y.; GRABER, E.R. Immobilization and deactivation of pathogenic enzymes and toxic metabolites by biochar: A possible mechanism involved in soilborne disease suppression. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 121, p. 59–66. 2018b.

JIANG, J.F.; LI, J.G.; DONG, Y.H. Effect of calcium nutrition on resistance of tomato against bacterial wilt induced by *Ralstonia solanacearum*. **European Journal of Plant Pathology**, v. 136 (3), p. 547–555. 2013.

KARAYILDIRIM, T.; YANIK, J.; YUKSEL, M.; BOCKHORN, H. Characterisation of products from pyrolysis of waste sludges. **Fuel**, v. 85 (10-11), p. 1498–1508. 2006.

KCHAOU, R.; BACCAR, R.; BOUZID, J.; REJEB, S. Agricultural use of sewage sludge under sub-humid Mediterranean conditions: effect on growth, yield, and metal content of a forage plant. **Arabian Journal of Geosciences**, v. 11 (746), p. 1-7. 2018.

KELESSIDIS, A.; STASINAKIS, A.S. Comparative study of the methods used for treatment and final disposal of sewage sludge in European countries. **Waste Management**, v. 32 (6), p. 1186–1195. 2012

- KHALEDI, N.; TAHERI, P. Biocontrol mechanisms of *Trichoderma harzianum* against soybean charcoal rot caused by *Macrophomina phaseolina*. **Journal of plant protection research**, v. 56 (1), p. 21-31. 2016.
- KHALILI, E.; JAVED, M.A.; HUYOP, F.; RAYATPANAH, S.; JAMSHIDI, S.; WAHAB, R. A. Evaluation of *Trichoderma* isolates as potential biological control agent against soybean charcoal rot disease caused by *Macrophomina phaseolina*. **Biotechnology & Biotechnological Equipment**, p. 1-10. 2016.
- KOOKANA, R.S.; SARMAH, A.K.; VAN ZWIETEN, L.; KRULL, E.; SINGH, B. Biochar application to soil: agronomic and environmental benefits and unintended consequences. **Advances in Agronomy**, v. 112, p. 103–143. 2011.
- LI, J.; BAO, H.; XING, W.; YANG, J.; LIU, R.; WANG, X.; LV, L.; TONG, X.; WU, F. Succession of fungal dynamics and their influence on physicochemical parameters during pig manure composting employing with pine leaf biochar. **Bioresource Technology**, (122377). 2020.
- LLORET, E.; PASCUAL, J.A.; BRODIE, E.L.; BOUSKILL, N.J.; INSAM, H.; JUÁREZ, M.F.D.; GOBERNA, M. Sewage sludge addition modifies soil microbial communities and plant performance depending on the sludge stabilization process. **Applied Soil Ecology**, v. 101, p. 37–46. 2016.
- MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Mercado de biodefensivos cresce mais de 70% no Brasil em um ano**. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/noticias/feffmercado-de-biodefensivos-cresce-em-mais-de-50-no-brasil>>. Acesso em: 24 dez. 2019.
- MARSHALL, J.; MUHLACK, R.; MORTON, B. J.; DUNNIGAN, L.; CHITTLEBOROUGH, D.; KWONG, C.W. Pyrolysis temperature effects on biochar–water interactions and application for improved water holding capacity in vineyard soils. **Soil Systems**, v. 3 (27), p. 1-14. 2019.
- MBARKI, S.; CERDÀ, A.; BRESTIC, M.; MAHENDRA, R.; ABDELLY, C.; PASCUAL, J.A. Vineyard compost supplemented with *Trichoderma harzianum* T78 Improve Saline Soil Quality. **Land Degradation & Development**, v. 28 (3), p. 1028–1037. 2017.

MEHARI, Z.H.; ELAD, Y.; RAV-DAVID, D.; GRABER, E.R.; HAREL, Y.M. Induced systemic resistance in tomato (*Solanum lycopersicum*) against *Botrytis cinerea* by biochar amendment involves jasmonic acid signaling. **Plant and Soil**, v. 395, p. 31–44. 2015.

MERCL, F.; GARCÍA-SÁNCHEZ, M.; KULHÁNEK, M.; KOŠNÁŘ, Z.; SZÁKOVÁ, J.; TLUSTOŠ, P. Improved phosphorus fertilisation efficiency of wood ash by fungal strains *Penicillium* sp. PK112 and *Trichoderma harzianum* OMG08 on acidic soil. **Applied Soil Ecology**, (103360). 2019.

MMA. Ministério do Meio Ambiente. **Quantidade de Agrotóxico Comercializado por Classe de Periculosidade Ambiental**. Disponível em: <<https://www.mma.gov.br/component/k2/item/11294-quantidade-de-agrotoxico.html>>. Acesso em: 08 jan. 2020.

MUKHERJEE, P.K.; HORWITZ, B.A.; KENERLEY, C.M. Secondary metabolism in *Trichoderma* - a genomic perspective. **Microbiology**, v. 158, p. 35-45. 2012.

MUTER, O.; GRANTINA-IEVINA, L.; MAKARENKOVA, G.; VECSTAUDZA, D.; STRIKAUSKA, S.; SELGA, T.; KASPARINSKIS, R.; STELMAHERE, S.; STEINER, C. Effect of biochar and *Trichoderma* application on fungal diversity and growth of *Zea mays* in a sandy loam soil. **Environmental and Experimental Biology**, v. 15, p. 289–296. 2017.

OZDEMIR, S.; YETILMEZSOY, K.; DEDE, G.; SAZAK, M. Application of solarization for sanitization of sewage sludge compost. **Journal of King Saud University - Science**. 2018.

PANG, G.; CAI, F.; LI, R.; ZHAO, Z.; LI, R.; GU, X.; SHEN, Q.; CHEN, W. *Trichoderma*-enriched organic fertilizer can mitigate microbiome degeneration of monocropped soil to maintain better plant growth. **Plant and Soil**, v. 416 (1-2), p. 181–192. 2017.

PORTAL TRATAMENTO DE ÁGUA. **Destinação final de lodos de ETAs e ETEs**. Disponível em: <<https://www.tratamentodeagua.com.br/artigo/destinacao-final-de-lodos-de-et-as-e-etes/>>. Acesso em: 14 jan. 2020.

RAJAPAKSHA, A.U. OK, Y.S.; EL-NAGGAR, A.; KIM, H.; SONG, F.; KANG, S.; TSANG, Y. F. Dissolved organic matter characterization of biochars produced from different feedstock materials. **Journal of Environmental Management**, v. 233, p. 393–399. 2019.

RAJENDIRAN, R.; JEGADEESHKUMAR, D.; SURESHKUMAR, B.T.; NISHA, T. *In vitro* assessment of antagonistic activity of *Trichoderma viride* against post harvest pathogens. **Journal of Agricultural Technology**, Bangkok, v. 6 (1), p. 31-35. 2010.

RIGBY, H.; CLARKE, B.O.; PRITCHARD, D.L.; MEEHAN, B.; BESHAH, F.; SMITH, S.R.; PORTER, N.A. A critical review of nitrogen mineralization in biosolids-amended soil, the associated fertilizer value for crop production and potential for emissions to the environment. **Science of the Total Environment**, v. 541, p. 1310–1338. 2016.

ROGOVSKA, N.; LAIRD, D.; LEANDRO, L.; ALLER, D. Biochar effect on severity of soybean root disease caused by *Fusarium virguliforme*. **Plant and Soil**, v. 413, p. 111–126. 2017.

SAIN, S.K.; PANDEY, A.K. Biological spectrum of *Trichoderma harzianum* Rifai isolates to control fungal diseases of tomato (*Solanum lycopersicon* L.). **Archives of Phytopathology and Plant Protection**, v. 49 (19-20), p. 507-521. 2016.

SAMOLADA, M.C.; ZABANIOTOU, A.A. Comparative assessment of municipal sewage sludge incineration, gasification and pyrolysis for a sustainable sludge-to-energy management in Greece. **Waste Management**, v. 34, p. 411-420. 2014.

SÁNCHEZ-GARCÍA, M.; CAYUELA, M.L.; RASSE, D.P.; SÁNCHEZ-MONEDERO, M.A. Biochars from mediterranean agroindustry residues: physicochemical properties relevant for c sequestration and soil water retention. **ACS Sustainable Chemistry & Engineering**, v. 7 (5), p. 4724-4733. 2019.

SCUDELER, F.; VENEGAS, F. *Trichoderma harzianum* associado ou não a fungicidas em tratamento de sementes na cultura do milho (*Zea mays* L.). **Ensaio e Ciência: Ciências Biológicas, Agrárias e da Saúde**, v. 16 (5), p. 9-19. 2012.

SCUDELER, F.; VENEGAS, F. *Trichoderma harzianum* associado ou não a fungicidas em tratamento de sementes na cultura do milho (*Zea mays* L.). **Ensaio e Ciência: Ciências Biológicas, Agrárias e da Saúde**, v. 16 (5), p. 9-19. 2012.

SIDDIQUEE, S.; SHAFAWATI, S.N.; NAHER, L. Effective composting of empty fruit bunches using potential *Trichoderma* strains. **Biotechnology Reports**, v. 13, p. 1–7. 2017.

SILVA, S.R.; CUSTÓDIO, A.A.P.; FOLONI, J.S.S.; BETIOLI-JUNIOR, E.; BASSOI, M.C. Nitrogen fertilization effects on wheat blast epidemics under varying field environmental conditions. **Tropical Plant Pathology**, v. 44 (3), p. 258–267. 2019.

SINGH, B.N.; SINGH, A.; SINGH, G.S.; DWIVEDI, P. Potential role of *Trichoderma asperellum* T42 strain in growth of pea plant for sustainable agriculture. **Journal of Pure and Applied Microbiology**, v. 9, p. 1069–1074. 2015.

SINGH, B.P.; HATTON, B.J.; BALWANT, S.; COWIE, A.L.; KATHURIA, A. Influence of biochars on nitrous oxide emission and nitrogen leaching from two contrasting soils. **Journal of Environmental Quality**, v. 39, p. 1224-1235. 2010.

SNIS. Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento. Diagnóstico dos Serviços de Água e Esgotos – 2017. 226 p.: il. 2019.

SOHI, S.P. Carbon storage with benefits. **Science**, v. 338, p. 1034-1035, 2012.

SPOKAS, K.A.; NOVAK, J.M.; STEWART, C.E.; CANTRELL, K.B.; UCHIMIYA, M.; DUSAIRE, M.G.; RO, K.S. Qualitative analysis of volatile organic compounds on biochar. **Chemosphere**, v. 85 (5), p. 869–882. 2011.

SUN, D.; MENG, J.; LIANG, H.; YANG, E.; HUANG, Y.; CHEN, W.; JIANG, L.; LAN, Y.; ZHANG, W.; GAO, J. Effect of volatile organic compounds absorbed to fresh biochar on survival of *Bacillus mucilaginosus* and structure of soil microbial communities. **Journal of Soils and Sediments**, v. 15 (2), p. 271–281. 2015.

TIAN, Y.; CUI, L.; LIN, Q.; LI, G.; ZHAO, X. The sewage sludge biochar at low pyrolysis temperature had better improvement in urban soil and turf grass. **Agronomy**, v. 9 (156), p. 1-13. 2019.

UCHIMIYA, M.; WARTELLE, L.H.; KLASSON, K.T.; FORTIER, C.A.; LIMA, I.M. Influence of pyrolysis temperature on biochar property and function as a heavy metal sorbent in soil. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, p. 2501-2510. 2011.

VECSTAUDZA, D.; GRANTINA-IEVINA, L.; MAKARENKOVA, G.; KASPARINSKIS, R.; SELGA, T.; STEINBERGA, V.; STELMAHERE, S.; STEINER, C.; MUTER, O. The impact of wood-derived biochar on the survival of *Trichoderma* spp. and growth of *Secale cereale* L. in sandy soil. **Biocontrol Science and Technology**, v. 28 (4), p. 341–358. 2018.

WALTERS, D.R.; BINGHAM, I.J. Influence of nutrition on disease development caused by fungal pathogens: implications for plant disease control. **Annals of Applied Biology**, v. 151 (3), p. 307–324. 2007.

WOLLMANN, I.; GAURO, A.; MÜLLER, T.; MÖLLER, K. Phosphorus bioavailability of sewage sludge-based recycled fertilizers. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, v. 181, p. 158–166. 2018.

YOU, J.; SUN, L.; LIU, X.; HU, X.; XU, Q. Effects of sewage sludge biochar on soil characteristics and crop yield in loamy sand soil. **Polish Journal of Environmental Studies**, v. 28 (4), p. 2973–2980. 2019.

YU, L.; YU, M.; LU, X.; TANG, C.; LIU, X.; BROOKES, P.C.; XU, J. Combined application of biochar and nitrogen fertilizer benefits nitrogen retention in the rhizosphere of soybean by increasing microbial biomass but not altering microbial community structure. **Science of The Total Environment**, v. 640–641, p. 1221–1230. 2018.

YUAN, H.; LU, T.; HUANG, H.; ZHAO, D.; KOBAYASHI, N.; CHEN, Y. Influence of pyrolysis temperature on physical and chemical properties of biochar made from sewage sludge. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**, v. 112, p. 284–289. 2015.

YUAN, H.; LU, T.; WANG, Y.; CHEN, Y.; LEI, T. Sewage sludge biochar: Nutrient composition and its effect on the leaching of soil nutrients. **Geoderma**, v. 267, p. 17–23. 2016.

ZHANG, F.; XU, X.; HUO, Y.; XIAO, Y. *Trichoderma*-Inoculation and mowing synergistically altered soil available nutrients, rhizosphere chemical compounds and soil microbial community, potentially driving alfalfa growth. **Frontiers in Microbiology**, v. 9 (3241), p. 1–12. 2019.

ZUO, W.; GU, C.; ZHANG, W.; XU, K.; WANG, Y.; BAI, Y.; SHAN, Y.; DAI, Q. Sewage sludge amendment improved soil properties and sweet sorghum yield and quality in a newly reclaimed mudflat land. **Science of The Total Environment**, v. 654, p. 541–549. 2019.

CAPÍTULO I

EFEITOS DO BIOCHAR DE LODO DE ESGOTO SOBRE FUNGOS FITOPATOGÊNICOS E MICRORGANISMOS BENÉFICOS

6. EFEITOS DO BIOCHAR DE LODO DE ESGOTO SOBRE FUNGOS FITOPATOGÊNICOS E MICRORGANISMOS BENÉFICOS

6.1. RESUMO

Biochar (BCH) é um produto sólido, rico em carbono, obtido pelo aquecimento de biomassa sob condições controladas de oxigenação, processo conhecido como pirólise. Seus benefícios estão associados às melhorias de propriedades físicas, químicas e biológicas do solo. Além disso, o BCH pode afetar o crescimento de microrganismos fitopatogênicos. Apesar dos avanços em pesquisas nessa área, ainda há escassez de informação sobre o efeito da concentração de BCH sobre diferentes microrganismos habitantes do solo. Este trabalho avaliou o efeito direto do biochar de lodo de esgoto (BLE) no crescimento *in vitro* de diferentes fungos habitantes de solo. Foram avaliados oito fitopatógenos [*Fusarium oxysporum*, *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* (CEN1456), *Macrophomina phaseolina* (429), *Sclerotinia sclerotiorum*, *S. sclerotiorum* (CEN1147), *Sclerotium rolfsii* (CEN216), *Sclerotium cepivorum* (CEN1357), *Rhizoctonia solani*] e um agente de controle biológico [*Trichoderma afroharzianum* (CEPA T-22)] submetidos ao crescimento em meio de cultura BDA (Batata-Dextrose-Ágar) sintético enriquecido com BLE. Foram avaliados dois biochars (produzidos a 300 e 500 °C) e aplicados em diferentes doses: 0,0 (controle); 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 e 1,0 (g de BCH/100 mL de BDA). Os resultados demonstraram que os biochars apresentam efeito inibitório ao crescimento micelial dos diferentes fungos avaliados. Observou-se que há certa especificidade de concentração de biochar que deve ser avaliada para controle dos fitopatógenos. Na maior parte dos casos, as concentrações 0,4 e 0,6% apresentaram maior efeito inibitório nos fitopatógenos, e não afetaram o agente de controle biológico. Portanto, o BLE se mostrou um produto promissor para controle de diferentes fitopatógenos habitantes do solo.

Palavras-chave: Biossólidos, pirólise, crescimento micelial, controle biológico.

6.2. ABSTRACT

Biochar (BCH) is a solid product, rich in carbon, obtained by heating biomass under controlled conditions of oxygenation, a process known as pyrolysis. Its benefits are associated with improvements in the physical, chemical and biological properties of the soil. In addition, BCH can affect the growth of phytopathogenic microorganisms. Despite advances in research in this area, there is still a lack of information on the effect of BCH concentration on different soilborne

microorganisms. This work evaluated the direct effect of sewage sludge biochar (SSB) on the *in vitro* growth of different soilborne fungi. Eight phytopathogens [*Fusarium oxysporum*, *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* (CEN1456), *Macrophomina phaseolina* (429), *Sclerotinia sclerotiorum*, *S. sclerotiorum* (CEN1147), *Sclerotium rolfsii* (CEN216), *Sclerotium cepivorum* (CEN1357), *Rhizoctonia solani*] and a biological control agent [*Trichoderma afroharzianum* (CEPA T-22)] submitted to growth in synthetic PDA (Potato-Dextrose-Agar) culture medium enriched with SSB. Two biochars (produced at 300 and 500 °C) and applied at different doses were evaluated: 0.0 (control); 0.2; 0.4; 0.6; 0.8 and 1.0 (g BCH/100 ml PDA). The results showed that the biochars have an inhibitory effect on the mycelial growth of the different fungi evaluated. It was observed that there is a certain specificity of biochar concentration that must be evaluated for the control of phytopathogens. In most cases, concentrations of 0.4 and 0.6% had a greater inhibitory effect on phytopathogens, and did not affect the biological control agent. Therefore, SSB proved to be a promising product for the control of different soilborne phytopathogens.

Keywords: Biosolids; pyrolysis; mycelial growth; biological control.

6.3. INTRODUÇÃO

O biochar (BCH) é um material sólido, rico em carbono (C) (MARSHALL et al., 2019; TIAN et al., 2019), obtido por meio do tratamento térmico de biomassas sob condições controladas de oxigenação, em um processo denominado pirólise (SOHI, 2012; SAMOLADA e ZABANIOTOU, 2014). A multifuncionalidade do BCH tem despertado o interesse da comunidade científica mundial. Na agricultura, o BCH tem sido avaliado como fertilizante e condicionador do solo com diversos benefícios para a sanidade do solo.

O BCH também pode controlar patógenos de plantas. Diferentes mecanismos têm sido usados para explicar essa ação inibitória do BCH. O BCH apresenta uma variedade de compostos orgânicos que podem individualmente ou combinados suprimir ou estimular microrganismos habitantes de solo (SPOKAS et al., 2011; SUN et al., 2015). Os principais compostos identificados em biochars que apresentam efeitos adversos no crescimento e sobrevivência de microrganismos incluem: etilenoglicol e propilenoglicol, ácidos hidroxipropiônico e hidroxibutírico, ácido benzoico e o-cresol, quinonas (resorcinol e hidroquinona) e 2-fenoxietanol (GRABER et al., 2010; BUSS et al., 2015). Distintos biochars produzidos a partir de madeira de eucalipto e resíduos vegetais apresentaram dois compostos orgânicos em comum: o ácido láctico e o ácido glicólico (JAISWAL et al., 2015). Sabe-se que

ambos os compostos orgânicos apresentam atividade fungicida (ABBASI et al., 2009; HASSAN et al., 2015). Recentemente, foi demonstrado que o biochar também apresenta um efeito ‘priming’ na expressão gênica das plantas, regulando positivamente as vias e os genes envolvidos na defesa e crescimento. De acordo com Jaiswal et al. (2020), os principais compostos envolvidos nessa função do biochar incluem ácido jasmônico, brassinosteroides, citocinas, auxina, flavonoides e fenilpropanoides.

A presença de ácidos fúlvicos e húmicos no BCH também pode aumentar a resistência das plantas ao ataque de patógenos. Esses ácidos orgânicos aumentaram o acúmulo de compostos fenólicos e flavonoides relacionados à resistência a doenças em plantas de uva (XU et al., 2019). A atividade antifúngica desses ácidos também foi previamente demonstrada, podendo inibir em até 68% o crescimento das hifas de *Calonectria pseudonaviculata* (SAMAVAT et al., 2020). A matéria orgânica dissolvida, formada por diferentes moléculas orgânicas, incluindo algumas substâncias húmicas, quando liberada do biochar pode modificar a estrutura da comunidade microbiana (ZHANG et al., 2020).

Além disso, o efeito do biochar na estrutura e diversidade microbiana do solo tem favorecido determinados gêneros de microrganismos, tais como *Pseudomonas*, *Bacillus* e *Trichoderma*, sendo estes organismos associados à promoção de crescimento de plantas, supressão de doenças e outros possíveis papéis ecológicos (JAISWAL et al., 2018). O gênero *Trichoderma* tem se destacado por apresentar diferentes espécies e mecanismos de controle de fitopatógenos (CONTRERAS-CORNEJO et al., 2016). Esses microrganismos não apenas controlaram a incidência da podridão do colo e da raiz de plantas de pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.), causada pelo fungo *Lasiodiplodia theobromae*, mas também, promoveram o crescimento da planta (LATHA et al., 2011). Dessa forma, o uso de BCH, ao favorecer o aumento de microrganismos benéficos no solo, tem se mostrado uma alternativa promissora no manejo de doenças de plantas com maiores vantagens em comparação ao uso de fungicidas químicos. Entre os microrganismos benéficos, o *Trichoderma* spp. pode apresentar efeito sinérgico quando combinado com BCH no controle de fungos patogênicos do solo (ARAUJO et al., 2019a). O BCH pode aumentar a sobrevivência e crescimento da população de *Trichoderma* spp. (GRABER et al., 2010; VECSTAUDZA et al., 2018). Espécies de *Trichoderma* são amplamente reconhecidas pela capacidade de estimular o crescimento e a produtividade das plantas (SINGH et al., 2015), além de estar entre os microrganismos mais estudados e utilizados como agentes de biocontrole de doenças vegetais em todo o mundo.

As características físico-químicas dos biochars são afetadas pelo tipo de matéria-prima e pela temperatura de pirólise adotada, entre outros fatores (MUKOME et al., 2013; FIGUEIREDO et al., 2018; TOMCZYK et al., 2020). Isso tem sido amplamente demonstrado para diferentes funções dos biochars. A concentração e a disponibilidade de nutrientes (função fertilizante), a capacidade de retenção/degradação de poluentes orgânicos (ZHANG et al., 2013) e inorgânicos (FIGUEIREDO et al., 2019), o poder alcalinizante (CHINTALA et al., 2014), a porosidade e a retenção de água (LIU et al., 2017) são algumas funções dos biochars que são afetadas pelo tipo de matéria-prima e pelas condições de pirólise e podem interferir na ação do BCH como agente de controle de patógenos. Por exemplo, o pH do BCH pode alterar a composição e a atividade das comunidades microbianas do solo (GOROVTSOV et al., 2020). De forma semelhante, mudanças na condutividade elétrica (CE) do meio podem alterar as taxas de sobrevivência dos fungos (KONG et al., 2012). Logo, variações de CE observadas em diferentes biochars de lodo de esgoto (BLEs) (FIGUEIREDO et al., 2018) podem aumentar a sobrevivência e disseminação de determinados fitopatógenos. Essas alterações promovidas pela pirólise também afetam as interações entre o biochar e os microrganismos habitantes do solo, apresentando efeito sobre o desenvolvimento do patógeno e a severidade das doenças de plantas (JAISWAL et al., 2014; AKHTER et al., 2015). Com isso, deve-se observar a especificidade de cada material para controle de cada microrganismo.

Mesmo com o crescente número de estudos com BCHs de diferentes matérias-primas, no caso específico do BLE ainda não há informação disponível sobre o efeito de uma ampla variação de doses de BLE, obtido por diferentes temperaturas, sobre diversos fungos patogênicos habitantes do solo. Este trabalho foi desenvolvido com o intuito de avaliar o efeito de BLE no crescimento *in vitro* de diferentes microrganismos habitantes de solo, incluindo tanto fungos fitopatogênicos como microrganismo benéfico para o desenvolvimento de plantas.

6.4. MATERIAL E MÉTODOS

6.4.1. Produção e caracterização dos biochars

O BCH foi produzido a partir da biomassa de lodo de esgoto (LE) oriunda da Estação de Tratamento de Esgotos (ETE) da Companhia de Saneamento Ambiental do Distrito Federal (CAESB), localizada no bairro de Samambaia, Brasília, DF, Brasil. O esgoto, oriundo, predominantemente, de área doméstica, foi submetido a um sistema de tratamento em nível terciário, incluindo a adição de sulfato de alumínio. Esse sistema de tratamento engloba a decomposição anaeróbica do lodo, como também, a remoção do fósforo (P) e nitrogênio (N) do

efluente líquido. Como consequência, a biomassa final de LE apresenta-se enriquecido em P e N. Por outro lado, nesse processo, o potássio (K) não é removido do efluente líquido, resultando em um LE pobre neste nutriente.

O LE foi seco ao ar até apresentar, aproximadamente, 10% de umidade. Em seguida, foi triturado e passado por uma peneira de 8 mm e, posteriormente, submetido às temperaturas de 300 °C e 500 °C em um forno de pirólise (Linn Elektro Therm, Eschenfelden, Alemanha) com dimensões de 610 x 610 x 590 mm (largura x profundidade x altura). Para realização do processo de pirólise, o LE foi acondicionado em um recipiente metálico de 30 litros adaptado ao espaço interno do forno contendo um sistema de saída de gás e bio-óleo, e um mecanismo para evitar o fluxo de oxigênio. Para o controle da temperatura, uma sonda de penetração tipo-K (modelo MTK-15, São Paulo, Brasil) foi acoplada a um termômetro digital (KT-160A, Swidnica, Polônia). O BLE foi produzido a uma taxa média de aumento de temperatura de 2,5 °C min⁻¹, totalizando 110 e 190 min para atingir as respectivas temperaturas (300 e 500 °C), e um tempo de residência de 300 minutos.

As propriedades físico-químicas do LE e do BLE são apresentadas na Tabela 1. Os teores totais de C e N foram determinados em um analisador elementar (PE 2400, série II CHNS / O, PerkinElmer, Norwalk, EUA). O pH foi determinado em uma solução de CaCl₂ 10 µmol L⁻¹, usando uma suspensão de 1:5 (p/v, biochar:solução) (BRASIL, 2017). As substâncias húmicas (SH) foram determinadas por fracionamento através da solubilidade em meio alcalino e ácido (SWIFT, 1996). As substâncias húmicas foram extraídas pela solução NaOH 0,1 M e o teor de carbono foi determinado de acordo com o método de Yeomans e Bremner (1988). Os teores de macronutrientes [P, K, cálcio (Ca), magnésio (Mg), enxofre (S)] foram determinados após a digestão nitroperclórica (SILVA, 2009). O P foi quantificado pelo método do molibdovanadato, o K por fotometria de chama e os demais (Ca, Mg e S) foram determinados por espectrometria de emissão óptica por plasma acoplado indutivamente (ICP-OES) (ICPE-9000, Shimadzu, Japão). Informações complementares sobre as metodologias utilizadas para caracterização físico-química do LE e dos biochars estão disponíveis em Figueiredo et al. (2018) e Figueiredo et al. (2019).

Tabela 1. Propriedades físico-químicas do lodo de esgoto e dos biochars utilizados no estudo.

Propriedades	Lodo de esgoto	BLE 300	BLE 500
Umidade (%)	10,62 ± 1,56	4,26 ± 0,23	3,17 ± 0,05
Sólidos Voláteis (%)	48,25 ± 1,36	41,75 ± 2,47	29,74 ± 1,40
Cinzas (%)	39,33 ± 2,38	48,27 ± 1,08	60,05 ± 0,51

Carbono Fixo (%)	1,79 ± 0,52	5,72 ± 1,55	7,04 ± 0,86
Carbono Inerte (%)	3,23 ± 0,39	2,86 ± 0,34	3,18 ± 0,08
Carbono Total (%)	18,58 ± 0,26	19,92 ± 0,28	18,65 ± 0,18
COT (%)	17,45 ± 0,85	18,61 ± 0,09	16,90 ± 0,85
MOT (%)	30,09 ± 1,47	32,09 ± 0,15	29,13 ± 1,47
Ácido Fúlvico (g kg ⁻¹)	24,10 ± 0,58	23,89 ± 0,33	15,12 ± 0,50
Ácido Húmico (g kg ⁻¹)	8,45 ± 0,39	7,51 ± 0,11	2,92 ± 0,05
Huminas (g kg ⁻¹)	146,28 ± 3,00	139,90 ± 1,21	143,49 ± 2,85
Nitrogênio (%)	3,99 ± 0,05	5,05 ± 1,16	5,03 ± 0,88
C/N	4,66 ± 0,02	3,95 ± 0,96	3,71 ± 0,77
pH (CaCl ₂)	5,48 ± 0,02	6,04 ± 0,04	6,50 ± 0,01
CTC (mmol L ⁻¹)	286,67 ± 1,53	265,00 ± 2,00	224,67 ± 1,53
Fósforo (g kg ⁻¹)	22,81 ± 1,84	30,94 ± 1,97	33,74 ± 2,12
Potássio (g kg ⁻¹)	0	0	0
Cálcio (g kg ⁻¹)	13,17 ± 0,21	11,33 ± 0,15	19,47 ± 0,47
Magnésio (g kg ⁻¹)	2,53 ± 0,06	2,77 ± 0,06	3,13 ± 0,06
Enxofre (g kg ⁻¹)	13,70 ± 0	15,10 ± 0	23,13 ± 0,46
Boro (mg kg ⁻¹)	0	0	0
Cobre (mg kg ⁻¹)	100,00 ± 0	113,33 ± 5,77	130,00 ± 10,00
Ferro (g kg ⁻¹)	15,40 ± 0,17	16,40 ± 0,10	16,93 ± 0,06
Manganês (mg kg ⁻¹)	100 ± 0	100 ± 0	103,33 ± 5,77
Zinco (mg kg ⁻¹)	400,00 ± 0	503,33 ± 5,77	433,33 ± 57,74
Rendimento (%)	-	82,48 ± 1,10	64,32 ± 0,60

Valores médios ± desvio padrão (n = 3); COT: carbono orgânico total; MOT: matéria orgânica total; CTC: capacidade de troca de cátions.

6.4.2. Bioensaio: biochar e o crescimento *in vitro* de fungos habitantes de solo

O estudo foi realizado no Departamento de Fitopatologia, localizado no Instituto de Ciências Biológicas – UnB. Inicialmente, o biochar foi macerado em almofariz e, posteriormente, passado em peneira com malha de 500 µm. O meio de cultura foi produzido a partir de Batata-Dextrose-Ágar (BDA - Acumedia®, Michigan, Estados Unidos da América), sendo formulado adotando-se 39 g de BDA sintético em 1 litro de água destilada, sendo adicionado o BLE e, posteriormente, autoclavado.

Foram testadas diferentes concentrações dos BLEs produzidos a 300 e 500 °C, sendo o tratamento com 0 g de BLE por 100 mL de BDA definido como controle. As concentrações estudadas foram: 0,0; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 e 1,0 (g de BLE/100 mL de BDA). Os meios de cultura foram vertidos em placas de Petri, sendo padronizado o uso de 25 mL de meio por placa. Os fungos foram repicados de colônias com 7 dias, sendo utilizado um perfurador com 6 mm de

diâmetro, adotando-se um disco por placa. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com cinco repetições.

Avaliou-se o crescimento micelial de nove fungos habitantes de solo, contemplando seis gêneros distintos, sendo oito microrganismos fitopatogênicos e um fungo amplamente utilizado no controle biológico de doenças de plantas. Os fungos fitopatogênicos avaliados no experimento foram: *Fusarium oxysporum*, *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* (isolado CEN1456), *Macrophomina phaseolina* (isolado 429), *Sclerotinia sclerotiorum*, *S. sclerotiorum* (isolado CEN1147), *Sclerotium rolfsii* (isolado CEN216), *Sclerotium cepivorum* (isolado CEN1357), *Rhizoctonia solani*. O microrganismo benéfico avaliado foi o fungo *Trichoderma afroharzianum* (CEPA T-22).

Os microrganismos foram submetidos à incubação em temperatura ambiente (variando de 22 a 30 °C) e 12 horas de luminosidade. A exceção foi o fungo *Sclerotium cepivorum* (isolado CEN1357), em que a incubação ocorreu em estufa incubadora Eletrolab (modelo EL202/3LED), a 20 °C e 12 horas de luminosidade.

As avaliações iniciaram 24 horas após a montagem do experimento, sendo realizadas medições diárias do crescimento micelial (mm), por um período de 4 a 10 dias, com paquímetro digital (150 mm/MTX).

O percentual de controle exercido pelos biochars sobre os diferentes fungos foi calculado de acordo com seguinte equação:

$$(\%) \text{ Control} = \frac{T(0) - T(m) \times 100}{T(0)}$$

em que T(0) é o diâmetro do crescimento micelial (mm) do fungo em meio de cultura sem BLE e T(m) é diâmetro do crescimento micelial (mm) do fungo em meio de cultura com BLE na concentração de maior inibição do microrganismo.

6.4.3. Análise estatística

Os dados foram submetidos a análise de variância (ANOVA) e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). As análises foram realizadas utilizando o programa IBM SPSS Statistics, versão 23.0 (IBM, 2015), e os gráficos desenvolvidos por meio do programa SigmaPlot, versão 12.5 (SYSTAT SOFTWARE, 2013).

6.5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O enriquecimento dos meios de cultura com BLE causou redução no crescimento micelial de diferentes fungos habitantes de solo, demonstrando um efeito direto sobre os microrganismos (Figura 1). Os resultados do presente estudo demonstraram que há certa especificidade da concentração de biochar utilizada sobre o crescimento de fungos habitantes do solo (fitopatogênicos e benéficos).

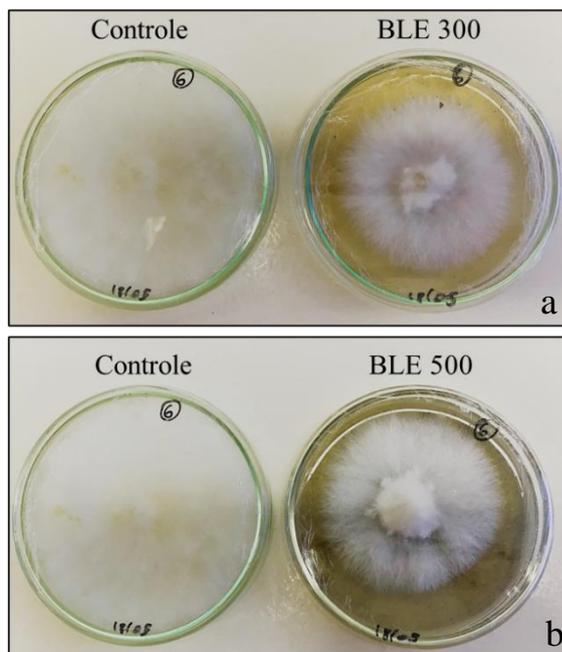


Figura 1. Inibição do crescimento micelial do fungo *Sclerotium rolfsii* acarretada pelo enriquecimento do meio de cultura BDA com biochar de lodo de esgoto produzido a 300 (a) e 500 °C (b).

Os efeitos do BLE sobre o crescimento micelial de distintas espécies de fungos habitantes de solo são apresentados nas Figuras 2, 3 e 4. Nas figuras, os microrganismos foram agrupados de acordo com sua classificação científica, primeiramente os fitopatógenos e por último o microrganismo benéfico. Na Figura 2 são apresentados os efeitos do BLE sobre fungos do filo Ascomycota, (*F. oxysporum*, *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* (CEN1456) e *M. phaseolina* (isolado 429), na Figura 3 os fungos do filo Ascomycota, ordem Helotiales (*S. sclerotiorum*, *S. sclerotiorum* (CEN1147) e *S. cepivorum* (CEN1357) e na Figura 4 os fungos do filo Basidiomycota (*S. rolfsii* (CEN216) e *R. solani*) e o agente de controle biológico *T. afroharzianum* (CEPA T-22), filo Ascomycota.

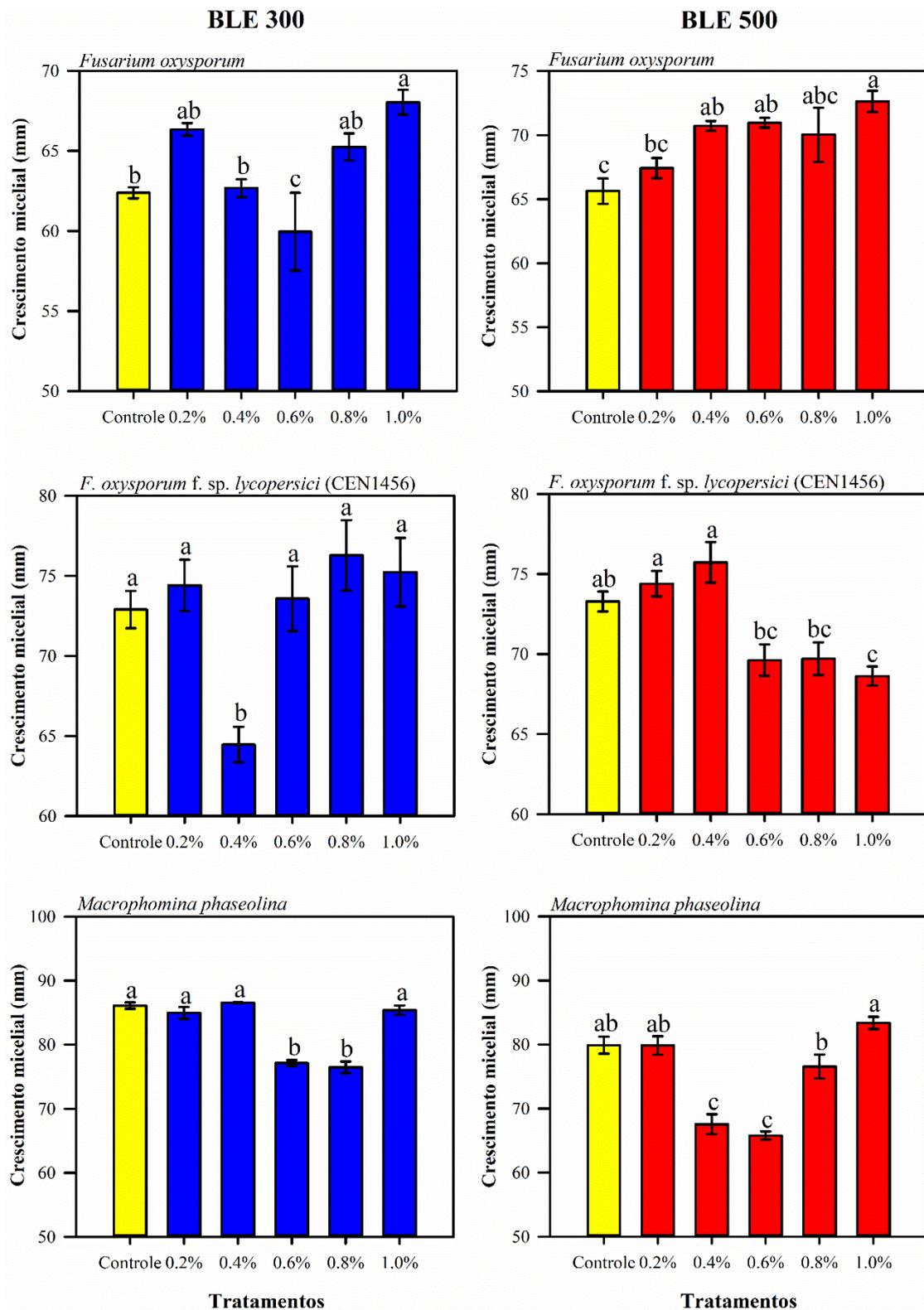


Figura 2. Crescimento micelial *in vitro* dos fungos *Fusarium oxysporum*, *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* (CEN1456) e *Macrophomina phaseolina* (isolado 429) na presença de BLEs obtidos a 300 e 500 °C. Letras iguais indicam ausência de diferença significativa pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). As barras de erro indicam o desvio padrão da média ($n = 5$).

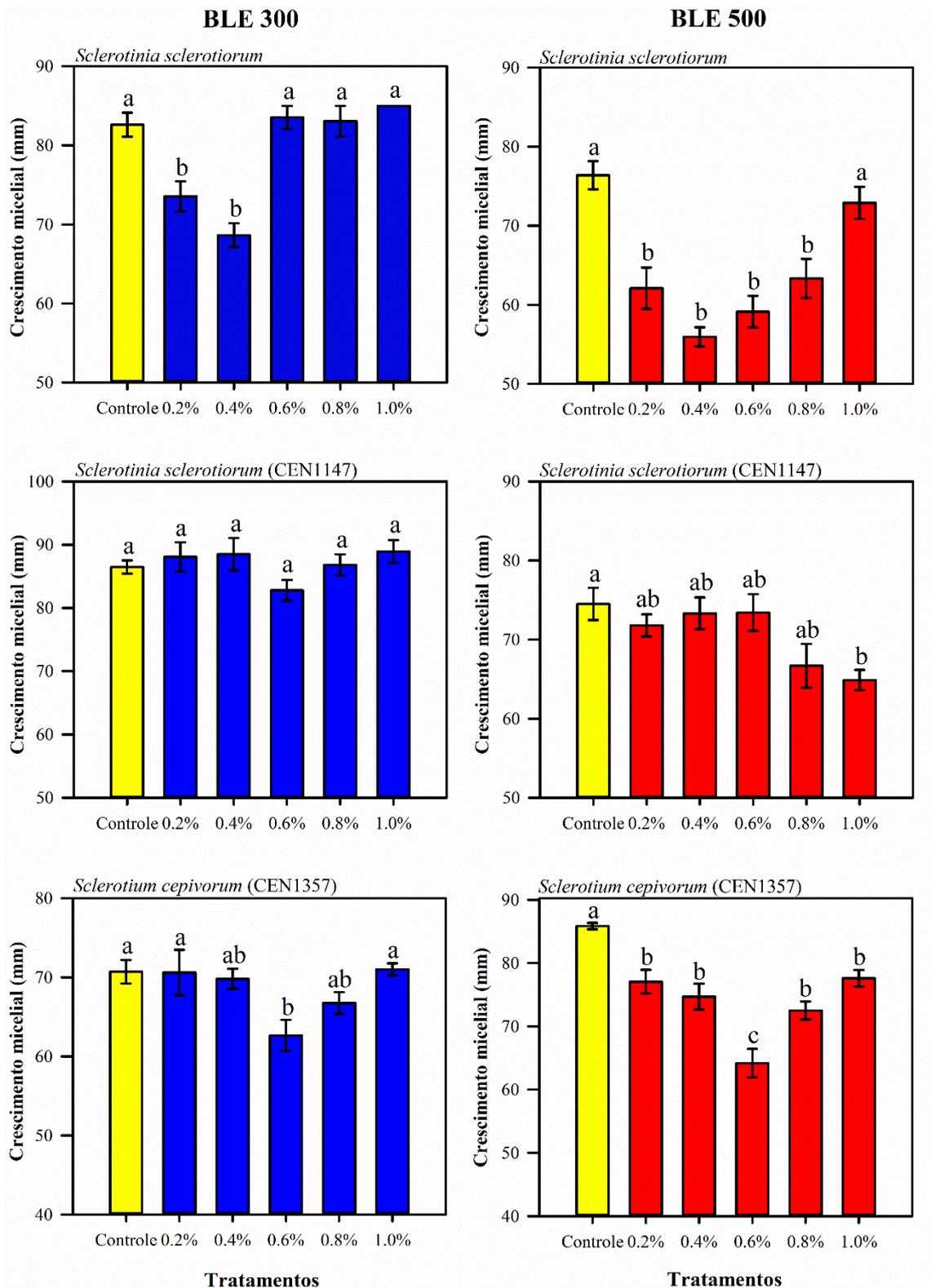


Figura 3. Crescimento micelial *in vitro* dos fungos *Sclerotinia sclerotiorum*, *S. sclerotiorum* (CEN1147) e *Sclerotium cepivorum* (CEN1357) na presença de BLEs obtidos a 300 e 500 °C. Letras iguais indicam ausência de diferença significativa pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). As barras de erro indicam o desvio padrão da média ($n = 5$).

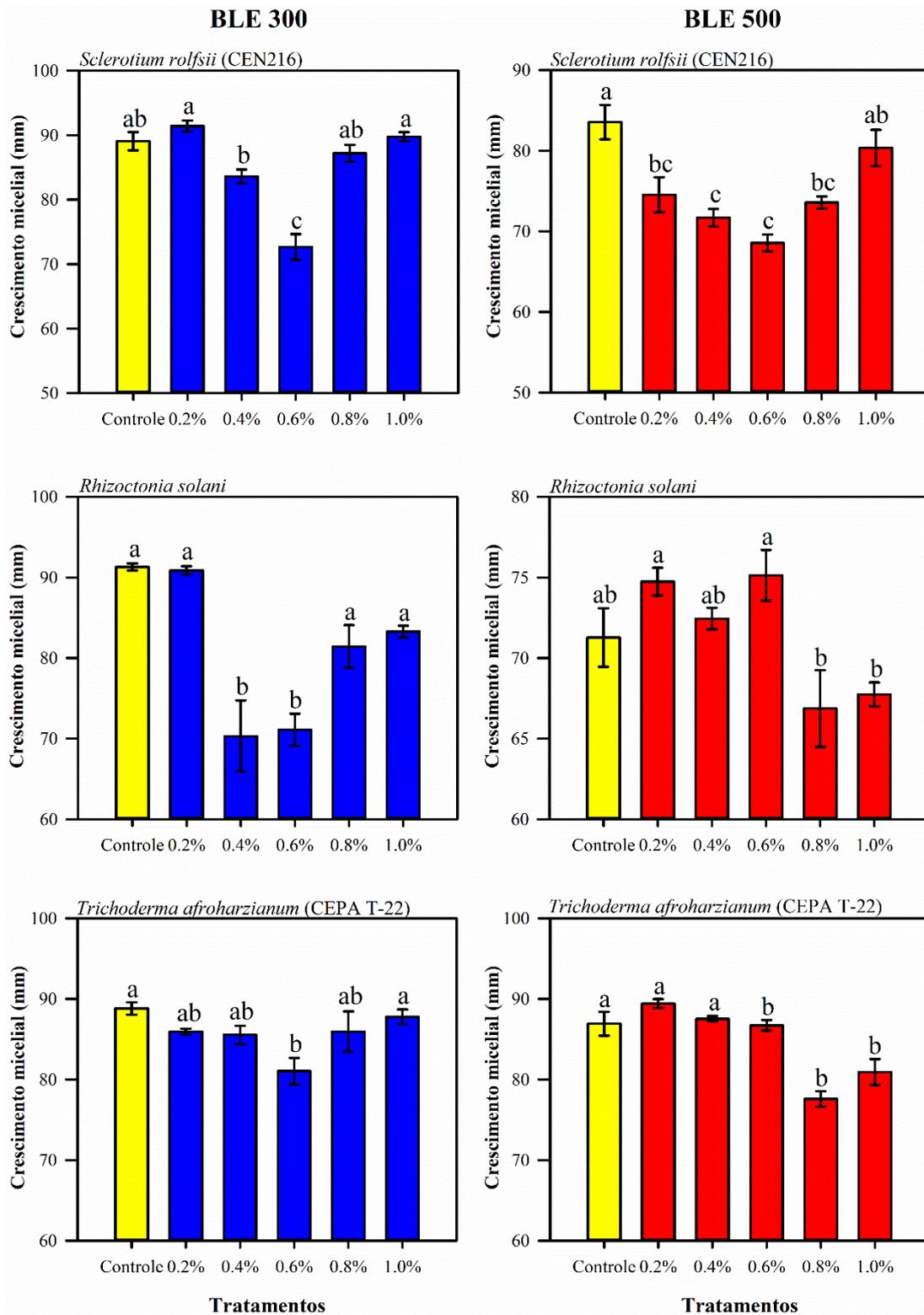


Figura 4. Crescimento micelial *in vitro* dos fungos *Sclerotium rolfsii* (CEN216), *Rhizoctonia solani* e *Trichoderma afroharzianum* (CEPA T-22) na presença de BLEs obtidos a 300 e 500 °C. Letras iguais indicam ausência de diferença significativa pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). As barras de erro indicam o desvio padrão da média ($n = 5$).

Os biochars produzidos em diferentes temperaturas afetaram de forma distinta o crescimento dos fungos avaliados. Como destacado anteriormente, a temperatura de pirólise é um dos fatores que mais afetam as características físico-químicas do biochar (FIGUEIREDO et al., 2018). As características alteradas pelas temperaturas de pirólise podem afetar o crescimento dos microrganismos. Esse efeito pôde ser observado na avaliação dos fungos *F. oxysporum* (Figura 2) e *S. sclerotiorum* (CEN1147) (Figura 3), em que biochars produzidos em diferentes temperaturas de pirólise acarretaram efeitos distintos em relação ao crescimento dos fungos.

Com base na temperatura de pirólise, o BLE produzido a 300 °C apresentou capacidade inibitória ao crescimento de *F. oxysporum*, todavia, quando a mesma matéria-prima foi pirolisada a 500 °C, tal BLE não demonstrou efeito sobre o crescimento micelial do fungo. Por outro lado, na avaliação de *S. sclerotiorum* (CEN1147), apenas o BC 500 afetou o crescimento do microrganismo. Os resultados do presente trabalho corroboram aqueles obtidos em vaso por Rogovska et al. (2017), que demonstraram variação na capacidade de controle de *Fusarium virguliforme* quando biochars produzidos a partir de diversas matérias-primas e temperaturas foram testados, destacando a importância de se avaliar diferentes doses de BCH no controle de microrganismos fitopatogênicos. Ainda no estudo de Rogovska et al. (2017), os autores apontaram o efeito direto dos compostos orgânicos liberados do biochar e a mudanças nas propriedades microbiológicas e enzimáticas do solo como mecanismos de controle.

De forma geral, os biochars de lodo de esgoto apresentaram capacidade inibitória *in vitro* em diferentes fungos habitantes de solo. As concentrações de 0,4 e 0,6% de BLE destacaram-se como as mais promissoras para o controle de fungos fitopatogênicos. Entretanto, na maior parte dos ensaios realizados com os microrganismos, observa-se que em concentrações do BLE superiores a 0,8% há perda da capacidade de inibição e até mesmo um provável estímulo ao crescimento micelial dos fungos. Verificou-se ainda que baixas concentrações de BLE, menores que 0,4%, não apresentaram efeito no crescimento micelial dos fungos estudados, tanto nos fitopatógenos quanto no microrganismo benéfico avaliado.

O padrão de controle dos fitopatógenos observado neste experimento se assemelha a estudos com biochars obtidos de múltiplas matérias-primas que demonstraram uma curva de resposta (dose de biochar versus crescimento do fungo) em forma de “U”, sendo as doses intermediárias responsáveis pelos melhores resultados na supressão de doenças (ZWART e KIM, 2012; JAISWAL et al., 2014; FRENKEL et al., 2017). Tais autores relataram que as doses mais elevadas de BCH adotadas em cada ensaio foram responsáveis pela maior incidência de

doença. Esse padrão de resposta em que baixas doses de BCH reduzem a doença e que em altas doses há um estímulo foi descrito como ‘efeito hormese’ (JAISWAL et al., 2014). Visto também que cada patossistema (patógeno-hospedeira) apresentava uma relação de especificidade com a dose e o tipo de biochar utilizado.

Em condições de campo ou em vaso, as doses de biochars utilizadas para controle de fitopatógenos normalmente variam de 0 a 20%. Zwart e Kim (2012) avaliaram doses de biochar de madeira de pinheiros (*Pinus taeda*, *P. palustris*, *P. echinata*, *P. elliotti*) (0 a 20% em relação ao volume do vaso) e observaram que a menor dose (5%) foi responsável pelo maior controle da doença, e que doses maiores (10 e 20%) apresentaram menor efeito ou possível expansão da lesão necrótica causada por *Phytophthora cactorum* em mudas de bordo vermelho (*Acer rubrum*). De forma semelhante, Jaiswal et al. (2014) demonstraram que biochars produzidos a partir de lascas de madeira de eucalipto e resíduos vegetais, pirolisados a 350 e 600 °C, apresentavam efeito supressor ao damping-off causado por *R. solani* em pepino quando concentrações de até 1% (massa/massa) foram utilizadas. Doses de 3% aumentaram significativamente o damping-off em até 82% em comparação com o controle.

O presente estudo demonstrou que o efeito direto do BLE no crescimento micelial de diferentes microrganismos habitantes de solo ocorre em uma faixa de dose que varia de 0 a 1% (massa/volume). Após ampla revisão de literatura, Frenkel et al. (2017) concluíram que ainda não há uma dose predefinida de BCH que possa ser adotada em diferentes patossistemas. Isso requer mais estudos de sistemas individuais de plantas-patógeno-biochar. Além disso, demonstraram a importância de se compreender os mecanismos que estão envolvidos na supressão e promoção de doenças após aplicação do biochar, de modo a se desenvolver protocolos eficientes para tal finalidade.

Há poucos trabalhos *in vitro* envolvendo o uso de BLE e seu efeito direto sobre fitopatógenos. A supressão desses microrganismos é normalmente abordada envolvendo os mecanismos indiretos associados ao controle de doenças em plantas, como: resistência induzida, a alteração das comunidades microbianas benéficas, o conteúdo e oferta de nutrientes, biotoxinas e compostos semelhantes a fitohormônios derivados de biochar (GRABER et al., 2014). Resultados envolvendo efeito direto *in vitro* do BLE no controle de fitopatógenos foi abordado por Araujo et al. (2019a), demonstrando a inibição do crescimento micelial do fungo *M. phaseolina* quando doses de 0,5 e 1,0% (massa/volume) foram adotadas. Vale ressaltar que o uso do BLE em conjunto com *Trichoderma* apresentou efeito sinérgico, proporcionando

maior desenvolvimento de plantas de feijão (*Phaseolus vulgaris*) (ARAUJO et al., 2019a), como também, em soja (*Glycine max*) (ARAUJO et al., 2019b).

O presente trabalho coloca em destaque o uso do BLE no controle de doenças de plantas por apresentar propriedades que impactam diretamente o crescimento *in vitro* de diferentes gêneros de fungos fitopatogênicos habitantes de solo. Esses resultados abrem uma perspectiva de que a aplicação desse material ao solo, associando suas características físico-químicas com a possibilidade de englobar diferentes mecanismos de supressão de doenças, possa reduzir o uso de produtos químicos na agricultura, favorecendo uma produção mais sustentável.

6.5.1. Percentual de controle dos microrganismos versus temperatura de pirólise

Na tabela 2 são apresentados os percentuais de controle decorrentes do uso do BLE sobre diferentes microrganismos. De maneira geral, os BLEs apresentaram controle sobre os fungos avaliados com percentual de inibição variando de 6,19% em *R. solani* até 26,75% em *S. sclerotiorum*. Os maiores percentuais de controle observados no presente estudo (Tabela 2), associados ao uso do BLE 300, são descritos para os fungos *R. solani* e *S. rolfsii* (CEN216) com inibição de crescimento micelial de 23 e 18,41%, respectivamente. Com o uso do BLE 500, observa-se maior capacidade de inibição para os fungos *S. sclerotiorum* e *S. cepivorum* (CEN1357) com percentual de controle de 26,75 e 25,22%, respectivamente.

Tabela 2. Percentual de controle acarretado pelo uso de biochar de lodo de esgoto.

MICRORGANISMOS	PERCENTUAL DE CONTROLE	
	BLE 300	BLE 500
<i>Fusarium oxysporum</i>	8,70	-
<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> (CEN1456)	11,58	6,37
<i>Macrophomina phaseolina</i> (429)	11,17	17,63
<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	16,91	26,75
<i>Sclerotinia sclerotiorum</i> (CEN1147)	-	12,95
<i>Sclerotium cepivorum</i> (CEN1357)	11,41	25,22
<i>Sclerotium rolfsii</i> (CEN216)	18,41	17,92
<i>Rhizoctonia solani</i>	23,00	6,19
<i>Trichoderma afroharzianum</i> (CEPA T-22)	8,75	10,74

Os resultados obtidos nos ensaios com fungos do gênero *Fusarium* demonstraram uma capacidade de controle direto exercida pelos BLEs. Entretanto, o aumento do pH, descrito por Gatch et al. (2017) como um dos mecanismos com efeito parcialmente supressor no fungo *F.*

oxysporum f. sp. *spinaciae*, não se aplica aos resultados obtidos com BLE no presente trabalho, visto que, os maiores percentuais de inibição dos fungos do gênero *Fusarium* ocorreram com o BLE 300, material com menor pH quando comparado ao BLE 500. Zong et al. (2018), por exemplo, relataram que a aplicação de BLE ocasionou um aumento de pH tanto em solos argilosos como arenosos. Conseqüentemente, o possível efeito do aumento de pH causado pelo BLE, suprimindo o crescimento micelial dos microrganismos estudados neste trabalho, poderia ser associado aos ensaios com os fungos *S. sclerotiorum*, *S. sclerotiorum* (CEN1147), *M. phaseolina* (429), *S. cepivorum* (CEN1357), e *T. afroharzianum* (CEPA T-22), em que o uso BLE 500 acarretou maior capacidade de controle.

6.5.2. Características físico-químicas que afetam a capacidade de inibição dos biochars

A caracterização físico-química dos BLEs demonstrou presença de teores consideráveis de cálcio (Ca) em sua composição (Tabela 1). Ensaio *in vitro* contemplando produtos compostos por Ca demonstraram inibição significativa do crescimento micelial de *P. cinnamomi*, como também, redução na produção de esporângios, clamidósporos e zoósporos quando utilizadas concentrações milimolares de Ca^{2+} (SERRANO et al., 2012). A caracterização dos BLEs utilizados neste trabalho também destacou a presença de uma variedade de micronutrientes em sua composição, em especial o zinco, manganês e cobre. O uso de fertilizante contendo micronutrientes, dentre eles o zinco e o manganês, foi proposto como uma alternativa para o controle de *Verticillium dahliae* Kleb. (ZHANG et al., 2021). Esses autores demonstraram em um ensaio *in vitro* que essas propriedades químicas foram responsáveis pela inibição do crescimento micelial, redução da produção de melanina e microesclerócio de *V. dahliae*, além de associar tal efeito ao fato de determinados micronutrientes serem também observados em fungicidas inorgânicos. Os biochars utilizados no presente estudo têm se destacado por apresentar tais características químicas e acarretar inibição micelial (efeito direto) sobre cinco gêneros de fungos fitopatogênicos.

Outra característica físico-química observada nos BCHs é a variação da condutividade elétrica (CE) de acordo com a temperatura de pirólise (KHANMOHAMMADI et al., 2015; YUAN et al., 2015). No presente trabalho, o enriquecimento do meio de cultura BDA com doses crescentes de BLE 300 e BLE 500 pode ter acarretado um aumento da CE do meio onde cresciam os fungos. Como consequência, há a possibilidade de redução da eficiência do BLE no controle de determinados fitopatógenos, principalmente quando doses mais elevadas foram

adotadas. Kong et al. (2012) descreveram um aumento da taxa de sobrevivência de diferentes fungos do gênero *Phytophthora* em resposta ao aumento da CE do meio.

No presente estudo, as doses de BLE avaliadas no crescimento dos fungos foram inferiores às adotadas em outros trabalhos com BCHs produzidos com matérias-primas distintas. Copley et al. (2015), por exemplo, observaram que o enriquecimento do meio de cultura com diferentes concentrações (1, 3 e 5%) de biochar de casca de madeira produzido a 700 °C proporcionou um aumento na extensão linear e na taxa de crescimento de *R. solani* em comparação com meio de cultura sem adição de biochar. Sendo atribuído esse resultado a vários compostos orgânicos presentes no extrato de biochar de casca de madeira que poderiam ser metabolizados pelo fitopatógeno.

O uso de BLE foi responsável pelo controle dos fungos do gênero *Fusarium*, em que os biochars avaliados neste experimento demonstraram capacidade de inibição dos fungos variando de 6,37 a 11,58% (Tabela 2). Heck et al. (2019) desenvolveram diferentes ensaios avaliando o controle de *F. oxysporum* f. sp. *cubense*. Em um dos experimentos *in vitro* os autores observaram que a adição de biochar de serragem de *Eucalyptus* spp. ao meio cultura não proporcionou efeito inibitório significativo no crescimento micelial do fungo. Em contrapartida, em seu segundo ensaio, os autores observaram que compostos voláteis liberados pelo BCH foram capazes de reduzir o crescimento micelial de *F. oxysporum* f. sp. *cubense*.

A ampla variedade de compostos orgânicos presentes em BCHs tem sido destacada por apresentar efeito inibitório sobre determinados microrganismos habitantes de solo (SPOKAS et al., 2011; SUN et al., 2015). Dentre os principais compostos orgânicos identificados em BCHs e que apresentam potencial supressivo, destacam-se: etilenoglicol e propilenoglicol, ácidos hidroxipropiônico e hidroxibutírico, ácido benzoico e o-cresol, quinonas (resorcinol e hidroquinona) e 2-fenoxietanol (GRABER et al., 2010; BUSS et al., 2015). O ácido lático e o ácido glicólico, observados em biochars produzidos a partir de madeira de eucalipto e resíduos vegetais (JAISWAL et al., 2015), são amplamente reconhecidos por sua atividade fungicida (ABBASI et al., 2009; HASSAN et al., 2015).

A caracterização físico-química do BLE realizada no presente estudo demonstrou que BLEs produzidos em menores temperaturas de pirólise (300 °C) possuem maiores proporções de sólidos voláteis. A presença de compostos orgânicos voláteis (VOCs) pode impactar diretamente os microrganismos de solo (GOROVTSOV et al., 2020) podendo inibir/estimular diretamente os processos microbianos e vegetais (SPOKAS et al., 2011). Conseqüentemente, o

maior efeito inibitório causado pelo BLE 300 em determinados fitopatógenos estudados neste trabalho pode estar associado a maior fração de sólidos voláteis presente em sua composição.

Outra característica físico-química associada ao controle de doenças em plantas diz respeito à presença de ácidos fúlvicos e húmicos no BCH. A atividade antifúngica desses ácidos foi capaz de inibir em até 68% o crescimento das hifas de *Calonectria pseudonaviculata* (SAMAVAT et al., 2020). Com maiores teores de ácidos fúlvicos e húmicos no presente trabalho, o BLE 300 demonstrou maior capacidade de controle sobre quatro microrganismos em relação ao BLE 500, sendo eles: *F. oxysporum*, *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* (CEN1456), *S. rolfsii* (CEN216) e *R. solani*. A capacidade de controle variou de 8,70 a 23%. A matéria orgânica dissolvida, formada por diferentes moléculas orgânicas, dentre elas algumas substâncias húmicas, quando liberadas do biochar pode modificar a estrutura da comunidade microbiana (ZHANG et al., 2020).

As características inerentes aos BLEs avaliados no presente trabalho demonstram uma variação dos teores de carbono e suas frações de acordo com a temperatura de pirólise utilizada. Avaliando essa peculiaridade e o desenvolvimento de microrganismo habitante de solo, Rogovska et al. (2017) associaram menor incidência de podridão radicular causada por *F. virguliforme* aos maiores teores de carbono fixo presentes no biochar. No entanto, os resultados do presente trabalho não seguiram esse padrão, onde o BCH produzido a 500 °C, mesmo apresentando maior teor de carbono fixo que o BCH produzido a 300 °C, não apresentou melhor capacidade de controle dos fitopatógenos, principalmente quando avaliados contra *Fusarium*.

O uso de BLEs, produzidos a 300 e 500 °C, foi eficiente no controle *in vitro* de *R. solani*, com percentual de inibição de crescimento micelial variando de 6,19 a 23% (Tabela 2). Para o controle desse patógeno, o uso de biochar obtido em menor temperatura tem se mostrado mais eficiente quando adotadas concentrações de BLE variando de 0,4 a 0,6%. Jaiswal et al. (2015) demonstraram que biochars produzidos a partir de madeira de eucalipto e de resíduos vegetais também apresentam efeito direto, em ensaio *in vitro*, no controle de *R. solani*, sendo as maiores doses (variando de 0 a 3%) responsáveis pelos melhores resultados de inibição. Entretanto, os autores destacam que mesmo que os BHCs apresentem compostos antifúngicos, como os ácidos lácticos e glicólicos, a curva de resposta da toxicidade direta dos biochars em relação ao patógeno pode não ser a tendência observada em condições que envolvam planta, solo, biochar, dose e patógeno.

A avaliação do fungo *T. afroharzianum* (CEPA T-22) (Figura 4) demonstrou que o BLE apresenta atividade inibitória ao crescimento micelial do fungo em determinadas doses. Tal

resultado foi verificado com o Biochar 300 na concentração 0,6% e com Biochar 500 nas doses de 0,8 e 1,0%. Todavia, as doses que apresentaram maior efeito inibitório sobre os fungos fitopatogênicos não interferiram no crescimento micelial de tal agente de controle biológico, principalmente quando avaliado o efeito do biochar produzido a 500 °C.

O impacto sobre fungos benéficos, como os do gênero *Trichoderma*, em meio enriquecido com biochar é de suma importância para adoção de práticas de controle de doenças de plantas com menor impacto ao meio ambiente, em que diferentes alternativas são adotadas de forma consorciada. Araujo et al. (2019a) observaram que o efeito sinérgico do BLE em conjunto com *Trichoderma* potencializa o controle *in vitro* de *M. phaseolina*, como também, promove o maior desenvolvimento de plantas de feijão (*Phaseolus vulgaris*, cv. BRS Estilo) na presença ou ausência do fitopatógeno. O uso do biochar em conjunto com o *Trichoderma* tem demonstrado que além do maior desenvolvimento e produtividade de plantas cultivadas (ARAÚJO et al., 2019b), este efeito aditivo acarreta melhorias da fertilidade do solo, maior absorção de nutrientes e promovem o crescimento das populações fúngicas e bacterianas da rizosfera (SANI et al., 2020).

No presente estudo, o BLE se mostrou promissor para o controle de diferentes microrganismos fitopatogênicos, contudo, seu uso com esta finalidade deve observar a especificidade que há com cada fungo e a concentração que melhor se enquadra com o este objetivo.

6.6. CONCLUSÃO

O presente estudo permite concluir que o BLE pirolisado a 300 °C foi eficiente no controle de todos os fungos avaliados, com exceção do fungo *Sclerotinia sclerotiorum* (CEN1147). Da mesma forma, o biochar produzido a 500 °C também foi eficiente no controle dos fungos fitopatogênicos, com exceção do *F. oxysporum*. Apesar da interferência no crescimento micelial do agente de controle biológico *T. afroharzianum* (CEPA T-22), as concentrações de biochar que inibiram a maioria dos fungos fitopatogênicos não interferiram de forma negativa no microrganismo benéfico. Conclui-se também que, independentemente da temperatura de pirólise, o uso de BLE em baixas concentrações (até 1%) apresenta efeito direto no controle *in vitro* de diferentes fungos fitopatogênicos, como também, há concentrações específicas para tal finalidade. Portanto, o BLE pode ser usado no controle de fungos patogênicos habitantes do solo. Além disso, as informações obtidas sobre a especificidade entre doses e fungos ajudarão na definição de estratégias de uso do biochar em condições de campo.

6.7. REFERÊNCIAS

- ABBASI, P.A.; LAZAROVITS, G.; JABAJI-HARE, S. Detection of high concentrations of organic acids in fish emulsion and their role in pathogen or disease suppression. **Phytopathology**, v. 99, p. 274-281. 2009. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-99-3-0274>
- AKHTER, A.; HAGE-AHMED, K.; SOJA, G.; STEINKELLNER, S. Compost and biochar alter mycorrhization, tomato root exudation, and development of *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*. **Frontiers in Plant Science**, v. 6 (529), p. 1-13. 2015. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00529>
- ARAUJO, A.S. de; BLUM, L.E.B.; FIGUEIREDO, C.C. de. Biochar and *Trichoderma harzianum* for the control of *Macrophomina phaseolina*. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 62 (e19180259), p. 1-10. 2019a. <https://doi.org/10.1590/1678-4324-2019180259>
- ARAUJO, A.S. de; BLUM, L.E.B.; FIGUEIREDO, C.C. de. The synergistic effect of sewage sludge biochar and *Trichoderma harzianum* on soybean yield. **Australian Journal of Crop Science**, v. 13 (07), p. 1183-1187. 2019b. <https://doi.org/10.21475/ajcs.19.13.07.p1-779>
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Manual de métodos analíticos oficiais para fertilizantes e corretivos / Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Secretaria de Defesa Agropecuária. – Brasília: MAPA**. 240p. 2017.
- BUSS, W.; MAŠEK, O.; GRAHAM, M.; WÜST, D. Inherent organic compounds in biochar – Their content, composition and potential toxic effects. **Journal of Environmental Management**, v. 156, p. 150–157. 2015. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2015.0-3.035>
- CHINTALA, R.; MOLLINEDO, J.; SCHUMACHER, T.E.; MALO, D.D.; JULSON, J.L. Effect of biochar on chemical properties of acidic soil. **Archives of Agronomy and Soil Science**, v. 60 (3), p. 393–404. 2014. <https://doi.org/10.1080/03650340.2013.789870>
- CONTRERAS-CORNEJO, H.A.; MACÍAS-RODRÍGUEZ, L.; DEL-VAL, E.; LARSEN, J. Ecological functions of *Trichoderma* spp. and their secondary metabolites in the rhizosphere: interactions with plants. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 92 (4), p. 1-21. 2016. <https://doi.org/10.1093/femsec/fiw036>

COPLEY, T.R.; ALIFERIS, K.A.; JABAJI, S. Maple bark biochar affects *Rhizoctonia solani* metabolism and increases damping-off severity. **Phytopathology**, v. 105 (10), p. 1334-1346. 2015. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-08-14-0231-R>

FIGUEIREDO, C.; LOPES, H.; COSER, T.; VALE, A.; BUSATO, J.; AGUIAR, N.; NOVOTNY, E.; CANELLAS, L. Influence of pyrolysis temperature on chemical and physical properties of biochar from sewage sludge. **Archives of Agronomy and Soil Science**, v.64 (6), p. 881-889. 2018. <https://doi.org/10.1080/03650340.2017.1407870>

FIGUEIREDO, C.C. de; CHAGAS, J.K.M.; da SILVA, J.; PAZ-FERREIRO, J. Short-term effects of a sewage sludge biochar amendment on total and available heavy metal content of a tropical soil. **Geoderma**, v. 344, p. 31–39. 2019. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2019.0-1.052>

FRENKEL, O.; JAISWAL, A.K.; ELAD, Y.; LEW, B.; GRABER, E.R. The effect of biochar on plant diseases: what should we learn while designing biochar substrates? **Journal of Environmental Engineering and Landscape Management**, v. 25 (2), p. 105–113. 2017. <https://doi.org/10.3846/16486897.2017.1307202>

GATCH, E.W.; DU TOIT, L.J. Limestone-mediated suppression of *Fusarium* wilt in spinach seed crops. **Plant Disease**, v. 101 (1), p. 81–94. 2017. <https://doi.org/10.1094/PDIS-04-16-0423-RE>

GOROVTSOV, A.V.; MINKINA, T.M.; MANDZHIEVA, S.S.; PERELOMOV, L.V.; SOJA, G.; ZAMULINA, I.V.; RAJPUT, V.D.; SUSHKOVA, S.N.; MOHAN, D.; YAO, J. The mechanisms of biochar interactions with microorganisms in soil. **Environmental Geochemistry and Health**, v. 42, p. 2495–2518. 2020. <https://doi.org/10.1007/s10653-019-00412-5>

GRABER, E.R.; FRENKEL, O.; JAISWAL, A.K.; ELAD, Y. How may biochar influence severity of diseases caused by soilborne pathogens? **Carbon Management**, v. 5 (2), p. 169–183. 2014. <https://doi.org/10.1080/17583004.2014.913360>

GRABER, E.R.; HAREL, Y.M.; KOLTON, M.; CYTRYN, E.; SILBER, A.; DAVID, D.R.; TSECHANSKY, L.; BORENSHTEIN, M.; ELAD, Y. Biochar impact on development and productivity of pepper and tomato grown in fertigated soilless media. **Plant and Soil**, v. 337 (1-2), p. 481–496. 2010. <https://doi.org/10.1007/s11104-010-0544-6>

HASSAN, R.; EL-KADI, S.; SAND, M. Effect of some organic acids on some fungal growth and their toxins production. **International Journal of Advances in Biology**, v. 2 (1), p. 1-11. 2015.

HECK, D.W.; GHINI, R.; BETTIOL, W. Deciphering the suppressiveness of banana *Fusarium* wilt with organic residues. **Applied Soil Ecology**, v. 138, p. 47–60. 2019. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2019.02.021>

IBM CORP. Released 2015. **IBM SPSS Statistics for Windows**, Version 23.0. Armonk, NY: IBM Corp. 2015.

JAIWAL, A.K.; ALKAN, N.; ELAD, Y.; SELA, N.; PHILOSOPH, A.M.; GRABER, E.R.; FRENKEL, O. Molecular insights into biochar-mediated plant growth promotion and systemic resistance in tomato against *Fusarium* crown and root rot disease. **Scientific Reports**, v.10 (13934), p. 1-15. 2020. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-70882-6>

JAIWAL, A.K.; ELAD, Y.; CYTRYN, E.; GRABER, E.R.; FRENKEL, O. Activating biochar by manipulating the bacterial and fungal microbiome through pre-conditioning. **New Phytologist**, v. 219 (1), p. 363–377. 2018. <https://doi.org/10.1111/nph.15042>

JAIWAL, A.K.; ELAD, Y.; GRABER, E.R.; FRENKEL, O. *Rhizoctonia solani* suppression and plant growth promotion in cucumber as affected by biochar pyrolysis temperature, feedstock and concentration. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 69, p. 110-118. 2014. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2013.10.051>

JAIWAL, A.K.; FRENKEL, O.; ELAD, Y.; LEW, B.; GRABER, E.R. Non-monotonic influence of biochar dose on bean seedling growth and susceptibility to *Rhizoctonia solani*: the “Shifted Rmax-Effect”. **Plant and Soil**, v. 395, p. 125–140. 2015. <https://doi.org/10.1007/s11104-014-2331-2>

- KHANMOHAMMADI, Z.; AFYUNI, M.; MOSADDEGHI, M.R. Effect of pyrolysis temperature on chemical and physical properties of sewage sludge biochar. **Waste Management & Research**, v. 33(3), p. 275–283. 2015. <https://doi.org/10.1177/0734242X14565210>
- KONG, P.; LEA-COX, J.D.; HONG, C.X. Effect of electrical conductivity on survival of *Phytophthora alni*, *P. kernoviae* and *P. ramorum* in a simulated aquatic environment. **Plant Pathology**, v. 61 (6), p. 1179–1186. 2012. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2012.02614.x>
- LATHA, P.; ANAND, T.; PRAKASAM, V.; JONATHAN, E.I.; PARAMATHMA, M.; SAMIYAPPAN, R. Combining *Pseudomonas*, *Bacillus* and *Trichoderma* strains with organic amendments and micronutrient to enhance suppression of collar and root rot disease in physic nut. **Applied Soil Ecology**, v. 49, p. 215–223. 2011. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2011.05.003>.
- LIU, Z.; DUGAN, B.; MASIELLO, C.A.; GONNERMANN, H.M. Biochar particle size, shape, and porosity act together to influence soil water properties. **Plos One**, v. 12(6): e0179079, 1-19. 2017. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0179079>
- MARSHALL, J.; MUHLACK, R.; MORTON, B.J.; DUNNIGAN, L.; CHITTLEBOROUGH, D.; KWONG, C.W. Pyrolysis temperature effects on biochar–water interactions and application for improved water holding capacity in vineyard soils. **Soil Systems**, v.3 (27), p. 1-14. 2019. <https://doi.org/10.3390/soilsystems3020027>
- MUKOME, F.N.D.; ZHANG, X.; SILVA, L.C.R.; SIX, J.; PARIKH, S.J. Use of chemical and physical characteristics to investigate trends in biochar feedstocks. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 61 (9), p. 2196–2204. 2013. <https://doi.org/10.1021/jf3049-142>
- ROGOVSKA, N.; LAIRD, D.; LEANDRO, L.; ALLER, D. Biochar effect on severity of soybean root disease caused by *Fusarium virguliforme*. **Plant and Soil**, v. 413, p. 111–126. 2017. <https://doi.org/10.1007/s11104-016-3086-8>
- SAMAVAT, S.; SAMAVAT, S.; WYKA, S.A. Humic and fulvic acids against boxwood blight disease caused by *Calonectria pseudonaviculata*. **Forest Pathology**, v. 50 (2), p. 1-8. 2020. <https://doi.org/10.1111/efp.12583>

SAMOLADA, M.C.; ZABANIOTOU, A.A. Comparative assessment of municipal sewage sludge incineration, gasification and pyrolysis for a sustainable sludge-to-energy management in Greece. **Waste Management**, v. 34, p. 411-420. 2014. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2013.11.003>

SANI, M.N.H.; HASAN, M.; UDDAIN, J.; SUBRAMANIAM, S. Impact of application of *Trichoderma* and biochar on growth, productivity and nutritional quality of tomato under reduced N-P-K fertilization. **Annals of Agricultural Sciences**, v. 65 (1), p. 107-115. 2020. <https://doi.org/10.1016/j.aos.2020.06.003>

SERRANO, M.S.; DE VITA, P.; FERNÁNDEZ-REBOLLO, P.; HERNÁNDEZ, M.E.S. Calcium fertilizers induce soil suppressiveness to *Phytophthora cinnamomic* root rot of *Quercus ilex*. **European Journal of Plant Pathology**, v. 132, p. 271–279. 2012. <https://doi.org/10.1007/s10658-011-9871-6>

SILVA, F.C. da. Manual de Análises Químicas de Solos, Plantas e Fertilizantes, 2nd ed. Embrapa Informação Tecnológica: Brasília, Brasil, 627p. 2009.

SINGH, B.N.; SINGH, A.; SINGH, G.S.; DWIVEDI, P. Potential role of *Trichoderma asperellum* T42 strain in growth of pea plant for sustainable agriculture. **Journal of Pure and Applied Microbiology**, v. 9, p. 1069–1074. 2015. <https://doi.org/10.13140/RG.2.1.4845.3201>

SOHI, S.P. Carbon storage with benefits. **Science**, v. 338, p. 1034-1035. 2012. <https://doi.org/10.1126/science.1225987>

SPOKAS, K.A.; NOVAK, J.M.; STEWART, C.E.; CANTRELL, K.B.; UCHIMIYA, M.; DUSAIRE, M.G.; RO, K.S. Qualitative analysis of volatile organic compounds on biochar. **Chemosphere**, v. 85 (5), p. 869–882. 2011. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2011.06.108>

SUN, D.; MENG, J.; LIANG, H.; YANG, E.; HUANG, Y.; CHEN, W.; JIANG, L.; LAN, Y.; ZHANG, W.; GAO, J. Effect of volatile organic compounds absorbed to fresh biochar on survival of *Bacillus mucilaginosus* and structure of soil microbial communities. **Journal of Soils and Sediments**, v. 15 (2), p. 271–281. 2015. <https://doi.org/10.1007/s11368-014-0996-z>

SWIFT, R.S. Organic matter characterization. In: Sparks, D.L.; Page, A.L.; Helmke, P.A.; Loeppert, R.H. (Eds.). *Methods of Soil Analysis Part 3 - Chemical Methods*. **Soil Science Society of America**. American Society of Agronomy, Madison, WI, p. 1011–1069. 1996.

SYSTAT SOFTWARE. **SigmaPlot for Windows**. Version 12.5 (SPSS Inc., Point Richmond, CA, USA). 2013.

TIAN, Y.; CUI, L.; LIN, Q.; LI, G.; ZHAO, X. The sewage sludge biochar at low pyrolysis temperature had better improvement in urban soil and turf grass. **Agronomy**, v. 9 (156), p. 1–13. 2019. <https://doi.org/10.3390/agronomy9030156>

TOMCZYK, A.; SOKOŁOWSKA, Z.; BOGUTA, P. Biochar physicochemical properties: pyrolysis temperature and feedstock kind effects. **Reviews in Environmental Science and Bio/Technology**, v. 19, p. 191–215. 2020. <https://doi.org/10.1007/s11157-020-09523-3>

VECSTAUDZA, D.; GRANTINA-IEVINA, L.; MAKARENKOVA, G.; KASPARINSKIS, R.; SELGA, T.; STEINBERGA, V.; STELMAHERE, S.; STEINER, C.; MUTER, O. The impact of wood-derived biochar on the survival of *Trichoderma* spp. and growth of *Secale cereale* L. in sandy soil. **Biocontrol Science and Technology**, v. 28 (4), p. 341–358. 2018. <https://doi.org/10.1080/09583157.2018.1450488>

XU, D.; DENG, Y.; XI, P.; YU, G.; WANG, Q.; ZENG, Q.; JIANG, Z.; GAO, L. Fulvic acid-induced disease resistance to *Botrytis cinerea* in table grapes may be mediated by regulating phenylpropanoid metabolism. **Food Chemistry**, v. 286, p. 226–233. 2019. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.02.015>

YEOMANS, J.C.; BREMNER, J.M. A rapid and precise method for routine determination of organic carbon in soil. **Communications Soil Science and Plant Analysis**, v. 19, p. 1467–1476. 1988. <https://doi.org/10.1080/00103628809368027>

YUAN, H.; LU, T.; HUANG, H.; ZHAO, D.; KOBAYASHI, N.; CHEN, Y. Influence of pyrolysis temperature on physical and chemical properties of biochar made from sewage sludge. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**, v. 112, p. 284–289. 2015. <https://doi.org/10.1016/j.jaap.2015.01.010>

ZHANG, P.; HUANG, P.; XU, X.; SUN, H.; JIANG, B.; LIAO, Y. Spectroscopic and molecular characterization of biochar-derived dissolved organic matter and the associations with soil microbial responses. **Science of the Total Environment**, v. 708 (134619), p. 1-11. 2020. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.134619>

ZHANG, X.; WANG, H.; HE, L.; LU, K.; SARMAH, A.; LI, J.; BOLAN, N.S.; PEI, J.; HUANG, H. Using biochar for remediation of soils contaminated with heavy metals and organic pollutants. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 20, p. 8472–8483. 2013. <https://doi.org/10.1007/s11356-013-1659-0>

ZHANG, Y.; ZHAO, L.; FENG, Z.; GUO, H.; FENG, H.; YUAN, Y.; WEI, F.; ZHU, H. The role of a new compound micronutrient multifunctional fertilizer against *verticillium dahliae* on cotton. **Pathogens**, v. 10 (81), p. 1-14. 2021. <https://doi.org/10.3390/patho-gens10010081>

ZONG, Y.; WANG, Y.; SHENG, Y.; WU, C.; LU, S. Ameliorating soil acidity and physical properties of two contrasting texture Ultisols with wastewater sludge biochar. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 25 (26), p. 25726–25733. 2018. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-9509-0>

ZWART, D.C.; KIM, S.H. Biochar amendment increases resistance to stem lesions caused by *Phytophthora* spp. in tree seedlings. **HortScience**, v. 47, p. 1736–1740. 2012. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.47.12.1736>

CAPÍTULO II

BIOCHAR DE LODO DE ESGOTO E *Trichoderma afroharzianum* NO CONTROLE DE *Sclerotium rolfsii* em MUDAS DE TOMATE

7. BIOCHAR DE LODO DE ESGOTO E *Trichoderma afroharzianum* NO CONTROLE DE *Sclerotium rolfsii* em MUDAS DE TOMATE

7.1. RESUMO

Biochar (BCH) é um produto sólido oriundo da decomposição térmica de um material orgânico em condições limitantes ou ausentes de oxigênio. O uso do BCH está associado a melhorias das propriedades físicas, químicas e biológicas do solo. O BCH vem sendo amplamente estudado por suprimir determinados fitopatógenos, reduzindo assim o seu efeito deletério em plantas cultivadas. No entanto, estudos sobre a associação de BCH com microrganismos benéficos no controle de fungos patogênicos ainda são limitados. Neste trabalho foi avaliado o efeito direto do biochar de lodo de esgoto (BLE) combinado ou não com *Trichoderma afroharzianum* no crescimento *in vitro* do fitopatógeno *Sclerotium rolfsii*. Foi avaliado também o efeito da combinação BLE + *T. afroharzianum*, na ausência ou presença do fitopatógeno *S. rolfsii*, na produção de mudas de tomate cv. Coração de Boi. O experimento *in vitro* contou com os seguintes tratamentos: *S. rolfsii* em BDA (controle); *S. rolfsii* em BDA + BLE; *S. rolfsii* x *T. afroharzianum* em BDA; *S. rolfsii* x *T. afroharzianum* em BDA + BLE. No experimento com plantas foram avaliados os seguintes tratamentos: 1) espécie vegetal (EV) (controle); 2) EV + BLE; 3) EV + *T. afroharzianum*; 4) EV + BLE + *T. afroharzianum*; 5) EV + *S. rolfsii*; 6) EV + BLE + *S. rolfsii*; 7) EV + *T. afroharzianum* + *S. rolfsii*; 8) EV + BLE + *T. afroharzianum* + *S. rolfsii*. No ensaio *in vitro*, a utilização de BLE em conjunto com o *T. afroharzianum* potencializou o efeito de controle sobre o fitopatógeno *S. rolfsii*, sendo observada uma inibição do crescimento micelial de, aproximadamente, 70%. A combinação BLE + *T. afroharzianum* foi responsável pelo maior desenvolvimento das mudas de tomate, tanto na ausência como presença do fitopatógeno *S. rolfsii*. Na presença do fungo *S. rolfsii* foi observado um incremento de 27% em massa fresca de parte aérea e, aproximadamente, 130% em massa fresca de raiz em comparação a não adoção de medidas de controle do fitopatógeno. Portanto, a combinação BLE + *T. afroharzianum* pode ser vista como uma estratégia a ser incluída no manejo para produção de mudas de tomate, auxiliando também no controle de fitopatógenos.

Palavras-chave: Biossólido, *Solanum lycopersicum*, Fitopatógenos, Controle biológico.

7.2. ABSTRACT

Biochar (BCH) is a solid product resulting from the thermal decomposition of an organic material under limiting conditions or in the absence of oxygen. The use of BCH is associated with improvements in the physical, chemical and biological properties of the soil. BCH has been widely studied for suppressing certain phytopathogens, thus reducing its deleterious effect on cultivated plants. However, studies on the association of BCH with beneficial microorganisms in the control of pathogenic fungi are still limited. In this work, the direct effect of sewage sludge biochar (SSB) combined or not with *Trichoderma afroharzianum* on the *in vitro* growth of the phytopathogen *Sclerotium rolfsii* was evaluated. The effect of the combination SSB + *T. afroharzianum*, in the absence or presence of the phytopathogen *S. rolfsii*, on the production of tomato seedlings cv. Coração de Boi. The *in vitro* experiment had the following treatments: *S. rolfsii* in PDA (control); *S. rolfsii* in PDA + SSB; *S. rolfsii* x *T. afroharzianum* in PDA; *S. rolfsii* x *T. afroharzianum* in PDA + SSB. In the experiment with plants, the following treatments were evaluated: 1) plant species (PS) (control); 2) PS + SSB; 3) PS + *T. afroharzianum*; 4) PS + SSB + *T. afroharzianum*; 5) PS + *S. rolfsii*; 6) PS + SSB + *S. rolfsii*; 7) PS + *T. afroharzianum* + *S. rolfsii*; 8) PS + SSB + *T. afroharzianum* + *S. rolfsii*. In the *in vitro* assay, the use of SSB together with *T. afroharzianum* potentiated the control effect on the phytopathogen *S. rolfsii*, with an inhibition of mycelial growth of approximately 70%. The combination SSB + *T. afroharzianum* was responsible for the greater development of tomato seedlings, both in the absence and presence of the phytopathogen *S. rolfsii*. In the presence of the fungus *S. rolfsii*, an increase of 27% in shoot fresh mass and approximately 130% in root fresh mass was observed in comparison to the non-adoption of phytopathogen control measures. Therefore, the combination SSB + *T. afroharzianum* can be seen as a strategy to be included in the management for the production of tomato seedlings, also helping to control phytopathogens.

Keywords: Biosolid, *Solanum lycopersicum*, Phytopathogens, Biological control.

7.3. INTRODUÇÃO

Biochar (BCH) é um produto sólido obtido após a pirólise de biomassas predominantemente orgânicas (SOHI, 2012; DUAN et al., 2020). O processo de pirólise é caracterizado pela decomposição térmica do material em condições limitantes ou ausentes de oxigênio (SAMOLADA e ZABANIOTOU, 2014), em que diferentes matérias-primas podem

ser usadas para a produção de biochar (GHODAKE et al., 2021). Como fertilizante ou condicionador do solo, seu uso contribui para melhorias dos atributos físicos (DUARTE et al., 2019), químicos (FARIA et al., 2018) e biológicos do solo (WONG et al., 2019).

A incorporação de BCH aumenta a capacidade de retenção de água no solo (HUANG et al., 2021), reduz a perda de nutrientes por lixiviação (ALKHARABSHEH et al., 2021), adiciona nutrientes disponíveis para as plantas (AHMAD et al., 2022), corrige a acidez do solo (LAURICELLA et al., 2021), promove o sequestro de carbono (SÁNCHEZ-GARCÍA et al., 2019), podendo ainda reduzir as emissões de gases de efeito estufa do solo (DAWAR et al., 2021). Além disso, BCH pode melhorar a sincronia temporal entre a demanda das culturas por nitrogênio (N) e a disponibilidade de N oriundo do solo (YU et al., 2018).

A possibilidade do BCH, quando adicionado ao solo, provocar uma inibição ou mesmo suprimir fitopatógenos e, conseqüentemente, reduzir a severidade, ou até mesmo evitar o acometimento de doenças em plantas, tem despertado a atenção em diferentes estudos (ARIF et al., 2021; Da SILVA et al., 2022; De MEDEIROS et al., 2022). A efetividade do BCH para controlar fitopatógenos é variável com o tipo de matéria-prima utilizada para sua produção, as condições de pirólise e a concentração/quantidade de BCH aplicada (JAISWAL et al., 2015).

O BCH, quando adicionado ao solo, pode modificar o sistema rizosfera-raiz-solo-patógeno em função de suas várias propriedades físicas e químicas, como conteúdo de nutrientes, capacidade de retenção de água, atividade redox, capacidade de adsorção, pH e compostos tóxicos e semelhantes a hormônios (GRABER et al., 2014). O fornecimento de nutrientes melhora as propriedades morfológicas, histológicas e funcionais dos tecidos das plantas, como também, mantém um alto nível de compostos inibitórios em seus tecidos, permitindo respostas rápidas das plantas ao ataque de patógenos (DATNOFF et al., 2007). A disponibilidade de nutrientes por meio da aplicação de BCH ao solo pode reduzir a severidade da doença.

O BCH altera a estrutura e a diversidade da microbiota do solo, e conseqüentemente, favorece determinados grupos de microrganismos associados à promoção de crescimento de plantas, supressão de doenças e outros possíveis papéis ecológicos (JAISWAL et al., 2018a). Tais impactos na microbiota da rizosfera são tidos como mecanismos indiretos de controle de fitopatógenos (JAISWAL et al., 2018b). A interação entre BCH e microrganismos benéficos, como o *Trichoderma*, demonstra a viabilidade de associação de diferentes mecanismos de inibição de fitopatógenos. Esta interação possibilita potencializar a capacidade de controle de

doenças, favorecendo melhores resultados de desenvolvimento das plantas (ARAUJO et al., 2019a; ARAUJO et al., 2019b).

As espécies do fungo *Trichoderma* são amplamente reconhecidas pela capacidade de estimular o crescimento e a produtividade das plantas (SINGH et al., 2015). Os mecanismos associados a esta capacidade envolvem: aumento da disponibilidade de nutrientes no solo (ZHANG et al., 2019); da eficiência e reciclagem de nutrientes (MERCL et al., 2020); liberação de compostos estimuladores de crescimento (HERRERA-JIMÉNEZ et al., 2018); e o controle de doenças (BADER et al., 2020).

A resposta de crescimento de plantas de tomate (*Solanum lycopersicum*) e a supressão de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* com o uso do BCH é dependente do tipo de matéria prima pirolisada (AKHTER et al., 2015). Ainda de acordo com esses autores, o BCH foi capaz de alterar exsudatos radiculares de tomate, e, conseqüentemente, melhorar a resposta da planta ao estresse da doença. Biochars preparados a partir de duas matérias-primas (madeira de eucalipto e resíduos de casa de vegetação), produzidos a 350 e 600 °C, aplicados em concentrações baixas promoveram o crescimento de plantas, como também, suprimiram o “damping-off” causado por *R. solani* (JAISWAL et al., 2014).

A interação entre biochar de lodo de esgoto (BLE) e *T. harzianum* demonstrou uma maior capacidade de controle do fungo *Macrophomina phaseolina* em feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*) quando comparada com a aplicação individual dos métodos de controle (ARAUJO et al., 2019a). Logo, a complexidade do controle de fungos fitopatogênicos habitantes de solo exige a adoção de medidas alternativas e eficientes para manejo das doenças, reduzindo os custos e os impactos ao meio ambiente.

O tomate é uma das principais olerícolas produzida no Brasil (CEPEA, 2018). Muitas doenças acometem o tomateiro, causando grande redução da produtividade e da qualidade do produto, característica que exige um tratamento preventivo das doenças (EMBRAPA, 2005). Dentre os principais fitopatógenos que atacam a cultura do tomateiro, destacam-se os fungos: *Fusarium oxysporum* f. sp. *Lycopersici* (Murcha-de-fusário), *Rhizoctonia solani* (Mela-de-rizoctonia), *Sclerotium rolfsii* (Podridão-de-esclerócio), *Sclerotinia sclerotiorum* (Podridão-de-esclerotínia), *Phytophthora infestans* (Requeima), *Septoria lycopersici* (Septoriose), *Alternaria solani* (Pinta-preta).

O alto custo de produção das culturas agrícolas, principalmente as olerícolas, e a complexidade do controle de fungos fitopatogênicos habitantes de solo direcionam à adoção de medidas alternativas e eficientes para manejo das doenças, reduzindo os custos e os impactos

ao meio ambiente. Com base nesse cenário, este trabalho teve como objetivo avaliar o uso de BLE em combinação com *T. afroharzianum* para controle de *S. rolfsii in vitro* e em mudas de tomate.

7.4. MATERIAL E MÉTODOS

7.4.1. Obtenção e caracterização dos biochar

O BCH foi produzido a partir da biomassa de lodo de esgoto (LE) oriunda da Estação de Tratamento de Esgotos (ETE) da Companhia de Saneamento Ambiental do Distrito Federal (CAESB), localizada em Samambaia, Brasília, DF, Brasil. O esgoto, oriundo, predominantemente, de área doméstica, foi submetido a um sistema de tratamento em nível terciário, incluindo a adição de sulfato de alumínio. Esse sistema de tratamento engloba a decomposição anaeróbica do lodo, como também, a remoção do fósforo (P) e nitrogênio do efluente líquido. Como consequência, a biomassa final de LE apresenta-se enriquecida em P e N. Por outro lado, nesse processo, o potássio (K) não é removido do efluente líquido, resultando em um LE pobre neste nutriente.

O LE foi seco ao ar até apresentar, aproximadamente, 10% de umidade. Em seguida, foi triturado e passado por uma peneira de 8 mm e, posteriormente, submetido à temperatura de 300 °C em um forno de pirólise (Linn Elektro Therm, Eschenfelden, Alemanha) com dimensões de 610 x 610 x 590 mm (largura x profundidade x altura). Para realização do processo de pirólise, o LE foi acondicionado em um recipiente metálico de 30 litros adaptado ao espaço interno do forno contendo um sistema de saída de gás e bio-óleo, e um mecanismo para evitar o fluxo de oxigênio. Para o controle da temperatura, uma sonda de penetração tipo-K (modelo MTK-15, São Paulo, Brasil) foi acoplada a um termômetro digital (KT-160A, Swidnica, Polônia). O BLE foi produzido a uma taxa média de aumento de temperatura de 2,5 °C min⁻¹, totalizando 110 minutos para atingir a temperatura de 300 °C, e um tempo de residência de 300 minutos.

As propriedades físico-químicas do LE e do BLE são apresentadas na Tabela 3. Os teores totais de carbono (C) e N foram determinados em um analisador elementar (PE 2400, série II CHNS / O, PerkinElmer, Norwalk, EUA). O pH foi determinado em uma solução de CaCl₂ 10 µmol L⁻¹, usando uma suspensão de 1:5 (p/v, biochar:solução) (BRASIL, 2017). As substâncias húmicas (SH) foram determinadas por fracionamento através da solubilidade em meio alcalino e ácido (SWIFT, 1996). As substâncias húmicas foram extraídas pela solução NaOH 0,1 M e o teor de carbono foi determinado de acordo com o método de Yeomans e

Bremner (1988). Os teores de macronutrientes [P, K, cálcio (Ca), magnésio (Mg), enxofre (S)] foram determinados após a digestão nitroperclórica (SILVA, 2009). O P foi quantificado pelo método do molibdovanadato, o K por fotometria de chama e os demais (Ca, Mg e S) foram determinados por espectrometria de emissão óptica por plasma acoplado indutivamente (ICP-OES) (ICPE-9000, Shimadzu, Japão). Informações complementares sobre as metodologias utilizadas para caracterização físico-química do LE e do biochar estão disponíveis em Figueiredo et al. (2018) e Figueiredo et al. (2019).

Tabela 3. Propriedades físico-químicas do lodo de esgoto (LE) e do biochar (BLE 300 °C) utilizado no estudo.

Propriedades	Lodo de esgoto	BLE 300 °C
Umidade (%)	10,62 ± 1,56	4,26 ± 0,23
Sólidos Voláteis (%)	48,25 ± 1,36	41,75 ± 2,47
Cinzas (%)	39,33 ± 2,38	48,27 ± 1,08
Carbono Fixo (%)	1,79 ± 0,52	5,72 ± 1,55
Carbono Inerte (%)	3,23 ± 0,39	2,86 ± 0,34
Carbono Total (%)	18,58 ± 0,26	19,92 ± 0,28
COT (%)	17,45 ± 0,85	18,61 ± 0,09
MOT (%)	30,09 ± 1,47	32,09 ± 0,15
Ácido Fúlvico (g kg ⁻¹)	24,10 ± 0,58	23,89 ± 0,33
Ácido Húmico (g kg ⁻¹)	8,45 ± 0,39	7,51 ± 0,11
Huminas (g kg ⁻¹)	146,28 ± 3,00	139,90 ± 1,21
Nitrogênio (%)	3,99 ± 0,05	5,05 ± 1,16
C/N	4,66 ± 0,02	3,95 ± 0,96
pH (CaCl ₂)	5,48 ± 0,02	6,04 ± 0,04
CTC (mmol L ⁻¹)	286,67 ± 1,53	265,00 ± 2,00
Fósforo (g kg ⁻¹)	22,81 ± 1,84	28,70 ± 0,33
Potássio (g kg ⁻¹)	0	0
Cálcio (g kg ⁻¹)	13,17 ± 0,21	11,33 ± 0,15
Magnésio (g kg ⁻¹)	2,53 ± 0,06	2,77 ± 0,06
Enxofre (g kg ⁻¹)	13,70 ± 0	15,10 ± 0
Boro (mg kg ⁻¹)	0	0
Cobre (mg kg ⁻¹)	100,00 ± 0	113,33 ± 5,77
Ferro (g kg ⁻¹)	15,40 ± 0,17	16,40 ± 0,10
Manganês (mg kg ⁻¹)	100 ± 0	100 ± 0
Zinco (mg kg ⁻¹)	400,00 ± 0	503,33 ± 5,77

Valores médios ± desvio padrão (n = 3); COT: carbono orgânico total; MOT: matéria orgânica total; CTC: capacidade de troca de cátions.

7.4.2. Biochar de lodo de esgoto e *Trichoderma afroharzianum* na inibição do crescimento micelial de *Sclerotium rolfsii*

O experimento foi realizado no Departamento de Fitopatologia, localizado no Instituto de Ciências Biológicas – UnB. O BCH foi macerado em almofariz e, posteriormente, passado em peneira com malha de 500 µm. O meio de cultura para os testes *in vitro* foi Batata-Dextrose-Ágar (BDA - Acumedia®, Michigan, Estados Unidos da América), sendo preparado adotando-se 39 g de BDA sintético em 1 litro de água destilada. Após tal procedimento, o BCH foi adicionado ao Erlenmeyer contendo o preparo do meio de cultura e autoclavado a 121 °C por 30 minutos. Após o resfriamento (50 °C), o meio de cultura foi vertido em placas de Petri (~25 mL por placa).

Um experimento preliminar foi conduzido com diferentes concentrações de BLE com intuito de determinar a dose com maior percentual de controle do fungo *S. rolfsii*. Esse teste demonstrou que a concentração de 0,6% (0,6 g de biochar por 100 mL de meio de cultura) expressou o maior controle sobre o crescimento micelial do fungo.

Os fungos *T. afroharzianum* (CEPA T-22) e *S. rolfsii* (isolado CEN216) foram transferidos para meio de cultura BDA. Discos de micélio com 10 mm de diâmetro foram retirados das bordas das colônias de *T. afroharzianum* e de *S. rolfsii*, ambos com sete dias de crescimento, e repicados para placas em que foram realizados os pareamentos.

Os tratamentos deste experimento foram: *S. rolfsii* em BDA (controle); *S. rolfsii* em BDA + BLE; *S. rolfsii* x *T. afroharzianum* em BDA; *S. rolfsii* x *T. afroharzianum* em BDA + BLE.

O experimento contou com cinco repetições, em delineamento inteiramente casualizado, sendo mantido em temperatura ambiente (variando de 12 a 26 °C) e período de incidência luminosa de aproximadamente 12 horas. As avaliações iniciaram 24 horas após a montagem do experimento, sendo realizadas medições diárias do crescimento micelial, totalizando um período de 120 horas. As medições foram realizadas com paquímetro digital (150 mm/MTX).

Este experimento foi conduzido almejando avaliar a capacidade de biocontrole do *T. afroharzianum* (CEPA T-22) em meio BDA e o possível efeito aditivo com o BLE no controle *in vitro* do fitopatógeno.

7.4.3. Efeito do biochar e *T. afroharzianum* em mudas de tomate

O estudo foi realizado na Estação Experimental de Biologia da UnB, com intuito de avaliar o efeito do BLE, do *T. afroharzianum* e da associação BLE + *T. afroharzianum*, aplicados no substrato, no desenvolvimento de mudas de tomate em telado. Nesse experimento foram avaliadas também a capacidade desses tratamentos no controle de *S. rolfsii* (isolado CEN216) e a mitigação dos efeitos deletérios ocasionados por esse fitopatógeno.

O BCH foi passado em peneira com malha de 500 micrômetros e adotada a dose de 0,6% (v/v) em decorrência do experimento *in vitro* anteriormente realizado. O substrato escolhido para semeadura das sementes foi Bioplant®, sendo este formulado a partir de turfa de Sphagnum, fibra de coco, casca de arroz, casca de pinus e vermiculita.

Nesse experimento foi avaliado o tomate de mesa cv. Coração de Boi (marca Feltrin®), que apresenta hábito de crescimento indeterminado. A semeadura da espécie vegetal ocorreu em bandejas para mudas, sendo utilizadas duas sementes por célula.

Para a produção do inóculo, aproximadamente 200 mL de BDA foram vertidos em Erlenmeyer de 1 L. Com o resfriamento e solidificação do meio de cultura, foi realizada a repicagem do fitopatógeno *S. rolfsii*. Após 48 horas de crescimento do fungo, o Erlenmeyer foi deslacrado, sendo adicionado em torno de 250 g de arroz parboilizado autoclavado. Visto que, para a realização da autoclavagem do arroz, foi necessário o acréscimo de 25 mL de água destilada, representando 10% da massa do arroz. Os Erlenmeyer foram novamente lacrados e, o arroz submetido à colonização pelo fungo por 7 dias. A cada 24 horas, os Erlenmeyer eram agitados, objetivando a colonização homogênea do arroz. Foi realizado o mesmo procedimento, entretanto, sem a adição do *S. rolfsii*, para compor os tratamentos sem o fitopatógeno.

A infestação do substrato com o patógeno foi realizada 3 dias antes da semeadura do tomate cv. Coração de Boi (marca Feltrin®), sendo adotado 5 g de arroz colonizado pelo patógeno L⁻¹ de substrato (FALCÃO et al., 2005). O agente de controle biológico *T. afroharzianum* foi aplicado ao substrato em dois momentos, na montagem do experimento e no dia da semeadura do tomate. No primeiro momento, foi definida a dose de 1 mL da suspensão de *T. afroharzianum* (5×10^5 UFC mL⁻¹) por litro de substrato. No segundo momento, foi aplicado 0,1 mL da suspensão por célula da bandeja de mudas.

Os tratamentos utilizados foram: 1) espécie vegetal (EV) (controle); 2) EV + BLE; 3) EV + *T. afroharzianum*; 4) EV + BLE + *T. afroharzianum*; 5) EV + *S. rolfsii*; 6) EV + BLE + *S. rolfsii*; 7) EV + *T. afroharzianum* + *S. rolfsii*; 8) EV + BLE + *T. afroharzianum* + *S. rolfsii*. O experimento foi irrigado a cada 24 horas, sendo adotado um volume de água de,

aproximadamente, 10 mL por célula da bandeja. Todos os tratamentos foram irrigados de forma igualitária.

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com trinta e duas repetições. Desse total, 7 plantas com 35 dias após semeadura foram retiradas ao acaso para determinação dos parâmetros agronômicos, tais como: massa fresca (g), massa seca (g) e comprimento (cm), tanto de parte aérea como raiz.

7.4.4. Análise estatística

Os dados foram submetidos a análise de variância (ANOVA) e as médias foram comparadas pelo teste de Duncan ($p < 0,05$). As análises foram realizadas utilizando o programa IBM SPSS Statistics, versão 23.0 (IBM, 2015), e os gráficos desenvolvidos por meio do programa SigmaPlot, versão 12.5 (SYSTAT SOFTWARE, 2013).

7.5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

7.5.1. Biochar de lodo de esgoto e *Trichoderma afroharzianum* na inibição do crescimento micelial de *Sclerotium rolfsii*

A adição de BLE em BDA resultou na inibição do crescimento micelial do fungo fitopatogênico *S. rolfsii* (Figura 5). Esse resultado foi observado a partir de 24 horas após montagem do ensaio, sendo esse efeito presente durante todos os períodos de avaliação do crescimento do fungo. Após 120 horas de incubação, o BLE proporcionou uma inibição de, aproximadamente, 15% do crescimento micelial do *S. rolfsii*.

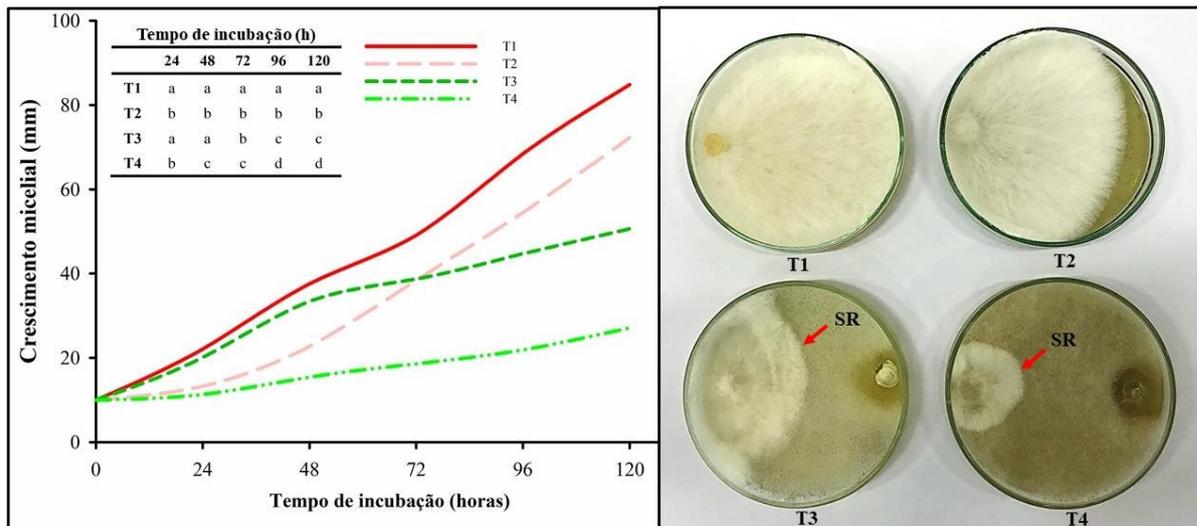


Figura 5. Pareamento de espécies em meio de cultura sem e com BLE [0,6%]. T1: *Sclerotium rolfsii* em BDA (controle); T2: *S. rolfsii* em BDA + BLE; T3: *S. rolfsii* x *Trichoderma afroharzianum* em BDA; T4: *S. rolfsii* x *T. afroharzianum* em BDA + BLE. SR - *S. rolfsii*. Letras iguais indicam ausência de diferença significativa entre tratamentos, em cada tempo avaliado, de acordo com o teste de Duncan ($p < 0,05$).

A capacidade do BLE controlar diferentes fungos fitopatogênicos já foi abordada em trabalhos anteriores, sendo esses resultados observados desde condições *in vitro* (ARAÚJO et al., 2021), como também, em casa de vegetação (ARAÚJO et al., 2019a). Araujo et al. (2021) demonstraram que para cada fitopatógeno há uma dose específica de BLE que apresenta maior inibição micelial, da mesma forma que, diferentes temperaturas de pirólise podem influenciar no controle desses microrganismos.

O controle de fitopatógenos observado no presente estudo também pode ser alcançado com biochars obtidos de diversas matérias-primas tais como lascas de madeiras, fração orgânica dos resíduos sólidos urbanos e resíduos vegetais (BONANOMI et al., 2018).

A capacidade de BCHs controlar de forma direta microrganismos fitopatogênicos está associada a composição química desse material. Nos BCHs, a presença de determinados compostos como etilenoglicol e propilenoglicol, ácidos hidroxipropiônico e hidroxibutírico, ácido benzoico e o-cresol, quinonas (resorcinol e hidroquinona) e 2-fenoxietanol afetam o crescimento e a sobrevivência de microrganismos (GRABER et al., 2010). Dentre os mecanismos dessa interação há também o efeito tóxico dos compostos orgânicos voláteis (VOC) que atuam diretamente sobre os microrganismos (GOROVTSOV et al., 2020).

Os resultados do pareamento de espécies também evidenciaram a capacidade antagonista do *T. afroharzianum* sobre o *S. rolfsii*. A partir de 72 horas de incubação, houve

uma inibição acentuada do fitopatógeno pela presença do *T. afroharzianum*, sendo essa inibição potencializada nos períodos posteriores de avaliação (Figura 5). Conseqüentemente, na última avaliação, após 120 horas, foi observada uma inibição do crescimento micelial do fitopatógeno de, aproximadamente, 40%.

Diferentes espécies do fungo *Trichoderma* apresentam atividade antagonista sobre o crescimento do *S. rolfsii* (KUSHWAHA et al., 2018). Esses autores observaram uma capacidade de inibição que variou de 50,85 a 63,60% após 72 horas de incubação e, descreveram a produção de metabólitos voláteis tóxicos como responsável pelo efeito de inibição do crescimento micelial e pela redução da formação de esclerócios pelo patógeno. Hua et al. (2021) abordaram a produção de gliotoxina por *Trichoderma virens* T23 como um dos mecanismos envolvidos no controle de *S. rolfsii*. Os autores destacam a gliotoxina como um importante metabólito antifúngico e, demonstraram que esse metabólito é responsável por alterações nas células das hifas de *S. rolfsii*, ocasionando redução do número e comprimento das cristas mitocondriais.

Suriyagamon et al. (2018) destacaram a importância do fungo *Trichoderma* para controle do *S. rolfsii*, sendo o *T. harzianum* o agente de controle biológico avaliado no estudo com maior eficiência de controle, apresentando 90% de inibição contra o fitopatógeno em ensaio *in vitro*. Resultado semelhante ao descrito por Hirpara et al. (2017), em que o *T. harzianum* promoveu uma inibição superior a 60% do crescimento micelial do *S. rolfsii*, podendo esse controle estar associado a liberação de antioxidantes no meio de crescimento do fungo durante o antagonismo, suprimindo o estresse oxidativo e a peroxidação lipídica micelial, resultando em uma inibição do crescimento do patógeno.

Os resultados do presente estudo demonstram um efeito aditivo da utilização de BLE em conjunto com o *T. afroharzianum*, potencializando a inibição sobre o fitopatógeno *S. rolfsii*. Os resultados de supressão são observados desde o início das avaliações (Figura 5). Ao final do período de incubação, foi possível contabilizar uma supressão de, aproximadamente, 70% do crescimento micelial do fungo *S. rolfsii*. A associação de BLE com *T. afroharzianum* superou os efeitos individuais desses agentes de controle, realçando o efeito aditivo que há no controle desse fitopatógeno.

A composição química do BCH e a sua interferência nas propriedades físico-químicas do meio em que é inserido são fatores importantes que interferem no desenvolvimento de organismos, tais como fungos e nematoides (MARRA et al., 2018). A matéria orgânica dissolvida, composta por diferentes moléculas orgânicas, dentre elas, algumas substâncias

húmicas, quando liberadas do BCH podem alterar a estrutura da comunidade microbiana (ZHANG et al., 2020).

O efeito aditivo entre BCH e *Trichoderma* já foi demonstrado em estudos com outras espécies de microrganismos e plantas. Araujo et al. (2019a) observaram que a associação BLE + *Trichoderma harzianum* foi responsável pelo controle do fitopatógeno *Macrophomina phaseolina*, tanto em ensaio *in vitro* como em plantas de feijão (*Phaseolus vulgaris*). De forma semelhante, a associação BCH de resíduos vegetais + *Trichoderma aureoviride* URM 5158 reduziu em 75% a gravidade da podridão da raiz da mandioca (*Manihot esculenta*) (da SILVA et al., 2022). Estes autores destacam a capacidade do *Trichoderma* em competir com outros microrganismos por espaço e nutrientes, visto que o BCH foi responsável por um incremento de carbono, P e K. Essa competição por recursos entre o *Trichoderma* e os fitopatógenos favorece a uma redução da gravidade da doença.

7.5.2. Efeito do biochar e *T. afroharzianum* em mudas de tomate

A aplicação exclusiva ou combinada de *T. afroharzianum* e BLE no substrato para produção de mudas de tomate resultou em maior desenvolvimento das plantas. As mudas que receberam BLE e *T. afroharzianum*, tanto em conjunto como isolados, apresentaram maior comprimento de parte aérea e raiz (Figura 6). A aplicação combinada BLE + *T. afroharzianum* favoreceu um aumento de 47% no comprimento de parte aérea das mudas de tomate. Comportamento similar foi observado quando o fitopatógeno *S. rolfsii* foi inoculado no sistema, visto que, a utilização de BLE e *T. afroharzianum* amenizou os efeitos deletérios acarretados pelo patógeno (T1). A utilização do BLE em conjunto com *T. afroharzianum* (T8) garantiu maior desenvolvimento radicular das mudas de tomate em comparação controle + patógeno (T5), sendo observado um incremento de 3,30 cm, o que representa um aumento superior a 38%. Esse resultado foi superior aos demais tratamentos em que foi realizada a aplicação isolada de BLE e *T. afroharzianum*.

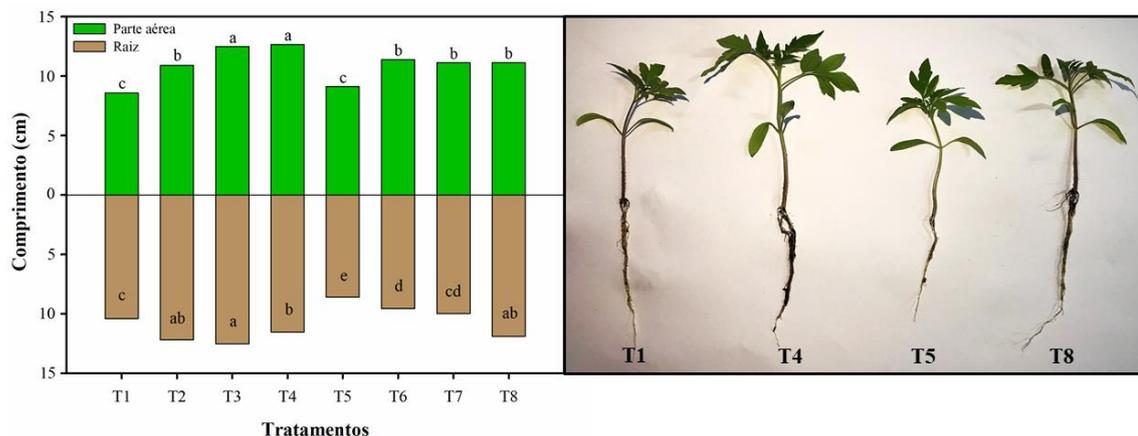


Figura 6. Comprimento da parte aérea e raízes (cm) das mudas de tomate cv. Coração de Boi (marca Feltrin®) em substrato sem e com *Sclerotium rolfisii*. T1: Controle absoluto: sem aplicação de BLE ou *Trichoderma afroharzianum*; T2: Aplicação de BLE exclusivo; T3: Aplicação de *T. afroharzianum*; T4: BLE + *T. afroharzianum*; T5: Controle + patógeno; T6: BLE + patógeno; T7: *T. afroharzianum* + patógeno; T8: BLE + *T. afroharzianum* + patógeno. Médias com letras iguais indicam ausência de diferença significativa entre tratamentos pelo teste de Duncan ($p < 0,05$).

A combinação BCH + *Trichoderma* foi responsável pelo incremento em atributos de crescimento das plantas de tomate. Efeitos benéficos dessa combinação têm sido relatados para diferentes condições experimentais. Vecstaudza et al. (2018) destacaram também a maior sobrevivência de *Trichoderma* spp. em solo arenoso em decorrência da aplicação de BCH de madeira em experimento com centeio (*Secale cereale*). Sani et al. (2020) observaram que essa combinação, BCH de resíduos de madeira + *Trichoderma harzianum* CEPA T-22, em experimento com tomate resultou em melhoria de diversos indicadores de produtividade. Os autores destacam a melhoria da fertilidade do solo, a absorção de nutrientes e a melhoria da microbiota rizosférica como responsáveis pelo maior potencial de desenvolvimento.

As avaliações de massa fresca e massa seca das mudas de tomate confirmam os benefícios oriundos da utilização do BLE e *T. afroharzianum* no sistema produtivo (Figura 7). Na ausência do fitopatógeno *S. rolfisii* é possível observar um incremento de massa fresca de parte aérea superior a 130% em decorrência da aplicação em conjunto do BLE e *T. afroharzianum*. Esse mesmo tratamento foi responsável por um aumento superior a 100% da massa fresca radicular das mudas de tomate. Os resultados de massa seca de parte aérea e raiz são semelhantes aos de massa fresca, sendo possível realçar novamente a importância e os benefícios associados desse tratamento para a produção de mudas.

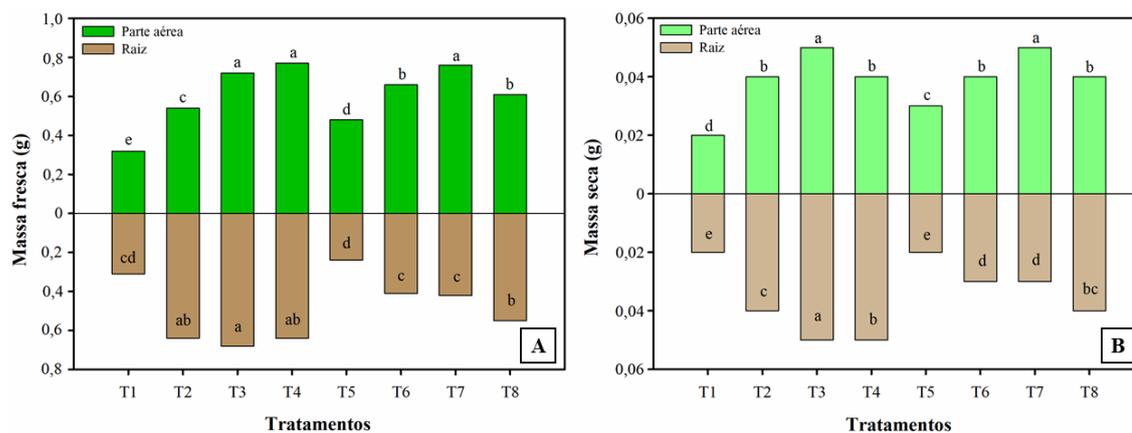


Figura 7. Massa fresca (A) e massa seca (B) da parte aérea e raízes de mudas de tomate cv. Coração de Boi (marca Feltrin®) em substrato sem e com *Sclerotium rolfsii*. T1: Controle absoluto: sem aplicação de BLE ou *Trichoderma afroharzianum*; T2: Aplicação de BLE exclusivo; T3: Aplicação de *T. afroharzianum*; T4: BLE + *T. afroharzianum*; T5: Controle + patógeno; T6: BLE + patógeno; T7: *T. afroharzianum* + patógeno; T8: BLE + *T. afroharzianum* + patógeno. Médias com letras iguais indicam ausência de diferença significativa entre tratamento de acordo com o teste de Duncan ($p < 0,05$).

Os efeitos benéficos do biochar para o desenvolvimento das plantas são decorrentes de suas características físico-químicas que envolvem disponibilidade de nutrientes, retenção de água e favorecimento da microbiota benéfica do solo (De MEDEIROS et al., 2021). Ahmad et al. (2022) observaram que a aplicação de BLE ao solo proporcionou um incremento em biomassa vegetal tanto em parte aérea como raiz em *Trigonella foenum-graecum* (Feno-grego) e *Cicer arietinum* (Grão-de-bico). Fachini et al. (2021) observaram resultado semelhante, visto que a aplicação de BLE ao solo foi responsável pelo incremento em produtividade de milho (*Zea mays*). Esse resultado foi relacionado às melhorias das propriedades químicas do solo pela utilização do BLE, principalmente em decorrência do fornecimento de diferentes nutrientes, em especial o P. Medeiros et al. (2020) observaram que o uso de BCHs de resíduos vegetais apresenta correlação positiva e significativa dos atributos químicos do solo com as variáveis de desenvolvimento das plantas, destacando o maior comprimento de parte aérea de plantas de meloeiro com maiores teores de P e Mg^{2+} e carbono orgânico total.

Dentre os benefícios proporcionados pela interação planta x *Trichoderma*, Contreras-Cornejo et al. (2016) relacionaram a produção de metabólitos secundários produzidos pelo fungo e liberados na rizosfera como possível responsável pelo efeito no crescimento e nutrição das plantas, na indução da resistência sistêmica e no biocontrole de microrganismos patogênicos. Elkelish et al. (2020) observaram que o uso de *T. harzianum* em mudas de tomate

além de melhorar o crescimento das plantas, aumentou a síntese de clorofila (clorofila *a*, clorofila *b* e clorofila total) e a absorção de íons essenciais, incluindo nitrogênio, fósforo e potássio.

No presente estudo, o *Trichoderma afroharzianum* CEPA T-22 foi responsável pelo incremento em biomassa tanto de parte aérea como radicular das mudas de tomate, inoculadas ou não com o fitopatógeno. Resultado semelhante foi observado no estudo de Rao et al. (2022), em que o uso do *T. atroviride* melhorou o crescimento de mudas de tomate, viabilizando um maior desenvolvimento radicular. Os autores atribuíram esse melhor desenvolvimento das mudas de tomate à produção de VOCs, em especial o 6-pentil-2H-piran-2-ona, pelo *Trichoderma*.

Apesar do *S. rolfii* não ter afetado a produção de massa fresca e seca em mudas de tomate em relação ao controle absoluto (T1), na presença do fitopatógeno, a associação BLE + *T. afroharzianum* (T8) proporcionou maior produção de massa tanto em parte aérea como raiz. Os resultados demonstraram que essa associação promoveu um incremento de 27% de massa fresca de parte aérea e, aproximadamente, 130% da massa fresca de raiz em comparação a não adoção de medidas de controle do fitopatógeno. Os benefícios do tratamento BLE + *T. afroharzianum* no controle de *S. rolfii* se estendem aos resultados de massa seca das mudas de tomate, sendo verificado um incremento radicular superior a 135% em relação ao não uso de medidas de controle da doença.

Entre as explicações para o efeito aditivo observado entre BCH e *Trichoderma*, destaque-se ao fato de o BCH influenciar na sobrevivência do *Trichoderma*. Por exemplo, a capacidade do BCH derivado de madeira garantir maior sobrevivência de *Trichoderma* spp. no solo (VECSTAUDZA et al., 2018) pode ser um dos fatores que potencializam o maior controle da doença, visto que diferentes espécies de *Trichoderma* têm se mostrado eficientes no controle do fungo *S. rolfii* (SURIYAGAMON et al., 2018). Da mesma forma, a composição química dos BCHs com capacidade de inibição dos microrganismos fitopatogênicos (GRABER et al., 2010) e a produção de metabólitos voláteis tóxicos pelo *Trichoderma* (KUSHWAHA et al., 2018) são mecanismos que em conjunto podem ser responsáveis pelo maior controle da doença na combinação BLE + *T. afroharzianum* observado neste trabalho.

7.6. CONCLUSÃO

Os resultados deste trabalho demonstraram que o uso do BLE em combinação com *T. afroharzianum* apresentou significativa inibição *in vitro* de *S. rolfii* em comparação com a

aplicação isolada de cada um. A associação de BLE + *T. afroharzianum*, foi responsável também pela maior produção de biomassa em mudas de tomate na ausência ou presença do fitopatógeno. Com isso, concluiu-se que a associação BLE + *T. afroharzianum* pode ser promissora para inclusão em ambientes de produção de mudas de tomate, como também, no manejo de fitopatógenos habitantes de solo. Trabalho futuros deverão abranger os efeitos dessa associação sobre um maior número de patógenos e culturas de interesse econômico.

7.7. REFERÊNCIAS

AHMAD, A.; CHOWDHARY, P.; KHAN, N.; CHAURASIA, D.; VARJANI, S.; PANDEY, A.; CHATURVEDI, P. Effect of sewage sludge biochar on the soil nutrient, microbial abundance, and plant biomass: A sustainable approach towards mitigation of solid waste. **Chemosphere**, v. 287 (132112), p. 1-9. 2022.

AKHTER, A.; HAGE-AHMED, K.; SOJA, G.; STEINKELLNER, S. Compost and biochar alter mycorrhization, tomato root exudation, and development of *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*. **Frontiers in Plant Science**, v. 6 (529), p. 1-13. 2015.

ALKHARABSHEH, H.M.; SELEIMAN, M.F.; BATTAGLIA, M.L.; SHAMI, A.; JALAL, R.S.; ALHAMMAD, B.A.; ALMUTAIRI, K.F.; AL-SAIF, A.M. Biochar and its broad impacts in soil quality and fertility, nutrient leaching and crop productivity: a review. **Agronomy**, v. 11 (993), p. 1-29. 2021.

ARAUJO, A.S. de; BLUM, L.E.B.; ANDRADE, D.V.N.; SILVA JÚNIOR, P.B. da; FIGUEIREDO, C.C. de. Sewage sludge biochar effects on phytopathogenic fungi and beneficial microorganisms. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 64 (e21210266), p. 1-15. 2021.

ARAUJO, A.S. de; BLUM, L.E.B.; FIGUEIREDO, C.C. de. Biochar and *Trichoderma harzianum* for the control of *Macrophomina phaseolina*. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 62 (e19180259), p. 1-10. 2019a.

ARAUJO, A.S. de; BLUM, L.E.B.; FIGUEIREDO, C.C. de. The synergistic effect of sewage sludge biochar and *Trichoderma harzianum* on soybean yield. **Australian Journal of Crop Science-AJCS**, v. 13 (07), p. 1183-1187. 2019b.

ARIF, M.; FAWAZ, M.S.; ZUAN, A.T.K.; SHAH, R.U.; ULLAH, R.; ELSHEHAWI, A.M.; AL-SADI, A.M.; ULLAH, M.I.; GÜLDÜR, M.E.; ALOTAIBI, S.S.; KHAN, M.I.; HUSSAIN, A. The impact of different biochars on *Stemphylium* leaf blight (SLB) suppression and productivity of onion (*Allium cepa* L.). **Journal of King Saud University – Science**, v. 33 (7), p. 1-11. 2021.

BADER, A.N.; SALERNO, G.L.; COVACEVICH, F.; CONSOLO, V.F. Native *Trichoderma harzianum* strains from Argentina produce indole-3 acetic acid and phosphorus solubilization, promote growth and control wilt disease on tomato (*Solanum lycopersicum* L.). **Journal of King Saud University – Science**, v. 32 (1), p. 867-873. 2020.

BONANOMI, G.; IPPOLITO, F.; CESARANO, G.; VINALE, F.; LOMBARDI, N.; CRASTO, A.; WOO, S.L.; SCALA, F. Biochar chemistry defined by ¹³C-CPMAS NMR explains opposite effects on soilborne microbes and crop plants. **Applied Soil Ecology**, v. 124, p. 351-361. 2018.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Manual de métodos analíticos oficiais para fertilizantes e corretivos / Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. – Brasília: MAPA. 240p. 2017.

CEPEA. Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada. Anuário 2018/2019 - Retrospectiva 2018 e Perspectiva 2019. 50 p. il. 2018.

CONTRERAS-CORNEJO, H.A.; MACÍAS-RODRÍGUEZ, L.; DEL-VAL, E.; LARSEN, J. Ecological functions of *Trichoderma* spp. and their secondary metabolites in the rhizosphere: Interactions with plants. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 92 (4), p. 1-17. 2016.

Da SILVA, J.S.A.; De MEDEIROS, E.V.; Da COSTA, D.P.; De SOUZA, C.A.F.; De OLIVEIRA, J.B.; Da FRANÇA, R.F.; SOUZA-MOTTA, C.M.; LIMA, J.R. De S.; HAMMECKER, C. Biochar and *Trichoderma aureoviride* URM 5158 as alternatives for the management of cassava root rot. **Applied Soil Ecology**, v. 172 (104353), p. 1-5. 2022.

DATNOFF, L.E.; ELMER, W.H.; HUBER, D.M. Mineral nutrition and plant disease. **APS Press - The American Phytopathological Society**, 278 p. 2007.

DAWAR, K.; SAIF-YOUR-RAHMAN; FAHAD, S. ALAM, S.S.; KHAN, S.A.; DAWAR, A.; YOUNIS, U.; DANISH, S.; DATTA, R.; DICK, R.P. Influence of variable biochar

concentration on yield-scaled nitrous oxide emissions, wheat yield and nitrogen use efficiency. **Scientific Reports**, v. 11 (16774), p. 1-10. 2021. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-96309-4>

De MEDEIROS, E.V.; LIMA, N.T.; LIMA, J.R. De S.; PINTO, K.M.S.; Da COSTA, D.P.; DA FRANÇA, R.F.; FRANCO JUNIOR, C.L.; DUDA, G.P.; ANTONINO, A.C.D.; HAMMECKER, C. Biochar from different sources against tomato bacterial wilt disease caused by *Ralstonia solanacearum*. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, v. 22, p. 540–548. 2022. <https://doi.org/10.1007/s42729-021-00667-x>

De MEDEIROS, E.V.; LIMA, N.T.; LIMA, J.R. de S.; PINTO, K.M.S.; Da COSTA, D.P.; FRANCO JUNIOR, C.L.; SOUZA, R.M.S.; HAMMECKER, C. Biochar as a strategy to manage plant diseases caused by pathogens inhabiting the soil: a critical review. **Phytoparasitica**, v. 49, p. 713–726. 2021.

DUAN, X.Y.; CAO, Y.; LIU, T.Z.; LI, L.; WANG, B.; WANG, X.D. Nutrient stability and sorption of sewage sludge biochar prepared from co-pyrolysis of sewage sludge and stalks / mineral materials. **Environmental Pollutants and Bioavailability**, v. 32 (1), p. 12-18. 2020.

DUARTE, S. de J.; GLASER, B.; DE LIMA, R.P.; CERRI, C.E.P. Chemical, physical, and hydraulic properties as affected by one year of miscanthus biochar interaction with sandy and loamy tropical soils. **Soil Systems**, v. 3 (24), p. 1-19. 2019.

ELKELISH, A.A.; ALHAITHLOUL, H.A.S.; QARI, S.H.; SOLIMAN, M.H.; HASANUZZAMAN, M. Pretreatment with *Trichoderma harzianum* alleviates waterlogging-induced growth alterations in tomato seedlings by modulating physiological, biochemical, and molecular mechanisms. **Environmental and Experimental Botany**, v. 171 (103946). 2020.

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Doenças do Tomateiro. Brasília: Embrapa Hortaliças, 151 p. 2005.

FACHINI, J.; COSER, T.R.; ARAUJO, A.S. de; VALE, A.T. de; JINDO, K.; FIGUEIREDO, C.C. de. One Year Residual Effect of Sewage Sludge Biochar as a Soil Amendment for Maize in a Brazilian Oxisol. **Sustainability**, v. 13 (2226), p. 1-14. 2021.

FALCÃO, J.V.; AVILA, Z.R.; ORIOLI, F.P.; AULER, A.C.V.; SILVA, J.B.T.; MELLO, S.C.M. Estabelecimento de metodologia para contaminação de solo com propágulos de *Sclerotinia sclerotiorum* e *Sclerotium rolfsii*, e expressão de doença em soja. **Embrapa (Comunicado Técnico, 135)**, p. 1-9. 2005.

FARIA, W.M.; FIGUEIREDO, C.C. de; COSER, T.R.; VALE, A.T.; SCHNEIDER, B.G. Is sewage sludge biochar capable of replacing inorganic fertilizers for corn production? Evidence from a two-year field experiment. **Archives of Agronomy and Soil Science**, v. 64 (4), p. 505-519. 2018.

FIGUEIREDO, C.; LOPES, H.; COSER, T.; VALE, A.; BUSATO, J.; AGUIAR, N.; NOVOTNY, E.; CANELLAS, L. Influence of pyrolysis temperature on chemical and physical properties of biochar from sewage sludge. **Archives of Agronomy and Soil Science**, v. 64 (6), p. 881-889. 2018.

FIGUEIREDO, C.C. de; CHAGAS, J.K.M.; SILVA, J. da; PAZ-FERREIRO, J. Short-term effects of a sewage sludge biochar amendment on total and available heavy metal content of a tropical soil. **Geoderma**, v. 344, p. 31–39. 2019.

GHODAKE, G.S.; SHINDE, S.K.; KADAM, A.A.; SARATALE, R.G.; SARATALE, G.D.; KUMAR, M.; PALEM, R.R.; AL-SHWAIMAN, H.A.; ELGORBAN, A.M.; SYED, A.; KIM, D-Y. Review on biomass feedstocks, pyrolysis mechanism and physicochemical properties of biochar: State-of-the-art framework to speed up vision of circular bioeconomy. **Journal of Cleaner Production**, v. 297 (126645), p. 1-38. 2021.

GOROVTSOV, A.V.; MINKINA, T.M.; MANDZHIEVA, S.S.; PERELOMOV, L.V.; SOJA, G.; ZAMULINA, I.V.; RAJPUT, V.D.; SUSHKOVA, S.N.; MOHAN, D.; YAO, J. The mechanisms of biochar interactions with microorganisms in soil. **Environmental Geochemistry and Health**, v. 42, p. 2495–2518. 2020.

GRABER, E.R.; FRENKEL, O.; JAISWAL, A.K.; ELAD, Y. How may biochar influence severity of diseases caused by soilborne pathogens? **Carbon Management**, v. 5 (2), p. 169–183. 2014.

GRABER, E.R.; HAREL, Y.M.; KOLTON, M.; CYTRYN, E.; SILBER, A.; DAVID, D.R.; TSECHANSKY, L.; BORENSHTEIN, M.; ELAD, Y. Biochar impact on development and productivity of pepper and tomato grown in fertigated soilless media. **Plant and Soil**, v. 337 (1-2), p. 481–496. 2010.

HERRERA-JIMÉNEZ, E.; ALARCÓN, A.; LARSEN, J.; FERRERA-CERRATO, R.; CRUZ-IZQUIERDO, S.; FERRERA-RODRÍGUEZ, M.R. Comparative effects of two indole-producing *Trichoderma* strains and two exogenous phytohormones on the growth of *Zea mays* L., with or without tryptophan. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, v. 18 (1), p. 188-201. 2018.

HIRPARA, D.G.; GAJERA, H.P.; HIRPARA, H.Z; GOLAKIYA, B.A. Molecular diversity and fingerprints of *Trichoderma* associated with antagonistic potentials against *Sclerotium rolfsii* Sacc. **Journal of Plant Diseases and Protection**, v. 124, p. 31–40. 2017.

HUA, L.; ZENG, H.; HE, L.; JIANG, Q.; YE, P.; LIU, Y.; SUN, X.; ZHANG, M. Gliotoxin Is an important secondary metabolite involved in suppression of *Sclerotium rolfsii* of *Trichoderma virens* T23. **Phytopathology**, v. 111 (10), p. 1720-1725. 2021.

HUANG, H.; REDDY, N.G.; HUANG, X.; CHEN, P.; WANG, P.; ZHANG, Y.; HUANG, Y.; LIN, P.; GARG, A. Effects of pyrolysis temperature, feedstock type and compaction on water retention of biochar amended soil. **Scientific Reports**, v. 11 (7419), p. 1-19. 2021. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-86701-5>

IBM CORP. Released 2015. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 23.0. Armonk, NY: IBM Corp. 2015.

JAIWAL, A.K.; ELAD, Y.; CYTRYN, E.; GRABER, E.R.; FRENKEL, O. Activating biochar by manipulating the bacterial and fungal microbiome through pre-conditioning. **New Phytologist**, v. 219 (1), p. 363–377. 2018a.

JAIWAL, A.K.; ELAD, Y.; GRABER, E.R.; CYTRYN, E.; FRENKEL, O. Soil-borne disease suppression and plant growth promotion by biochar soil amendments and possible mode of action. **Acta Horticulturae**, v. 1207, p. 69–76. 2018b.

JAISWAL, A.K.; ELAD, Y.; GRABER, E.R.; FRENKEL, O. *Rhizoctonia solani* suppression and plant growth promotion in cucumber as affected by biochar pyrolysis temperature, feedstock and concentration. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 69, p. 110-118. 2014.

JAISWAL, A.K.; FRENKEL, O.; ELAD, Y.; LEW, B.; GRABER, E.R. Non-monotonic influence of biochar dose on bean seedling growth and susceptibility to *Rhizoctonia solani*: the “Shifted Rmax-Effect”. **Plant and Soil**, v. 395, p. 125–140. 2015.

KUSHWAHA, S.K.; KUMAR, S.; CHAUDHARY, B. Efficacy of *Trichoderma* against *Sclerotium rolfsii* causing collar rot disease of lentil under *in vitro* conditions. **Journal of Applied and Natural Science**, v.10 (1), p. 307-312. 2018.

LAURICELLA, D.; WENG, Z.; CLARK, G.J.; BUTTERLY, C.R.; LI, G.; GAZEY, C.; SALE, P.W.G.; TANG, C. Biochars and their feedstocks differ in their short-term effects in ameliorating acid soils grown with aluminium-sensitive wheat. **Journal of Soils and Sediments**, v. 21, p. 2805–2816. 2021. <https://doi.org/10.1007/s11368-021-03001-1>

MARRA, R.; VINALE, F.; CESARANO, G.; LOMBARDI, N.; D’ERRICO, G.; CRASTO, A.; MAZZEI, P.; PICCOLO A.; INCERTI, G.; WOO, S.L.; SCALA, F.; BONANOMI, G. Biochars from olive mill waste have contrasting effects on plants, fungi and phytoparasitic nematodes. **PLoS ONE**, v. 13 (6): e0198728. 2018.

MEDEIROS, E.V. de; MORAES, M. de C.H. dos S.; COSTA, D.P. da; DUDA, G.P.; OLIVEIRA, J.B. de; SILVA, J.S.A da; LIMA, J.R. de S.; HAMMECKER, C. Effect of biochar and inoculation with *Trichoderma aureoviride* on melon growth and sandy Entisol quality. **Australian Journal of Crop Science**, v. 14 (6), p. 971–977. 2020.

MERCL, F.; GARCÍA-SÁNCHEZ, M.; KULHÁNEK, M.; KOŠNÁŘ, Z.; SZÁKOVÁ, J.; TLUSTOŠ, P. Improved phosphorus fertilisation efficiency of wood ash by fungal strains *Penicillium* sp. PK112 and *Trichoderma harzianum* OMG08 on acidic soil. **Applied Soil Ecology**, v. 147 (103360), p.1-7. 2020.

RAO, Y.; ZENG, L.; JIANG, H.; MEI, L.; WANG, Y. *Trichoderma atroviride* LZ42 releases volatile organic compounds promoting plant growth and suppressing *Fusarium* wilt disease in tomato seedlings. **BMC Microbiology**, v. 22 (88), p. 1-12. 2022.

SAMOLADA, M.C.; ZABANIOTOU, A.A. Comparative assessment of municipal sewage sludge incineration, gasification and pyrolysis for a sustainable sludge-to-energy management in Greece. **Waste Management**, v. 34, p. 411-420. 2014.

SÁNCHEZ-GARCÍA, M.; CAYUELA, M.L.; RASSE, D.P.; SÁNCHEZ-MONEDERO, M.A. Biochars from mediterranean agroindustry residues: physicochemical properties relevant for C sequestration and soil water retention. **ACS Sustainable Chemistry & Engineering**, v. 7 (5), p. 4724-4733. 2019.

SANI, MD.N.H.; HASAN, M.; UDDAIN, J.; SUBRAMANIAM, S. Impact of application of *Trichoderma* and biochar on growth, productivity and nutritional quality of tomato under reduced N-P-K fertilization. **Annals of Agricultural Sciences**, v. 65 (1), p. 107-115. 2020.

SILVA, F.C. da. Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes, 2nd ed. Embrapa Informação Tecnológica: Brasília, Brasil, 627 p. 2009.

SINGH, B.N.; SINGH, A.; SINGH, G.S.; DWIVEDI, P. Potential role of *Trichoderma asperellum* T42 strain in growth of pea plant for sustainable agriculture. **Journal of Pure and Applied Microbiology**, v. 9, p. 1069–1074. 2015.

SOHI, S.P. Carbon storage with benefits. **Science**, v. 338, p. 1034-1035, 2012.

SURIYAGAMON, S.; PHONKERD, N.; BUNYATRATCHATA, W.; RIDDECH, N.; MONGKOLTHANARUK, W. Compost Seed of *Trichoderma harzianum* UD12-102 in controlling collar and stem rot of tomato caused by *Sclerotium rolfsii*. **Environment and Natural Resources Journal**, v.16 (2), p. 20-28. 2018.

SWIFT, R.S. Organic matter characterization. In: Sparks, D. L., Page, A. L., Helmke, P. A., Loeppert, R. H. (Eds.), Methods of soil analysis part 3 - Chemical methods. **Soil Science Society of America**. American Society of Agronomy, Madison, WI, p. 1011–1069. 1996.

SYSTAT SOFTWARE. **SigmaPlot for Windows**. Version 12.5 (SPSS Inc., Point Richmond, CA, USA). 2013.

VECSTAUDZA, D.; GRANTINA-IEVINA, L.; MAKARENKOVA, G.; KASPARINSKIS, R.; SELGA, T.; STEINBERGA, V.; STELMAHERE, S.; STEINER, C.; MUTER, O. The impact of wood-derived biochar on the survival of *Trichoderma* spp. and growth of *Secale cereale* L. in sandy soil. **Biocontrol Science and Technology**, v. 28 (4), p. 341-358. 2018.

WONG, J.T.F.; CHEN, X.; DENG, W.; CHAI, Y.; NG, C.W.W.; WONG, M.H. Effects of biochar on bacterial communities in a newly established landfill cover topsoil. **Journal of Environmental Management**, v. 236, p. 667–673. 2019.

YEOMANS, J.C.; BREMNER, J.M. A rapid and precise method for routine determination of organic carbon in soil. **Communications Soil Science and Plant Analysis**, v. 19, p. 1467–1476. 1988.

YU, L.; YU, M.; LU, X.; TANG, C.; LIU, X.; BROOKES, P.C.; XU, J. Combined application of biochar and nitrogen fertilizer benefits nitrogen retention in the rhizosphere of soybean by increasing microbial biomass but not altering microbial community structure. **Science of The Total Environment**, v. 640–641, p. 1221-1230. 2018.

ZHANG, F.; XU, X.; HUO, Y.; XIAO, Y. *Trichoderma*-inoculation and mowing synergistically altered soil available nutrients, rhizosphere chemical compounds and soil microbial community, potentially driving alfalfa growth. **Frontiers in Microbiology**, v. 9 (3241), p. 1-12. 2019.

ZHANG, P.; HUANG, P.; XU, X.; SUN, H.; JIANG, B.; LIAO, Y. Spectroscopic and molecular characterization of biochar-derived dissolved organic matter and the associations with soil microbial responses. **Science of the Total Environment**, v. 708 (134619), p. 1-11. 2020.

CAPÍTULO III

BIOCHAR DE LODO DE ESGOTO E *Trichoderma afroharzianum* NO CONTROLE DA PODRIDÃO DE ESCLERÓCIO EM TOMATEIRO

8. BIOCHAR DE LODO DE ESGOTO E *Trichoderma afroharzianum* NO CONTROLE DA PODRIDÃO DE ESCLERÓCIO EM TOMATEIRO

8.1. RESUMO

O tomate é uma das principais olerícolas produzidas no Brasil, entretanto é suscetível a um grande número de fitopatógenos, dentre eles, o fungo *Sclerotium rolfsii* Sacc. O uso de biochar e *Trichoderma*, de forma isolada ou combinada, tem se mostrado uma estratégia promissora para o manejo de fitopatógenos habitantes de solo. Neste experimento, objetivou-se avaliar o uso do biochar de lodo de esgoto (BLE) e *T. afroharzianum* no controle de *S. rolfsii* em tomateiro. Foram avaliados diferentes mecanismos, tais como: biomassa de plantas, produção de fenóis totais e flavonoides, fluorescência da clorofila *a* e sobrevivência de plantas, além de propriedades físico-químicas do solo. Os tratamentos estudados neste trabalho foram: 1) Controle: sem aplicação de BLE ou *T. afroharzianum*; 2) Aplicação de BLE; 3) Aplicação de *T. afroharzianum*; 4) BLE + *T. afroharzianum*; 5) controle + inoculação do patógeno; 6) BLE + patógeno; 7) *T. afroharzianum* + patógeno; 8) BLE + *T. afroharzianum* + patógeno. A combinação BLE + *T. afroharzianum* promoveu maior produção de biomassa de parte aérea em plantas tomate, inoculadas ou não com o fitopatógeno. Na ausência do patógeno, essa combinação também foi responsável pelo maior desenvolvimento radicular. A combinação BLE + *T. afroharzianum* aumentou o teor de fósforo (P) disponível no solo, tanto na ausência como presença do patógeno. Na ausência do *S. rolfsii*, o tratamento BLE + *T. afroharzianum* estimulou a produção de fenóis totais em relação a aplicação isolada do BLE. Na presença do fungo *S. rolfsii*, a aplicação isolada do *T. afroharzianum* (T7) foi responsável pela menor produção de flavonoides. A utilização do BLE, associado ou não ao *T. afroharzianum*, apresentou maior índice SPAD na ausência do *S. rolfsii*. Conclui-se com esse trabalho que a combinação BLE + *T. afroharzianum* engloba diferentes benefícios ao sistema solo-planta, podendo ser uma ferramenta para minimizar os danos causados por fitopatógenos habitantes de solo.

Palavras-chave: Bio sólido, Controle biológico, Metabólitos secundários, *Solanum lycopersicum*.

8.2. ABSTRACT

Tomato is one of the main vegetables produced in Brazil, however it is susceptible to a large number of phytopathogens, including the fungus *Sclerotium rolfsii* Sacc. The use of biochar and *Trichoderma*, alone or in combination, has shown to be a promising strategy for the management of soilborne phytopathogens. In this experiment, the objective was to evaluate the use of sewage sludge biochar (SSB) and *T. afroharzianum* in the control of *S. rolfsii* in tomato. Different mechanisms were evaluated, such as: plant biomass, production of total phenols and flavonoids, chlorophyll *a* fluorescence and plant survival, in addition to soil physicochemical properties. The treatments studied in this work were: 1) Control: without application of SSB or *T. afroharzianum*; 2) SSB application; 3) Application of *T. afroharzianum*; 4) SSB + *T. afroharzianum*; 5) control + pathogen inoculation; 6) SSB + pathogen; 7) *T. afroharzianum* + pathogen; 8) SSB + *T. afroharzianum* + pathogen. The combination SSB + *T. afroharzianum* promoted higher production of shoot biomass in tomato plants, inoculated or not with the phytopathogen. In the absence of the pathogen, this combination was also responsible for greater root development. The combination SSB + *T. afroharzianum* increased the amount of phosphorus (P) available in the soil, both in the absence and presence of the pathogen. In the absence of *S. rolfsii*, the treatment SSB + *T. afroharzianum* stimulated the production of total phenols in relation to the isolated application of SSB. In the presence of the fungus *S. rolfsii*, the isolated application of *T. afroharzianum* (T7) was responsible for the lower production of flavonoids. The use of SSB, associated or not with *T. afroharzianum*, showed a higher SPAD index in the absence of *S. rolfsii*. It is concluded from this work that the combination SSB + *T. afroharzianum* encompasses different benefits to the soil-plant system, and can be a tool to minimize the damage caused by soilborne phytopathogens.

Keywords: Biosolid, Biological control, Secondary metabolites, *Solanum lycopersicum*.

8.3. INTRODUÇÃO

O tomate (*Solanum lycopersicum* L.), pertencente à família Solanaceae, é uma das plantas mais cultivadas no mundo. Em 2020, a área de produção dessa espécie olerícola atingiu, aproximadamente, 5 milhões de ha e uma produção de 187 milhões de toneladas (FAO, 2022). Ainda de acordo com FAO (2022), globalmente, a China é a maior produtora de tomate, sendo responsável por uma produção superior a 37 milhões de toneladas. O Brasil se destaca como o

nono maior produtor de tomate, com produção aproximada de 3,6 milhões de toneladas e uma área de produção de 51 mil ha (IBGE, 2022).

A cultura do tomate é amplamente reconhecida pelo grande volume de agrotóxicos utilizados em seu ciclo produtivo, cenário decorrente da diversidade de pragas e doenças que acometem a cultura e que podem reduzir produtividade e qualidade dos frutos (CONAB, 2019). Dentre as doenças fúngicas às quais o tomateiro é suscetível, o *Sclerotium rolfsii* acarreta uma podridão mole e aquosa, principalmente nas folhas, hastes e frutos que ficam em contato direto com o solo (EMBRAPA, 2006).

O *Sclerotium rolfsii* Sacc. [teleomorfo: *Athelia rolfsii* (Curzi) Tu & Kimbrough] é um fungo saprofítico habitante do solo que causa doença em mais de 500 espécies de plantas a nível mundial, estando presente principalmente em regiões quentes-temperadas, subtropicais e tropicais, especialmente sob alta umidade e condições quentes (PUNJA, 1985, 1988; SUN et al., 2020). Em tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.), a inoculação das plantas com o fitopatógeno *S. rolfsii* pode ocasionar uma mortalidade superior a 85% (RAJPUT et al., 2021).

Aliar diferentes ferramentas para manejo de fitopatógenos habitantes de solo é uma necessidade crescente em diferentes sistemas agrícolas. O uso do biochar (BCH) na agricultura tem se destacado por promover melhorias nas propriedades físico-químicas (YAO et al., 2021) e biológicas dos solos (YANG et al., 2022), além de propiciar o maior desenvolvimento de plantas (CHAGAS et al., 2021) e controle de fitopatógenos (JAISWAL et al., 2020a). A utilização do BCH para controle de doenças em plantas pode envolver diferentes mecanismos. Rasool et al. (2021) observaram que o BCH induz a expressão de genes associados à defesa das plantas contra o ataque de fitopatógenos, além disso, a produção de compostos fenólicos, catalase e peroxidase contribuem na redução dos danos causados pela doença.

Outra ação relevante do uso de BCH está relacionada a promoção de maior sobrevivência de microrganismos benéficos no solo, dentre eles, fungos do gênero *Trichoderma* (VECSTAUDZA et al., 2018). O *Trichoderma* está associado a diferentes benefícios ao sistema solo-planta, estando relacionado à indução de resistência a doenças (OLOWE et al., 2022), à capacidade de solubilização de nutrientes em razão dos diferentes ácidos orgânicos e enzimas liberados (BADER et al., 2020), à produção de fito-hormônios (ILLESCAS et al., 2021) e ao controle de fitopatógenos (MAHMOUD et al., 2021).

Plantas inoculadas com *Trichoderma* têm apresentado maior produção de fenóis totais (KUMAR et al., 2022; EL-SHARKAWY et al., 2018). O uso desses microrganismos benéficos para controle de doenças em plantas está associado também a ativação do sistema de defesa

vegetal, mecanismo esse que envolve a produção de fenol total, flavonoides, terpenoides, antioxidante, malondialdeído e enzimas antioxidantes (catalase e peroxidase) (MAHMOUD et al., 2021).

A combinação BCH + *Trichoderma* vem sendo evidenciada por sua capacidade de estimular o desenvolvimento das plantas, resultando em maior produção de biomassa, tanto de parte aérea como raiz (CAO et al., 2022). Sani et al. (2020) demonstraram que a combinação BCH de resíduos de madeira + *Trichoderma harzianum* T22 foi responsável por diferentes melhorias nas propriedades físico-químicas e biológicas do solo, visto o aumento na disponibilidade de nutrientes e sua maior absorção pelas plantas, como também, o crescimento fúngico e bacteriano na rizosfera, onde a combinação desses benefícios resultaram em maior produtividade em tomateiro (*Lycopersicon esculentum* L.), além da maior produção de antioxidantes e minerais.

A combinação BCH + *Trichoderma* também tem se mostrado como uma ferramenta promissora para o controle de fitopatógenos habitantes de solo, visto que o uso de biochar de lodo de esgoto (BLE) juntamente com *T. harzianum* potencializou o controle de *Macrophomina phaseolina* e garantiu maior desenvolvimento de plantas de feijão (*Phaseolus vulgaris*) (ARAÚJO et al., 2019). Da Silva et al. (2022) observaram que a combinação BCH + *Trichoderma* impacta algumas propriedades físico-químicas do solo e essas propriedades podem afetar a severidade de doenças causadas por patógenos de solo, como por exemplo, a podridão radicular da mandioca (*Manihot esculenta* Crantz), causada por *Fusarium solani*.

O objetivo desse trabalho foi avaliar a capacidade do BLE e do *T. afroharzianum* (CEPA T-22), de forma isolada ou combinada, no controle de *S. rolfsii* em tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.) e, compreender os mecanismos envolvidos nesse patossistema.

8.4. MATERIAL E MÉTODOS

8.4.1. Obtenção e caracterização do biochar

O BCH foi produzido a partir da biomassa de lodo de esgoto (LE) oriunda da Estação de Tratamento de Esgotos (ETE) da Companhia de Saneamento Ambiental do Distrito Federal (CAESB), localizada em Samambaia, Brasília, DF, Brasil. O esgoto, oriundo, predominantemente, de área doméstica, foi submetido a um sistema de tratamento em nível terciário, incluindo a adição de sulfato de alumínio. Esse sistema de tratamento engloba a decomposição anaeróbica do lodo, como também, a remoção do fósforo (P) e nitrogênio (N) do efluente líquido. Como consequência, a biomassa final de LE apresenta-se enriquecida em P e

N. Por outro lado, nesse processo, o potássio (K) não é removido do efluente líquido, resultando em um LE pobre neste nutriente.

O LE foi seco ao ar até apresentar, aproximadamente, 10% de umidade. Em seguida, foi triturado e passado por uma peneira de 8 mm e, posteriormente, submetido à temperatura de 300 °C em um forno de pirólise (Linn Elektro Therm, Eschenfelden, Alemanha) com dimensões de 610 x 610 x 590 mm (largura x profundidade x altura). Para realização do processo de pirólise, o LE foi acondicionado em um recipiente metálico de 30 litros adaptado ao espaço interno do forno contendo um sistema de saída de gás e bio-óleo, e um mecanismo para evitar o fluxo de oxigênio. Para o controle da temperatura, uma sonda de penetração tipo-K (modelo MTK-15, São Paulo, Brasil) foi acoplada a um termômetro digital (KT-160A, Swidnica, Polônia). O BLE foi produzido a uma taxa média de aumento de temperatura de 2,5 °C min⁻¹, totalizando 110 minutos para atingir a temperatura de 300 °C, e um tempo de residência de 300 minutos.

As propriedades físico-químicas do LE e do BLE são apresentadas na Tabela 4. Os teores totais de carbono (C) e N foram determinados em um analisador elementar (PE 2400, série II CHNS / O, PerkinElmer, Norwalk, EUA). O pH foi determinado em uma solução de CaCl₂ 10 µmol L⁻¹, usando uma suspensão de 1:5 (p/v, biochar:solução) (BRASIL, 2017). As substâncias húmicas (SH) foram determinadas por fracionamento através da solubilidade em meio alcalino e ácido (SWIFT, 1996). As substâncias húmicas foram extraídas pela solução NaOH 0,1 mol L⁻¹ e o teor de carbono foi determinado de acordo com o método de Yeomans e Bremner (1988). Os teores de macronutrientes [P, K, cálcio (Ca), magnésio (Mg), enxofre (S)] foram determinados após a digestão nitroperclórica (SILVA, 2009). O P foi quantificado pelo método do molibdovanadato, o K por fotometria de chama e os demais (Ca, Mg e S) foram determinados por espectrometria de emissão óptica por plasma acoplado indutivamente (ICP-OES) (ICPE-9000, Shimadzu, Japão). Informações complementares sobre as metodologias utilizadas para caracterização físico-química do LE e do biochar estão disponíveis em Figueiredo et al. (2018) e Figueiredo et al. (2019).

Tabela 4. Propriedades físico-químicas do lodo de esgoto (LE) e do biochar (BLE 300 °C) utilizado no estudo.

Propriedades	Lodo de esgoto	BLE 300 °C
Umidade (%)	10,62 ± 1,56	4,26 ± 0,23
Sólidos Voláteis (%)	48,25 ± 1,36	41,75 ± 2,47
Cinzas (%)	39,33 ± 2,38	48,27 ± 1,08
Carbono Fixo (%)	1,79 ± 0,52	5,72 ± 1,55
Carbono Inerte (%)	3,23 ± 0,39	2,86 ± 0,34
Carbono Total (%)	18,58 ± 0,26	19,92 ± 0,28
COT (%)	17,45 ± 0,85	18,61 ± 0,09
MOT (%)	30,09 ± 1,47	32,09 ± 0,15
Ácido Fúlvico (g kg ⁻¹)	24,10 ± 0,58	23,89 ± 0,33
Ácido Húmico (g kg ⁻¹)	8,45 ± 0,39	7,51 ± 0,11
Huminas (g kg ⁻¹)	146,28 ± 3,00	139,90 ± 1,21
Nitrogênio (%)	3,99 ± 0,05	5,05 ± 1,16
C/N	4,66 ± 0,02	3,95 ± 0,96
pH (CaCl ₂)	5,48 ± 0,02	6,04 ± 0,04
CTC (mmol L ⁻¹)	286,67 ± 1,53	265,00 ± 2,00
Fósforo (g kg ⁻¹)	22,81 ± 1,84	28,70 ± 0,33
Potássio (g kg ⁻¹)	0	0
Cálcio (g kg ⁻¹)	13,17 ± 0,21	11,33 ± 0,15
Magnésio (g kg ⁻¹)	2,53 ± 0,06	2,77 ± 0,06
Enxofre (g kg ⁻¹)	13,70 ± 0	15,10 ± 0
Boro (mg kg ⁻¹)	0	0
Cobre (mg kg ⁻¹)	100,00 ± 0	113,33 ± 5,77
Ferro (g kg ⁻¹)	15,40 ± 0,17	16,40 ± 0,10
Manganês (mg kg ⁻¹)	100 ± 0	100 ± 0
Zinco (mg kg ⁻¹)	400,00 ± 0	503,33 ± 5,77
Rendimento (%)	-	81,21 ± 3,30

Valores médios ± desvio padrão (n = 3); COT: carbono orgânico total; MOT: matéria orgânica total; CTC: capacidade de troca de cátions.

8.4.2. Biochar de lodo de esgoto e *T. afroharzianum* no controle de *S. rolfsii* em tomateiro

O experimento foi conduzido na Estação Experimental de Biologia da UnB, com intuito de avaliar o desenvolvimento de plantas de tomate em casa de vegetação e os benefícios associados ao uso do BLE e *T. afroharzianum* no controle do fungo *S. rolfsii* (isolado CEN216).

Esse experimento é uma continuidade ao ensaio realizado com mudas de tomate. Conseqüentemente, foram utilizadas as mudas produzidas no experimento anterior, dando seqüência aos tratamentos utilizados, conduzindo assim, as plantas por um maior período de observação quando submetidas a diferentes tratamentos para controle de *S. rolfsii*.

O solo utilizado no experimento foi coletado do horizonte B de um Latossolo Vermelho Distrófico com textura argilosa (SANTOS et al., 2018), localizado em uma área coberta por vegetação nativa do Cerrado, a uma profundidade de 95 cm, em uma trincheira localizada na Fazenda Água Limpa da Universidade de Brasília (FAL-UnB). Após a coleta, a acidez do solo foi corrigida com a aplicação de calcário dolomítico para elevar a saturação por bases para 60%. Além disso foi realizada a correção dos teores de P e K por meio da aplicação de superfosfato simples e cloreto de potássio, respectivamente. Após a correção, o solo foi incubado por um período de 365 dias. As características físico-químicas do solo após a correção são apresentadas na Tabela 5.

Tabela 5. Características físico-químicas de amostras de solo corrigidas que foram utilizadas no experimento.

Característica	Solo corrigido
Argila (g kg ⁻¹)	700
Areia (g kg ⁻¹)	275
Silte (g kg ⁻¹)	25
pH (H ₂ O)	6,5
P Mehlich ⁻¹ (mg dm ⁻³)	5,67
Ca ²⁺ (cmol _c dm ⁻³)	2,2
Mg ²⁺ (cmol _c dm ⁻³)	0,9
K ⁺ (mg dm ⁻³)	97,75
Enxofre disponível (mg dm ⁻³)	32,7
Na ⁺ (cmol _c dm ⁻³)	0,04
Al ³⁺ (cmol _c dm ⁻³)	0,0
H + Al ³⁺ (cmol _c dm ⁻³)	2,2
SB (cmol _c dm ⁻³)	3,4
T (cmol _c dm ⁻³)	5,6
V%	61
m%	0
CO (g kg ⁻¹)	13,3
MO (g kg ⁻¹)	22,9
Boro (mg dm ⁻³)	0,02

Cobre (mg dm ⁻³)	0,70
Ferro (mg dm ⁻³)	55,9
Manganês (mg dm ⁻³)	4,4
Zinco (mg dm ⁻³)	0,04

SB - soma de bases; t - CTC efetiva; T - CTC a pH 7; V% - saturação por bases; CO – carbono orgânico; MO – matéria orgânica; m% - saturação por alumínio.

De acordo com os ensaios anteriores, foi definida a dose de biochar de 0,6% (massa/massa). O BLE foi incorporado ao solo uma semana anterior ao transplântio das mudas de tomate de mesa cv. Coração de Boi (marca Feltrin®), sendo utilizados vasos de 1,5 litro para montagem do experimento. Além da aplicação do BLE, cada vaso recebeu 656 mg de NPK (04-14-08). As mudas de tomate foram transplantadas com 40 dias após a semeadura.

No presente estudo, o *T. afroharzianum* (CEPA T-22) foi aplicado ao solo em dois momentos, no dia da incorporação do biochar ao solo e a segunda aplicação juntamente com o transplântio das mudas de tomate. Foi definida a dose de 1,5 mL da suspensão de *T. afroharzianum* (5×10^5 UFC mL⁻¹) por vaso para cada aplicação.

Para a produção do inóculo, aproximadamente 200 mL de BDA foram vertidos em Erlenmeyer de 1 L. Com o resfriamento e solidificação do meio de cultura, foi realizada a repicagem do fitopatógeno *S. rolfsii*. Após 48 horas de crescimento do fungo, o Erlenmeyer foi deslacrado, sendo adicionado em torno de 250 g de arroz parboilizado autoclavado. Visto que, para a realização da autoclavagem do arroz, foi necessário o acréscimo de 25 mL de água destilada, representando 10% da massa do arroz. Os Erlenmeyer foram novamente lacrados e, o arroz submetido à colonização pelo fungo por 7 dias. A cada 24 horas, os Erlenmeyer eram agitados, objetivando a colonização homogênea do arroz. Foi realizado o mesmo procedimento, entretanto, sem a adição do *S. rolfsii*, para compor os tratamentos sem o fitopatógeno.

A infestação do solo com o fitopatógeno ocorreu juntamente com a aplicação do biochar, sendo adotado 5 g de arroz colonizado pelo patógeno kg⁻¹ de solo (FALCÃO et al., 2005). Para os tratamentos na ausência do fitopatógeno, grãos de arroz autoclavados foram colocados em Erlenmeyer com BDA sem o microrganismo por sete dias. Foram utilizados 5 g de arroz não inoculado kg⁻¹ de solo.

O experimento contou com os seguintes tratamentos: 1) Controle: sem aplicação de BLE ou *T. afroharzianum*; 2) Aplicação de BLE; 3) Aplicação de *T. afroharzianum*; 4) BLE + *T. afroharzianum*; 5) controle + inoculação do patógeno; 6) BLE + patógeno; 7) *T. afroharzianum* + patógeno; 8) BLE + *T. afroharzianum* + patógeno. O experimento foi delineado em blocos

casualizados, e contou com 4 repetições, sendo definidas duas plantas por repetição (uma planta por vaso).

A irrigação foi conduzida a cada 48 horas com um volume de água de, aproximadamente, 200 mL, para manter o solo próximo da capacidade de campo. Todos os tratamentos receberam uma adubação de cobertura no 35º dia após o transplântio das mudas, adotando-se a dose de 130 mg de ureia e 112,5 mg de NPK (04-14-08) por vaso.

8.4.2.1. Avaliações de indicadores biométricos do tomate

As avaliações agrônômicas das plantas de tomate foram realizadas 70 dias após transplântio das mudas (110 dias após semeadura). As plantas foram coletadas inteiras (parte aérea mais raízes) e, posteriormente, foi realizada a pesagem desses materiais, definindo a massa fresca de parte aérea e raiz, separadamente. Foi realizada também a medição do comprimento de parte aérea e raiz das plantas de tomate com intuito de observar o efeito do BLE e do *T. afroharzianum* no desenvolvimento das plantas, tanto na ausência como na presença do fitopatógeno. Em seguida, as plantas foram armazenadas em sacos de papel e destinadas à secagem em estufa com circulação de ar a 60 °C até apresentarem peso constante, sendo assim, contabilizada a massa seca de parte aérea e raiz.

8.4.2.2. Avaliações de metabólitos secundários produzidos pelas plantas

A coleta de material vegetal para extração de metabólitos secundários (fenóis totais e flavonoides) da planta foi realizada 70 dias após transplântio das mudas. Foram coletadas todas as folhas completamente desenvolvidas da planta, sendo descartadas as que apresentavam algum dano ou estágio de senescência. Esse material foi acondicionado em sacos de papel e, posteriormente, colocados em estufa de circulação forçada de ar a uma temperatura de 45 °C por 48 horas.

Após a secagem do material, foi realizada a trituração das folhas, sendo utilizado um moedor de grãos elétrico. Para extração dos metabólitos secundários das plantas de tomate, 1 g de folha seca e triturada foi colocado em tubo Falcon e, posteriormente, adicionado 10 mL de metanol a uma concentração de 80% (metanol: água) (v/v). Os tubos Falcon foram colocados em banho ultrassônico por um período de 15 minutos. Após essa etapa, realizou-se a filtração do extrato em papel filtro qualitativo (Qualy®).

Os compostos fenólicos totais foram quantificados por espectrofotometria, de acordo com Sousa et al. (2007), com modificações. Em tubos de ensaio, foram adicionados 250 µL da amostra e 1 mL de Folin-Ciocalteu (1:10) (v/v), sendo, então, homogeneizados. Após 5

minutos, foi adicionado 1 mL de Na₂CO₃ (10%) (m/v) e, novamente, homogeneizado, sendo mantido em repouso e ao abrigo da luz durante 30 minutos. Após o desenvolvimento de cor, foi realizada a leitura da absorbância em comprimento de onda de 765 nm. Para quantificação de fenóis totais, foi construída uma curva de calibração com diferentes concentrações do padrão (0, 15, 25, 50, 75 e 100 mg L⁻¹ de ácido gálico). A partir da equação da reta obtida, foram realizados os cálculos para determinação do teor de fenóis totais, sendo os resultados expressos em mg de EAG (equivalentes de ácido gálico) L⁻¹.

A quantificação de flavonoides foi realizada de acordo com Woisky e Salatino (1998), com algumas modificações. Em tubo de ensaio, foi adicionado 2 mL do extrato metanoico (mesmo extrato utilizado para análise do teor de fenóis totais), 2 mL de cloreto de alumínio 5% (m/v) e 2 mL de metanol. Em seguida, as amostras foram homogeneizadas e acondicionadas em ambiente sem incidência de luz por 30 minutos. Posteriormente, em espectrofotômetro, foi realizada a leitura da absorbância em comprimento de onda de 425 nm. A quercetina foi utilizada nas concentrações de 0, 5, 10, 20, 40 e 80 mg L⁻¹ para a elaboração da curva de calibração. A partir da equação da reta obtida, foi realizado o cálculo do teor de flavonoides, sendo os resultados expressos em mg de EQ (equivalentes de quercetina) L⁻¹.

8.4.2.3. Avaliações de parâmetros fotossintéticos

As medições de fluorescência da clorofila *a* foram realizadas através do equipamento MultispeQ V 2.0, interligado à plataforma PhotosynQ (<http://www.photosynq.org>). As medições foram realizadas 50 dias após transplântio das mudas de tomate. As leituras com o equipamento foram feitas no turno matutino (9 às 11 horas, horário de Brasília), sendo as folhas do terço média das plantas selecionadas para as avaliações. Para a mensuração dos parâmetros, foram escolhidas as folhas completamente desenvolvidas, sem danos ou sinal de senescência. As seguintes características foram avaliadas: máxima emissão de fluorescência da clorofila (F_m), fluorescência inicial (F₀), rendimento quântico potencial do fotossistema II (FSII) (F_v/F_m) e teor relativo de clorofila (SPAD).

8.4.2.4. Avaliação de controle da doença

Ao final do experimento, foi determinado o percentual de plantas sobreviventes com objetivo de avaliar a capacidade dos diferentes tratamentos em reduzir a mortalidade de plantas de tomate ocasionada pelo fitopatógeno *S. rolfsii*.

8.4.2.5. Análise química dos solos

Para análises das propriedades químicas do solo (macronutrientes, pH, saturação por bases (V%) e matéria orgânica (MO)), as amostras de solo foram coletadas após a retirada das plantas de tomate dos vasos. Posteriormente, as amostras foram passadas em peneiras de malha 2,0 mm e analisadas conforme metodologia da Embrapa (2017). Os teores disponíveis de P e potássio (K) foram extraídos com Mehlich-1, sendo determinados por espectrofotometria e espectrofotometria de chama, respectivamente; Cátions trocáveis (Ca^{2+} ; Mg^{2+} e Al^{3+}) extraídos com uma solução de KCl 1 mol L⁻¹; o pH do solo foi determinado em solução de 0,01 mol L⁻¹ CaCl₂, adotando-se a proporção solo/solução de 1:2,5 (v/v). As concentrações de H + Al foram determinadas em extratos de solo obtidos com acetato de cálcio 0,5 mol L⁻¹ em pH 7,0. As concentrações foram determinadas por titulação utilizando um padrão de NaOH 0,025 mol L⁻¹.

8.4.2.6. Análise estatística

Os dados foram submetidos a análise de variância (ANOVA) e as médias foram comparadas pelo teste de Duncan ($p < 0,05$). As análises serão realizadas utilizando o programa IBM SPSS Statistics, versão 23.0 (IBM, 2015), e os gráficos desenvolvidos por meio do programa SigmaPlot, versão 12.5 (SYSTAT SOFTWARE, 2013).

8.5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

8.5.1. Biochar de lodo de esgoto e *T. afroharzianum* no controle de *S. rolfsii* em tomateiro

8.5.1.1. Avaliações de indicadores biométricos de plantas de tomate

O uso de BLE associado ao *T. afroharzianum* estimulou o desenvolvimento radicular de plantas de tomate, com incremento de 43% no comprimento (cm) de raiz na ausência do fitopatógeno, sendo superior aos demais tratamentos ($P < 0,05$; Figura 8). Consequentemente, esses resultados reforçam a importância e os benefícios que são obtidos em decorrência do efeito aditivo existente entre o BLE e o *T. afroharzianum*.

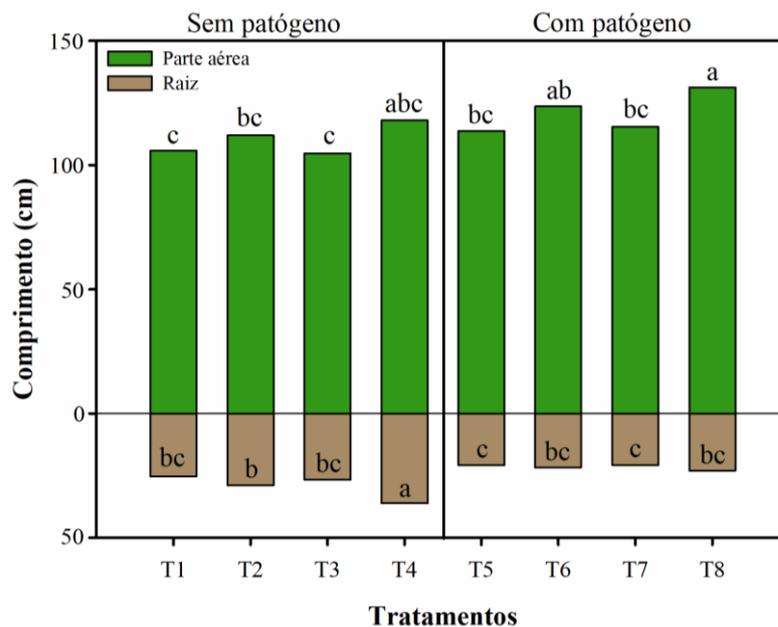


Figura 8. Comprimento de parte aérea e raiz 70 dias após transplântio das mudas de tomate. T1: Controle: sem aplicação de BLE ou *T. afroharzianum*; T2: Aplicação de BLE exclusivo; T3: Aplicação de *T. afroharzianum*; T4: BLE + *T. afroharzianum*; T5: Controle + patógeno; T6: BLE + patógeno; T7: *T. afroharzianum* + patógeno; T8: BLE + *T. afroharzianum* + patógeno. Letras iguais indicam ausência de diferença significativa entre tratamentos de acordo com o teste de Duncan ($p < 0,05$).

A infestação do solo com o fitopatógeno não reduziu ou gerou efeitos deletérios em comprimento de parte aérea e de raiz das plantas. Em contrapartida, o uso de BLE associado ao *T. afroharzianum* foi responsável pelo maior desenvolvimento de parte aérea das plantas de tomate. Esses resultados ratificam a importância da introdução de fontes orgânicas nos sistemas produtivos e demonstram que a inclusão de microrganismos benéficos potencializa não apenas o controle de doenças, mas também, estimula o desenvolvimento das plantas. Contreras-Cornejo et al. (2016) destacam a importância do *Trichoderma* não só voltado ao controle de doenças, mas sua interação com a planta alterando aspectos fisiológicos e bioquímicos, visto que os fungos podem aumentar o conteúdo de hormônios vegetais endógenos relacionados à defesa e ao crescimento.

A inclusão de BLE e BLE + *T. afroharzianum* no sistema sem fitopatógeno proporcionou um incremento de massa fresca de parte aérea em relação ao tratamento controle de, aproximadamente, 43 e 65%, respectivamente (Figura 9A). Os resultados das avaliações das raízes de plantas de tomate apresentaram dinâmica semelhante ao observado na parte aérea, em que o uso de BLE e a combinação BLE + *T. afroharzianum* foram responsáveis por um

aumento de massa fresca em relação ao tratamento controle de, aproximadamente, 66 e 125%, respectivamente. Esses resultados demonstram que a adoção de sistemas com inserções de microrganismos benéficos pode potencializar o desenvolvimento das plantas, cenário que se sobressai ao objetivo exclusivo de controle de doenças.

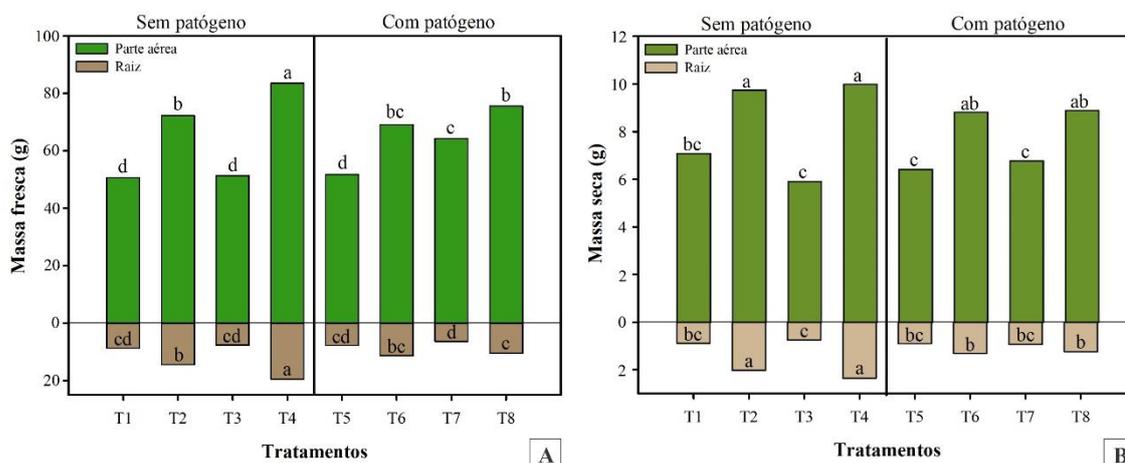


Figura 9. Massa fresca (A) e massa seca (B) de parte aérea e raiz 70 dias após transplântio das mudas de tomate. T1: Controle: sem aplicação de BLE ou *T. afroharzianum*; T2: Aplicação de BLE exclusivo; T3: Aplicação de *T. afroharzianum*; T4: BLE + *T. afroharzianum*; T5: Controle + patógeno; T6: BLE + patógeno; T7: *T. afroharzianum* + patógeno; T8: BLE + *T. afroharzianum* + patógeno. Letras iguais indicam ausência de diferença significativa entre tratamentos de acordo com o teste de Duncan ($p < 0,05$).

O incremento da biomassa vegetal em decorrência da combinação BCH + *Trichoderma* também foi observado por Cao et al. (2022). Os autores destacaram que biochar de resíduo vegetal (caule de milho) em combinação com o *Trichoderma* resultou em aumento de massa fresca, massa seca e comprimento radicular em plantas de pepino (*Pepino sativus*). Dentre os fatores que foram associados ao maior desenvolvimento das plantas, estão a diversidade da comunidade bacteriana benéfica do solo e a maior disponibilidade de nutrientes. Sani et al. (2020) observaram que o BCH de resíduos de madeira em conjunto com o *Trichoderma harzianum* T22 aumentou a disponibilidade dos nutrientes no solo, o crescimento fúngico e bacteriano na rizosfera, além do conteúdo antioxidante (por exemplo, ácido ascórbico, β -caroteno e licopeno) nos frutos de tomate (*Lycopersicon esculentum* L.).

Na presença do fitopatógeno, observa-se que todos os tratamentos aumentaram a massa fresca de parte aérea das plantas de tomate, sendo o uso do BLE + *T. afroharzianum* o tratamento com maior destaque (Figura 9A). O efeito sinérgico associado ao uso do BLE em

conjunto com *T. afroharzianum* proporcionou um incremento de 46% em massa fresca de parte aérea em comparação a não implantação de medidas de controle do fungo *S. rolfsii*.

Os resultados de massa seca, na ausência do fitopatógeno, realçam os efeitos do BLE e BLE + *T. afroharzianum* no incremento de biomassa tanto da parte aérea como da raiz (Figura 9B). O BLE e BLE + *T. afroharzianum* foram responsáveis por um aumento de massa seca da parte aérea de plantas de tomate de 37,5 e 41%, respectivamente, em relação ao controle (T1); já na massa seca de raízes, esse aumento foi de 128 e 165%, respectivamente. Apesar do *S. rolfsii* não ter afetado a produção de massa seca das plantas de tomate, a inclusão de manejos visando a supressão do fitopatógeno melhorou o desenvolvimento das plantas em comparação a não adoção de medidas de controle, visto que o BLE e o BLE + *T. afroharzianum* promoveram ganhos de biomassa de parte aérea de 37,4 e 38,5%, respectivamente, em relação ao controle + patógeno (T5).

A combinação BLE + *Trichoderma* tem demonstrado efetividade no incremento de biomassa vegetal tanto na presença com ausência de fitopatógeno (ARAUJO et al., 2019a). Jaiswal et al. (2015) destacaram a importância da dose do BCH no controle de *Rizoctonia solani* em feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.). Estes autores demonstraram que a aplicação de BCH de madeira de eucalipto (na dose de 1%) e BCH de resíduo vegetal de casa de vegetação (na dose de 0,5%), ambos pirolisados a 350 °C, resultaram em maior massa seca e altura de planta em relação ao controle na presença do fitopatógeno. Esses resultados são decorrentes da interação entre o BCH e suas propriedades físico-químicas (adsorção, toxinas, redox, pH, hormesis, nutrientes, porosidade, retenção de água), o microbioma da rizosfera, as condições ambientais, a espécie vegetal e o fitopatógeno.

Chagas et al. (2021) demonstraram que o uso de BLE em sistemas agrícolas é uma estratégia para melhoria das propriedades químicas do solo, em que há o fornecimento de nutrientes e um melhor estado nutricional das plantas de milho (*Zea mays*), favorecendo assim, um incremento em massa seca e produtividade. Jaiswal et al. (2020a) observaram que o uso de BCH de resíduos de plantas de casa de vegetação garantiu um incremento de até 31% no crescimento de plantas de tomate inoculadas com *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis lycopersici*. De acordo com os autores, a análise transcriptômica (RNA-seq) do tomate demonstrou que o BCH apresentou um efeito *priming* na expressão gênica, aumentando as vias e genes associados à defesa e crescimento da planta, como ácido jasmônico, brassinosteróides, citocininas, auxina e síntese de flavonoides, fenilpropanoides e parede celular.

O uso de BCHs de resíduos vegetais apresenta correlação positiva e significativa dos atributos químicos do solo com os indicadores de desenvolvimento das plantas, visto que o maior comprimento de parte aérea de plantas de meloeiro (*Cucumis melo* L.) foi associado aos maiores teores de P, Mg²⁺ e carbono orgânico total (Medeiros et al., 2020). Dentre os benefícios associados ao BCH, Vecstaudza et al. (2018) demonstraram que o uso do BCH de madeira foi responsável pela maior sobrevivência de *Trichoderma* spp. no solo. Olowe et al. (2022) destacam a eficácia do *Trichoderma* no manejo de doenças vegetais, indução de resistência à doença e aumento do crescimento das plantas.

8.5.1.2. Avaliações de metabólitos secundários produzidos pelas plantas

Os resultados das avaliações de fenóis totais em plantas de tomate apresentaram dois comportamentos distintos em decorrência da presença ou ausência do fitopatógeno *S. rolfsii*. Na ausência do fitopatógeno a associação BLE + *T. afroharzianum* estimulou a produção de fenóis totais pelas plantas, com um aumento de 25,8% em relação à aplicação exclusiva de BLE (Figura 10A). Kumar et al. (2022) observaram que a inoculação de plantas de batata (*Solanum tuberosum* L.) com diferentes espécies de *Trichoderma* (*T. viride* e *T. harzianum*) resultou em maior produção de fenóis totais, em destaque à maior produção de ácido gálico, ácido chiquímico e ácido siríngico. Os autores destacaram a importância dos compostos fenólicos na proteção das plantas contra o ataque de fungos patogênicos, visto que tais compostos desempenham um papel crucial na biossíntese do ácido cinâmico, L-fenilalanina e fenilpropanoides.

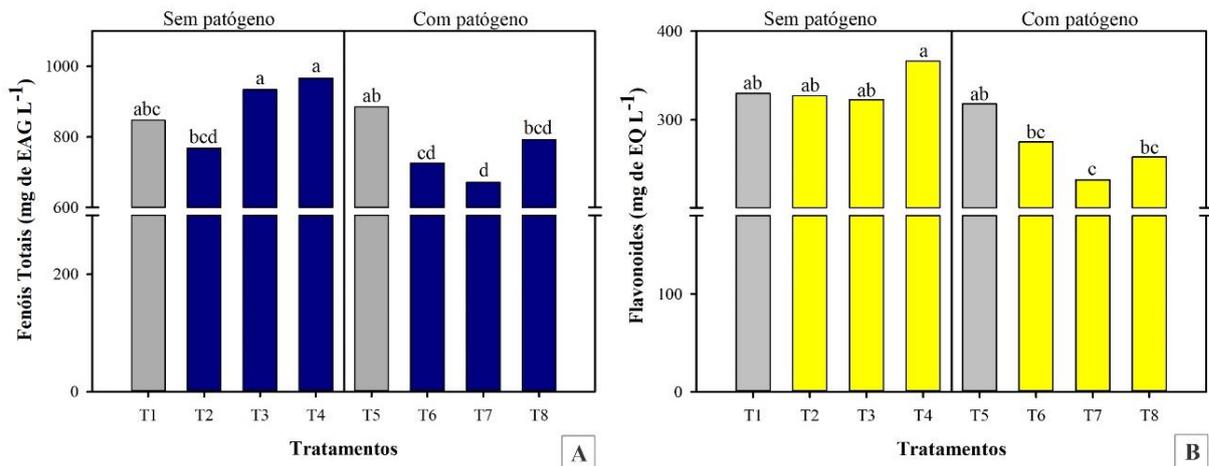


Figura 10. Teores de Fenóis Totais (A) e Flavonoides (B) 70 dias após transplante das mudas de tomate. T1: Controle: sem aplicação de BLE ou *T. afroharzianum*; T2: Aplicação de BLE exclusivo; T3: Aplicação de *T. afroharzianum*; T4: BLE + *T. afroharzianum*; T5: Controle + patógeno; T6: BLE + patógeno; T7: *T. afroharzianum* + patógeno; T8: BLE + *T. afroharzianum* + patógeno. Letras iguais indicam ausência de diferença significativa entre tratamentos de acordo com o teste de Duncan ($p < 0,05$).

A adoção de medidas de controle do fitopatógeno *S. rolfisii* por meio da utilização do BLE e *T. afroharzianum* de forma isolada minimizou a produção fenóis totais pelas plantas de tomate, visto que o uso do *Trichoderma* (T7) foi responsável por uma redução de, aproximadamente, 24% em relação ao controle (T5). De forma distinta, El-Sharkawy et al. (2018) demonstraram que plantas de trigo (*Triticum aestivum* L.) infectadas com *Puccinia graminis* Pers. f. sp. *tritici* apresentaram maior teor fenóis totais em comparação as não infectadas. A inclusão do *Trichoderma* (*T. harzianum* e *T. viride*) no sistema com e sem fitopatógeno resultou em maior produção de fenóis totais, sendo destacado a importância desses compostos na defesa da planta, indicando seu efeito desencadeante no sistema imunológico da planta contra a doença da ferrugem do trigo. Em contrapartida, neste presente trabalho, plantas de tomate infectadas com o fitopatógeno *S. rolfisii* apresentaram menor produção de fenóis totais quando inoculadas com o *T. afroharzianum*.

O uso de BCH também está associado ao aumento nos teores de fenóis totais produzidos pelas plantas. Zulfiqar et al. (2019) observaram que a aplicação de BCH de palha de trigo no substrato de plantas ornamentais *Syngonium podophyllum* resultou em um incremento de 9% no teor de fenóis totais, além das taxas fotossintéticas líquidas e produção de biomassa significativamente maiores. Rasool et al. (2021) demonstraram que doses crescentes de BCH de madeira e de resíduos vegetais estimulam a produção de compostos fenólicos totais em

folhas de tomate. Os autores destacaram também que o estresse gerado pelo fitopatógeno *Alternaria solani* também é responsável pelo aumento nos teores de fenóis totais em plantas de tomate.

A produção de flavonoides pelas plantas de tomate avaliadas nesse experimento (Figura 10B) não apresentou diferença estatística entre os tratamentos na ausência do fitopatógeno. Com a inoculação do *S. rolfsii* no sistema (T5), a produção de flavonoides não foi alterada em relação ao controle (T1). Entretanto, foi observado que a adoção do fungo *T. afroharzianum* (T7) como ferramenta de controle da doença ocasionou uma redução na produção de flavonoides pelas plantas.

Yang et al. (2022) demonstraram que a utilização de BCH de palha de tabaco vai além da maior absorção de nutrientes pelas plantas, como no caso da cereja chinesa (*Prunus pseudocerasus*). Os autores destacam que o BCH está positivamente correlacionado com o aumento na taxa fotossintética das plantas e regulação na produção de fito-hormônios, além da expressão de genes-chave relacionados com a biossíntese de flavonoides, impactando a comunidade bacteriana da rizosfera, favorecendo o desenvolvimento de bactérias promotoras de crescimento. Mahmoud et al. (2021) observaram que o teor total de flavonoides nas folhas de tomate aumentou significativamente após a infecção pelo patógeno *Alternaria cerealis* no período de 2 e 24 horas. Os autores justificam esse resultado em função de uma possível estratégia de defesa antibiótica das células vegetais, em que há um aumento do teor de flavonoides para reduzir o acúmulo de espécies reativas de oxigênio em resposta ao estresse ocasionado pelo fitopatógeno, visto também que, plantas de tomate tratadas com *T. harzianum* apresentavam menor produção de flavonoides nas primeiras horas (0 a 24 horas).

8.5.1.3. Avaliações de parâmetros fotossintéticos

A máxima emissão de fluorescência da clorofila (Fm) em plantas de tomate foi afetada pela aplicação de BLE ao solo (Tabela 6). O uso do BLE de forma isolada ou associado com *T. afroharzianum* resultou em um incremento nos valores de Fm em relação ao controle (T1) de 8,8 e 9,6%, respectivamente. Em contrapartida, nos tratamentos em que houve a inoculação do fitopatógeno *S. rolfsii*, apenas a associação BLE + *T. afroharzianum* (T8) acarretou incremento nos valores de Fm em relação ao Controle + patógeno (T5), sendo observado um aumento de 6,5%.

Tabela 6. Parâmetros fotossintéticos determinados 50 dias após transplântio das mudas.

Tratamentos ^a	F _m	F ₀	Fv/F _m	SPAD
T1	2560,15 ± 34,3 d	650,75 ± 8,8 c	0,745 ± 0,007 a	26,77 ± 0,45 c
T2	2784,63 ± 10,9 ab	709,75 ± 2,3 ab	0,748 ± 0,004 a	30,68 ± 0,39 a
T3	2671,99 ± 22,7 bcd	662,00 ± 5,9 c	0,757 ± 0,002 a	27,59 ± 0,49 bc
T4	2806,90 ± 21,0 a	713,00 ± 11,1 a	0,736 ± 0,007 a	31,43 ± 0,59 a
T5	2576,89 ± 55,1 cd	649,00 ± 16,8 c	0,747 ± 0,010 a	25,95 ± 0,51 c
T6	2587,73 ± 40,5 cd	665,25 ± 8,4 c	0,742 ± 0,005 a	25,94 ± 0,71 c
T7	2696,55 ± 42,3 abc	653,00 ± 23,0 c	0,758 ± 0,006 a	28,68 ± 0,38 b
T8	2745,12 ± 51,5 ab	672,50 ± 6,5 bc	0,746 ± 0,007 a	29,05 ± 0,40 b

F_m - máxima emissão de fluorescência da clorofila; F₀ - fluorescência inicial; Fv/F_m - rendimento quântico potencial do fotossistema II (FSII); SPAD - teor relativo de clorofila. T1: Controle: sem aplicação de BLE ou *T. afroharzianum*; T2: Aplicação de BLE exclusivo; T3: Aplicação de *T. afroharzianum*; T4: BLE + *T. afroharzianum*; T5: Controle + patógeno; T6: BLE + patógeno; T7: *T. afroharzianum* + patógeno; T8: BLE + *T. afroharzianum* + patógeno. Letras iguais indicam ausência de diferença significativa entre tratamentos de acordo com o teste de Duncan (p<0,05). ^a: valores médios ± erro padrão (n=4).

A fluorescência inicial (F₀) das plantas de tomate foi afetada pela aplicação de BLE ao solo, representando um aumento de 9% quando aplicado de forma isolada e de 9,6% quando associado ao *T. afroharzianum*. Entretanto, em plantas inoculadas com o fitopatógeno, não houve diferença entre os tratamentos utilizados para controle da doença. Foi observado também que apesar do incremento de F_m e F₀, o rendimento quântico potencial do fotossistema II (FSII) (Fv/F_m) não variou entre tratamentos, tanto na presença como ausência do fitopatógeno *S. rolfsii*.

Formisano et al. (2021) descreveram que plantas de abobrinha (*Cucurbita pepo* L.) que receberam *Trichoderma harzianum*-T22 apresentavam maiores valores de Fv/F_m, podendo refletir a melhor assimilação e translocação de magnésio e fósforo, importantes no processo fotossintético. Oszako et al. (2021) observaram que o uso do *Trichoderma asperellum* no controle de oídio (*Erysiphe alphitoides*) em plantas de carvalho (*Quercus robur*) refletiu em um aumento em diferentes parâmetros da fluorescência da clorofila, tais como F_m, F₀ e Fv/F_m. Os autores destacaram a importância do *Trichoderma* em melhorar a eficiência fotossintética das plantas, visto que isso reflete a tolerância vegetal a condições ambientais adversas, favorecendo com que essas plantas possam lidar melhor ao estresse.

Ghassemi-Golezani e Farhangi-Abriz (2019) apontaram o BCH como uma ferramenta para minimizar os danos ocasionados por condições adversas que limitavam o desenvolvimento

das plantas de cártamo (*Carthamus tinctorius* L.), como a toxicidade por flúor. Os autores destacaram que em condições de toxicidade, o BCH foi responsável pela menor solubilidade e absorção de flúor pelas plantas, o que resultou em menor estresse oxidativo e um maior rendimento quântico máximo do fotossistema II. Lyu et al. (2016) observaram que em condições de estresse hídrico, plantas tratadas com BCH apresentavam menor fluorescência inicial (F_0). Os autores relatam que o BCH apresentou um efeito positivo sobre o potencial hídrico foliar, amenizando os efeitos nocivos do estresse hídrico sobre o mecanismo fisiológico interno da fotossíntese, acarretando em um aumento no F_v/F_m .

O uso do BLE neste presente estudo destacou-se por sua capacidade de incrementar P no solo, sendo esse resultado potencializado em virtude de sua combinação com *T. afroharzianum*, tanto na ausência como presença do fitopatógeno. Chtouki et al. (2021) abordaram em seu trabalho que plantas de tomate apresentaram maiores valores de F_m , teor de clorofila foliar, índice de desempenho do fotossistema II em resposta a maiores doses de P. Latifinia e Eisvand (2022) destacaram em seu trabalho a influência dos fatores nutricionais nos parâmetros de fluorescência da clorofila em plantas de soja (*G. max*), visto que em condições de maior disponibilidade de nutrientes observa-se maiores valores de F_v/F_m , além da maior produção de grãos, teor de óleo e proteína e taxa fotossintética.

Plantas de tomate submetidas ao tratamento com BLE apresentaram um incremento do índice SPAD de 14,6% quando comparadas ao controle (T1). Esse índice foi ainda superior em decorrência da associação BLE + *T. afroharzianum*, com aumento de 17,40% em relação ao controle. Os tratamentos T7 e T8 foram responsáveis por um aumento do índice SPAD em 10,5 e 12%, respectivamente, em relação ao controle + patógeno (T5).

Sousa et al. (2015) observaram o uso de BLE está relacionado ao aumento do índice SPAD em plantas de rabanete (*Raphanus sativus* L.). Os autores destacam que o índice SPAD correlaciona-se positivamente com o teor de clorofila nas folhas e o rendimento da cultura. Sani et al. (2020) descreveram que a combinação BCH + *T. harzianum* T22 em plantas de tomate reflete em maior índice SPAD que a aplicação isolada de cada um. Bader et al. (2020) destacam que além do potencial do *T. harzianum* controlar fitopatógenos como *F. oxysporum*, esse microrganismo é evidenciado por estimular o crescimento de plantas de tomate, viabilizando uma maior área foliar, além do maior índice SPAD, sendo este um indicador indireto do teor de clorofila.

8.5.1.4. Avaliação do controle da doença

Na ausência do fungo *S. rolfsii*, a sobrevivência de plantas de tomate não foi afetada pela aplicação de BLE e *T. afroharzianum* (Figura 11). Com a inserção do fitopatógeno (T5), houve uma redução de 50% no percentual de sobrevivência em decorrência da murcha ocasionada pelo *S. rolfsii* em comparação ao controle (T1). A combinação BLE + *T. afroharzianum* foi responsável por um incremento de 50% na sobrevivência de plantas em comparação ao uso isolado do *T. afroharzianum* (T7). Esse resultado reforça a importância da adoção de medidas para controle de patógenos, e a associação BLE + *T. afroharzianum* tem se mostrado uma ferramenta promissora para o manejo da doença.

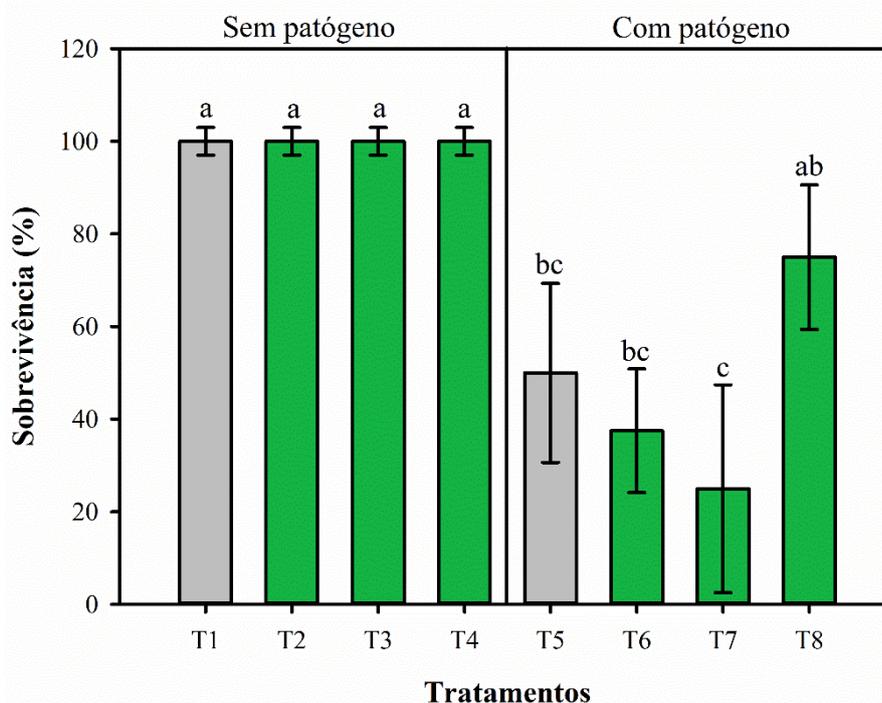


Figura 11. Sobrevivência de plantas de tomate 70 dias após transplante. T1: Controle: sem aplicação de BLE ou *T. afroharzianum*; T2: Aplicação de BLE exclusivo; T3: Aplicação de *T. afroharzianum*; T4: BLE + *T. afroharzianum*; T5: Controle + patógeno; T6: BLE + patógeno; T7: *T. afroharzianum* + patógeno; T8: BLE + *T. afroharzianum* + patógeno. Letras iguais indicam ausência de diferença significativa entre tratamentos de acordo com o teste de Duncan ($p < 0,05$). As barras de erro representam o desvio padrão da média ($n=4$).

O manejo de doenças de plantas deve incorporar diferentes ferramentas para minimizar os possíveis efeitos deletérios ocasionados pelos fitopatógenos, como também, devem ser adotadas estratégias que favoreçam o desenvolvimento das plantas para menor suscetibilidade a doenças. Zulfiqar et al. (2021) demonstraram que o uso de BCH de palha de trigo foi

responsável pelo incremento em 19% na taxa fotossintética líquida em *Alpinia zerumbet*. Além disso, plantas tratadas com BCH apresentavam maiores teores de clorofila a e b, fenóis totais, flavonoides e menor estresse oxidativo, visto que a síntese de compostos fenólicos foi associada à maior atividade antioxidante. Rasool et al. (2021) destacaram em seu trabalho que o estímulo gerado pelo BCH ativa adequadamente a resposta de defesa da planta a nível molecular e, essa resposta também está associada a interação do BCH com os microrganismos benéficos do solo, que interagem para obter respostas associadas à defesa contra fitopatógenos.

Da Silva et al. (2022) observaram que a combinação BCH + *Trichoderma* alterou diferentes propriedades físico-químicas e biológicas do solo, como pH, P, K, carbono orgânico total, atividade das enzimas beta-glicosidase e urease, além de reduzir a severidade da podridão radicular da mandioca, causada por *Fusarium solani*. Os autores destacam que a alteração de determinadas propriedades do solo afeta a severidade de doenças causadas por patógenos de solo, como por exemplo, a podridão radicular da mandioca (*Manihot esculenta* Crantz), causada por *F. solani*, que foi positivamente correlacionada com a acidez potencial ($H + Al^{3+}$). Abdelhafez et al. (2021) demonstraram que a inoculação de plantas de feijão (*Phaseolus vulgaris*) com microrganismos, como o *Trichoderma*, aumentou significativamente as atividades de enzimas extracelulares de defesa vegetal, por exemplo, quitinase, peroxidase e polifenol oxidase, além de aumentar a absorção de P pelas plantas e competir com o patógeno por nutrientes no solo, reduzindo assim a infecção por *S. rolfsii*.

Jaiswal et al. (2020b) observaram que o *Trichoderma harzianum* (T-22) foi responsável pelo incremento em biomassa radicular em 17 dos 25 genótipos de tomate avaliados, além de reduzir a gravidade do mofo cinzento em até 56%, doença causada pelo fungo *Botrytis cinerea*, em 13 desses genótipos. Mahmoud et al. (2021) demonstraram que o uso de ferramenta biológica para controle de doenças em plantas ativa as estratégias das células de defesa, aumentando a tolerância da planta e ativando sistemas de defesa vegetal. Esse mecanismo envolve a produção de fenol total, flavonoides, terpenoides, antioxidante, malondialdeído e enzimas antioxidantes (catalase e peroxidase).

Neste trabalho, a combinação BLE + *T. afroharzianum* foi responsável pelos melhores índices de desenvolvimento das plantas de tomate, resultados observados tanto na ausência como presença do fitopatógeno *S. rolfsii*. Essa combinação aliou benefícios não só expressos pelas plantas, mas também em características físico-químicas do solo, como por exemplo, o aumento de P disponível. A junção de todas essas características pode ter colaborado pela maior

sobrevivência de plantas inoculadas com *S. rolfsii*, visto a complexidade do controle de fitopatógenos habitantes de solo e, a maior eficiência quando adotadas diferentes ferramentas.

8.5.1.5. Análise química dos solos

Os resultados da análise química dos solos, realizada ao final do experimento, foram importantes para o mapeamento das principais propriedades do solo que foram alteradas em decorrência da aplicação do BLE, demonstrando possíveis efeitos nutricionais do BLE sobre o desenvolvimento da planta na presença e na ausência do patógeno. Na ausência do fitopatógeno, a combinação BLE + *T. afroharzianum* promoveu um aumento de pH do solo em relação ao controle (T1) (Tabela 7). Observa-se um incremento da CTC do solo quando comparado o tratamento T8 com o T3. A avaliação do solo que recebeu *T. afroharzianum* (T7) demonstrou maior V% em relação ao uso isolado do BLE (T2) e ao controle (T1). Foi possível observar também que o tratamento T8 foi responsável por um decréscimo no teor de MO no solo em relação aos demais tratamentos.

Tabela 7. Caracterização físico-química dos solos ao final do experimento.

Tratamentos ^a	pH	CTC (cmolc dm ⁻³)	V%	MO (g kg ⁻¹)
T1	5,5 ± 0,06 b	7,32 ± 0,35 ab	63,25 ± 2,17 b	21,6 ± 0,74 a
T2	5,5 ± 0,05 b	7,12 ± 0,06 ab	63,25 ± 1,60 b	22,3 ± 0,69 a
T3	5,7 ± 0,04 a	6,93 ± 0,35 b	66,75 ± 1,78 ab	22,3 ± 0,89 a
T4	5,7 ± 0,01 a	7,59 ± 0,39 ab	67,75 ± 2,00 ab	21,9 ± 1,71 a
T5	5,6 ± 0,04 ab	7,68 ± 0,18 ab	66,50 ± 0,94 ab	23,3 ± 0,35 a
T6	5,6 ± 0,03 ab	7,27 ± 0,18 ab	67,50 ± 0,89 ab	21,5 ± 0,81 a
T7	5,7 ± 0,02 a	7,52 ± 0,18 ab	70,25 ± 0,30 a	24,8 ± 0,96 a
T8	5,7 ± 0,03 a	8,08 ± 0,42 a	68,50 ± 1,81 ab	18,0 ± 1,10 b

T1: Controle: sem aplicação de BLE ou *T. afroharzianum*; T2: Aplicação de BLE exclusivo; T3: Aplicação de *T. afroharzianum*; T4: BLE + *T. afroharzianum*; T5: Controle + patógeno; T6: BLE + patógeno; T7: *T. afroharzianum* + patógeno; T8: BLE + *T. afroharzianum* + patógeno. CTC – capacidade de troca de cátions; V% - saturação por bases; MO – matéria orgânica. Letras iguais indicam ausência de diferença significativa entre tratamentos de acordo com o teste de Duncan (p<0,05). ^a: valores médios ± erro padrão (n=4).

Os resultados de Ca²⁺ e Mg²⁺ demonstraram que o BLE e a combinação BLE + *T. afroharzianum*, na concentração utilizada neste ensaio, não diferiram entre os diferentes tratamentos (Figura 12, A e B). O BLE aumentou os teores de P nos solos, tanto na ausência como presença do fitopatógeno (Figura 12C). O uso do BLE em sistemas agrícolas vem se

destacando por ser uma ferramenta alternativa no fornecimento de nutrientes para as plantas, principalmente no suprimento de P (FIGUEIREDO et al., 2021; FACHINI et al., 2021). Os resultados indicam um efeito sinérgico do BLE + *T. afroharzianum*. A inclusão do *T. afroharzianum* no sistema, em conjunto com o BLE, foi responsável pelos maiores teores de P nos solos, sendo esses teores superiores a aplicação isolada do BLE.

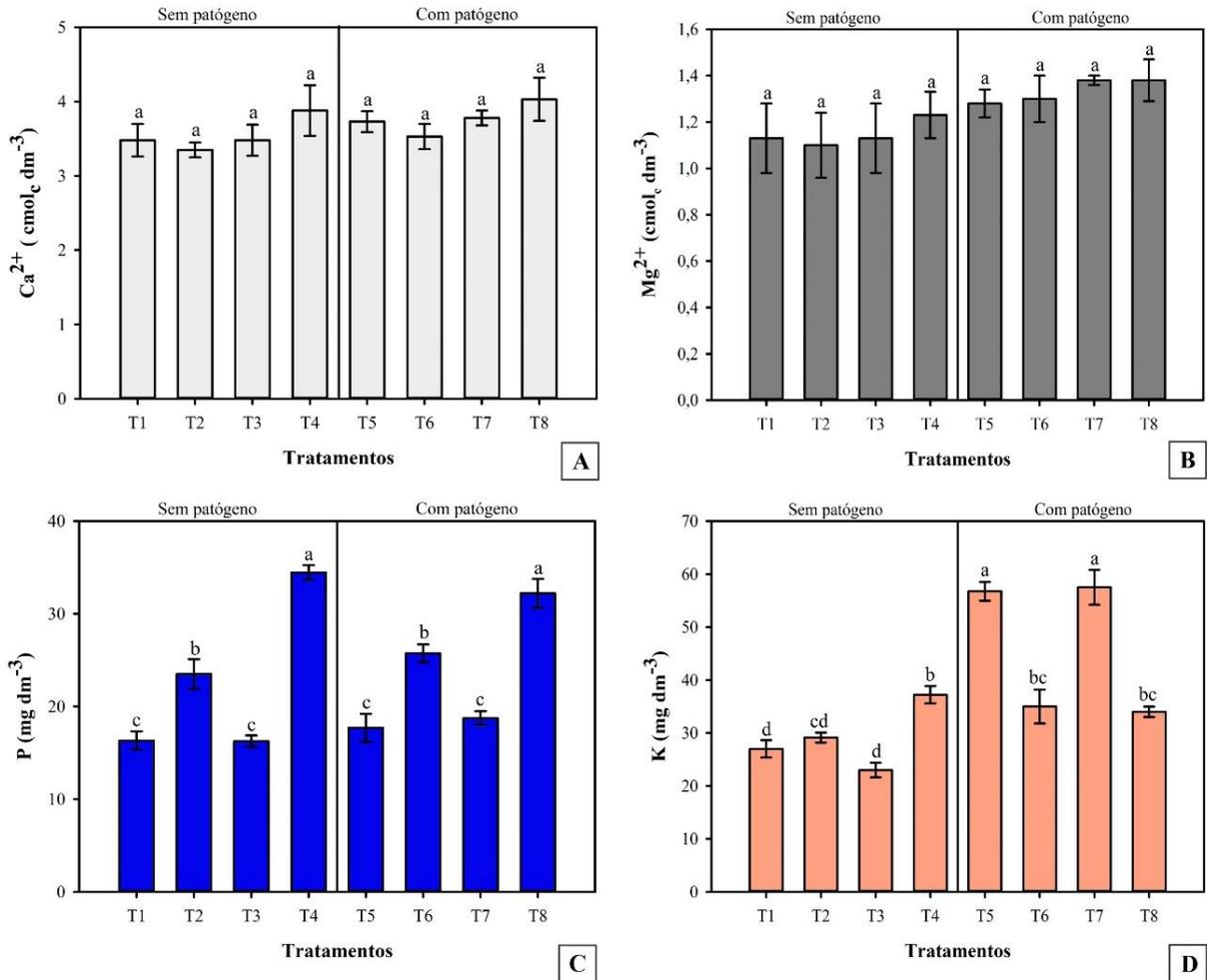


Figura 12. Teores de macronutrientes no solo ao final do experimento (Ca²⁺ (A), Mg²⁺ (B), P (C) e K (D)). T1: Controle: sem aplicação de BLE ou *T. afroharzianum*; T2: Aplicação de BLE exclusivo; T3: Aplicação de *T. afroharzianum*; T4: BLE + *T. afroharzianum*; T5: Controle + patógeno; T6: BLE + patógeno; T7: *T. afroharzianum* + patógeno; T8: BLE + *T. afroharzianum* + patógeno. Letras iguais indicam ausência de diferença significativa entre tratamentos de acordo com o teste de Duncan (p<0,05). As barras de erro representam o desvio padrão da média (n=4).

Esse efeito positivo da interação de BLE e microrganismos benéficos na disponibilidade de P já foi apontado em trabalhos prévios. Qian et al. (2019) destacaram a importância da interação da microbiota do solo na disponibilidade de P do BLE, visto que essa liberação ocorre

principalmente pela dissolução de compostos contendo P (metafosfatos e P associado ao C) presentes no BCH e, pode ser potencializada por determinados microrganismos, como *Pseudomonas putida*. Os efeitos benéficos de *Trichoderma* já vem sendo estudado na última década. Bononi et al. (2020) demonstraram que diferentes cepas de *Trichoderma* aplicadas em conjunto com uma fonte de fósforo promoveram maior crescimento de plantas de soja (*Glycine max*), resultado superior ao observado na aplicação isolada dos fertilizantes. Esses autores destacam a produção de diferentes ácidos orgânicos pelas cepas de *Trichoderma* durante o processo de solubilização de P, bem como, a maior eficiência na absorção desse nutriente pelas plantas.

Na ausência do fungo *S. rolf sii*, a aplicação de BLE no solo promoveu um incremento de 7,17 mg dm⁻³ de P, o que representa um aumento de, aproximadamente, 44% em relação ao controle. Na associação BLE + *T. afroharzianum* esse incremento de P no solo foi 18,12 mg dm⁻³, um aumento superior a 100% em relação ao controle. Quando comparamos os resultados do tratamento BLE + *T. afroharzianum* com a aplicação isolada do BLE, notou-se que o *T. afroharzianum* potencializou o incremento de P disponível nesses solos e, esse aumento foi de 10,95 mg dm⁻³, ou seja, um acréscimo de, aproximadamente, 47%.

De maneira geral, o uso do BLE, de forma isolada ou associada ao *T. afroharzianum*, objetivando o controle de *S. rolf sii* em tomateiro, também resultou em aumento do teor de P disponível no solo (Figura 12C). Em comparação ao tratamento T5, a aplicação de BLE (T6) e a combinação BLE + *T. afroharzianum* (T8) elevaram o teor de P no solo em 45 e 82%, respectivamente. A presença do *T. afroharzianum* no tratamento com BLE foi responsável por um incremento superior a 25% no teor de P disponível no solo quando comparado com a aplicação isolada do BLE, visto que, houve um aumento de 6,45 mg dm⁻³ de P nesses solos.

Diferentes cepas de *Trichoderma*, principalmente de *T. harzianum*, destacaram-se pela produção de ácido indolacético (AIA) e por sua capacidade de solubilização de fosfato inorgânico através de diferentes ácidos orgânicos e enzimas fosfatases liberadas pelo fungo (BADER et al., 2020). Essas características são tidas pelos autores como possíveis mecanismos que podem justificar o maior desenvolvimento das plantas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.), visto que, uma planta mais vigorosa estaria menos suscetível aos efeitos deletérios do fitopatógeno *F. oxysporum*. Abdelhafez et al. (2021) demonstraram que a inoculação de plantas de feijão (*Phaseolus vulgaris*) com microrganismos, como o *Trichoderma*, aumentou a absorção de P pelas plantas, além disso, aumentou significativamente as atividades de enzimas extracelulares de defesa vegetal, por exemplo, quitinase, peroxidase e polifenol oxidase.

Na ausência do fitopatógeno *S. rolf sii*, a aplicação isolada de BLE não elevou o teor de K, comparado ao controle (Figura 12D). Em contrapartida, com a inclusão do *T. afroharzianum* no sistema com BLE foi possível observar um teor de K no solo superior em, aproximadamente, 38% em relação ao controle e 28% em relação ao uso isolado de BLE.

A caracterização química do BLE apontou que esse material não apresenta K em sua composição. Com isso, antes da montagem do ensaio, o solo passou por correção química objetivando elevar os teores de nutrientes acima do nível crítico. Após essa correção, o teor de K determinado na análise foi de 97,75 mg dm⁻³.

O resultado da análise química dos solos ao final do ensaio evidenciou a redução do teor de K, podendo ser justificada pela absorção desse nutriente pela planta e por possível lixiviação em função do manejo de irrigação. No cenário em que não houve a inoculação do fitopatógeno, observa-se que os solos provenientes do tratamento BLE + *T. afroharzianum* (T4) possuem maior teor de K, mesmo as plantas apresentando maior produção de biomassa, o que poderia reduzir o teor desse nutriente no solo. A combinação BLE + *T. afroharzianum* pode estar relacionada com o melhor aproveitamento do K pela planta, garantindo assim uma maior disponibilidade desse nutriente no solo, como pôde ser observado no presente estudo.

Determinadas propriedades dos BCHs, como alta área superficial específica, porosidade, densidade de cargas e CTC são parâmetros associados à capacidade de retenção de nutrientes e outras moléculas orgânicas (ALKHARABSHEH et al. 2021). Yuan et al. (2016) destacaram em seu trabalho que o BLE pode ser uma alternativa para retenção de nutrientes a longo prazo, visto que tal material foi capaz de reduzir em até 23,4% a quantidade de K⁺ lixiviado em um ensaio com colunas de lixiviação. Lyu e Huang (2022) demonstraram que o uso de composto produzido a partir de diferentes esterco quando combinado com o *T. asperellum* aumentaram em até 37,6% o K trocável em relação a aplicação do fertilizante mineral. De forma semelhante, Sani et al. (2020) observaram que a combinação *Trichoderma harzianum* T22 e BCH de resíduo de madeira aumentou a absorção de nutrientes pelas plantas de tomate, fato que pode ser decorrente da maior solubilidade, absorção, mobilização e assimilação de nutrientes, dentre eles o K.

Nos tratamentos em que houve a inclusão do fitopatógeno *S. rolf sii* no sistema, o controle (T5) apresentou maior teor de K em relação ao tratamento BLE + *T. afroharzianum* (T8) (Figura 12D). Esse resultado pode ser decorrente da menor produção de biomassa pelas plantas de tomate no controle e, conseqüentemente, pode estar relacionado a uma menor absorção de nutrientes pelas plantas, acarretando maior acúmulo de K no solo.

8.6. CONCLUSÃO

Conclui-se com esse trabalho que a combinação BLE + *T. afroharzianum* é uma promissora ferramenta a ser inserida em sistemas de produção de tomate, visto os diferentes benefícios associados ao seu uso, que vão desde melhorias da fertilidade do solo até maior produção de biomassa (potencial produtivo) pelas plantas, tanto na ausência como presença de fitopatógenos habitantes de solo. Conclui-se também que novos ensaios precisam ser realizados com intuito de maior compreensão dos sistemas de defesa das plantas, além da avaliação de diferentes manejos com a combinação BLE + *T. afroharzianum* para maior eficiência de controle dos fitopatógenos.

8.7. REFERÊNCIAS

ABDELHAFEZ, A.A.; EID, K.E.; EL-ABEID, S.E.; ABBAS, M.H.H.; AHMED, N.; MANSOUR, R.R.M.E.; ZOU, G.; IQBAL, J.; FAHAD, S.; ELKELISH, A.; ALAMRI, S.; SIDDIQUI, M.H.; MOHAMED, I. Application of soil biofertilizers to a clayey soil contaminated with *Sclerotium rolfsii* can promote production, protection and nutritive status of *Phaseolus vulgaris*. **Chemosphere**, v. 271 (129321), p. 1-14. 2021.

ALKHARABSHEH, H.M.; SELEIMAN, M.F.; BATTAGLIA, M.L.; SHAMI, A.; JALAL, R.S.; ALHAMMAD, B.A.; ALMUTAIRI, K.F.; AL-SAIF, A.M. Biochar and its broad impacts in soil quality and fertility, nutrient leaching and crop productivity: a review. **Agronomy**, v. 11 (993), p.1-29. 2021.

ARAUJO, A.S. de; BLUM, L.E.B.; FIGUEIREDO, C.C. de. Biochar and *Trichoderma harzianum* for the control of *Macrophomina phaseolina*. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 62 (e19180259), p. 1-10. 2019.

BADER, A.N.; SALERNO, G.L.; COVACEVICH, F.; CONSOLO, V.F. Native *Trichoderma harzianum* strains from Argentina produce indole-3 acetic acid and phosphorus solubilization, promote growth and control wilt disease on tomato (*Solanum lycopersicum* L.). **Journal of King Saud University – Science**, v. 32 (1), p. 867-873. 2020.

BONONI, L.; CHIARAMONTE, J.B.; PANSA, C.C.; MOITINHO, M.A.; MELO, I.S. Phosphorus-solubilizing *Trichoderma* spp. from Amazon soils improve soybean plant growth. **Scientific Reports**, v. 10 (2858), p. 1-13. 2020.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Manual de métodos analíticos oficiais para fertilizantes e corretivos / Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. – Brasília: MAPA. 240p. 2017.

CAO, X.; ZHANG, N.; ZENG, X.; LAN, Q.; MA, N.; WU, C. Effects of biochar and *Trichoderma* on bacterial community diversity in continuous cropping soil. **Horticulture, Environment, and Biotechnology**, v. 63, p. 1-12. 2022. <https://doi.org/10.1007/s13580-021-00373-8>

CHAGAS, J.K.M.; FIGUEIREDO, C.C de; PAZ-FERREIRO, J. Sewage sludge biochars effects on corn response and nutrition and on soil properties in a 5-yr field experimente. **Geoderma**, v. 401, p. 1-10. 2021.

CHTOUKI, M.; NACIRI, R.; SOULAIMANI, A.; ZEROUAL, Y.; EL GHAROUS, M.; OUKARROUM, A. Effect of cadmium and phosphorus interaction on tomato: chlorophyll a fluorescence, plant growth, and cadmium translocation. **Water, Air, & Soil Pollution**, v. 232 (84), p. 1-11. 2021.

CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. Tomate: análise dos indicadores da produção e comercialização no mercado mundial, brasileiro e catarinense. **Compêndio de estudos Conab**, v. 21, 22 p. 2019.

CONTRERAS-CORNEJO, H.A.; MACÍAS-RODRÍGUEZ, L.; DEL-VAL, E.; LARSEN, J. Ecological functions of *Trichoderma* spp. and their secondary metabolites in the rhizosphere: Interactions with plants. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 92 (4), p. 1-17. 2016.

Da SILVA, J.S.A.; De MEDEIROS, E.V.; Da COSTA, D.P.; De SOUZA, C.A.F.; De OLIVEIRA, J.B.; Da FRANÇA, R.F.; SOUZA-MOTTA, C.M.; LIMA, J.R. de S.; HAMMECKER, C. Biochar and *Trichoderma aureoviride* URM 5158 as alternatives for the management of cassava root rot. **Applied Soil Ecology**, v. 172 (104353), p. 1-5. 2022.

EL-SHARKAWY, H.H.A.; RASHAD, Y.M.; IBRAHIM, S.A. Biocontrol of stem rust disease of wheat using arbuscular mycorrhizal fungi and *Trichoderma* spp. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 103, p. 84-91. 2018.

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Cultivo de Tomate para Industrialização. **Sistemas de Produção**, 1 - 2ª Edição. 2006. Disponível em:<https://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Tomate/TomateIndustrial_2ed/doenças.htm>. Acesso em: 13 jul. 2022.

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Manual de métodos de análise de solo. 3 ed. Brasília, DF: Embrapa. 2017.

FACHINI, J.; COSER, T.R.; ARAUJO, A.S. de; VALE, A.T. de; JINDO, K.; FIGUEIREDO, C.C. de. One year residual effect of sewage sludge biochar as a soil amendment for maize in a brazilian oxisol. *Sustainability*, v. 13 (2226), p. 1-14. 2021.

FALCÃO, J.V.; AVILA, Z.R.; ORIOLI, F.P.; AULER, A.C.V.; SILVA, J.B.T.; MELLO, S.C.M. Estabelecimento de metodologia para contaminação de solo com propágulos de *Sclerotinia sclerotiorum* e *Sclerotium rolfsii*, e expressão de doença em soja. **Embrapa (Comunicado Técnico, 135)**, p. 1-9. 2005.

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Disponível em: <<https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL/visualize>>. Acesso em: 13 jul. 2022.

FIGUEIREDO, C.; LOPES, H.; COSER, T.; VALE, A.; BUSATO, J.; AGUIAR, N.; NOVOTNY, E.; CANELLAS, L. Influence of pyrolysis temperature on chemical and physical properties of biochar from sewage sludge. **Archives of Agronomy and Soil Science**, v. 64 (6), p. 881-889. 2018.

FIGUEIREDO, C.C. de; CHAGAS, J.K.M.; SILVA, J. da; PAZ-FERREIRO, J. Short-term effects of a sewage sludge biochar amendment on total and available heavy metal content of a tropical soil. **Geoderma**, v. 344, p. 31–39. 2019.

FIGUEIREDO, C.C. de; REIS, A. de S.P.J.; ARAUJO, A.S. de; BLUM, L.E.B.; SHAH, K.; PAZ-FERREIRO, J. Assessing the potential of sewage sludge-derived biochar as a novel phosphorus fertilizer: Influence of extractant solutions and pyrolysis temperatures. **Waste Management**, v. 124, p. 144-153. 2021.

FORMISANO, L.; MIRAS-MORENO, B.; CIRIELLO, M.; EL-NAKHEL, C.; CORRADO, G.; LUCINI, L.; COLLA, G.; ROUPHAEL, Y. *Trichoderma* and phosphite elicited distinctive secondary metabolite signatures in zucchini squash plants. **Agronomy**, v. 11 (1205), p. 1-17. 2021.

GHASSEMI-GOLEZANI, K.; FARHANGI-ABRIZ, S. Biochar alleviates fluoride toxicity and oxidative stress in safflower (*Carthamus tinctorius* L.) seedlings. **Chemosphere**, v. 223, p. 406-415. 2019.

IBGE. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Sistema IBGE de Recuperação Automática – SIDRA. Disponível em: <<https://www.ibge.gov.br/estatisticas/economicas/agricultura-e-pecuaria/9201-levantamento-sistematico-da-producao-agricola.html?=&t=resultados>>. Acesso em: 13 jul. 2022.

IBM CORP. Released 2015. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 23.0. Armonk, NY: IBM Corp. 2015.

ILLESCAS, M.; PEDRERO-MÉNDEZ, A.; PITORINI-BOVOLINI, M.; HERMOSA, R.; MONTE, E. Phytohormone production profiles in *Trichoderma* species and their relationship to wheat plant responses to water stress. **Pathogens**, v. 10 (991), p. 1-18. 2021.

JAISSWAL, A.K.; ALKAN, N.; ELAD, Y.; SELA, N.; PHILOSOPH, A.M.; GRABER, E.R.; FRENKEL, O. Molecular insights into biochar-mediated plant growth promotion and systemic resistance in tomato against *Fusarium* crown and root rot disease. **Scientific Reports**, v. 10 (13934), p. 1-15. 2020a. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-70882-6>

JAISSWAL, A.K.; FRENKEL, O.; ELAD, Y.; LEW, B.; GRABER, E.R. Non-monotonic influence of biochar dose on bean seedling growth and susceptibility to *Rhizoctonia solani*: the “Shifted Rmax-Effect”. **Plant and Soil**, v. 395, p. 125–140. 2015.

JAISSWAL, A.K.; MENGISTE, T.D.; MYERS, J.R.; EGEL, D.S.; HOAGLAND, L.A. Tomato domestication attenuated responsiveness to a beneficial soil microbe for plant growth promotion and induction of systemic resistance to foliar pathogens. **Frontiers in Microbiology**, v. 11 (604566), p. 1-19. 2020b.

- KUMAR, S.; CHANDRA, R.; BEHERA, L.; KESWANI, C.; SANSINENEA, E. Dual *Trichoderma* consortium mediated elevation of systemic defense response against early blight in potato. **European Journal of Plant Pathology**, v. 162, p. 681-696. 2022.
- LATIFINIA, E.; EISVAND, H.R. Soybean physiological properties and grain quality responses to nutrients, and predicting nutrient deficiency using chlorophyll fluorescence. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, v. 22, p. 1942-1954. 2022.
- LYU, R.-T.; HUANG, C.-H. Supplementation of manure compost with *trichoderma asperellum* improves the nutrient uptake and yield of edible amaranth under field conditions. **Sustainability**, v. 14 (5389), p. 1-13. 2022. <https://doi.org/10.3390/su14095389>
- LYU, S.; DU, G.; LIU, Z.; ZHAO, L.; LYU, D. Effects of biochar on photosystem function and activities of protective enzymes in *Pyrus ussuriensis* Maxim. under drought stress. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 38 (220), p. 1-10. 2016.
- MAHMOUD, G.A-E.; ABDEL-SATER, M.A.; AL-AMERY, E.; HUSSEIN, N.A. Controlling *Alternaria cerealis* MT808477 tomato phytopathogen by *Trichoderma harzianum* and tracking the plant physiological changes. **Plants**, v. 10 (1846), p. 1-19. 2021.
- MEDEIROS, E.V. de; MORAES, M. de C.H. dos S.; COSTA, D.P. da; DUDA, G.P.; OLIVEIRA, J.B. de; SILVA, J.S.A da; LIMA, J.R. de S.; HAMMECKER, C. Effect of biochar and inoculation with *Trichoderma aureoviride* on melon growth and sandy Entisol quality. **Australian Journal of Crop Science**, v. 14 (6), p. 971–977. 2020.
- OLWE, O.M.; NICOLA, L.; ASEMOLAYE, M.D.; AKANMU, A.O.; BABALOLA, O.O. *Trichoderma*: Potential bio-resource for the management of tomato root rot diseases in Africa. **Microbiological Research**, v. 257 (126978), p. 1-14. 2022.
- OSZAKO, T.; VOITKA, D.; STOCKI, M.; STOCKA, N.; NOWAKOWSKA, J.A.; LINKIEWICZ, A.; HSIANG, T.; BELBAHRI, L.; BEREZOVSKA, D.; MALEWSKI, T. *Trichoderma asperellum* efficiently protects *Quercus robur* leaves against *Erysiphe alphitoides*. **European Journal of Plant Pathology**, v. 159, p. 295-308. 2021.
- PUNJA, Z.K. *Sclerotium (Athelia) rolfsii*, a pathogen of many plant species. G.S. Sidhu (Ed.), **Advances in Plant Pathology**, v. 6, Academic Press, San Diego, CA, p. 523-534. 1988.

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

QIAN, T.; YANG, Q.; JUN, D.C.F.; DONG, F.; ZHOU, Y. Transformation of phosphorus in sewage sludge biochar mediated by a phosphate-solubilizing microorganism. **Chemical Engineering Journal**, v. 359, p. 1573-1580. 2019.

RAJPUT, R.S.; SINGH, J.; SINGH, P.; VAISHNAV, A.; SINGH, H.B. Influence of seed biopriming and vermiwash treatment on tomato plant's immunity and nutritional quality upon *Sclerotium rolfsii* challenge inoculation. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 40, p. 1493-1509. 2021.

RASOOL, M.; AKHTER, A.; HAIDER, M.S. Molecular and biochemical insight into biochar and *Bacillus subtilis* induced defense in tomatoes against *Alternaria solani*. **Scientia Horticulturae**, v. 285 (110203), p. 1-12. 2021.

SANI, MD.N.H.; HASAN, M.; UDDAIN, J.; SUBRAMANIAM, S. Impact of application of *Trichoderma* and biochar on growth, productivity and nutritional quality of tomato under reduced N-P-K fertilization. **Annals of Agricultural Sciences**, v. 65 (1), p. 107-115. 2020.

SANTOS, H.G. dos; JACOMINE, P.K.T.; ANJOS, L.H.C. dos; OLIVEIRA, V.Á. de; LUMBRERAS, J.F.; COELHO, M.R.; ALMEIDA, J. A. de; ARAUJO FILHO, J.C. de; OLIVEIRA, J.B. de; CUNHA, T. J. F. (2018). Brazilian Soil Classification System (5th ed.). **Brasília, DF: Embrapa.** <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1094001/brazilian-soil-classification-system>

SILVA, F.C. da. Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes, 2nd ed. Embrapa Informação Tecnológica: Brasília, Brasil, 627 p. 2009.

SOUSA, A.A.T.C.; FIGUEIREDO, C.C. Sewage sludge biochar: effects on soil fertility and growth of radish. **Biological Agriculture & Horticulture**, p. 1-12. 2015.

SOUSA, C.M. de M; SILVA, H.R e; VIEIRA-JR, G.M.; AYRES, M.C.C.; COSTA, C.L.S. da; ARAÚJO, D.S.; CAVALCANTE, L.C.D.; BARROS, E.D.S.; ARAÚJO, P.B. de M.; BRANDÃO, M.S.; CHAVES, M.H. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química Nova**, v. 30 (2), p. 351-355. 2007.

SUN, S.; SUN, F.; DENG, D.; ZHU, X.; DUAN, C.; ZHU, Z. First report of southern blight of mung bean caused by *Sclerotium rolfsii* in China. **Crop Protection**, v. 130 (105055), p. 1-7. 2020.

SWIFT, R.S. Organic matter characterization. In: Sparks, D. L., Page, A. L., Helmke, P. A., Loeppert, R. H. (Eds.), *Methods of soil analysis Part 3 - Chemical Methods*. **Soil Science Society of America**. American Society of Agronomy, Madison, WI, p. 1011–1069. 1996.

SYSTAT SOFTWARE. **SigmaPlot for Windows**. Version 12.5 (SPSS Inc., Point Richmond, CA, USA). 2013.

VECSTAUDZA, D.; GRANTINA-IEVINA, L.; MAKARENKOVA, G.; KASPARINSKIS, R.; SELGA, T.; STEINBERGA, V.; STELMAHERE, S.; STEINER, C.; MUTER, O. The impact of wood-derived biochar on the survival of *Trichoderma* spp. and growth of *Secale cereale* L. in sandy soil. **Biocontrol Science and Technology**, v. 28 (4), p. 341-358. 2018.

WOISKY, R.G.; SALATINO, A. Analysis of propolis: some parameters and procedures for chemical quality control. **Journal of Apicultural Research**, v. 37 (2), p. 99-105. 1998.

YANG, K.; JIANG, Y.; WANG, J.; CAI, X.; WEN, Z.; QIU, Z.; QIAO, G. TOBACCO straw biochar improved the growth of Chinese cherry (*Prunus pseudocerasus*) via altering plant physiology and shifting the rhizosphere bacterial community. **Scientia Horticulturae**, v. 303 (111244), p. 1-13. 2022.

YAO, T.; ZHANG, W.; GULAQA, A.; CUI, Y.; ZHOU, Y.; WENG, W.; WANG, X.; LIU, Q.; JIN, F. Effects of peanut shell biochar on soil nutrients, soil enzyme activity, and rice yield in heavily saline-sodic paddy field. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, v. 21, p. 655-664. 2021.

YEOMANS, J.C.; BREMNER, J.M. A rapid and precise method for routine determination of organic carbon in soil. **Communications Soil Science and Plant Analysis**, v. 19, p. 1467–1476. 1988.

YUAN, H.; LU, T.; WANG, Y.; CHEN, Y.; LEI, T. Sewage sludge biochar: Nutrient composition and its effect on the leaching of soil nutrients. **Geoderma**, v. 267, p. 17-23. 2016.

ZULFIQAR, F.; CHEN, J.; YOUNIS, A.; ABIDEEN, Z.; NAVEED, M.; KOYRO, H.-W.; SIDDIQUE, K.H.M. Biochar, compost, and biochar–compost blend applications modulate growth, photosynthesis, osmolytes, and antioxidant system of medicinal plant *Alpinia zerumbet*. **Frontiers in Plant Science**, v. 12 (707061), p. 1-13. 2021.

ZULFIQAR, F.; YOUNIS, A.; CHEN, J. Biochar or biochar-compost amendment to a peat-based substrate improves growth of *Syngonium podophyllum*. **Agronomy**, v. 9 (8), p. 1-12. 2019.

9. ANEXO

9.1. Biochar x doenças de plantas: uma análise bibliométrica

O uso de biochar associado ao controle de doenças de plantas vem sendo amplamente estudado nos últimos anos (JAISWAL et al., 2020; LIU et al., 2019; KUMAR et al., 2018). Com objetivo de avaliar a dinâmica de publicações envolvendo tal tema, foi realizada uma análise bibliométrica através da base de dados Web of Science, adotando-se as palavras-chaves “Biochar* AND Plant Disease”, delimitando o período de busca entre os anos de 1945 e 2021.

A busca foi realizada no dia 11 de fevereiro de 2021 e resultou em 106 trabalhos publicados envolvendo tais palavras-chaves. Após uma leitura minuciosa, tais trabalhos foram organizados em três grupos: artigos de pesquisa envolvendo o uso de biochar para controle de doenças de plantas; trabalhos publicados que não envolvem o uso de biochar; e trabalhos publicados que utilizaram biochar, mas não objetivaram o controle de doenças de plantas. Esse último grupo supracitado abrange também artigos de revisão que envolvem o controle de doenças de plantas, assim como, artigos de pesquisa que utilizaram coprodutos obtidos do processo de pirólise, mas não necessariamente o uso de biochar para tal finalidade.

A análise bibliométrica reuniu 54 artigos científicos envolvendo o uso de biochar no controle de doenças de plantas. Essa análise apontou para uma ampla variedade de matérias-primas utilizadas para produção de biochar e essa característica associada a diferentes patossistemas. Uma segunda busca foi realizada na base de dados Google Acadêmico envolvendo o tema “Sewage sludge biochar and plant disease” e 1 artigo de pesquisa foi selecionado.

A avaliação dos 55 artigos de pesquisa selecionados apontou para um efeito benéfico no controle de doenças de plantas em 45 trabalhos, o que representa mais de 80% dos trabalhos observados. O uso de biochar apresentou efeito negativo em 6 trabalhos, ou seja, menos de 11% dos artigos de pesquisa analisados. Em 4 artigos, o uso de biochar não apresentou efeito. Alguns dos efeitos negativos listados pelos autores estão o aumento da incidência da doença causada por *Fusarium solani* (EGAMBERDIEVA et al., 2020), o aumento da gravidade e suscetibilidade da planta à doença causada pelo fungo *Rhizoctonia solani* (COPLEY et al., 2017) e o aumento significativo do Damping-off causado por *Rhizoctonia solani* (COPLEY et al., 2015).

O uso de biochar associado a diferentes patossistemas demonstrou que a maior parte dos trabalhos objetivaram o controle de doenças fúngicas (WU et al., 2020; WANG et al., 2019a;

KOLTON et al., 2017), correspondendo a 69% dos artigos de pesquisa estudados. Dentre os diferentes fungos avaliados, destacam-se os fitopatógenos do gênero *Fusarium* (JAISWAL et al., 2020; WU et al., 2020; LIU et al., 2019). Visto que, além representar o fungo mais estudado, o uso de biochars produzidos a partir de diferentes matérias-primas resultaram em sua maioria a supressão da doença (JAISWAL et al., 2018b; ROGOVSKA et al., 2017).

As matérias-primas mais utilizadas para a produção de biochar no controle de doenças de plantas foram: madeira e seus derivados (lascas/cascas de madeira, serragem) (JAISWAL et al., 2019; HECK et al., 2019; GU et al., 2017), resíduos vegetais de casa de vegetação (JAISWAL et al., 2020; MEHARI et al., 2015; HAREL et al., 2012) e palha/casca de arroz (WU et al., 2020; SABES et al., 2020). Já a temperatura de pirólise variou de 300 a 1000 °C (MARRA et al., 2018; ATUCHA e LITUS, 2015), sendo que o maior número de trabalhos envolvendo resultados positivos no controle de doenças de plantas localizam-se na faixa de temperatura de pirólise de 350 a 600 °C, podendo ser citados os experimentos desenvolvidos por Jaiswal et al. (2018b) e Lu et al. (2016).

A análise bibliométrica demonstrou que mais de 30% dos artigos de pesquisa adotaram a cultura do tomate (*Solanum lycopersicum*) em experimentos com biochars para controle de doenças. Esses trabalhos demonstraram que o biochar, mesmo produzido com matérias-primas distintas, possui efetiva capacidade de controle de doenças fúngicas (JAISWAL et al., 2020; KOLTON et al., 2017), bacteriana (ZHANG et al., 2017) e viróticas (WANG et al., 2018).

Os efeitos positivos descritos nos diferentes trabalhos demonstram que o uso do biochar acarreta inibição do crescimento micelial do fitopatógeno (WU et al., 2020), atraso na propagação da doença (SABES et al., 2020), redução da incidência e gravidade da doença (CHEN et al., 2020), maior resistência da planta à doença (DAI et al., 2017), redução da expansão da lesão/necrose da haste (ZWART e KIM, 2012), redução das populações de nematoides parasitas de plantas (RAHMAN et al., 2014), redução da mortalidade de plantas (JAISWAL et al., 2020) e maior desenvolvimento da planta em áreas de replantio infestadas por fitopatógenos (ATUCHA E LITUS, 2015).

O uso do biochar foi responsável por reduzir a população de microrganismos fitopatogênicos (HECK et al., 2019; ZHANG et al., 2017), podendo resultar em um declínio de até 50% na sobrevivência do nematoide *Meloidogyne incognita* (MARRA et al., 2018). O uso de biochar produzido a partir de lodo de esgoto além de inibir o crescimento micelial do fungo fitopatogênico habitante de solo *Macrophomina phaseolina*, demonstrou que sua associação com agentes de controle biológico, como o *Trichoderma harzianum*, pode expressar um efeito

sinérgico, potencializando o controle da doença em culturas agrícolas de importância econômica. Além disso, o biochar está associado a mudanças na comunidade microbiana da rizosfera (ZHANG et al., 2017), podendo favorecer uma maior colonização das raízes das plantas por fungos micorrízicos arbusculares (ELMER, 2016).

Essa revisão bibliométrica demonstrou que dentre uma variedade de matérias-primas utilizadas para produção do biochar, um fator importante que foi estudado é a dose adotada para o controle das doenças (LIU et al., 2019; JAISWAL et al., 2018a; De TENDER et al., 2016b). Apesar de diferentes doses terem sido estudadas, a maior parte dos trabalhos utilizaram doses variando de 0 a 5%. O controle da doença pode variar de acordo com a matéria-prima e a dose utilizada, ou seja, cada material pode apresentar uma dose ótima com maior impacto sobre a doença (LIU et al., 2019; JAISWAL et al., 2014).

Os resultados dessa análise demonstraram que 80% dos artigos de pesquisa avaliados são oriundos de experimentos realizados em vaso. Desse total, mais de 80% dos trabalhos apresentaram resultados positivos para o controle de doenças de plantas através do uso do biochar. Em contrapartida, menos de 20% dos trabalhos foram realizados em condições de campo, sendo que 70% desses trabalhos apresentaram controle para as doenças avaliadas.

Essa revisão bibliométrica destacou o crescente número de trabalhos acadêmicos envolvendo o uso de biochar para o controle de doenças de plantas nos últimos anos. Demonstrou também o potencial que tal material, mesmo oriundo de diferentes matérias-primas, possui no controle de doenças em espécies agrícolas de importância econômica. Da mesma forma que há necessidade de se avaliar o efeito das doses de biochar em diferentes patossistemas. É preciso também aumentar o número de estudos em condições de campo, de modo a garantir que os efeitos observados nos experimentos sejam reproduzidos quando o biochar for utilizado em áreas agrícolas comerciais.

Tabela 8. Uso de diferentes biochars e seus efeitos no patossistema.

Matéria-prima	Temperatura de pirólise	Hospedeira	Fitopatógeno	Reino (fitopatógeno)	Doses testadas	Controle da doença					Referência
						Placa	Vaso	Campo	Melhor dose	Efeito observado	
Resíduos de plantas de pimenta de casa de vegetação	350 °C	Tomate (<i>Solanum lycopersicum</i>)	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>radicis lycopersici</i>	Fungo	0-3% (p/p)	X	↑	X	3%	Redução da mortalidade	Jaiswal et al. (2020)
Caule de milho	400 °C	Pimenta	<i>Phytophthora capsici</i>	Chromista	0 e 13,3 g/kg (1,33%)	X	↑	X	13,3 g/kg	Redução do índice de doença	Wang et al. (2020a)
Casca de arroz	Não informado	<i>Radix pseudostellariae</i>	<i>Fusarium oxysporum</i>	Fungo	0 e 3% (p/v)	↑	↑	X	3%	Inibição do crescimento micelial. Redução da virulência do patógeno.	Wu et al. (2020)
Casca de arroz	Não informado	Arroz	<i>Rhizoctonia solani</i>	Fungo	0-3 t ha ⁻¹	X	X	↑	3,0 t ha ⁻¹	Atraso na propagação da doença.	Sabes et al. (2020)
Casca de arroz	400 °C por 3 horas	Tabaco	<i>Ralstonia solanacearum</i>	Bactéria	0-45 t ha ⁻¹	X	X	↑	15 t ha ⁻¹	Redução da incidência e da gravidade da murcha bacteriana.	Chen et al. (2020)

Palha de trigo	Não informado	Tomate (<i>Solanum lycopersicum</i>)	<i>Ralstonia solanacearum</i>	Bactéria	2% (p/p)	X	↑	X	2%	Redução da gravidade da doença. Atraso no progresso da doença. E aumento da resistência do tomate.	Gao et al. (2019)
Casca de arroz	≅ 450 °C por 3 horas	Macieira (<i>Malus hupehensis</i> Rehd.)	<i>Fusarium solani</i>	Fungo	0-80 g kg ⁻¹	X	↑	X	20 e 80 g kg ⁻¹	Supressão do patógeno.	Wang et al. (2019a)
Lascas de madeira de eucalipto	600 °C	Pepino (<i>Cucumis sativus</i>)	<i>Pythium aphanidermatum</i>	Chromista	0-3% (p/p)	X	↑	X	1 e 3%	Redução do Damping-off	Jaiswal et al. (2019)
Palha de arroz	550 °C por 1 hora	<i>Lolium perenne</i> L.	<i>Magnaporthe oryzae</i>	Fungo	0; 0,22 e 1% (p/p) 0,22% = 5 t ha ⁻¹ 1% = 22,5 t ha ⁻¹	X	↑	X	0,22%	Redução de 65% da área sob a curva de progresso da doença. Redução da incidência da doença em 50%.	Wang et al. (2019b)
Casca de arroz Biomassa de bambu	500 °C por 4 horas 500 °C por 4 horas	Milho (<i>Zea mays</i>)	<i>Fusarium graminearum</i>	Fungo	0-3% (p/p)	X	↑	X	Casca de arroz = 2% Bambu = 1%	Redução do índice de doença.	Liu et al. (2019)

Resíduos sólidos de oliva	300-1000 °C por 5 horas	<i>Lepidium sativum</i> L. <i>Brassica rapa</i> L. subsp. <i>oleifera</i>	<i>Aspergillus niger</i> <i>Fusarium oxysporum</i> <i>Rhizoctonia solani</i> <i>Trichoderma harzianum</i> (microrganismo benéfico) <i>Meloidogyne incognita</i>	Fungo Nematoide	Placa (E1) = 5 mL do extrato aquoso por placa. Placa (E2) = 1 mL do extrato por poço.	↑	X	X	5 mL 1mL	Os biochars utilizados inibiram o crescimento micelial de todos os fungos fitopatogênicos. Biochar produzido a 300 °C acarretou imobilização e redução de 50% na sobrevivência de nematoides.	Marra et al. (2018)
Resíduos de plantas de pimenta de casa de vegetação	350 °C	Pepino (<i>Cucumis sativus</i>)	<i>Pythium aphanidermatum</i>	Chromista	0-3% (p/p)	X	↑	X	3%	Redução da incidência de Damping-off em até 62% e da área sob a curva de progresso da doença em até 63%.	Jaiswal et al. (2018a)
Lascas de madeira de eucalipto Resíduos de plantas de pimenta de casa de vegetação	350 e 600 °C Biochar de madeira (600 °C) → testes em mudas.	Mudas de tomate (<i>Solanum lycopersicum</i>)	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>radicis lycopersici</i>	Fungo	<i>In vitro</i> = 0,1-0,6 g de biochar. 0-3% (p/v) → soluções testadas.	↑	↑	X	3%	As enzimas adsorvidas foram 100% imobilizadas pelos biochars. Redução da severidade da doença.	Jaiswal et al. (2018b)

Resíduos de plantas de pimenta de casa de vegetação	350 e 450 °C	<i>Capsicum anuum</i> L.	Oídio (<i>Leveillula taurica</i>)	Fungo	≅ 13 g kg ⁻¹ de solo	X	X	↑	≅ 13 g kg ⁻¹ de solo	Os biochars reduziram a incidência e severidade da doença.	Kumar et al. (2018)
Lascas de madeira de eucalipto	350 °C										
Lascas de madeira	450 ° C por 12 horas	Tomate (<i>Lycopersicon esculentum</i> Mill.)	Tomato chlorotic spot virus (TCSV) Tomato yellow leaf curl virus (TYLCV)	Vírus	5 g kg ⁻¹ (p/p)	X	↑	X	5 g kg ⁻¹ (p/p)	Redução da incidência de doenças virais no tomate.	Wang et al. (2018)
Madeira de pinheiro	700 °C	Tomate (<i>Solanum lycopersicum</i> cv. 'Hezuo 903')	<i>Ralstonia solanacearum</i>	Bactéria	3% (p/p)	X	↑	X	3% (p/p)	Redução da incidência e supressão da motilidade do patógeno.	Gu et al. (2017)
Palha de arroz	Não informado	Tabaco	<i>Ralstonia solanacearum</i>	Bactéria	3 t ha ⁻¹	X	X	↑	3 t ha ⁻¹	Redução de 73,87% na gravidade da doença. Abundância de <i>Ralstonia</i> reduzida em 94,51%.	Zhang et al. (2017)
Lascas de madeira de eucalipto	350 °C	Tomate (<i>Solanum lycopersicum</i> cv. 1125)	<i>Botrytis cinerea</i>	Fungo	1% (p/p)	X	↑	X	1%	Redução da suscetibilidade da planta à doença	Kolton et al. (2017)

Não informado	Não informado	Tabaco	Tobacco mosaic virus (TMV)	Vírus	50 kg em 200 m ² (2,5 t ha ⁻¹)	X	X	↑	50 kg em 200 m ² (2,5 t ha ⁻¹)	Maior resistência à doença.	Dai et al. (2017)
Palha de milho	400, 500 e 600 °C pirólise lenta	Soja (<i>Glycine max</i>)	<i>Fusarium virguliforme</i>	Fungo	Vaso (E1) = 20 g kg ⁻¹	X	↑	↑	E1 = 20 g kg ⁻¹	Redução da gravidade da podridão radicular.	Rogovska et al. (2017)
Madeira	≅ 550 °C pirólise lenta				Vaso (E2) = 0-30 g kg ⁻¹				E2 = 30 g kg ⁻¹		
Madeira	450-500 °C pirólise rápida				Vaso (E3) = 30 g kg ⁻¹				E3 = 30 g kg ⁻¹		
Mistura de madeiras	≅ 600 °C gaseificação				Campo = 0; 38,3; 57,5 e 76,6 Mg ha ⁻¹				Campo = 76,6 Mg ha ⁻¹		
Palha de milho	500 °C pirólise rápida										
Carvalho vermelho	500 °C pirólise rápida										
Azinheira	650 °C por 12-18 horas	Morango (cv. Elsanta)	<i>Botrytis cinerea</i>	Fungo	3% (p/p)	X	↑	X	3%	Maior resistência à doença.	De Tender et al. (2016a)

Azinheira	650 ° C por 12–18 horas	Alface (<i>Lactuca sativa</i> , cv. Alexandria) Morango (<i>Fragaria x ananassa</i> , cv. Elsanta)	<i>Rhizoctonia solani</i> <i>Botrytis cinerea</i>	Fungo	0-3% (p/p)	X	↑	X	3%	Alface = sem efeito. Morango = redução significativa do tamanho das lesões.	De Tender et al. (2016b)
Lascas de madeira de faia Resíduos vegetais de jardim	500 °C	Tomate (cv. Kremser Perle)	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i>	Fungo	Placa = 3% (p/v) Vaso = 3% (v/v)	↑	↑	X	3%	Biochar de resíduos de jardim reduziu a incidência de doença em vaso. Placa = ambos biochars inibiram o crescimento micelial do fungo.	Akhter et al. (2016)
Madeira de <i>Pinus sylvestris</i> Casca de <i>P. sylvestris</i> Pellets de madeira de coníferas Cascas de espelta	500 °C por 5 horas	Cenoura (<i>Daucus carota</i>)	<i>Pratylenchus penetrans</i>	Nematoide	5% (v/v)	X	↑	X	5%	Todos os biochars (exceto o de madeira de pinheiro) reduziram as taxas de infecção da raiz.	George et al. (2016)
Casca de amendoim Palha de trigo	500°C por 2 horas	Tomate cv. Taiwan Red cherry	<i>Ralstonia solanacearum</i> (biovar 3)	Bactéria	2% (p/p)	X	↑	X	2%	Ambos biochars reduziram a murcha bacteriana.	Lu et al. (2016)

Resíduos vegetais de casa de vegetação	450 °C	Tomate (<i>Lycopersicon esculentum</i> , cv. 1125)	<i>Botrytis cinerea</i>	Fungo	0-3% (p/p)	X	↑	X	1 e 3%	Biochar reduziu em cerca de 50% a gravidade da doença.	Mehari et al. (2015)
Lascas de madeira de eucalipto Resíduos de plantas de pimenta de casa de vegetação	350 e 600 °C	Feijão comum (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.)	<i>Rhizoctonia solani</i>	Fungo	Placa = 0-3 % (p/v) Vaso = 0-3 % (p/p)	↑	↑	X	Placa = 3% Vaso = 0,5 e 1%	Placa = inibição do fungo. Vaso = redução do Damping-off	Jaiswal et al. (2015)
Pinheiro	500-700 °C	Pessegueiro	Doença de replantio do pessegueiro	Não definido	0-20% (v/v)	X	↑	X	20%	As duas doses de biochar melhoraram o desenvolvimento da planta.	Atucha e Litus (2015)
Casca de arroz	450 °C	Macieira (<i>Malus hupehensis</i> Rehd.)	Doença de replantio da macieira (ARD)	Não definido	0-80 g kg ⁻¹	X	↑	X	80 g kg ⁻¹	O biochar aumentou o crescimento das mudas.	Wang et al. (2014)
Lascas de madeira de eucalipto Resíduos vegetais de casa de vegetação	350 e 600 °C	Pepino (<i>Cucumis sativus</i> L.)	<i>Rhizoctonia solani</i>	Fungo	0-3% (p/p)	X	↑	X	Biochar de eucalipto = todas as doses. Biochar de resíduos vegetais = 0,5 e 1%.	Redução do Damping-off, menor área sob curva de progresso da doença, menor período epidêmico e menor gravidade da doença.	Jaiswal et al. (2014)

Cama de frango	550 °C	Videiras	<i>Tylenchulus semipenetrans</i> <i>Criconebella xenoplax</i>	Nematoide	6,9 t ha ⁻¹	X	X	↑	6,9 t ha ⁻¹	Redução das populações de nematoides parasitas de plantas.	Rahman et al. (2014)
Pinheiro (<i>Pinus taeda</i> , <i>P. palustris</i> , <i>P. echinata</i> , <i>P. elliotti</i>)	550 e 600 °C por 1 hora	<i>Quercus rubra</i> (L.) <i>Acer rubrum</i> (L.)	<i>Phytophthora cinnamomi</i> <i>Phytophthora cactorum</i>	Chromista	0-20% (v/v)	X	↑	X	5 e 10%	Redução da expansão da lesão/necrose da haste.	Zwart e Kim (2012)
Madeira de Citros Resíduos vegetais de casa de vegetação	Não especificado 450 °C	Morango, cv. Yael	<i>Botrytis cinerea</i> <i>Colletotrichum acutatum</i> <i>Podosphaera aphanis</i>	Fungo	0-3% (p/p)	X	↑	X	3%	Os biochars reduziram a gravidade das doenças causadas pelos três fitopatógenos.	Harel et al. (2012)
Madeira	450-500 °C	Aspargos	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>asparagi</i> <i>Fusarium proliferatum</i>	Fungo	0-10% (v/v)	X	↑	X	10%	O biochar reduziu a severidade da doença e a colonização radicular por <i>Fusarium</i> spp.	Elmer (2012)
Pó de madeira	Não informado	Aspargos	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>asparagi</i> <i>Fusarium proliferatum</i>	Fungo	Vaso (E1) = 0-3% (p/p) Vaso (E2) = 3,5% (p/p)	X	↑	X	E1 = 3% E2 = 3,5%	Supressão da doença e redução das lesões.	Elmer e Pignatello (2011)

Madeira de citros	Não informado	Tomate (<i>Lycopersicon esculentum</i> , cv. 1402) Pimenta doce (<i>Capsicum annuum</i> , cv. Maccabi)	<i>Botrytis cinerea</i> <i>Leveillula taurica</i>	Fungo	0-5% (p/p)	X	↑	X	1, 3 e 5%	Redução da severidade e menor progressão da doença.	Elad et al. (2010)
Lodo de esgoto	500 °C por 30 minutos	Feijão (<i>Phaseolus vulgaris</i> , cv. BRS Estilo)	<i>Macrophomina phaseolina</i>	Fungo	Placa = 0-10% (p/v) Vaso = 0,5% (p/v)	↑	↑	X	Placa = 0,5 e 1% Vaso = sem efeito (aplicação exclusiva)	Redução do crescimento micelial. E controle da doença pelo efeito sinérgico Biochar + <i>Trichoderma</i> .	Araujo et al. (2019)
Palha de trigo	500 °C	<i>Panax notoginseng</i>	<i>Fusarium solani</i>	Fungo	0-3% (p/v)	—	↑	X	1; 2; 3%	Enriquecimento de microrganismos benéficos. Redução do Feedback negativo planta-solo (NPSF)	Wang et al. (2020b)

Mistura de <i>Eucalyptus urophylla</i> e <i>E. saligna</i>	Entre 350 e 400 °C	Tomate (<i>Solanum lycopersicum</i>)	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> raça 3	Fungo	Placa (E1) = 0-100% (v/v) Placa (E2) = 0-50% (v/v) Vaso = 0-5% (v/v)	— ↑	↑	X	Placa = 50% Vaso = 5%	E2 = inibição da germinação microconidial. Vaso = menor área sob a curva de progresso da doença.	Silva et al. (2020)
Mistura de serragem de <i>Eucalyptus</i> spp.	380 °C por 5 horas	Banana (<i>Musa</i> spp.)	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>cupense</i>	Fungo	Placa (E1) = 0-25% (v/v) do extrato aquoso. Placa (E2) = 0-5% (v/v). Vaso = 0-5% (v/v)	— ↑	—	X	0-5% (v/v).	Inibição do crescimento micelial.	Heck et al. (2019)

Lascas de madeira de eucalipto	600 ° C	Tomate (<i>Solanum lycopersicum</i>)	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>radicis lycopersici</i>	Fungo	Placa = 0-3% (p/v)	—	↑	X	1 e 3%	Os biochars reduziram a mortalidade das plantas ocasionada pelo fitopatógeno.	Jaiswal et al. (2018c)
Resíduos de plantas de pimenta de casa de vegetação	350 °C				Vaso = 0-3% (p/p)						
Lascas de madeira de eucalipto	600 ° C	Tomate (<i>Solanum lycopersicum</i> , cv. M-82)	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>radicis lycopersici</i>	Fungo	Placa = 0-3% (p/v)	—	↑	X	1 e 3%	Redução da severidade da doença.	Jaiswal et al. (2017)
Resíduos de plantas de pimenta de casa de vegetação	350 °C				Vaso = 0-3% (p/p)						
Biomassa de madeira	Não informado	Aspargos	<i>Fusarium</i> spp.	Fungo	Vaso = 10% (v/v)	X	↑	—	10%	Redução da porcentagem de raízes doentes.	Elmer (2016)
					Campo = 3,0 kg por m ²						
Serragem	300 e 550 °C	<i>Alface (Lactuca sativa)</i>	<i>Rhizoctonia solani</i>	Fungo	Placa = 0,25% (v/v).	↓	↑	X	2%	Supressão do patógeno.	Bonanomi et al. (2020)
					Vaso = 2% (p/p)						

Madeira de carvalho	650 °C	Alface (<i>Lactuca sativa</i>) Batata (<i>Solanum tuberosum</i>)	<i>Rhizoctonia solani</i> <i>Globodera rostochiensis</i> <i>G. pallida</i>	Fungo Nematoide	0 e 1% (p/p)	X	—	X	-	-	Debode et al. (2020)
Osso animal Biomassa vegetal	850 °C 450 °C	Tomate (<i>Solanum lycopersicum</i>)	<i>Pythium aphanidermatum</i>	Chromista	0 e 1% (p/v)	X	—	X	-	-	Postma e Nijhuis (2019)
Casca de arroz	Não informado	<i>Panax ginseng</i>	<i>Cylindrocarpon destructans</i> <i>Fusarium solani</i>	Fungo	0,9 e 3,6 Mg ha ⁻¹	X	X	—	-	-	Eo et al. (2018)
Abeto balsâmico + abetos brancos e pretos	750 °C	Tomate (<i>Solanum lycopersicum</i> , cv. Trust)	<i>Pythium ultimum</i>	Chromista	0-50% (v/v)	X	—	X	-	-	Dorais et al. (2016)
Milho Madeira	600 °C 850 °C	<i>Lupinus angustifolius L.</i>	<i>Fusarium solani</i>	Fungo	2% (p/p)	X	↓	X	-	Biochar de milho = aumento da incidência em 18%. Biochar de madeira = aumento da incidência em 45%.	Egamberdieva et al. (2020)

Casca de madeira de bordo	700 °C por 4 horas	Soja (<i>Glycine max</i>)	<i>Rhizoctonia solani</i>	Fungo	Vaso (E1) = 0-5% (p/p) Vaso (E2) = 0 e 5% (p/p)	X	↓	X	-	5% => aumento significativo da gravidade da doença. Aumento da suscetibilidade da soja.	Copley et al. (2017)
Resíduos de madeira florestal	Até 700°C	Macieira (<i>Malus domestica</i>)	Doenças específicas de replantio de maçã (<i>Ilyonectria</i> spp., <i>Thelonectria</i> sp. e <i>Pythium</i> spp.)	Fungo Chromista	450 g por cova (15%) e 900 g por cova (30%)	X	X	↓	-	Redução do crescimento das plantas.	Von Glisczynski et al. (2016)
Lascas de madeira de faia Resíduos vegetais de jardim	500 °C	Tomate (<i>Solanum lycopersicum</i> L. cv. Kremser Perle)	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i>	Fungo	3% (v/v)	↓	↓	X	-	Maior incidência e gravidade da doença.	Akhter et al. (2015)

Casca de madeira de bordo	700 °C por 4 horas	<p>Experimento 1 = Soja (<i>G. max</i> (L.) Merr.), Ervilha (<i>Pisum sativum</i> L.), Beterraba sacarina (<i>Beta vulgaris</i> L.), Alfafa (<i>Medicago sativa</i> L.), Pimenta doce (<i>C. annuum</i> L.), tomate (<i>S. lycopersicum</i> L.), Alface (<i>L. sativa</i> L.), Pepino (<i>Cucumis sativus</i> L.), Alho-poró (<i>Allium ampeloprasum</i> L.), Cenoura (<i>D. carota sativus</i> (Hoffm.), Rabanete (<i>Raphanus sativus</i> L.)</p> <p>Experimento 2 = soja e beterraba</p>	<i>Rhizoctonia solani</i> Anastomose grupo 4 (AG-4)	Fungo	<p>Placa (E1) = 0-5% (p/p)</p> <p>Placa (E2) = 0-5% (p/v)</p> <p>Placa (E1) = 0-5% (p/v)</p>	↓	X	X	-	<p>E1 = 3 e 5% => aumento significativo do Damping-off</p> <p>E2 = Aumento da gravidade da doença.</p> <p>E3 = Estímulo do crescimento do fungo.</p>	Copley et al. (2015)
---------------------------	--------------------	---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	--------------------------------------------------------	-------	----------------------------------------------------------------------------------------------	---	---	---	---	---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----------------------

<i>Miscanthus</i>	Não informado	Repolho-chinês	<i>Plasmodiophora brassicae</i>	Fungo	5 e 10 t ha ⁻¹	X	↓	X	-	5 t ha ⁻¹ (sem efeito). 10 t ha ⁻¹ (aumento da incidência e gravidade da doença).	Knox et al. (2015)
-------------------	---------------	----------------	---------------------------------	-------	---------------------------	---	---	---	---	------------------------------------------------------------------------------------------------------------	--------------------

Legenda: — (Sem efeito); ↓ (Efeito negativo para o controle da doença); ↑ (Efeito positivo para o controle da doença); ↑ (efeito positivo quando utilizado biochar + *Trichoderma*); X (Tipo de experimento não avaliado). E1: experimento 1; E2: experimento 2; E3: experimento 3. Experimentos definidos como ‘realizados em placas’ estendem-se aos trabalhos *in vitro* desenvolvidos em laboratório. Experimentos definidos como ‘realizados em vaso’ estendem-se aos trabalhos desenvolvidos em bandejas de mudas.

9.2. REFERÊNCIAS

- AKHTER, A.; HAGE-AHMED, K.; SOJA, G.; STEINKELLNER, S. (2015). Compost and biochar alter mycorrhization, tomato root exudation, and development of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. **Frontiers in Plant Science**, v. 6 (529), p. 1-13. doi:10.3389/fpls.2015.00529
- AKHTER, A.; HAGE-AHMED, K.; SOJA, G.; STEINKELLNER, S. (2016). Potential of *Fusarium* wilt-inducing chlamydospores, *in vitro* behaviour in root exudates and physiology of tomato in biochar and compost amended soil. **Plant and Soil**, v. 406, p. 425–440. doi:10.1007/s11104-016-2948-4
- ARAÚJO, A.S. DE; BLUM, L.E.B.; FIGUEIREDO, C.C. DE (2019). Biochar and *Trichoderma harzianum* for the control of *Macrophomina phaseolina*. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 62 (e19180259), p. 1-10. doi:10.1590/1678-4324-2019180259
- ATUCHA, A.; LITUS, G. (2015). Effect of biochar amendments on peach replant disease. **HortScience**, v. 50 (6), p. 863–868. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.50.6.863>
- BONANOMI, G.; IPPOLITO, F.; CESARANO, G.; VINALE, F.; LOMBARDI, N.; CRASTO, A.; WOO, S.L.; SCALA, F. (2018). Biochar chemistry defined by ¹³C-CPMAS NMR explains opposite effects on soilborne microbes and crop plants. **Applied Soil Ecology**, v. 124, p. 351-361. doi:10.1016/j.apsoil.2017.11.027
- BONANOMI, G.; ZOTTI, M.; IDBELLA, M.; DI SILVERIO, N.; CARRINO, L.; CESARANO, G.; ASSAEED, A.M.; ABD-ELGAWAD, A.M. (2020). Decomposition and organic amendments chemistry explain contrasting effects on plant growth promotion and suppression of *Rhizoctonia solani* damping off. **PLoS ONE** 15(4): e0230925, p. 1-20. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0230925>
- CHEN, S.; QI, G.; MA, G.; ZHAO, X. (2020). Biochar amendment controlled bacterial wilt through changing soil chemical properties and microbial community. **Microbiological Research**, v. 231 (126373), p. 1-9. doi:10.1016/j.micres.2019.126373
- COPLEY, T.; BAYEN, S.; JABAJI, S. (2017). Biochar amendment modifies expression of soybean and *rhizoctonia solani* genes leading to increased severity of *rhizoctonia foliar blight*. **Frontiers in Plant Science**, v. 8 (221), p. 1-15. doi:10.3389/fpls.2017.00221

- COPLEY, T.R.; ALIFERIS, K.A.; JABAJI, S. (2015). Maple bark biochar affects *Rhizoctonia solani* metabolism and increases damping-off severity. **Phytopathology**, v. 105 (10), p. 1334–1346. doi:10.1094/phyto-08-14-0231-r
- DAI, L.; FAN, J.; FENG, L.; XU, M.; WANG, H. (2017). Genetically engineered nitrifier cooperated with biochar improves disease resistance of tobacco through regulation of NPIR-induced SIPK/WIPK pathway. **Biomedical Research, Special Section: Health Science and Bio Convergence Technology**, p. 414-422.
- DE TENDER, C.; HAEGEMAN, A.; VANDECASTEELE, B.; CLEMENT, L.; CREMELIE, P.; DAWYNDT, P.; MAES, M.; DEBODE, J. (2016a). Dynamics in the strawberry rhizosphere microbiome in response to biochar and *Botrytis cinerea* leaf infection. **Frontiers in Microbiology**, v. 7 (2062), p. 1-14. doi:10.3389/fmicb.2016.02062
- DE TENDER, C.A.; DEBODE, J.; VANDECASTEELE, B.; D'HOSE, T.; CREMELIE, P.; HAEGEMAN, A.; RUTTINK, T.; DAWYNDT, P.; MAES, M. (2016b). Biological, physicochemical and plant health responses in lettuce and strawberry in soil or peat amended with biochar. **Applied Soil Ecology**, v. 107, p. 1–12. doi:10.1016/j.apsoil.2016.05.001
- DEBODE, J.; EBRAHIMI, N.; D'HOSE, T.; CREMELIE, P.; VIAENE, N.; VANDECASTEELE, B. (2020). Has compost with biochar added during the process added value over biochar or compost to increase disease suppression?. **Applied Soil Ecology**, v. 153 (103571), p. 1-8. doi:10.1016/j.apsoil.2020.103571
- DORAIS, M.; MARTINEZ, C.; DIOP, M.; THÉRIAULT, M.; MÉNARD, C.; PEPIN, S. (2016). Assessing the potential of biochar as a growing media component for potted plants. **Acta Horticulturae**, v. 1137, p. 19–26. doi:10.17660/ActaHortic.2016.1137.3
- EGAMBERDIEVA, D.; SHURIGIN, V.; ALAYLAR, B.; MA, H.; MÜLLER, M.E.H.; WIRTH, S.; RECKLING, M.; BELLINGRATH-KIMURA, S.D. (2020). The effect of biochars and endophytic bacteria on growth and root rot disease incidence of *Fusarium* infested narrow-leaved lupin (*Lupinus angustifolius* L.). **Microorganisms**, v. 8 (496), p. 1-16. doi:10.3390/microorganisms8040496

ELAD, Y.; DAVID, D.R.; MELLER HAREL, Y.; BORENSHTEIN, M.; KALIFA, H.B.; SILBER, A.; GRABER, E.R. (2010). Induction of systemic resistance in plants by biochar, a soil-applied carbon sequestering agent. **Phytopathology**, v. 100 (9), p. 913–921. doi:10.1094/PHYTO-100-9-0913

ELMER, W.H. (2012). Influence of biochar and earthworms on plant growth, *Fusarium* crown and root rot, and mycorrhizal colonization of asparagus. **Acta Horticulturae**, v. 950, p. 263–270. doi:10.17660/ActaHortic.2012.950.30

ELMER, W.H. (2016). Effect of leaf mold mulch, biochar, and earthworms on mycorrhizal colonization and yield of asparagus affected by *Fusarium* crown and root rot. **Plant Disease**, v. 100 (12), p. 2507–2512. doi:10.1094/PDIS-10-15-1196-RE

ELMER, W.H.; PIGNATELLO, J.J. (2011). Effect of biochar amendments on mycorrhizal associations and *Fusarium* crown and root rot of asparagus in replant soils. **Plant Disease**, v. 95 (8), p. 960–966. doi:10.1094/PDIS-10-10-0741

EO, J.; PARK, K.-C.; KIM, M.-H.; KWON, S.-I.; SONG, Y.-J. (2018). Effects of rice husk and rice husk biochar on root rot disease of ginseng (*Panax ginseng*) and on soil organisms. **Biological Agriculture & Horticulture**, v. 34 (1), p. 27–39. doi:10.1080/01448765.2017.1363660

GAO, Y.; LU, Y.; LIN, W.; TIAN, J.; CAI, K. (2019). Biochar suppresses bacterial wilt of tomato by improving soil chemical properties and shifting soil microbial community. **Microorganisms**, v. 7 (12), p. 1-16. doi:10.3390/microorganisms7120676

GEORGE, C.; KOHLER, J.; RILLIG, M.C. (2016). Biochars reduce infection rates of the root-lesion nematode *Pratylenchus penetrans* and associated biomass loss in carrot. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 95, p. 11–18. doi:10.1016/j.soilbio.2015.12.003

GU, Y.; HOU, Y.; HUANG, D.; HAO, Z.; WANG, X.; WEI, Z.; JOUSSET, A.; TAN, S.; XU, D.; SHEN, Q.; XU, Y.; FRIMAN, V.-P. (2017). Application of biochar reduces *Ralstonia solanacearum* infection via effects on pathogen chemotaxis, swarming motility, and root exudate adsorption. **Plant and Soil**, v. 415, p. 269–281. doi:10.1007/s11104-016-3159-8

- HAREL, Y.M.; ELAD, Y.; RAV-DAVID, D.; BORENSTEIN, M.; SHULCHANI, R.; LEW, B.; GRABER, E.R. (2012). Biochar mediates systemic response of strawberry to foliar fungal pathogens. **Plant and Soil**, v. 357 (1-2), p. 245–257. doi:10.1007/s11104-012-1129-3
- HECK, D.W.; GHINI, R.; BETTIOL, W. (2019). Deciphering the suppressiveness of banana *Fusarium* wilt with organic residues. **Applied Soil Ecology**, v. 138, p. 47-60. doi:10.1016/j.apsoil.2019.02.021
- JAISWAL, A.K.; ALKAN, N.; ELAD, Y.; SELA, N.; PHILOSOPH, A.M.; GRABER, E.R.; FRENKEL, O. (2020). Molecular insights into biochar-mediated plant growth promotion and systemic resistance in tomato against *Fusarium* crown and root rot disease. **Scientific Reports**, v. 10 (13934), p. 1-15. doi:10.1038/s41598-020-70882-6
- JAISWAL, A.K.; ELAD, Y.; CYTRYN, E.; GRABER, E.R.; FRENKEL, O. (2018a). Activating biochar by manipulating the bacterial and fungal microbiome through pre-conditioning. **New Phytologist**, v. 219 (1), p. 363-377. doi:10.1111/nph.15042
- JAISWAL, A.K.; ELAD, Y.; GRABER, E.R.; CYTRYN, E.; FRENKEL, O. (2018c). Soil-borne disease suppression and plant growth promotion by biochar soil amendments and possible mode of action. **Acta Horticulturae**, v. 1207, p. 69–76. doi:10.17660/actahortic.2018.1207.9
- JAISWAL, A.K.; ELAD, Y.; GRABER, E.R.; FRENKEL, O. (2014). *Rhizoctonia solani* suppression and plant growth promotion in cucumber as affected by biochar pyrolysis temperature, feedstock and concentration. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 69, p. 110–118. doi:10.1016/j.soilbio.2013.10.051
- JAISWAL, A.K.; ELAD, Y.; PAUDEL, I.; GRABER, E.R.; CYTRYN, E.; FRENKEL, O. (2017). Linking the belowground microbial composition, diversity and activity to soilborne disease suppression and growth promotion of tomato amended with biochar. **Scientific Reports**, v. 7 (44382), p. 1-17. doi:10.1038/srep44382
- JAISWAL, A.K.; FRENKEL, O.; ELAD, Y.; LEW, B.; GRABER, E.R. (2015). Non-monotonic influence of biochar dose on bean seedling growth and susceptibility to *Rhizoctonia solani*: the “Shifted Rmax-Effect”. **Plant and Soil**, v. 395, p. 125–140. doi:10.1007/s11104-014-2331-2

- JAISWAL, A.K.; FRENKEL, O.; TSECHANSKY, L.; ELAD, Y.; GRABER, E.R. (2018b). Immobilization and deactivation of pathogenic enzymes and toxic metabolites by biochar: A possible mechanism involved in soilborne disease suppression. **Soil Biology and Biochemistry**, 121, p. 59–66. doi:10.1016/j.soilbio.2018.03.001
- JAISWAL, A.K.; GRABER, E.R.; ELAD, Y.; FRENKEL, O. (2019). Biochar as a management tool for soilborne diseases affecting early stage nursery seedling production. **Crop Protection**, v. 120, p. 34-42. doi:10.1016/j.cropro.2019.02.014
- KNOX, O.G.G.; OGHORO, C.O.; BURNETT, F.J.; FOUNTAINE, J.M. (2015). Biochar increases soil pH, but is as ineffective as liming at controlling clubroot. **Journal of Plant Pathology**, v. 97 (1), p. 149-152. DOI: <http://dx.doi.org/10.4454/JPP.V97I1.016>
- KOLTON, M.; GRABER, E.R.; TSEHANSKY, L.; ELAD, Y.; CYTRYN, E. (2017). Biochar-stimulated plant performance is strongly linked to microbial diversity and metabolic potential in the rhizosphere. **New Phytologist**, v. 213 (3), p. 1393-1404. doi:10.1111/nph.14253
- KUMAR, A.; ELAD, Y.; TSECHANSKY, L.; ABROL, V.; LEW, B.; OFFENBACH, R.; GRABER, E.R. (2018). Biochar potential in intensive cultivation of *Capsicum annuum* L. (sweet pepper): crop yield and plant protection. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 98 (2), p. 495-503. doi:10.1002/jsfa.8486
- LIU, L.; LIU, C.; SHEN, G.; YANG, F.; WANG, S.; JIANG, X.; LI, X. (2019). Control of *Fusarium* stalk rot of corn by addition of biochars. **International Journal of Agriculture & Biology**, v. 22, p. 510–516.
- LU, Y.; RAO, S.; HUANG, F.; CAI, Y.; WANG, G.; CAI, K. (2016). Effects of biochar amendment on tomato bacterial wilt resistance and soil microbial amount and activity. **International Journal of Agronomy**, v. 2016 (2938282), p. 1–10. doi:10.1155/2016/2938282
- MARRA, R.; VINALE, F.; CESARANO, G.; LOMBARDI, N.; D'ERRICO, G.; CRASTO, A.; MAZZEI, P.; PICCOLO, A.; INCERTI, G.; WOO, S.L.; SCALA, F.; BONANOMI, G.; PAZ-FERREIRO, J. (2018). Biochars from olive mill waste have contrasting effects on plants, fungi and phytoparasitic nematodes. **PLOS ONE**, v. 13 (6), e0198728, p. 1-24. doi:10.1371/journal.pone.0198728

- MEHARI, Z.H.; ELAD, Y.; RAV-DAVID, D.; GRABER, E.R.; MELLER HAREL, Y. (2015). Induced systemic resistance in tomato (*Solanum lycopersicum*) against *Botrytis cinerea* by biochar amendment involves jasmonic acid signaling. **Plant and Soil**, v. 395, p. 31–44. doi:10.1007/s11104-015-2445-1
- POSTMA, J.; NIJHUIS, E.H. (2019). *Pseudomonas chlororaphis* and organic amendments controlling *Pythium* infection in tomato. **European Journal of Plant Pathology**, v. 154 (1), p. 91–107. doi:10.1007/s10658-019-01743-w
- RAHMAN, L.; WHITELAW-WECKERT, M.A.; ORCHARD, B. (2014). Impact of organic soil amendments, including poultry-litter biochar, on nematodes in a Riverina, New South Wales, vineyard. **Soil Research**, v. 52 (6), p. 604-619. doi:10.1071/SR14041
- ROGOVSKA, N.; LAIRD, D.; LEANDRO, L.; ALLER, D. (2017). Biochar effect on severity of soybean root disease caused by *Fusarium virguliforme*. **Plant and Soil**, v. 413, p. 111–126. doi:10.1007/s11104-016-3086-8
- SABES, P.L.P.; LON, M.M.; PETER, M.A.; MARUYAMA, J.; KOYAMA, S.; WATANABE, T.; KOIZUMI, S. (2020). Effect of increased silicon content of paddy rice on sheath blight development through carbonized rice husk application. **Japan International Research Center for Agricultural Sciences**, v. 54 (2), p. 145-151.
- SILVA, L.G.; DE ANDRADE, C.A; BETTIOL, W. (2020). Biochar amendment increases soil microbial biomass and plant growth and suppresses *Fusarium* wilt in tomato. **Tropical Plant Pathology**, v. 45, p.73-83. doi:10.1007/s40858-020-00332-1
- VON GLISCZYNSKI, F.; SANDHAGE-HOFMANN, A.; AMELUNG, W.; PUDE, R. (2016). Biochar-compost substrates do not promote growth and fruit quality of a replanted German apple orchard with fertile Haplic Luvisol soils. **Scientia Horticulturae**, v. 213, p. 110–114. doi:10.1016/j.scienta.2016.10.023
- WANG, G.; MA, Y.; CHENIA, H.Y.; GOVINDEN, R.; LUO, J.; REN, G. (2020a). Biochar-mediated control of *Phytophthora* blight of pepper is closely related to the improvement of the rhizosphere fungal community. **Frontiers in Microbiology**, v. 11 (1427), p. 1-12. doi: 10.3389/fmicb.2020.01427

- WANG, M.; WANG, J.J.; TAFTI, N.D.; HOLLIER, C.A.; MYERS, G.; WANG, X. (2019b). Effect of alkali-enhanced biochar on silicon uptake and suppression of gray leaf spot development in perennial ryegrass. **Crop Protection**, v. 119, p. 9–16. doi:10.1016/j.cropro.2019.01.013
- WANG, Q.; MA, L.; LI, Y. (2018). Effect of cover crops and soil amendments on tomato yield and incidence of disease. **Proceedings of the Florida State Horticultural Society**, v. 131, p. 144-147.
- WANG, W.; WANG, Z.; YANG, K.; WANG, P.; WANG, H.; GUO, L.; ZHU, S.; ZHU, Y.; HE, X. (2020b). Biochar application alleviated negative plant-soil feedback by modifying soil microbiome. **Frontiers in Microbiology**, 11 (799), p. 1-16. doi:10.3389/fmicb.2020.00799
- WANG, Y.; MA, Z.; WANG, X.; SUN, Q.; DONG, H.; WANG, G.; CHEN, X.; YIN, C.; HAN, Z.; MAO, Z. (2019a). Effects of biochar on the growth of apple seedlings, soil enzyme activities and fungal communities in replant disease soil. **Scientia Horticulturae**, v. 256 (108641), p. 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.108641>
- WANG, Y.; PAN, F.; WANG, G.; ZHANG, G.; WANG, Y.; CHEN, X.; MAO, Z. (2014). Effects of biochar on photosynthesis and antioxidative system of *Malus hupehensis* Rehd. seedlings under replant conditions. **Scientia Horticulturae**, v. 175, p. 9–15. doi:10.1016/j.scienta.2014.05.029
- WU, H.; QIN, X.; WU, H.; LI, F.; WU, J.; ZHENG, L.; WANG, J.; CHEN, J.; ZHAO, Y.; LIN, S.; LIN, W. (2020). Biochar mediates microbial communities and their metabolic characteristics under continuous monoculture. **Chemosphere**, v. 246 (125835). doi:10.1016/j.chemosphere.2020.125835
- ZHANG, C.; LIN, Y.; TIAN, X.; XU, Q.; CHEN, Z.; LIN, W. (2017). Tobacco bacterial wilt suppression with biochar soil addition associates to improved soil physiochemical properties and increased rhizosphere bacteria abundance. **Applied Soil Ecology**, v. 112, p. 90–96. doi:10.1016/j.apsoil.2016.12.005
- ZWART, D.C.; KIM, S.-H. (2012). Biochar amendment increases resistance to stem lesions caused by *Phytophthora* spp. in tree seedlings. **HortScience**, v. 47 (12), p. 1736–1740. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.47.12.1736>



Figura 13. Plantas de tomate com 3 (A), 17 (B) e 20 dias (C) após transplântio das mudas.



Figura 14. Comparativo de diferentes tratamentos no manejo de plantas de tomate. T1: Controle absoluto: sem aplicação de BLE ou *Trichoderma afroharzianum*; T2: Aplicação de BLE exclusivo; T3: Aplicação de *T. afroharzianum*; T4: BLE + *T. afroharzianum*.



Figura 15. Comparativo de diferentes tratamentos no manejo de plantas de tomate inoculadas com o fitopatôgeno *Sclerotium rolfsii*. T1: Controle absoluto: sem aplicação de BLE ou *Trichoderma afroharzianum*; T5: Controle + patôgeno; T6: BLE + patôgeno; T7: *T. afroharzianum* + patôgeno; T8: BLE + *T. afroharzianum* + patôgeno.



Figura 16. Raízes de plantas de tomate em diferentes tratamentos. T1: Controle absoluto: sem aplicação de BLE ou *Trichoderma afroharzianum*; T2: Aplicação de BLE exclusivo; T3: Aplicação de *T. afroharzianum*; T4: BLE + *T. afroharzianum*.



Figura 17. Raízes de plantas de tomate inoculadas com o fitopatógeno *Sclerotium rolfsii* e, submetidas a diferentes tratamentos para controle da doença. T5: Controle + patógeno; T6: BLE + patógeno; T7: *T. afroharzianum* + patógeno; T8: BLE + *T. afroharzianum* + patógeno.

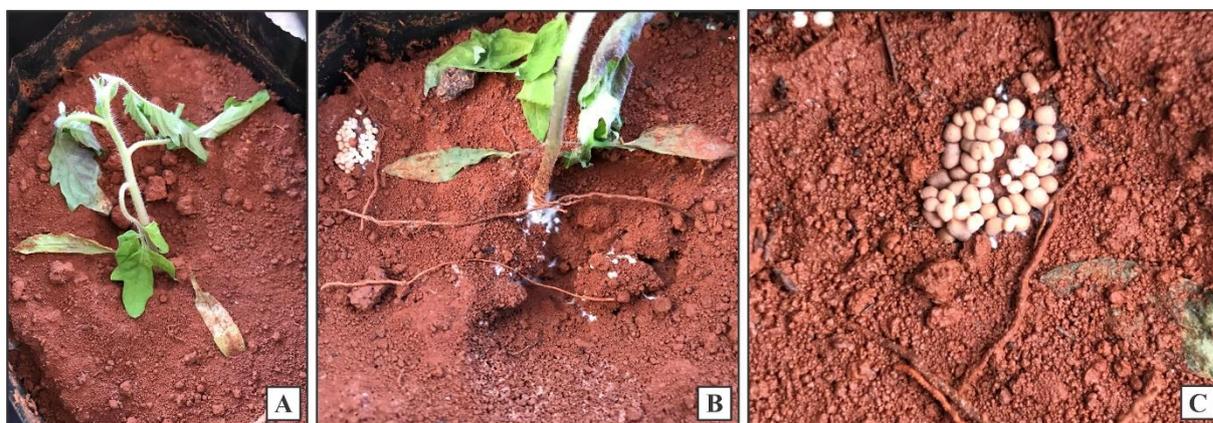


Figura 18. Planta apresentando sintoma de murcha decorrente da inoculação do fitopatógeno *Sclerotium rolfsii* (A). Crescimento micelial do fitopatógeno no colo da planta de tomate (B). Formação de esclerócios de *S. rolfsii* (C).

10. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente trabalho contribuiu para maior compreensão de diferentes ferramentas que possam ser incorporadas nos sistemas agrícolas para controle de fitopatógenos habitantes de solo. O BLE, conhecido pelos diferentes benefícios quando aplicado ao solo, foi capaz de reduzir o crescimento micelial de diferentes fungos fitopatogênicos, demonstrando seu efeito direto no controle *in vitro* desses microrganismos. Entretanto, foi possível demonstrar que esse controle varia de acordo com o microrganismo estudado, existindo uma dose específica de BLE com maior capacidade de inibição.

A combinação BLE + *Trichoderma afroharzianum* foi responsável por potencializar o controle *in vitro* do fitopatógeno *Sclerotium rolfsii*, resultado superior ao observado na aplicação isolada de cada um. Os benefícios dessa combinação também se refletiram na produção de mudas de tomate, na ausência ou presença do *S. rolfsii*, visto a melhor performance na produção de biomassa, resultando em plantas com maior desenvolvimento radicular, como também, maior produção de massa fresca de parte aérea.

A combinação BLE + *Trichoderma afroharzianum* englobou diferentes benefícios para o sistema solo – planta, onde foi possível observar melhorias nas propriedades físico-químicas do solo, em especial a fertilidade, com incremento significativo no teor de fósforo. As plantas, por sua vez, além de apresentarem maior produção de biomassa, observou-se incremento na produção de fenóis e flavonoides, como também, em alguns parâmetros fotossintéticos relacionados à clorofila *a*.

Os diferentes benefícios associados à combinação BLE + *Trichoderma afroharzianum* são de grande importância no manejo de doenças ocasionadas por fitopatógenos habitantes de solo, onde a junção de diferentes ferramentas pode potencializar o controle, além de, estimular a planta a expressar diferentes mecanismos de defesa.