

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO  
DEPARTAMENTO DE TECNOLOGIA RURAL**

**Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental**

**EFEITO DA COMPOSTAGEM NA SOBREVIVÊNCIA DE *Ralstonia  
pseudosolanacearum* EM RESTOS CULTURAIS DE TOMATEIRO E  
QUALIDADE DO COMPOSTO ORGÂNICO**

**LILIANA ANDRÉA DOS SANTOS**

Recife, PE

Julho, 2015

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO  
DEPARTAMENTO DE TECNOLOGIA RURAL**

**Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental**

**LILIANA ANDRÉA DOS SANTOS**

**EFEITO DA COMPOSTAGEM NA SOBREVIVÊNCIA DE *Ralstonia pseudosolanacearum* EM RESTOS CULTURAIS DE TOMATEIRO E QUALIDADE DO COMPOSTO ORGÂNICO**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental para obtenção do título de Mestre em Engenharia Ambiental, Área de Concentração: Gestão Ambiental.

**Orientadora:** Profa. Dra. Soraya Giovanetti El-Deir

**Co-orientadores:** Dr. Adriano Márcio Freire Silva

Profa. Dra. Elineide Barbosa de Souza

Recife, PE

Julho, 2015

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO**

**DEPARTAMENTO DE TECNOLOGIA RURAL**

**Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental**

**EFEITO DA COMPOSTAGEM NA SOBREVIVÊNCIA DE *Ralstonia*  
*pseudosolanacearum* EM RESTOS CULTURAIS DE TOMATEIRO E QUALIDADE  
DO COMPOSTO ORGÂNICO**

LILIANA ANDRÉA DOS SANTOS

APROVADO EM: 31 DE JULHO DE 2015

---

**Prof. Dr. Marco Aurélio Siqueira da Gama (UFRPE)**

---

**Prof. Dr. Vicente de Paulo Silva (UFRPE)**

---

**Prof<sup>a</sup>. Dra. Soraya Giovanetti El-Deir (UFRPE)**

---

**Prof. Dr. Vicente de Paulo Silva**

**Coordenador do PPEAMB/UFRPE**

## FICHA CATALOGRÁFICA

S237e Santos, Liliana Andréa dos  
Efeito da compostagem na sobrevivência de *Ralstonia pseudosolanacearum* em restos culturais de tomateiro e qualidade do composto orgânico / Liliana Andréa dos Santos. – Recife, 2015.  
58 f.: il.

Orientador(a): Soraya Giovanetti El-Deir.  
Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Tecnologia Rural, Recife, 2015.

Inclui apêndice(s) e referências.

1. *Solanum lycopersicum* 2. Murcha bacteriana 3. Resíduos Sólidos I. El-Deir, Soraya Giovanetti, orientadora II. Título

CDD 620.8

*A minha amada filha Júlia dos Santos Cavalcanti e ao meu querido esposo Joaquim Cavalcanti pelo companheirismo, apoio e amor incondicional.*

**DEDICO**

*“Embora ninguém possa voltar atrás e fazer um novo começo, qualquer um pode começar agora e fazer um novo fim”.*

**CHICO XAVIER**

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus que sempre esteve comigo nos momentos que mais difíceis e nunca deixou eu perder a fé.

A Universidade Federal Rural de Pernambuco e ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental, pela formação oferecida no curso de Mestrado em Engenharia.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de Mestrado.

A Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Soraya Giovanetti El-Deir, pela orientação, pelo exemplo de profissional, apoio, paciência, atenção, amizade.

A Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Elineide Barbosa de Souza, pela orientação neste e em outros trabalhos ao longo da minha vida Acadêmica, pelo apoio, paciência, atenção, amizade, carinho e delicadeza.

Ao Dr. Adriano Márcio Freire Silva, pela orientação, toda experiência repassada, apoio, atenção, amizade.

A Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Rosa de Lima Ramos Mariano, pelo exemplo de profissional, pelos ensinamentos, apoio e carinho.

A minha família, em especial a minha amada filha Júlia Cavalcanti e ao meu querido esposo Joaquim Cavalcanti pelo amor, dedicação, paciência, apoio e compreensão.

Aos amigos do Laboratório de Fitobacteriologia, Tássia Camila, Mirtis Midiaram, Kátia Cilene, Greecy Albuquerque, Edilaine Melo, Marco Aurélio, Walquíria, Ivanise Viana, Claudeana Souza, Jéssica, Elias, Willams, Alexandre, pela amizade, apoio e ajuda em todos os momentos. E especialmente a pelo apoio e amizade incondicional.

A minha grande amiga Myrzania Guerra, pela amizade, apoio nos momentos mais difíceis e companheirismo.

Aos funcionários e técnicos da Horta do Departamento de Fitotecnia pela atenção, e toda ajuda para realização deste trabalho.

## RESUMO

A compostagem é um processo microbiano de biotransformação, considerada uma alternativa para a destinação adequada dos resíduos culturais, sendo uma técnica simples, viável economicamente e eficiente no tratamento e estabilização dos resíduos, minimizando os impactos ambientais no solo, no ar e na água, além de eliminar micro-organismos patogênicos aos vegetais e aos seres humanos. Os objetivos da pesquisa foram investigar a sobrevivência de um mutante da fitobactéria *Ralstonia pseudosolanacearum* (CRMRS74<sup>Rif</sup>) em restos culturais de tomateiro durante a compostagem e verificar a qualidade do composto orgânico em relação a variáveis físicas, químicas e microbiológicas. Três pilhas de compostagem foram constituídas de restos culturais de tomateiro e capim elefante, e esterco de ovino. Nove bolsas contendo 10 g de tecidos de tomateiro infectado foram depositadas em cada pilha, três em cada profundidade (20, 40 e 60 cm). Os revolvimentos das pilhas foram feitos aos 10, 20 e 30 dias de compostagem, quando então foram realizadas as avaliações da sobrevivência da fitobactéria. Ao final do processo (30 dias) foram quantificados os micro-organismos presente no composto e o antagonismo a *R. pseudosolanacearum*, os compostos fenólicos totais e variáveis da qualidade do composto. Na primeira avaliação realizada aos 10 dias o mutante não foi recuperado em meio de cultura, indicando que já havia sido eliminado do material infectado. As bactérias totais foram quantificadas em elevadas populações no composto, variando de  $7,0 \times 10^{12}$  a  $2,0 \times 10^{16}$  UFC/g de composto, com predominância de *Pseudomonas* do grupo fluorescente. Sessenta e dois isolados apresentaram atividade antagônica a *R. pseudosolanacearum* CRMRS74<sup>Rif</sup>, detectada através da formação de halo de inibição do crescimento bacteriano. No entanto, apenas 32 isolados mantiveram o antagonismo em novo teste realizado *in vitro*. A população de fungos variou de  $3,2 \times 10^2$  a  $1,2 \times 10^3$  UFC/g de composto. Com base nas estruturas morfológicas, foram identificados 40 isolados ao nível de gênero: *Aspergillus* spp., *Cladosporium* spp., *Curvularia* spp., *Fusarium* spp., *Paecilomyces* spp. e *Trichoderma* spp., e também o Oomiceto *Pythium* sp., e destes, nove produziram metabólitos tóxicos e inibiram o crescimento bacteriano, com halos variando de 15 a 23 mm. A população total de actinomicetos no composto variou de  $3,8$  a  $9,5 \times 10^4$  UFC/g de composto, e com base em características culturais foram selecionados 33 isolados para teste de antagonismo, dois quais, quatro produziram metabólitos tóxicos contra *R. pseudosolanacearum* CRMRS74<sup>Rif</sup>, com halos variando de 23 a 33 mm. Compostos fenólicos totais foram encontrados nas pilhas de compostagem em uma concentração média de 0,0065%. As altas temperaturas geradas nas pilhas durante a fase termofílica (em média 50°C), a presença de micro-organismos antagonistas e compostos fenólicos foram responsáveis pela rápida eliminação de *R. pseudosolanacearum* do composto. Os resultados das análises físico-químicas e microbiológicas atenderam aos limites estabelecidos pela legislação vigente para uso e comercialização de composto orgânico, indicando que o composto obtido é de boa qualidade.

**Palavras-chave:** *Solanum lycopersicum*; murcha bacteriana; resíduos sólidos.

## ABSTRACT

The composting process is a microbial biotransformation used as an alternative for the adequate destination of the crop residues. It is a simple, economic and efficient technique for the treatment and stabilization of these residues and minimizes the environmental impacts in soil, air and water besides eliminates plant and human pathogens. The goals of this work were to investigate the survival of a mutant of phyto-bacteria *Ralstonia pseudosolanacearum* (CRMRS74<sup>Rif</sup>) in tomato crop residues during composting process and analyze the quality of the organic compound in relation to physical, chemical and microbiological variables. Three composting piles were made of tomato and napier grass crop residues plus ovine manure. Then, nine mesh bags with 10 g of infected tomato plants were placed in each pile, three at each depth of 20, 40 and 60 cm. Piles were turned over after 10, 20 and 30 days when evaluations of bacterial survival were made. At the end of the composting process, we quantified microbial population, antagonism against *R. pseudosolanacearum*, total phenolic content and compost quality. At the first evaluation (10 days) CRMRS74<sup>Rif</sup> were not recovered in culture medium, indicating that it was already eliminated of the infected material. Total bacteria were present in high populations in the compound, ranging from  $7.0 \times 10^{12}$  to  $2.0 \times 10^{16}$  CFU/g of compound, and the fluorescent *Pseudomonas* were the most frequent. Sixty-two isolates showed antagonistic activity against *R. pseudosolanacearum* CRMRS74<sup>Rif</sup>, detected by the inhibition halo formation. However, only 32 isolates maintained the antagonism in a second *in vitro* assay. The fungal population ranged from  $3.2 \times 10^2$  to  $1.2 \times 10^3$  CFU/g of compound. Based on morphological structures 40 isolates were identified at genus level: *Aspergillus* spp., *Cladosporium* spp., *Curvularia* spp., *Fusarium* spp., *Paecilomyces* spp., *Trichoderma* spp., and the Oomycete *Pythium* sp. Among these isolates, nine produced toxic metabolites and inhibited the pathogen growth with halos ranging from 15 to 23 mm. The total population of actinomycetes in compound ranged from  $3.8$  to  $9.5 \times 10^4$  CFU/g of compound and based on cultural characteristics 33 isolates were selected for the antagonistic tests. Among them, four produced toxic metabolites against *R. pseudosolanacearum* CRMRS74<sup>Rif</sup> with halos ranging from 23 to 33 mm. Total phenolic content found in composting pile averaged 0.0065%. The high temperatures generated in the piles during the thermophilic phase (media 50°C), the presence of antagonistic microbial populations and the phenolic compounds might be the cause of the quick elimination of *R. pseudosolanacearum* from the compound. The results of the physico-chemical and microbiological analysis attended the established limits of the current Brazilian legislation for using and commercialization of an organic compound, indicating that the obtained product has good quality.

**Keywords:** *Solanum lycopersicum*; bacterial wilt; solid residues.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1- Sintomas da murcha bacteriana em tomateiro. A- Planta murcha; B- Corte do caule, evidenciado escurecimento dos vasos do xilema .....	18
Figura 2- Fases gerais de degradação via compostagem dos resíduos sólidos .....	22
Figura 3- Esquema simplificado do processo de compostagem .....	23
Figura 4- Distribuição das zonas dentro das pilhas .....	30
Figura 5 - Crescimento dos isolados selvagem CRMRS74 e mutante CRMRS74 <sup>Rif</sup> de <i>R. pseudosolanacearum</i> em meio de cultura NYD .....	35
Figura 6. Curvas de temperaturas médias em três pilhas de compostagem (A, B e C), aos 20, 40 e 60 cm em relação a superfície do solo.....	37
Figura 7- Inibição do crescimento de <i>R. pseudosolanacearum</i> por metabólitos tóxicos produzidos por fungos dos gêneros <i>Aspergillus</i> e <i>Paecilomyces</i> obtidos de composto, evidenciada pela presença de halo.....	42

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Temperaturas médias das pilhas de compostagem nas diferentes zonas a 20, 40 e 60 cm de profundidade .....	35
Tabela 2- Temperaturas médias em diferentes profundidades de três pilhas de compostagem .....	38
Tabela- 3 Atividade antagônica de isolados bacterianos presentes nas pilhas de compostagem a <i>Ralstonia pseudosolanacearum</i> .....	40
Tabela 4- Gêneros fúngicos e Oomicetos presentes nas pilhas de compostagem .....	41
Tabela 5- Atividade de isolados fúngicos presentes nas pilhas de compostagem a <i>Ralstonia pseudosolanacerum</i> .....	43
Tabela 6- Atividade antagônica de actinomicetos presentes nas pilhas de compostagem a <i>Ralstonia pseudosolanacearum</i> .....	44
Tabela 7- Sistematização dos resultados da análise do composto para teor de pH, umidade, C, N, relação C/N, MO, CTC, CTC/C, macro e micronutrientes e valores limites estabelecidos pela legislação IN 25/2009 .....	45
Tabela 8- Análise de micro-organismos patogênicos presentes no composto .....	46

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>13</b>
<b>2. REVISÃO DE LITERATURA .....</b>	<b>15</b>
<b>2.1 A cultura do tomateiro .....</b>	<b>15</b>
2.1.1 Importância da cultura do tomateiro .....	15
2.1.2 Murcha bacteriana do tomateiro .....	16
2.1.3 Aspectos taxonômicos e biológicos do complexo <i>Ralstonia pseudosolanacearum</i> .....	18
2.1.4 Sobrevivência de isolados do complexo <i>Ralstonia pseudosolanacearum</i> .....	20
<b>2.2 Compostagem .....</b>	<b>21</b>
2.2.1 Processo de compostagem .....	21
2.2.2 Fatores que influenciam no processo de compostagem .....	24
2.2.3 Métodos de compostagem .....	26
2.2.4 Qualidade do composto orgânico .....	26
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>28</b>
<b>3.1 Obtenção do mutante de <i>Ralstonia pseudosolanacearum</i> resistente ao antibiótico rifampicina .....</b>	<b>28</b>
<b>3.2 Preparação das pilhas de compostagem .....</b>	<b>29</b>
<b>3.3 Sobrevivência de <i>Ralstonia pseudosolanacearum</i> durante a compostagem .....</b>	<b>30</b>
<b>3.4 Quantificação de bactérias totais e detecção de antagonistas a <i>Ralstonia pseudosolanacearum</i> presentes nas pilhas de compostagem .....</b>	<b>31</b>
<b>3.5 Quantificação de fungos totais e detecção de antagonistas a <i>Ralstonia pseudosolanacearum</i> presentes nas pilhas de compostagem .....</b>	<b>31</b>
<b>3.6 Quantificação de actinomicetos totais e detecção de antagonistas a <i>Ralstonia pseudosolanacearum</i> presentes nas pilhas de compostagem .....</b>	<b>32</b>
<b>3.7 Quantificação de compostos fenólicos totais .....</b>	<b>32</b>
<b>3.8 Análises da qualidade do composto orgânico .....</b>	<b>33</b>
<b>3.9 Análises estatísticas .....</b>	<b>34</b>
<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>35</b>
<b>4.1 Obtenção do mutante de <i>Ralstonia pseudosolanacearum</i> resistente ao antibiótico rifampicina .....</b>	<b>35</b>
<b>4.2 Sobrevivência de <i>Ralstonia pseudosolanacearum</i> durante a compostagem .....</b>	<b>36</b>

<b>4.3</b>	<b>Quantificação de bactérias totais e detecção de antagonistas a <i>Ralstonia pseudosolanacearum</i> presentes nas pilhas de compostagem .....</b>	<b>39</b>
<b>4.4</b>	<b>Quantificação de fungos totais e detecção de antagonistas a <i>Ralstonia pseudosolanacearum</i> presentes nas pilhas de compostagem .....</b>	<b>41</b>
<b>4.5</b>	<b>Quantificação de actinomicetos totais e detecção de antagonistas a <i>Ralstonia pseudosolanacearum</i> presentes nas pilhas de compostagem .....</b>	<b>43</b>
<b>4.6</b>	<b>Quantificação de compostos fenólicos totais .....</b>	<b>44</b>
<b>4.7</b>	<b>Análises da qualidade do composto orgânico .....</b>	<b>45</b>
<b>5.</b>	<b>CONCLUSÕES .....</b>	<b>45</b>
	<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>50</b>

## 1. INTRODUÇÃO

No Brasil, o tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.) é a segunda hortaliça mais cultivada e de maior importância econômica, sendo apenas superada pela batateira (*Solanum tuberosum* L.). A cultura do tomateiro, porém, está suscetível ao ataque de várias pragas e doenças que podem reduzir a produção. Dentre as fitobacterioses, a murcha bacteriana causada por *Ralstonia solanacearum* (Smith) Yabuuchi et al. e *R. pseudosolanacearum* (Smith) Safni et al. é uma das principais doenças que ocorrem em cultivos do estado de Pernambuco (SILVA, 2014).

As condições que favorecem ao ataque severo de *R. pseudosolanacearum*, tais como a temperatura elevada, a alta umidade do solo e plantas suscetíveis a bactéria, são fatores limitantes do cultivo das solanáceas, face a provável murcha e morte precoce das plantas no campo (CHENG; CHU, 1999; LOPES; ÁVILA, 2005).

A disseminação de *R. pseudosolanacearum* a curta distância ocorre através da movimentação de solo, da água de irrigação em encostas, e da utilização de máquinas agrícolas e ferramentas contaminadas nas práticas culturais, ocasionando a introdução do patógeno em novas áreas. Neste processo de disseminação, a capacidade de sobrevivência da bactéria no solo, na água e em restos culturais, a presença de hospedeiros alternativos e de infecções latentes, ou seja, aquelas onde a planta não apresenta sintomas, têm influência fundamental no desenvolvimento da doença (COUTINHO, 2005; HAYWARD, 1994).

Por outro lado, os sistemas agrícolas produzem grandes quantidades de resíduos, tais como restos de cultura. No campo, é prática comum os agricultores deixarem os restos de cultura nas áreas de plantio, os quais são fonte de inóculo potencial de fitopatógenos, podendo comprometer a qualidade e a quantidade da futura produção. Outra importante questão envolvendo os restos culturais é o fato de que muitas vezes esses resíduos são queimados, provocando sérios problemas de poluição ambiental (SUÁREZ-ESTRELLA et al., 2007).

Dentre as várias alternativas para a destinação adequada dos resíduos culturais, a compostagem é identificada como uma das mais atrativas, pois é uma técnica simples, viável economicamente e eficiente no tratamento e estabilização dos resíduos, minimizando os impactos ambientais no solo, no ar e na água (BUSTAMANTE et al., 2008; JURADO et al., 2014; KHAMFOROUSH et al., 2013; LU et al., 2008). Além disso, o processo de compostagem elimina micro-organismos patogênicos aos vegetais e aos seres humanos (ELORRIETA et al., 2003; SILVA et al., 2012).

A compostagem é um processo microbiano de biotransformação. O composto orgânico, se gerado de forma correta, geralmente é rico em nutrientes essenciais e pode ser aproveitado em sistemas agrícolas como adubo orgânico, fornecendo nutrientes que são assimilados pelas raízes das plantas. Quanto mais diversificados os materiais com os quais o composto é feito, maior é a variedade de nutrientes ali existentes (CAMPBELL, 1999).

Para que o composto possa ser utilizado em sistemas agrícolas como condicionante do solo ou até mesmo como fertilizante orgânico, é necessário realizar o monitoramento e o controle dos fatores físicos, físico-químicos e biológicos para a obtenção de um composto seguro e de qualidade (MASSUKADO et al., 2010).

Neste sentido, um estudo sobre variáveis abióticas e biológicas relativas ao potencial de eliminação de fitopatógenos no processo de compostagem de restos agrícolas, tem relevância no sentido de buscar uma melhoria na qualidade ambiental ecossistêmica e em sistemas agrícolas. Este trabalho teve como objetivos investigar o efeito da compostagem na sobrevivência de *R. pseudosolanacearum* em restos culturais de tomateiro e verificar a qualidade do composto orgânico em relação a variáveis físicas, químicas e microbiológicas.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 A cultura do tomateiro e a murcha bacteriana

#### 2.1.1 Importância da cultura do tomateiro

O tomateiro, pertencente à família Solanaceae, pode ser cultivado em regiões tropicais e subtropicais, tanto para consumo *in natura* quanto para a indústria de processamento, destacando-se como a segunda hortaliça mais cultivada no mundo, sendo superada apenas pela batateira (SANTOS, 2011).

É uma planta perene, de porte arbustivo, de cultivo anual. A planta pode desenvolver-se de forma rasteira, semi-ereta ou ereta. O crescimento é limitado nas variedades de crescimento determinado e ilimitado nas de crescimento indeterminado, podendo chegar, nesse caso, a 10 m em um ano. É uma hortaliça de larga adaptação climática, sendo a temperatura ótima para a germinação das sementes situada na faixa de 15 a 25°C (ALVARENGA, 2004a).

A composição dos frutos de tomate varia de acordo com a cultivar, a nutrição, as condições de cultivo e com as condições ambientais nas quais foi produzido. O fruto fresco é um alimento altamente nutritivo com baixo teor de matéria seca, muito rico em sais minerais, vitamina C e licopeno, apresenta excelente palatabilidade e o seu baixo valor energético torna-o recomendável em dieta, ou à pessoas que precisam de um alimento de baixa digestibilidade (ALVARENGA, 2004b; RAO, 2002; SHAMI; MOREIRA, 2004).

A produção de tomate no Brasil, em 2013, alcançou 4.291.160 toneladas e rendimento médio em torno de 65,94 t.ha<sup>-1</sup>. A região Sudeste é a maior produtora, com 1.919.438 toneladas e rendimento médio de 74,09 t.ha<sup>-1</sup>, com destaque para São Paulo que é o segundo maior estado produtor do Brasil, com 849.052 toneladas e rendimento médio de 75,12 t.ha<sup>-1</sup>. A segunda maior região produtora é a Centro-Oeste, que em 2014 apresentou uma produção de 1.096.895 toneladas e rendimento médio de 85,31 t.ha<sup>-1</sup>, com destaque para o estado de Goiás que é o primeiro produtor de tomate do Brasil com uma safra de 1.025.567 toneladas e rendimento médio em torno de 88,04 t.ha<sup>-1</sup>. A região Nordeste ocupa o terceiro lugar na produção de tomate com 672.011 toneladas e rendimento médio de 65,94 t.ha<sup>-1</sup>, com destaque para os estados da Bahia com produção de 288.477 toneladas e rendimento médio de 34,73 t/ha, Ceará com produção de 224.850 toneladas e rendimento médio de 49,07 t/ha e Pernambuco com 123.531 toneladas e rendimento médio de 34,73 t.ha<sup>-1</sup> (IBGE, 2014).

Apesar da grande produção obtida, o tomateiro se caracteriza por ser uma cultura bastante suscetível a uma grande quantidade de pragas e doenças, exigindo intenso manejo desde o plantio até o momento da colheita. É um dos setores agrícolas que mais consome produtos fitossanitários, com um gasto médio de R\$ 6.990,52 ha.ano<sup>-1</sup> (AGRIANUAL, 2013).

Dentre as doenças de etiologia bacteriana que afetam o tomateiro destaca-se a murcha bacteriana, causada por *R. solanacearum* e *R. pseudosolanacearum*, que pode comprometer os cultivos e impactar a produção do tomateiro.

### 2.1.2 Murcha bacteriana do tomateiro

A murcha bacteriana é considerada uma das mais importantes e destrutivas doenças de plantas no Brasil e no mundo, principalmente em áreas de clima úmido, com altitudes baixa a média, em regiões tropicais e subtropicais (HAYWARD, 1991). É favorecida por alta temperatura e alta umidade do solo, sendo, por isso, notada com mais frequência em cultivos de verão (PEREIRA-CARVALHO et al., 2014). A importância deve-se aos grandes prejuízos ocasionados por esta doença, extensa gama de hospedeiros, ampla distribuição geográfica e difícil controle.

Os primeiros relatos da doença ocorreram em 1896, nos Estados Unidos da América, nas solanáceas batateira, tomateiro e berinjela (*Solanum melongena* L.) (HAYWARD, 1994). No Brasil, os primeiros registros da murcha bacteriana datam de 1922, em plantas de fumo (*Nicotiana tabacum* L.) e batateira, no Rio Grande do Sul por Von Parseval (TAKATSU; LOPES 1997). A fitobacteriose é encontrada em mais de 450 plantas hospedeiras, distribuídas em 54 famílias botânicas, com perdas difíceis de quantificar (WICKER, 2007). As espécies mais suscetíveis pertencem à família solanácea; no entanto, espécies de outras famílias também são hospedeiras deste patógeno, tais como bananeira (*Musa* spp.), amoreira (*Morus alba* L.) e gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe) (XU, 2009).

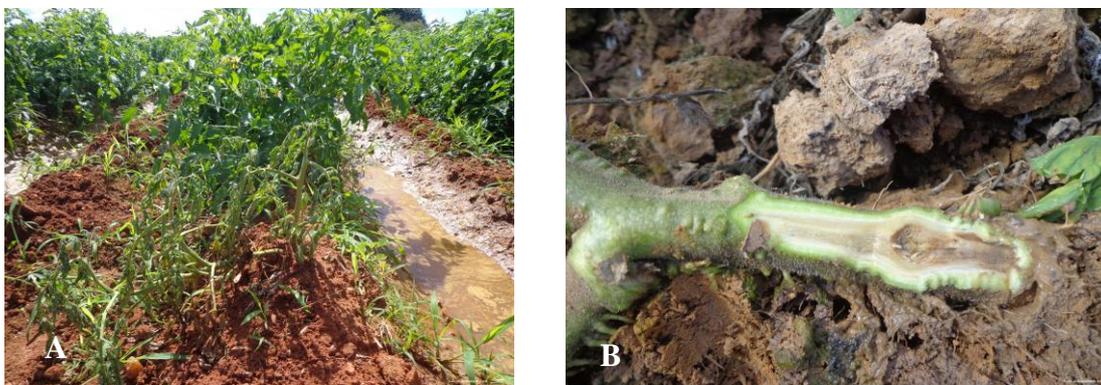
Em tomateiros, a murcha bacteriana é causada por *R. solanacearum* e *R. pseudosolanacearum*, as mesmas bactérias que causam a doença em pimentão (*Capsicum annuum* L.) e outras solanáceas. Estas bactérias estão amplamente disseminadas pelas principais áreas de produção no Brasil, principalmente nas regiões Norte e Nordeste (MALAVOLTA JÚNIOR et al., 2008; MARQUES et al., 1994). No entanto, com o advento e a expansão do cultivo protegido nas regiões Sul e Sudeste do Brasil, a murcha bacteriana passou a ser um dos principais problemas do tomateiro neste sistema de produção (LOPES et al., 2015). A perda na produção de solanáceas é muito elevada, podendo ser total e chegando a condenar o campo, especialmente em plantios sucessivos, devido à capacidade da bactéria

sobreviver no solo por longo período de tempo (LOPES; DUVAL, 2007). Em Pernambuco, a murcha bacteriana limita o cultivo de tomate, pimentão (*Capsicum annum* L.) e berinjela, nas mesorregiões da Mata e Agreste do estado (MARIANO et al., 1989). Silva (2014) verificou que nestas mesorregiões a doença é causada principalmente por isolados de *R. pseudosolanacearum*.

*R. pseudosolanacearum* penetra por ferimentos nas raízes, invade os espaços intercelulares do córtex da raiz em menos de 4 horas e após 2 a 3 dias, coloniza inteiramente esses espaços e o parênquima vascular (SAILE et al., 1997), movimentando-se em direção à parte superior da planta. Em tomateiro, a doença se manifesta em qualquer estágio de desenvolvimento da planta, principalmente por ocasião da formação do primeiro cacho de frutos. Ao infectar a planta, a bactéria se aloja no xilema, cujos vasos conduzem a água absorvida pelas raízes para a parte aérea da planta. Sob condições favoráveis, a bactéria se multiplica, gerando alta quantidade de células produtoras de polissacarídeos extracelulares viscosos, que acabam obstruindo os vasos (LOPES; ROSSATO, 2013). Permanecendo as condições favoráveis ao desenvolvimento da bactéria, a planta toda murcha de forma irreversível e morre (Figura 1A).

Por ser uma doença vascular, provoca escurecimento dos vasos do xilema (Figura 1B), que é percebido quando se faz cortes longitudinais na parte inferior do caule de plantas afetadas. A exsudação bacteriana na base do caule, visualizada pelo teste do copo. Este teste é realizado fazendo um corte transversal no caule da planta doente, colocando-a em seguida ligeiramente submersa em frasco transparente com água limpa. A presença de um filete leitoso saindo do tecido em direção ao fundo do copo indica a presença da murcha-bacteriana (LOPES; ROSSATO, 2013), distinguindo a murcha bacteriana de outras doenças vasculares de origem fúngica que também causam a murcha da planta (PEREIRA-CARVALHO et al., 2014). Em condições desfavoráveis à doença, os sintomas aparecem mais tardiamente, podendo ocorrer murcha em um só lado da planta ou da folha, além de se observar certo amarelecimento das folhas iniciando pelas mais velhas (LOPES; ROSSATO, 2013).

**Figura 1 - Sintomas da murcha bacteriana em tomateiro. A- Planta murcha; B- Corte do caule, evidenciando escurecimento dos vasos do xilema.**



A disseminação da bactéria ocorre a curta distância através da movimentação de solo, da água de irrigação em encostas e da utilização de máquinas agrícolas e ferramentas contaminadas nas práticas culturais. A disseminação a longa distância ocorre principalmente pelo transporte de material vegetal infectado, ocasionando a introdução da murcha bacteriana em novas áreas (COUTINHO, 2005; HAYWARD, 1994).

O controle da murcha bacteriana é extremamente difícil, principalmente devido a ampla gama de hospedeiras, alta variabilidade genética do patógeno e a sobrevivência no solo por longos períodos, tornando o controle químico inviável e antieconômico (LOPES, 1994). Dessa forma, no manejo da doença são indicadas as seguintes medidas: manejo correto da água de irrigação de forma a evitar o encharcamento do solo, evitar ferimentos por nematóides, insetos ou implementos agrícolas; evitar movimentação a partir de focos da doença para outras áreas; eliminar plantas doentes, voluntárias infectadas e invasoras da família solanácea; e fazer rotação de culturas por no mínimo um ano, com gramíneas (LOPES; QUEZADO SOARES, 2001).

### 2.1.3 Aspectos taxonômicos e biológicos do complexo de espécies *Ralstonia solanacearum*

O gênero *Ralstonia* pertence ao domínio Bacteria, reino Procariotae, divisão Proteobacteria, ordem Burkholderiales e família Ralstoniaceae.

A nomenclatura do agente causal da murcha bacteriana tem sofrido grandes mudanças. A bactéria foi descrita pela primeira vez em 1896, por Erwin F. Smith que a classificou como *Bacillus solanacearum* Smith, tendo sido isolada a partir de plantas de tomateiro infectadas provenientes de Ocean Springs (Mississippi). Em 1914 foi denominada *Pseudomonas solanacearum* (Smith) Smith, até que em 1992 Yabuuchi et al. (1992) propuseram o novo

gênero *Burkholderia*, para o qual transferiram sete espécies do gênero *Pseudomonas*, entre elas *P. solanacearum*, designada como *Burkholderia solanacearum* (Smith) Yabuuchi et al. Entretanto, em 1995, com base na análise molecular da sequência da região 16S do rRNA e em análises quimiotaxonômicas, passou a ser denominada *Ralstonia solanacearum* (Smith) Yabuuchi et al. (YABUUCHI et al., 1995).

Devido à grande variabilidade infraespecífica, *R. solanacearum* tem sido considerada um complexo de espécies, que é definido como um grupo de isolados proximalmente relacionados, cujos membros individuais podem representar mais de uma espécie (FEGAN; PRIOR, 2005).

Com base na análise filogenética das sequências parciais do gene da endoglucanase (*egl*), sequências da região espaçadora intergênica (ITS) e hibridação DNA-DNA, Safni et al. (2014) reclassificaram o complexo *R. solanacearum* demonstrando que o mesmo é compreendido por três genomaespécies. Os isolados do filotipo II permaneceram como *R. solanacearum* enquanto que os isolados do filotipo I e III foram reclassificados como *R. pseudosolanacearum* e os isolados do filotipo IV foram reclassificados como *R. syzygii*, sendo este subdividido em três subespécies *Ralstonia haywardii* subsp. *celebensis*, *R. haywardii* subsp. *solanacearum*, *R. haywardii* subsp. *syzygii*.

Estudos realizados no Brasil indicam que em cultivos de pimentão nas mesorregiões do Agreste e da Mata de Pernambuco predomina o filotipo I. No entanto, o filotipo II também foi detectado (GARCIA et al., 2013), indicando a existência das espécies *R. pseudosolanacearum* e *R. solanacearum* causando murcha nessa cultura. Em isolados obtidos de plantas de bananeira e heliconia (*Heliconia rostrata* Ruiz & Pavon) foram identificados apenas isolados do filotipo II (*R. solanacearum*) no Amazonas (ALBUQUERQUE et al., 2014).

*R. pseudosolanacearum* é uma bactéria habitante do solo, gram-negativa, não formadora de endósporos, apresenta forma de bastonete, reto ou levemente curvo, medindo aproximadamente 0,5-1,0 x 1,5-3,0 µm e não produz pigmento fluorescente. Isolados virulentos não apresentam flagelos, enquanto os isolados avirulentos têm alta motilidade sendo providos de 1 a 4 flagelos polares. Em meio de cultura de Kelman contendo tetrazólio, isolados virulentos apresentam colônias brancas com centro róseo (Figura 1), e vermelhas nos avirulentos (KELMAN, 1954). Produzem poli-β-hidroxi-butirato (MEHAN et al., 1994), apresentam metabolismo oxidativo e geralmente são aeróbios estritos. Alguns isolados podem reduzir nitrato a nitrito e produzir gás a partir de nitrato. Não hidrolisam amido, caseína e arginina e hidrolisam fracamente a gelatina. São oxidase e catalase positivos, e lipase

negativos; não utilizam arginina ou betaína como única fonte de carbono. Crescem na faixa de 25 a 35°C, variando de acordo com o isolado, e para os provenientes de áreas tropicais, a temperatura ótima é na faixa de 35°C. Seu crescimento é inibido em meio ácido e favorecido em condições alcalinas. Tolerantes a sais, podem crescer em NaCl a 1% em meio líquido, com pouco ou nenhum crescimento em NaCl 2% (KELMAN, 1953; MEHAN et al., 1994).

#### 2.1.4 Sobrevivência de fitobactérias

O período de sobrevivência de fitobactérias em restos culturais na superfície do solo é maior em relação aos resíduos que são incorporados a diferentes profundidades (ZHAO; DAMICOMI; BENDER, 2002). Isso ocorre devido à ação da microbiota na decomposição do material e na ação direta sobre os patógenos, por mecanismos de competição e antibiose (GILBERTSON; RAND; HAGEDORN, 1990; ROMEIRO, 2005).

Segundo Leben (1981) uma das principais formas de sobrevivência de bactérias fitopatogênicas é a fase hipobiótica dentro de tecidos infectados difíceis de serem decompostos, como por exemplo células do patógeno dentro de ramos calosos de tomateiro. Portanto, a compostagem de qualquer resíduo cultural requer a confirmação de que o processo possui a capacidade de eliminar fitopatógenos que podem estar presentes no material a ser compostado (HOITINK; HERR; SCHMITTHENNER, 1976; BOLLEN, 1985).

Dentre os fatores que afetam a sobrevivência de bactérias fitopatogênicas estão temperatura, umidade, pH, aeração, características químicas, físicas e biológicas do solo (DE BOER, 1982). Em geral, essas bactérias sobrevivem no solo em uma faixa de temperatura que varia de 20 a 37°C. Em restos culturais, vários fatores podem influenciar a sobrevivência desses patógenos, dentre os quais: área geográfica, clima, práticas culturais (que definem a localização do resto cultural), genótipo do hospedeiro e possivelmente o isolado bacteriano (GILBERTSON; RAND; HAGEDORN, 1990).

Elorrieta et al. (2003) investigaram a sobrevivência das bactérias fitopatogênicas *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* (Jones) Hauben et al., *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* (Doidge) Dye e *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* van Hall durante o processo de compostagem de restos culturais de hortaliças. Todas essas bactérias fitopatogênicas foram eliminadas em menos de 60 horas de compostagem. Segundo Noble e Roberts (2004), durante a compostagem de vários resíduos orgânicos, o efeito da temperatura em combinação com outros fatores de sanitização erradicaram aproximadamente 64 fitopatógenos. Em raízes de couve de Bruxelas (*Brassica oleracea* L. var. *gemmifera* Zenk.) e couve comum (*B. oleracea* L.) infectadas por *Plasmiodiophora brassicae* Woronin

compostadas em larga escala com galhos lenhosos, restos de vegetais e frutos, foram observadas eliminação do patógeno após 6 a 7 dias de compostagem (FAYOLLE et al., 2006). Suárez Estrella et al. (2007) observaram que *P. carotovorum* subsp. *carotovorum*, *P. syringae* pv. *syringae*, *Rhizoctonia solani* Kühn e *Pythium irregulare* Buisman foram eliminados em 9 diferentes zonas de pilha de compostagem entre 48 e 120 horas, independentemente da localização. *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* (Nayudu) Dye foi eliminada em restos culturais de videira (*Vitis vinifera* L.) durante o processo de compostagem em 10 dias (SILVA et al., 2012).

Os isolados do complexo de espécies *R. solanacearum* têm capacidade saprofítica, apresentando sobrevivência notável em vários habitats sob circunstâncias específicas (VAN OVERBEEK et al., 2004). Sobrevivem no solo, na água e em restos culturais, em hospedeiros alternativos e em plantas invasoras como populações epifíticas ou residentes na superfície ou no interior das mesmas (COUTINHO, 2005; HAYWARD, 1991; 1994).

A sobrevivência por longo período pode estar associada com a localização ou tipo de infecção na planta (SEQUEIRA, 1993). Evidências sugerem que a fase epifítica ou residente, no ciclo de vida de isolados do complexo *R. solanacearum*, pode ser uma importante fonte de inóculo por renovar a população existente no solo (HAYWARD, 1991).

Em estudos ecológicos, mutantes de *R. solanacearum* resistentes a antibióticos têm sido empregados para avaliar a sobrevivência da bactéria no solo, em plantas e em restos de cultura (FÉLIX et al., 2012; TOYOTA; KIMURA, 1996). No entanto, para o estudo de dinâmica das populações bacterianas recomenda-se que o mutante apresente estabilidade, patogenicidade e crescimento similares ao isolado selvagem (MARIANO; McCARTER, 1991).

## **2.2. Compostagem**

### **2.2.1 Processo de compostagem**

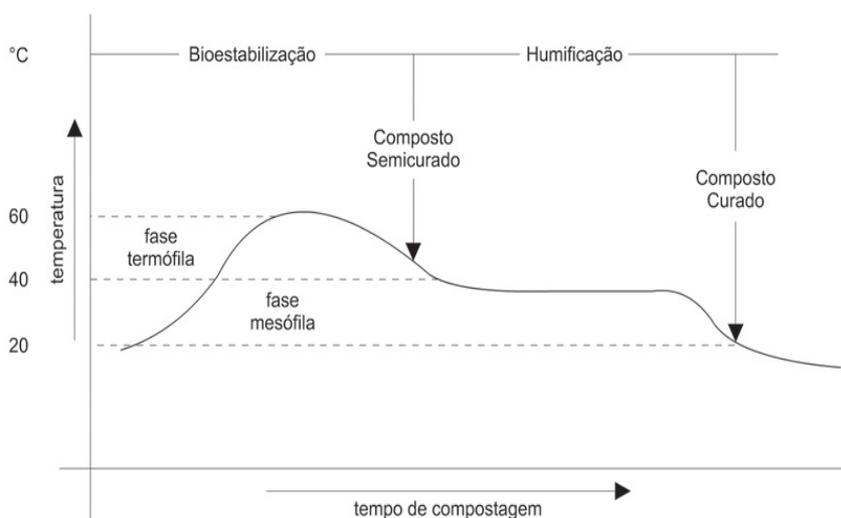
A compostagem é um processo biológico aeróbico utilizado no tratamento e na estabilização de resíduos orgânicos para produção de húmus, ou seja, o composto orgânico (PEREIRA NETO, 2011).

Em função da presença ou não de oxigênio no processo, a compostagem pode ser aeróbica ou anaeróbica. Na compostagem anaeróbica, a degradação é realizada por micro-

organismos que podem sobreviver em ambientes sem a presença de oxigênio. Esta ocorre em baixas temperaturas, com exalação de fortes odores, leva mais tempo para a matéria orgânica se estabilizar e predominam micro-organismos patogênicos e baixa qualidade do composto. Na compostagem aeróbica, mais utilizada no tratamento do lixo domiciliar, a decomposição é realizada por micro-organismos que só vivem na presença de oxigênio, favorecem a degradação e estabilização mais rápida da matéria orgânica, surgimento de micro-organismos benéficos ao processo de compostagem e maior biossegurança do composto (RUSSO, 2003).

O processo de compostagem ocorre por uma população diversificada de micro-organismos e envolve duas fases distintas, sendo a primeira de degradação ativa, denominada de bioestabilização e a segunda de maturação, também chamada de cura ou humificação (D'ALMEIDA; VILHENA, 2000) (Figura 2).

**Figura 2 - Fases gerais de degradação via compostagem dos resíduos orgânicos.**



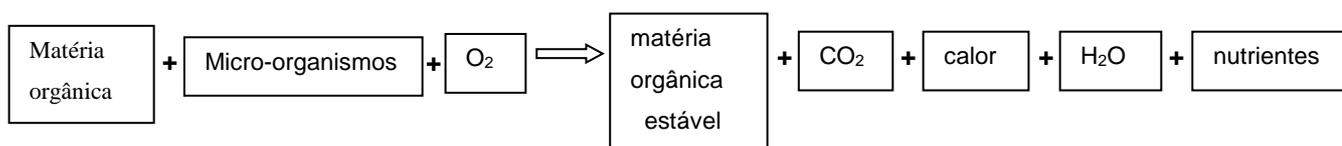
Fonte: D'Aalmeida e Vilhena (2000).

Durante a bioestabilização, nas condições mesofílicas, com duração média de dois a cinco dias, predominam temperaturas moderadas até 40°C enquanto na termofílica a matéria orgânica atinge temperaturas acima de 40°C, sendo degradada mais rapidamente. De acordo com as características do material, a compostagem, pode ter a duração de poucos dias a vários meses (FRANCISCO NETO, 1995). Durante essa fase ocorre a potencialização da atividade microbiológica, as principais transformações da matéria orgânica e a inativação de micro-organismos patogênicos, sementes de ervas daninhas, larvas, insetos e alguns parasitas, devido às temperaturas elevadas (SANCHUKI, 2011). Já na fase de maturação, na qual ocorre a humificação da matéria orgânica previamente estabilizada na primeira fase, a temperatura

do processo deve permanecer na faixa mesofílica, ou seja, menor que 45°C. Nessa fase, ocorre a produção de um composto maturado, devidamente estabilizado e humificado, livre de toxicidade (FRANCISCO NETO, 1995).

Os reagentes e produtos do processo de compostagem ocorrem no sentido direcional da matéria orgânica em reação com micro-organismos em presença de oxigênio, resultando em matéria orgânica estável, com desprendimento de gás carbônico, calor, água e nutrientes (NASCIMENTO FILHO, 2012) (Figura 3).

**Figura 3 - Esquema simplificado do processo de compostagem.**



Fonte: Nascimento Filho (2012).

Os principais componentes da matéria orgânica são carboidratos (celulose), proteínas, lipídios e lignina. A capacidade dos micro-organismos para assimilar a matéria orgânica depende da sua habilidade para produzir as enzimas necessárias para a degradação do substrato (TUOMELA et al., 2000). A decomposição da matéria orgânica através do metabolismo microbiano pela atividade de enzimas, como proteases, lipases, pectinases ou celulasas (WEI et al., 2000) chega a reduzir em até 50% o volume inicial do material compostado (GOMEZ,1998). Desta forma, a compostagem não só permite a redução na quantidade de resíduos formados, como também possibilita a continuidade do ciclo biológico devolvendo ao solo o que havia sido retirado dele durante os cultivos agrícolas (BERTOLDI, 1995; HELLMAN al., 1997; JAHNEL et al., 1999).

A eliminação de fitopatógenos que infestam restos culturais durante o processo de compostagem se deve basicamente a três fatores: (1) exposição de patógenos a altas temperaturas durante a fase termofílica (aproximadamente 55-70°C); (2) liberação de compostos fenólicos; e (3) antagonismo microbiano em zonas de temperatura sub-letal das pilhas ou durante o processo de cura (ELORRIETA et al., 2003; HOITINK; FAHY, 1986; SILVA et al., 2012; SUAREZ-ESTRELLA et al., 2007).

A compostagem é influenciada por diversos fatores, que podem denotar elevação ou comprometimento do processo.

### 2.2.2 Fatores que influenciam no processo de compostagem

Há diversos fatores que podem influenciar o processo de compostagem, tanto relativo a variáveis bióticas quanto abióticas, a exemplo de umidade, aeração, temperatura, relação C/N, pH, granulometria das partículas e microbiota. Assim, compreender melhor esta interação é relevante para ajustes processuais, elevando a eficiência e eficácia deste processo.

A umidade é um fator imprescindível e importante para que o processo de compostagem ocorra de forma eficaz. A presença de água promove o transporte de nutrientes dissolvidos no processo, necessários para as atividades fisiológicas dos micro-organismos. Para que o processo de compostagem ocorra de maneira satisfatória, o teor de umidade ideal deve variar entre 40 e 60%. Umidades superiores a 60% levam a anaerobiose, como consequência gases fétidos são gerados, além de atração de vetores e produção de chorume, que provocará lixiviação do solo, tornando o local impróprio do ponto de vista sanitário e ambiental. Por outro lado, teores de umidade menores que 40% reduzem a atividade microbiológica, a decomposição se tornará mais lenta, predominando a ação de fungos, pois as bactérias estarão pouco ativas (KIEHJ, 1998; PEREIRA NETO, 2011). O ajuste da umidade pode ser feito pela criteriosa mistura de componentes ou pela adição de água, levando-se em conta que a umidade depende da aeração satisfatória, estrutura e porosidade dos resíduos utilizados durante o processo. Caso a massa de resíduos apresente baixa umidade, é preciso adicionar água ou outro resíduo orgânico com elevado teor de umidade em quantidade e proporção compatíveis, dentro da faixa desejada de 55% (PEREIRA NETO, 2011).

Na compostagem aeróbica a presença de ar é essencial ao desenvolvimento da atividade microbiologia, pois os micro-organismos precisam de oxigênio para oxidar a matéria orgânica que serve de nutrientes (FERNANDES; SILVA, 1999). A aeração é um dos principais fatores limitantes do processo de compostagem, pois mantém as condições de aerobiose na matéria orgânica, disponibilizando o oxigênio necessário para a atividade dos micro-organismos (WEI et al. 2000). O revolvimento da matéria orgânica durante o processo de compostagem é uma atividade importante, visto que auxilia na eliminação do calor excessivo e da umidade alta, levando o oxigênio necessário para atividade microbiana na pilha (MASSUKADO, 2008; PEREIRA NETO, 1996; SYSMAKI, 2005; WEI et al., 2000). A aeração é feita conforme as características da matéria prima, por meio de ciclos de revolvimento que pode ser manual, mecânico e injeção de ar (PEREIRA NETO, 2011). O ciclo de revolvimento da compostagem deve acontecer em média duas vezes por semana. A condição ideal de aeração é estimada em torno de 5% de concentração de oxigênio, ao passo

que o insuflamento de ar recomendado nas pilhas é de 0,3 a 0,6 m<sup>3</sup>/Kg de sólidos voláteis por dia (SYMASKI, 2005).

A temperatura é um dos principais fatores que indica o equilíbrio biológico e alta eficiência do processo. Contudo, levando em consideração que a temperatura durante a compostagem é afetada por fatores como tamanho da leira, aeração, umidade e pela disponibilidade de nutrientes, entre outros, não se pode afirmar que o composto estará maduro, quando a temperatura da biomassa atingir valores próximos a temperatura ambiente (VALENTE et al., 2009). Segundo Pereira Neto (2011), o valor médio ideal de temperatura é 55°C. Temperaturas acima de 65°C devem ser evitadas por reduzirem consideravelmente a atividade microbiana responsável pela degradação da matéria orgânica, além de comprometer a qualidade final do composto (SANCHUKI, 2011). Desta forma, a eficiência da compostagem pode ser avaliada pela qualidade do composto produzido, que está diretamente relacionada ao fornecimento de condições ótimas para a multiplicação e o desenvolvimento de micro-organismos, que determina a fase em que se encontra o processo (VALENTE et al., 2009). Desta forma, a temperatura durante a compostagem deve ser monitorada para que não ocorra a morte dos micro-organismos benéficos ao processo.

Dentre os nutrientes utilizados pelos micro-organismos, dois são de relevante importância, o carbono e o nitrogênio, cuja concentração e disponibilidade biológica interferem no desenvolvimento do processo (PEREIRA NETO, 2011). O carbono é fonte básica de energia para as atividades e metabolismo dos micro-organismos. Por sua vez, o nitrogênio é elemento essencial para síntese proteica. A relação carbono/nitrogênio (C/N) satisfatória para obtenção de elevada eficiência no processo varia entre 30 a 40:1. No caso de alta relação de C/N, por exemplo, 60 ou 80:1, o tempo necessário para se atingir a maturidade do composto é elevado e a degradação da matéria orgânica se tornará mais lenta, devido à inibição do crescimento microbiano (PEREIRA NETO, 2011). A relação C/N indica a estabilidade microbiológica do composto, definindo a qualidade do produto final resultante da compostagem de resíduos orgânicos (RUSSO, 2003). No entanto, este fator não dispensa uma interpretação com base nas características iniciais do produto, constituindo melhor avaliação a análise dos valores de C/N inicial e final.

No início da compostagem, quando se inicia a decomposição do material orgânico, desenvolvem-se os micro-organismos que geram uma fermentação ácida, tornando o pH baixo, favorecendo à retenção de amônia (D'ALMEIDA; VILHENA, 2000). A faixa de pH considerada ideal para atividade dos micro-organismos responsáveis pelo processo de compostagem situa-se entre 5,5 e 8,5, uma vez que a maioria das enzimas se encontram ativas

nesta faixa de pH (RODRIGUES et al., 2006). Porém, Pereira Neto (2011) afirma que o processo de compostagem pode ser desenvolvido em uma faixa de pH entre 4,5 e 9,5, sendo que os valores extremos são automaticamente regulados pelos micro-organismos, por meio da degradação dos compostos, que produzem subprodutos ácidos ou básicos, conforme a necessidade do meio. Estas variáveis devem ser monitoradas para elevar a eficiência do processo de compostagem e denotar maior qualidade ao composto.

A granulometria ou dimensão das partículas do material a ser compostado também exerce importante influência no processo de compostagem. A degradação da matéria orgânica é realizada por micro-organismos cuja intensidade está relacionada à superfície específica do material a ser compostado, e nesse contexto, quanto menor a granulometria das partículas, maior é a área dominada pelos micro-organismos, acelerando o processo de decomposição (FERNANDES; SILVA, 1999; KIEHL, 1985). No entanto, deve-se tomar cuidado com materiais com partículas muito finas por gerarem poucos espaços porosos, que dificultam a dispersão de oxigênio no interior da pilha, favorecendo assim o surgimento de condições anaeróbicas, que são proporcionadas pela presença de uma maior quantidade de microporos, levando a uma compactação e um aumento da densidade do substrato compostado (PRIMAVESI, 1981; KIEHL, 2004). Pesquisas indicam que o tamanho ideal das partículas deve ser em torno de 1 a 5 cm (BIDONE; POVINELLI, 1999; KIEHL, 1985; PEREIRA NETO, 2011).

A microbiota é imprescindível e essencial para a eficiência do processo de compostagem, afetando diretamente a decomposição da matéria orgânica e qualidade do composto. Os principais micro-organismos responsáveis pelo processo de compostagem são as bactérias, os fungos e os actinomicetos (BIDONE; POVINELLI, 1999), encontrados naturalmente nos materiais a serem compostados (MUKHTAR et al., 2004). As bactérias têm função de degradarem compostos ricos em açúcares, proteínas e outros compostos de fácil decomposição, atuando principalmente na fase termofílica (MASSUKADO, 2008). Os fungos são responsáveis pela decomposição de compostos de difícil degradação biológica, como materiais ricos em celulose e lignina e atuam principalmente nas fases finais do processo de compostagem quando a competição com as bactérias e outros micro-organismos se torna baixa (LIMA, 1991). Os actinomicetos atuam na produção de antibióticos e reconhecida atividade na degradação de substratos recalcitrantes como a celulose e a lignina. Possuem capacidade de sobreviver em altas temperaturas, sendo mais numerosos na fase termofílica e na fase de maturação do composto (TUOMELA et al., 2000).

### 2.2.3 Métodos da compostagem

A compostagem pode ser realizada por três basicamente, o método de leiras revolvidas (*Windrow*) leiras estáticas aeradas (*Static piles*) e sistema fechado ou acelerado (*in-vessel*) (MASSUKADO, 2008).

O método da leira revolvida (*Windrow*) é montado sobre o solo (compactado ou impermeabilizado). A aeração é realizada por meio de revolvimento, manual ou mecânico e tem como objetivo aumentar a porosidade da pilha e melhorar a homogeneidade dos resíduos (MASSUKADO, 2008). É um método mais utilizado para a compostagem de resíduos sólidos domiciliares, apresentando baixo custo de investimento e manutenção e, não precisa empregar equipamentos de custo elevado e alta tecnologia (CARMICHAEL, 1999).

O método de leiras estáticas (*static piles*), as pilhas são colocadas sobre uma tubulação perfurada de 10 cm de diâmetro acoplada a um soprador ou exaustor, que injeta ou aspira o ar na massa a ser compostada. O sistema é utilizado para qualquer tipo de resíduo (MASSUKADO, 2008).

O sistema fechado ou acelerado (*in-vessel*) utiliza digestores e bioestabilizadores que além de acelerarem o processo de compostagem permitem um maior controle dos odores, uma vez que o sistema é fechado e a aeração controlada (MASSUKADO, 2008).

### 2.2.4 Qualidade do composto orgânico

Há a necessidade da utilização de um conjunto de variáveis para a avaliação e potencial utilização do composto orgânico. Em sistemas agrícolas, a utilização de composto depende da sua qualidade, principalmente do conteúdo em matéria orgânica, da maturidade, da concentração em nutrientes e da presença ou ausência de substâncias potencialmente perigosas e indesejáveis ao ambiente (BERTOLDI; GRISELLI, 1992; ZUCCON; BERTOLDI, 1981).

Durante o processo de compostagem, o monitoramento cauteloso dos fatores físico-químicos e biológicos é necessário para obtenção de um produto que apresente qualidade suficiente para atuar como condicionante do solo ou até mesmo como fertilizante orgânico (MASSUKADO, 2008). A estocagem do produto final, também é essencial para garantir essa qualidade (HECK et al., 2013).

As características da qualidade do composto dependem dos resíduos que deram origem ao processo, mesmo sofrendo influência de fatores como conteúdo e qualidade da

matéria orgânica, umidade, tamanho das partículas, concentração de N, pH, potencial de patógenos e condutividade (RODRIGUES, 2004).

De acordo com Queda (1999), se os materiais compostados não tiverem qualidade, o produto final será afetado. De fato, se uma biomassa apresentar, por exemplo, metais pesados, o teor destes não diminuirá com este tratamento. Assim, para obter bons compostos, deve-se partir de biomassas putrescíveis com qualidade. A compostagem é mais do que um tratamento de resíduos, é uma forma de obtenção de produtos, cuja qualidade final nunca deverá ser esquecida. Caso seja vista apenas como um tratamento, corre-se o risco de obter produtos que irão causar sérios problemas na aplicação aos solos, problemas esses que nem sempre são imediatamente detectados (MASSUKADO, 2008).

O composto orgânico, quando proveniente de um correto processo de compostagem, geralmente é rico em nutrientes essenciais ao crescimento das plantas, que são assimilados pelas raízes em maior quantidade, além de micronutrientes que são absorvidos em quantidades menores. Quanto mais diversificados os materiais com os quais o composto é feito, maior é a variedade de nutrientes ali existentes (CAMPBELL, 1999).

Do ponto de vista ambiental, a compostagem apresenta muitas vantagens, tais como: reciclagem da matéria orgânica, redução da emissão do gás metano e da geração de lixiviado no solo, aumento da vida útil dos aterros sanitários, e uma disposição adequada dos resíduos (MASSUKADO, 2008). No âmbito econômico, as principais vantagens da compostagem são o aproveitamento agrícola da matéria orgânica, a reciclagem de nutrientes para o solo reduzindo os custos da produção agrícola, a economia de tratamento de efluentes e como consequência, as reduções nos investimentos para a instalação dos aterros sanitários causados pela diminuição da quantidade de resíduos sólidos.

### **3. MATERIAIS E MÉTODOS**

#### **3.1 Obtenção do mutante de *Ralstonia pseudosolanacearum* resistente ao antibiótico rifampicina**

Mutante espontâneo foi obtido a partir de um isolado proveniente da cultura do jiló, (*Solanum gilo* L.) denominado CRMRS74, já identificado molecularmente como *R. pseudosolanacearum*, pertencente à Coleção de Culturas Rosa Mariano do Laboratório de Fitobacteriologia da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE). A partir de cultura pura com 36-48 horas, foi preparada uma suspensão bacteriana em água destilada esterilizada (ADE) com concentração ajustada em fotocolorímetro (*Analyser*) para  $A_{570} = 0,54$  que corresponde a  $5 \times 10^9$  UFC.mL<sup>-1</sup>. Em seguida, foi realizado o plaqueamento de 0,1 mL da suspensão em meio NYDA (dextrose 10, extrato de carne 3, extrato de levedura 5, peptona 5 e ágar 18 g.L<sup>-1</sup> de água) acrescido de 50 ppm de rifampicina. As placas foram mantidas em incubadora tipo B.O.D. (Biochemistry Oxygen Demand) a 28°C durante 48-72 horas e a partir de uma colônia resistente a 50 ppm foi obtido, pelo mesmo método, um mutante resistente a 100 ppm de rifampicina, denominado CRMRS74<sup>Rif</sup>. Para testar a estabilidade do mutante foram feitas repicagens para meio NYDA com e sem antibiótico, alternadamente por 10 vezes (ASSIS et al., 1996).

O isolado mutante CRMRS74<sup>Rif</sup> foi comparado ao selvagem CRMRS74 quanto ao crescimento em meio líquido e patogenicidade. Aos tubos de ensaio contendo 9 mL de meio NYD (NYDA sem ágar) foi adicionado 1 mL da suspensão bacteriana na concentração de  $5 \times 10^9$  UFC.mL<sup>-1</sup>. Os tubos foram incubados em B.O.D a 28°C e o crescimento foi avaliado após os intervalos temporais de 0, 24, 48, 72, 96 e 120 horas pela variação na densidade ótica da cultura em meio líquido, com auxílio de fotocolorímetro ajustado para 570nm, com cinco repetições para cada intervalo (SILVA et al., 2006).

Para comparar a patogenicidade dos isolados mutante e selvagem, sementes de tomate TY2006 foram semeadas em bandeja de poliestireno contendo uma mistura de solo e húmus (3:1, v:v) e após 20 dias as plântulas foram transplantadas para copos de 500 mL contendo o mesmo substrato. As plantas com 30 dias foram inoculadas por ferimento do sistema radicular, fazendo-se com auxílio de um bisturi corte semicircular no solo perto do caule da planta, no qual foram depositados 20 mL da suspensão bacteriana ( $5 \times 10^9$  UFC.mL<sup>-1</sup>). As testemunhas foram tratadas similarmente com água destilada. As plantas foram mantidas em casa de vegetação, irrigadas por subirrigação e avaliadas durante 15 dias quanto ao aparecimento dos sintomas de murcha.

### **3.2 Preparação das pilhas de compostagem**

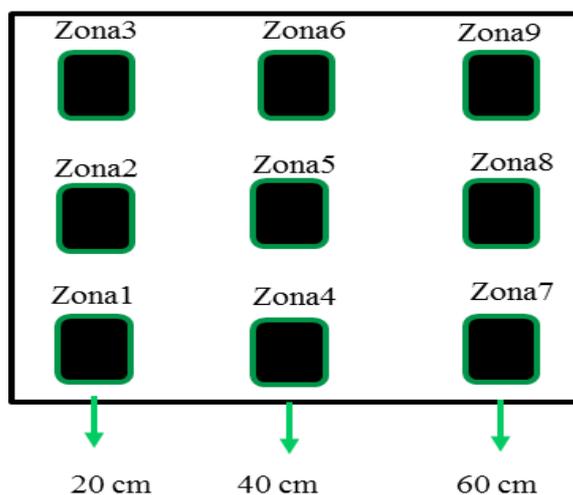
Restos culturais de tomateiro e capim elefante foram triturados com um auxílio de uma forrageira e misturados. Após esse processo, três pilhas de compostagem foram

montadas na horta experimental do Departamento de Agronomia/Área de Fitotecnia-UFRPE ao ar livre, utilizando-se os restos culturais e esterco de ovino na proporção de 3:1 (v:v) em uma armação removível de madeira e tela de arame com dimensão de  $1 \times 1,25 \times 0,70$  m. As pilhas ficaram com um volume total de  $0,87 \text{ m}^3$ . Todas as pilhas foram molhadas duas vezes ao dia por 30 minutos com um sistema de microaspersão.

### 3.3 Sobrevivência de *Ralstonia pseudosolanacearum* durante a compostagem

Em casa de vegetação, mudas de tomateiro com aproximadamente 30 dias foram inoculadas por ferimento do sistema radicular com uma suspensão de CRMRS74<sup>Rif</sup> ( $5 \times 10^9 \text{ UFC.mL}^{-1}$ ). Após 15 dias, todas as plantas com sintomas foram fragmentadas. Da mistura destes tecidos infectados, 10 g foram pesados, acondicionados em bolsas de malha plástica (abertura de  $1 \times 1$  mm) medindo  $15 \times 20$  cm, as quais foram fechadas com máquina de costura. Nove bolsas foram depositadas em cada pilha, no momento da montagem, sendo três localizadas a 20 (zonas 1, 2 e 3), três a 40 (zonas 4, 5 e 6) e três a 60 cm de altura (zonas 7, 8 e 9) em relação a superfície do solo (Figura 4). Vale a pena salientar que em cada altura as bolsas foram dispostas uma no centro da pilha e duas nas bordas.

Figura 4- Distribuição das zonas dentro das pilhas.



A temperatura nas pilhas de compostagem foi monitorada a cada dois dias, durante todo o processo, em todos os nove pontos onde se encontravam as bolsas, utilizando-se de termômetro de mercúrio acoplado a uma haste de metal, que permitiu sua introdução no interior das pilhas. Os revolvimentos foram feitos aos 10, 20 e 30 dias de compostagem, quando então foram realizadas as avaliações da sobrevivência de CRMRS74<sup>Rif</sup>. Antes disso, 1

g de restos culturais infectados foi avaliado no momento de ser colocado na pilha de compostagem para determinar o tempo zero (T0) de sobrevivência da bactéria.

Para avaliar o efeito da compostagem na sobrevivência de *R. pseudosolanacearum* CRMRS74<sup>Rif</sup> três bolsas plásticas foram retiradas de cada pilha de diferentes profundidades, levadas ao laboratório e pesado 1 g de tecido, o qual foi macerado em almofariz com auxílio de pistilo. Após a maceração, as amostras foram colocadas em tubos com tampa de rosca contendo 9 mL de ADE, sendo agitadas manualmente. Em condições assépticas foram realizadas diluições até 10<sup>-8</sup>, plaqueando-se 100µL de cada suspensão em meio NYDA acrescido de rifampicina e do fungicida cicloheximida. Após a contagem de colônias foi calculado o número de UFC.g<sup>-1</sup> de tecido infectado.

A compostagem foi avaliada até a completa estabilização. Ao final do processo, foram retiradas, de diferentes pontos de cada pilha, cinco sub-amostras de material compostado, as quais, misturadas em sacos plásticos, formaram três amostras com aproximadamente 500 g. Estas amostras do composto foram utilizadas para quantificação de compostos fenólicos totais, análises microbiológicas e de qualidade do composto.

### **3.4 Quantificação de bactérias totais e detecção de antagonistas a *Ralstonia pseudosolanacearum* presentes nas pilhas de compostagem**

Na análise bacteriológica, 1 g do composto foi adicionado a 9 mL de ADE em tubo de ensaio, submetido a agitação em vórtex (Phoenix AP 56) e filtrado em condições assépticas em papel de filtro esterilizado. Os filtrados foram submetidos a diluições em série até 10<sup>-14</sup> e 100 µL de todas as diluições foram plaqueadas em triplicata em meio NYDA para isolamento de bactérias totais, e no meio diferencial B de King (KMB) (peptona 20, glicerol 10, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 1,5, MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O 1,5 e ágar 18 g.L<sup>-1</sup> de água) para isolamento de *Pseudomonas* do grupo fluorescente. Aos meios fundentes, antes de verter nas placas, foi adicionado 1 mL da suspensão de CRMRS74<sup>Rif</sup> (5 x 10<sup>9</sup> UFC.mL<sup>-1</sup>). As placas foram incubadas a 28°C e após 48 horas foi realizada a avaliação daquelas referentes à diluição 10<sup>-14</sup>, que possibilitou a observação de colônias isoladas, sendo realizada a quantificação e verificação de halos de inibição. As bactérias que inibiram o crescimento do patógeno foram repicadas, purificadas, preservadas em ADE e novamente testadas quanto a atividade antagônica a *R. pseudosolanacearum*.

### **3.5 Quantificação de fungos totais e detecção de antagonistas a *Ralstonia pseudosolanacearum* presentes nas pilhas de compostagem**

Para o isolamento dos fungos totais, 25 g de composto seco foram adicionados a 250 mL de ADE, agitados mecanicamente durante 30 minutos, transferindo-se 10 mL desta suspensão para 90 mL de água, seguindo-se diluição seriada até  $10^{-8}$ . De cada diluição, 500  $\mu$ L foram plaqueados em meio extrato de malte-ágar (EMA) (extrato de malte 15, maltose 13, peptona 1, dextrose 3,  $K_2HPO_4$  1,  $NH_4Cl$  0,5 e ágar 20  $g.L^{-1}$  de água) com adição de 250 ppm de tetraciclina e em meio de Martin (glicose 10, peptona 5,  $KH_2PO_4$  1,  $MgSO_4.7H_2O$  0,5, estreptomicina 0,03, rosa de bengala 10 e ágar 23  $g.L^{-1}$  de água) para isolamento de *Trichoderma*. As placas foram incubadas a 28°C, durante 5 dias, quando as colônias fúngicas obtidas foram repicadas para meio batata-dextrose-ágar (BDA) (dextrose 20, batata 200, ágar 20  $g.L^{-1}$ ), obtendo-se as culturas puras. Para o teste de antagonismo, os fungos obtidos foram cultivados em 100 mL de meio líquido BD (BDA sem ágar), por 10 dias, quando o crescimento foi filtrado em gaze esterilizada, centrifugado duas vezes a 10.000 rpm por 15 minutos, filtrado em filtro Millipore® de 0,22  $\mu$ m e secado em liofilizador. Os filtrados liofilizados foram ressuspensos em 100  $\mu$ L de água, e 40  $\mu$ L das suspensões foram impregnados em discos de papel de filtro para teste de antibiose contra CRMRS74<sup>Rif</sup> (MARIANO et al., 2005). Os fungos que produziram metabólitos tóxicos e inibiram o crescimento bacteriano foram preservados em ADE e identificados com base nas estruturas microscópicas.

### **3.6 Quantificação de actinomicetos totais e detecção de antagonistas a *Ralstonia pseudosolanacearum* presentes nas pilhas de compostagem**

Para o isolamento dos actinomicetos totais, 10 g de composto seco foram adicionados a 90 mL de água peptona a 1%, agitados mecanicamente durante 30 minutos, seguindo-se a diluição seriada até  $10^{-8}$ . De cada diluição, 100  $\mu$ L foram plaqueados em meio de amido-caseína-ágar modificado (ACAM) (amido 10, caseína 0,3,  $KNO_3$  2,  $K_2HPO_4$  2,  $NaCl$  2,  $MgSO_4.7H_2O$  0,5,  $CaCO_3$  0,02,  $FeSO_4.7H_2O$  0,01, ágar 20, propionato de sódio 2 e cicloheximida 1  $g.L^{-1}$  de água). As placas foram incubadas a 28°C, durante 10 dias, quando as colônias de actinomicetos obtidas foram repicadas para meio ACAM, obtendo-se as culturas puras. Para o teste de antagonismo utilizou-se o método da sobrecamada, conforme descrito por Filho et al. (2009), em que 0,1 mL da suspensão de propágulos do actinomiceto foram depositados no centro da superfície de placas de Petri contendo meio NYDA, seguindo-se incubação a 28°C, por 120 horas. As colônias de actinomicetos foram então mortas por exposição à luz ultravioleta (254 nm) por 20 minutos. Em seguida, verteu-se uma sobrecamada de meio NYDA semi-sólido fundente (48°C) contendo  $5 \times 10^8$  UFC.mL<sup>-1</sup> de

CRMRS74<sup>Rif</sup>. As placas foram incubadas a 28°C, e após 48 horas foi realizada a verificação da presença de halos de inibição. Os actinomicetos que inibiram o crescimento do patógeno foram isolados, purificados e preservados.

### **3.7 Quantificação de compostos fenólicos totais**

A quantificação dos compostos fenólicos totais foi realizada após fracionamento de 500 g da amostra composta, conforme Reicher et al. (1981). Em cada fração, 15 g do composto foram pesados e adicionados a aproximadamente 50 mL de cada líquido extrator: metanol p.a., metanol:água (1:1, v/v) e água, respectivamente, para extração de fenóis dímeros, oligoméricos e poliméricos. Na extração dos fenóis poliméricos, as amostras foram colocadas em banho-maria a 60°C, por 15 minutos. No caso dos dímeros e oligoméricos, o material foi submetido a refluxo em chapa elétrica por 15 minutos. Após a extração, as amostras foram agitadas em mesa agitadora (Nova técnica NT-145) e filtradas em papel de filtro. O filtrado foi evaporado também em chapa elétrica até o volume de aproximadamente 5 mL e diluído em água em balão volumétrico de 50 mL. Alíquotas de 15 mL foram utilizadas para a quantificação dos compostos fenólicos totais. As leituras foram realizadas em espectrofotômetro a um comprimento de onda de 720 nm. Os resultados foram expressos em g/100g de matéria fresca, correspondendo à soma dos fenóis dímeros, oligoméricos e poliméricos.

### **3.8 Análises da qualidade do composto orgânico**

As análises de pH, matéria orgânica, carbono (C), relação carbono/nitrogênio (C/N), capacidade de troca catiônica (CTC), relação CTC/C, macro nitrogênio (N), fósforo (P), potássio (K), sódio (Na), cálcio (Ca), magnésio (Mg); micronutrientes: zinco (Zn), cobre (Cu), ferro (Fe), manganês (Mn); e análise microbiológica (coliformes totais, *Escherichia coli* Escherich e *Salmonella* spp. Lignieres) foram realizadas no Laboratório da empresa LABFERT- Fertilidade do Solo & Meio Ambiente (Recife, Pernambuco). As análises de coliformes termotolerantes, ovos de helmintos viáveis e umidade foram realizadas pelo Laboratório de Qualidade da Lógica Ambiental (Recife, Pernambuco).

As análises de pH, umidade e macro e micronutrientes foram realizadas conforme a metodologia da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA, 2009), enquanto que as análises de matéria orgânica, carbono, relação C/N, CTC, CTC/C e macro e

micronutrientes seguiram a metodologia do Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento do Brasil (MAPA, 2014). As análises microbiológicas foram obtidas pela metodologia de SMEWW 9223B (2012) para coliformes totais e *E. coli*, e pelo método do MAPA Instrução Normativa IN nº 62/2003 (BRASIL, 2003) para *Salmonella* spp.

Os fatores químicos e físico-químicos analisados no composto orgânico produzido foram comparados aos valores estabelecidos pelo MAPA (IN nº 25/2009), para caracterizar a qualidade agrônômica de fertilizantes orgânicos (BRASIL, 2009). Os fatores microbiológicos foram comparados aos valores estabelecidos pela Instrução Normativa nº 27/2006 do MAPA (BRASIL, 2006).

### **3.9 Análises estatísticas**

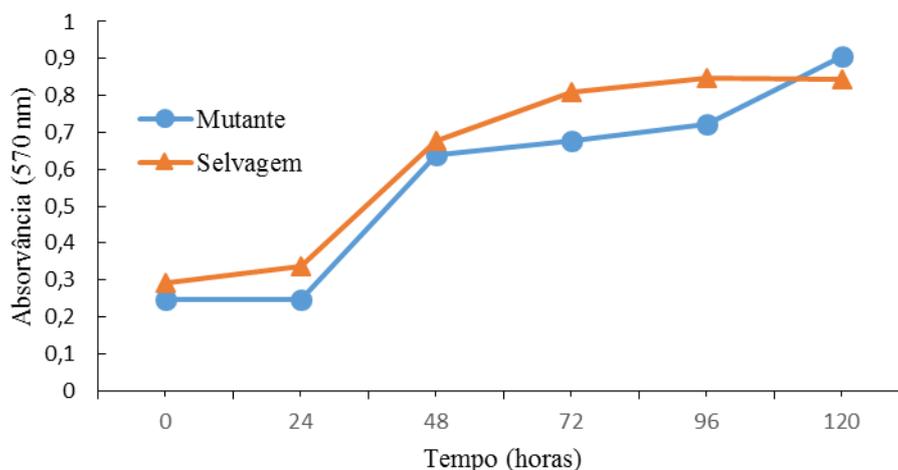
O delineamento estatístico foi em blocos ao acaso, onde cada tratamento foi constituído por três repetições sendo cada repetição constituída por uma bolsa. Foram realizados os testes Levene e Shapiro-Wilk para verificar se os dados atendiam os pressupostos da ANOVA. As médias foram comparadas pelo teste LSD ao nível de 5% de probabilidade. As análises estatísticas foram realizadas com auxílio do programa *Statistix for Windows*<sup>®</sup> (Versão 9.0, *Analytical Software Tallahassee*).

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Obtenção do mutante de *Ralstonia pseudosolanacearum* resistente ao antibiótico rifampicina

Obteve-se um mutante espontâneo CRMRS74<sup>Rif</sup> de *R. pseudosolanacearum* resistente a 100 ppm do antibiótico rifampicina, estável quanto a resistência, apresentando crescimento em meio NYD (Figura 5) e patogenicidade a plantas de tomateiro semelhantes ao isolado selvagem CRMRS74. Comportamentos similares entre isolados mutantes e selvagens já foram observados em outras espécies bacterianas, a exemplo dos mutantes Aac1<sup>Rif</sup> de *Acidovorax citrulli* (SILVA et al., 2006), A1-9<sup>Rif</sup> de *R. solanacearum* (FÉLIX et al., 2012) e Xcv2<sup>Rif</sup> de *X. campestris* pv. *viticola* (SILVA et al., 2012).

**Figura 5 - Crescimento dos isolados selvagem CRMRS74 e mutante CRMRS74<sup>Rif</sup> de *R. pseudosolanacearum* em meio de cultura NYD.**



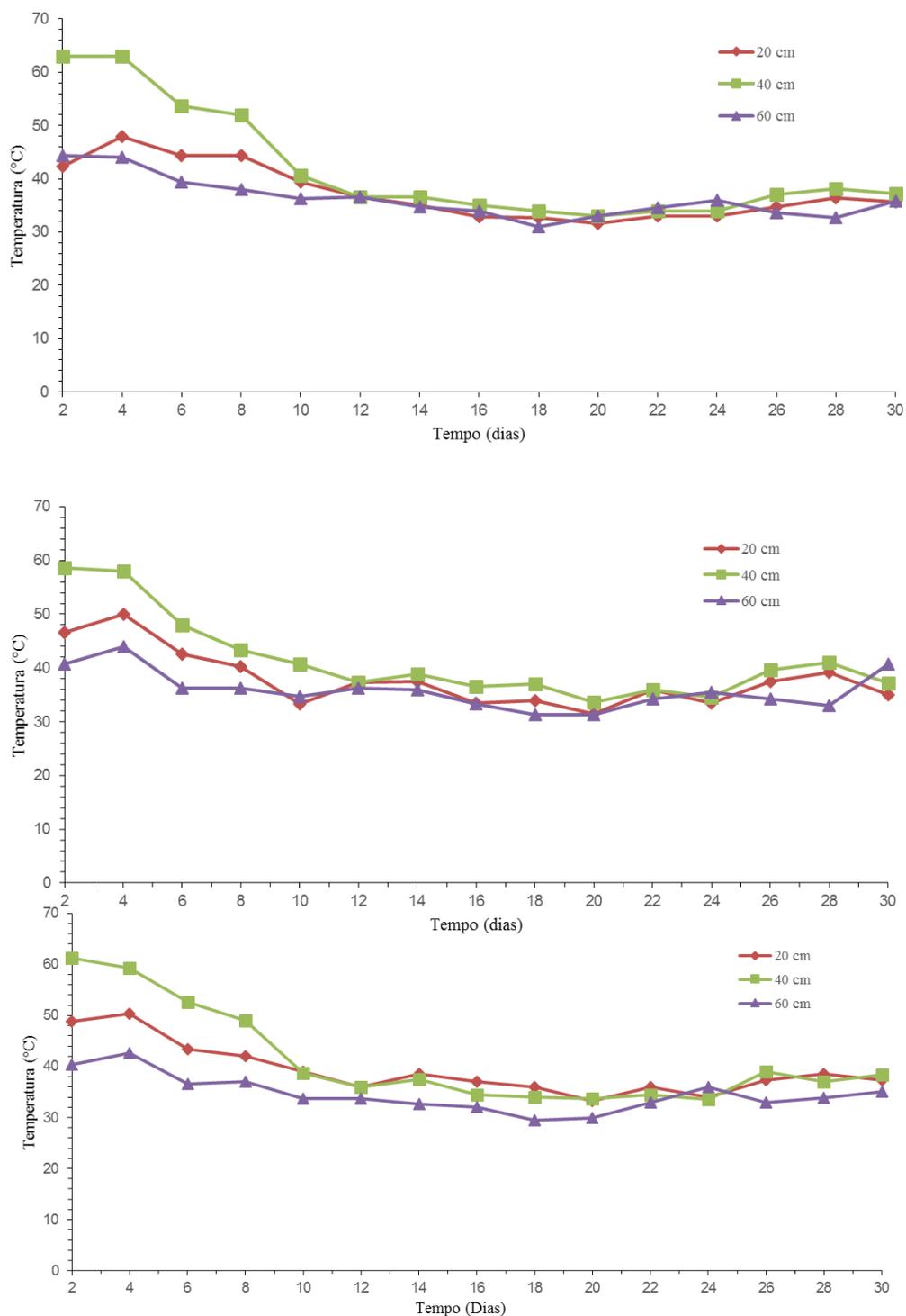
Embora existam evidências de que o método de marcação por resistência a antibióticos para o estudo da dinâmica das populações bacterianas pode afetar a biologia dos organismos (SCHROTH, 1992), Marcano e Trujillo (1984) comprovaram a importância da utilização de isolados mutantes em estudos de sobrevivência, pois não conseguiram recuperar isolados selvagens de *X. campestris* pv. *manihotis* (Bondar) Vauterin et al., devido a problemas de contaminação. Essa ferramenta tem sido utilizada com sucesso em estudos ecológicos de diversas bactérias fitopatogênicas (FELIX et al., 2012; OLIVEIRA et al., 2008; SILVA et al. 2012).

### 4.2 Sobrevivência de *Ralstonia pseudosolanacearum* nas pilhas de compostagem

A população inicial média da bactéria fitopatogênica no tecido vegetal infectado foi de  $3,49 \times 10^{11}$  UFC/g de tecido. No entanto, na primeira avaliação realizada aos 10 dias o mutante CRMRS74<sup>Rif</sup> não foi recuperado em meio de cultura, indicando que já havia sido eliminado do material infectado. As altas temperaturas geradas na pilha durante a fase termofílica (em média 50°C) podem ter sido um dos fatores pelos quais a bactéria não tenha sobrevivido por mais tempo no material infectado. As curvas de temperatura média nas três pilhas de compostagem mostraram que a fase termofílica teve duração média de quatro dias e que o composto foi estabilizado com 30 dias (Figura 5). A temperatura é fator importante, sobretudo no que diz respeito à rapidez do processo de biodegradação e a eliminação de patógenos, sendo também um indicativo da ação biológica que reflete a eficiência do processo (PRIMO et al., 2010).

A rápida eliminação de bactérias fitopatogênicas durante o processo de compostagem foi evidenciada em vários estudos. Elorrieta et al. (2003) observaram que as bactérias *P. carotovorum* subsp. *carotovorum*, *X. campestris* pv. *vesicatoria* e *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* foram extintas em menos de três dias de compostagem de uma mistura de restos de cultura de pimentão, feijão e melão, e que as mesmas apresentaram baixa resistência a altas temperaturas. Entretanto, *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* e *P. syringae* pv. *syringae* foram eliminadas da pilha de compostagem entre 2 e 5 dias (SUÁREZ-ESTRELLA et al., 2007). Na compostagem de restos de podas de videira, a bactéria *X. campestris* pv. *viticola* foi eliminada em 10 dias (SILVA et al., 2012). Além dos exemplos acima citados, as altas temperaturas durante o processo de compostagem eliminaram de restos culturais infectados os Oomicetos fitopatogênicos *Phytophthora cryptogea* Pethybridge e Lafferty, *P. irregulare* Buisman e *Pythium ultimum* Trow e os fungos *Botrytis ali* Munn, *Sclerotium cepivorum* Berk, *Didymella lycopersici* Kleb e *Rhizoctonia solani* Kuhn, entre outros (NOBLE; ROBERTS, 2004; SUÁREZ-ESTRELLA et al., 2007).

**Figura 6. Curvas de temperaturas médias em três pilhas de compostagem (A, B e C), aos 20, 40 e 60 cm em relação a superfície do solo.**



Não houve diferença significativa nas temperaturas entre as zonas dentro de uma mesma altura nas pilhas de compostagem pelo teste LSD de separação de médias ao nível 5% de

probabilidade (Tabela 1), com exceção da zona 4 que diferiu significativamente da zona 5 na altura de 40 cm.

**Tabela1 - Temperaturas médias das pilhas de compostagem nas diferentes zonas a 20, 40 e 60 cm de altura.**

20 cm de altura		40 cm altura		60 cm de altura	
Tratamento	Temperatura (°C)	Tratamento	Temperatura (°C)	Tratamento	Temperatura (°C)
Zona 1	40,38 a <sup>1</sup>	Zona 4	41,88 b	Zona 7	35,79 a
Zona2	39,14 a	Zona 5	44,53 a	Zona 8	36,72 a
Zona 3	38,55 a	Zona 6	42,50 ab	Zona 9	35,77 a
CV (%)	2,41	CV (%)	2,87	CV (%)	2,91

<sup>1</sup> Médias seguidas da mesma letra em cada profundidade não diferem significativamente entre si pelo teste LSD ao nível de 5% de probabilidade.

Por outro lado, foi observada diferença significativa nas temperaturas entre as alturas. A altura de 40 cm foi a que apresentou as maiores temperaturas médias, seguida pelas alturas 20 cm e 60 cm (Tabela 2). Contudo, *R. pseudosolanacearum* foi eliminada aos 10 dias nas nove diferentes zonas da pilha de compostagem, independentemente da localização. Corroborando com os resultados da presente pesquisa, Suárez-Estrella et al. (2007) observaram a eliminação de bactérias e fungos em nove diferentes zonas das pilhas de compostagem de restos culturais vegetais e resíduos de poda, independentemente da localização. Além disto, em duas zonas que não diferiram com relação às altas temperaturas (43,7 e 45,4°C) foram constatadas diferenças nos valores de persistência dos patógenos, confirmando que a eliminação de patógenos de plantas pode estar associada a outros fatores como a atividade microbiana e a quantidade de compostos fenólicos liberados durante o processo de compostagem.

**Tabela 2 - Temperaturas médias em diferentes alturas de três pilhas de compostagem**

Altura	Temperatura (°C)
40 cm	42,97 a <sup>1</sup>
20 cm	39,35 b
60 cm	36,10 c
CV (%)	2,75

<sup>1</sup> Médias seguidas da mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste LSD ao nível de 5% de probabilidade.

Os resultados obtidos permitem afirmar que restos de cultura de tomateiro, mesmo de plantas infectadas, podem ser utilizados como matéria prima para produção de composto orgânico, uma vez que *R. pseudosolanacearum* foi rapidamente eliminada dos tecidos de tomateiro. O processo de compostagem constitui uma maneira viável e segura de manejar estes resíduos em plantios, sem perigo de sobrevivência do patógeno e sem que haja a perda de uma importante fonte de matéria orgânica para a agricultura.

#### **4.3 Quantificação de bactérias totais e detecção de antagonistas a *Ralstonia pseudosolanacearum* presentes nas pilhas de compostagem**

As bactérias totais foram quantificadas em elevadas populações no composto com 30 dias, variando de  $7,0 \times 10^{12}$  a  $2,0 \times 10^{16}$  UFC.g<sup>-1</sup> de composto, em níveis superiores aos detectados em outros estudos. Chandna et al. (2013) avaliaram a população bacteriana da compostagem de produtos agrícolas e verificaram que os níveis populacionais variaram de  $10^5$  a  $10^6$  UFC/g de composto durante a fase de estabilização e maturação. Em um composto de lodo de esgoto e resíduos verdes analisado em 10 diferentes tempos de compostagem (4, 18, 31, 40, 57, 67, 84, 114, 128 e 146 dias), foram observadas populações de bactérias totais variando de  $1,0$  a  $2,7 \times 10^8$  UFC.g<sup>-1</sup> de composto (HASSEN et al. 2001; SIDHU et al., 2002).

*Pseudomonas* do grupo fluorescente foram as bactérias prevalentes na população de bactérias totais, com valores populacionais variando entre  $8,58 \times 10^6$  a  $4,0 \times 10^7$  UFC.g<sup>-1</sup> de composto. Níveis populacionais similares de *Pseudomonas* do grupo fluorescente foram quantificados em frações de resíduos sólidos urbanos, variando de  $5,3$  a  $9,0 \times 10^6$  UFC.g<sup>-1</sup> de composto (ZACCARDELLI et al., 2013). Em geral, a literatura tem reportado que várias espécies de *Pseudomonas* tais como *P. fluorescens* (Flügge) Migula, *P. putida* Trevisan e *P. aeruginosa* Schroeter, isoladas a partir de tecidos de plantas ou solo, são potenciais agentes de biocontrole para bactérias e fungos fitopatogênicos (MAVRODI et al., 2012).

Dentre a população de bactérias totais obtidas das pilhas de compostagem, 62 isolados apresentaram atividade antagonista a *R. pseudosolanacearum* CRMRS74<sup>Rif</sup>, detectada através da formação de halo de inibição do crescimento bacteriano. No entanto, apenas 33 isolados mantiveram o antagonismo em novo teste realizado *in vitro* (Tabela 3).

**Tabela 3. Atividade antagonista de isolados bacterianos presentes nas pilhas de compostagem a *Ralstonia pseudosolanacearum*.**

Isolado	Halo de inibição <sup>1</sup>	Isolado	Halo de inibição	Isolado	Halo de inibição
CRMCO1	+	CRMCO22	+	CRMCO43	-
CRMCO2	+	CRMCO23	-	CRMCO44	+
CRMCO3	-	CRMCO24	+	CRMCO45	-
CRMCO4	-	CRMCO25	+	CRMCO46	-
CRMCO5	+	CRMCO26	-	CRMCO47	-
CRMCO6	-	CRMCO27	+	CRMCO48	-
CRMCO7	-	CRMCO28	-	CRMCO49	+
CRMCO8	+	CRMCO29	+	CRMCO50	+
CRMCO9	-	CRMCO30	+	CRMCO51	+
CRMCO10	-	CRMCO31	-	CRMCO52	+
CRMCO11	+	CRMCO32	+	CRMCO53	+
CRMCO12	+	CRMCO33	-	CRMCO54	+
CRMCO13	+	CRMCO34	-	CRMCO55	-
CRMCO14	+	CRMCO35	-	CRMCO56	-
CRMCO15	+	CRMCO36	-	CRMCO57	-
CRMCO16	+	CRMCO37	+	CRMCO58	+
CRMCO17	+	CRMCO38	+	CRMCO59	-
CRMCO18	-	CRMCO39	-	CRMCO60	+
CRMCO19	+	CRMCO40	-	CRMCO61	+
CRMCO20	+	CRMCO41	+	CRMCO62	-
CRMCO21	-	CRMCO42	-	-	-

<sup>1</sup> Presença (+) ou ausência (-) de halo de inibição do crescimento bacteriano.

Elorrieta et al. (2003) conseguiram obter da compostagem de restos de cultura de pimentão, feijão e melão seis isolados bacterianos que produziram metabólitos tóxicos a fitobactérias, dos quais apenas um isolado inibiu o crescimento de *P. carotovorum* subsp *carotovorum*, cinco inibiram o crescimento de *X. campestris* pv. *vesicatoria* e quatro foram antagonistas a *P. syringae* pv. *syringae*. Em outro estudo, 300 diferentes isolados bacterianos de resíduos agro-industriais compostados foram avaliados contra quatro patógenos fúngicos e um Oomiceto, sendo que 25 isolados foram antagonistas a todos os cinco patógenos, enquanto sete isolados inibiram somente o crescimento de *Fusarium* spp., três inibiram *Fusarium* e *Rhizoctonia* spp., cinco inibiram *Phytophthora* e *Rhizoctonia* spp. e dois inibiram

*Phytophthora* spp. (KAVROULAKIS et al., 2010). Suárez- Estrella et al. (2013) detectaram em três pilhas diferentes de compostagem de lodo de esgoto, restos de tomateiro e resíduos sólidos urbanos, 76 isolados bacterianos com potencial antagonista, dos quais nove foram antagonísticos a *X. campestris* e 23 isolados inibiram *F. oxysporum* f. sp. *Melonis* Schlecht.

#### 4.4 Quantificação de fungos totais e detecção de antagonistas a *Ralstonia pseudosolanacearum* presentes nas pilhas de compostagem

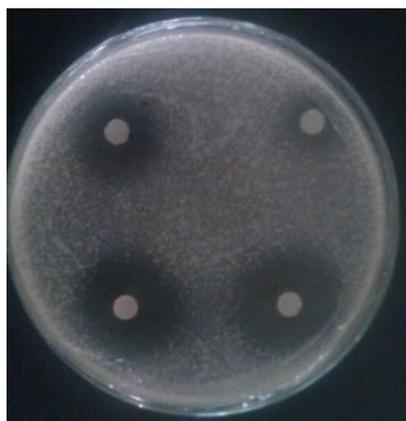
Os fungos totais foram quantificados em níveis populacionais que variaram de  $3,2 \times 10^2$  a  $1,2 \times 10^3$  UFC.g<sup>-1</sup> de composto. Com base nas estruturas morfológicas, foram identificados 40 isolados ao nível de gênero: *Aspergillus* spp. (14) Micheli, *Cladosporium* spp. (2) Fries, *Curvularia* spp. (3) Boedijn, *Fusarium* spp. (14) Link, *Paecilomyces* spp. (3) Samson e *Trichoderma* spp. (3) Persoon, e também o Oomiceto *Pythium* sp. (1) Pringsheim (Tabela 4). Várias espécies de *Penicillium* Link, *Trichoderma*, *Aspergillus*, e outros gêneros de fungos podem ser encontrados como agentes de biocontrole em substrato adicionado em composto orgânico (HOITINK; BOEHM, 1999; SUÁREZ-ESTRELLA et al., 2007).

**Tabela 4 - Gêneros fúngicos e Oomicetos presentes nas pilhas de compostagem.**

Código do Isolado	Gênero	Código do Isolado	Gênero
COF1	<i>Pythium</i>	COF21	<i>Paecilomyces</i>
COF2	<i>Aspergillus</i>	COF22	<i>Aspergillus</i>
COF3	<i>Fusarium</i>	COF23	<i>Fusarium</i>
COF4	<i>Fusarium</i>	COF25	<i>Fusarium</i>
COF5	<i>Fusarium</i>	COF26	<i>Paecilomyces</i>
COF6	<i>Cladosporium</i>	COF27	<i>Trichoderma</i>
COF7	<i>Aspergillus</i>	COF28	<i>Cladosporium</i>
COF8	<i>Aspergillus</i>	COF29	<i>Curvularia</i>
COF9	<i>Fusarium</i>	COF30	<i>Fusarium</i>
COF10	<i>Paecilomyces</i>	COF31	<i>Fusarium</i>
COF11	<i>Aspergillus</i>	COF32	<i>Trichoderma</i>
COF12	<i>Trichoderma</i>	COF33	<i>Fusarium</i>
COF13	<i>Aspergillus</i>	COF34	<i>Fusarium</i>
COF14	<i>Aspergillus</i>	COF35	<i>Fusarium</i>
COF15	<i>Aspergillus</i>	COF36	<i>Aspergillus</i>
COF16	<i>Fusarium</i>	COF37	<i>Curvularia</i>
COF17	<i>Aspergillus</i>	COF38	<i>Aspergillus</i>
COF18	<i>Curvularia</i>	COF39	<i>Aspergillus</i>
COF19	<i>Aspergillus</i>	COF41	<i>Fusarium</i>
COF20	<i>Aspergillus</i>	COF42	<i>Fusarium</i>

Os 40 fungos identificados foram utilizados no teste de antagonismo a *R. pseudosolanacearum* CRMRS74<sup>Rif</sup>. Nove isolados produziram metabólitos tóxicos e inibiram o crescimento bacteriano (Figura 6), com halos variando de 15 a 27 mm (Tabela 5). Estes isolados antagonistas pertencem aos gêneros *Aspergillus* e *Paecilomyces*. Espécies desses gêneros são citadas na literatura com atividade antagônica a bactérias fitopatogênicas e patogênica a seres humanos. *A. fumigatus* Fresenius obtido do composto de restos culturais de videira produziu metabólitos tóxicos capazes de inibir *X. campestris* pv. *viticola* (SILVA et al., 2012), enquanto isolados de *A. niger* Van Tieghem, endofíticos de plantas tóxicas da Amazônia, inibiram *Bacillus* sp., *B. subtilis* Cohn, *Staphylococcus aureus* Rosenbach e *E. coli* (SOUZA et al., 2004). Suárez-Estrella et al. (2013) verificaram que um isolado de *P. variotti* Bainier obtido da compostagem de três pilhas de lodo de esgoto, restos culturais de tomateiro e resíduos sólidos municipais foi capaz de inibir a bactéria *X. campestris* e o fungo *F. oxysporum* f. sp. *melonis*. Vários trabalhos em condições de laboratório e campo relataram a importância de *Paecilomyces* como agente de biocontrole de nematóides e fungos (AL-QASIM et al., 2009; ANIS et al., 2010; PERVEEN; SHAHZAD, 2013).

**Figura 7- Inibição do crescimento de *R. pseudosolanacearum* por metabólitos tóxicos produzido por fungos dos gêneros *Aspergillus* e *Paecilomyces* obtidos de composto, evidenciada pela presença de halo.**



**Tabela 5 - Atividade antagônica de isolados fúngicos presentes nas pilhas de compostagem a *Ralstonia pseudosolanacearum*.**

<b>Código do Isolado</b>	<b>Gênero</b>	<b>Halo de inibição (mm)</b>
COF2	<i>Aspergillus</i>	27
COF10	<i>Aspergillus</i>	20
COF12	<i>Paecylomices</i>	16
COF16	<i>Aspergillus</i>	15
COF25	<i>Aspergillus</i>	19
COF32	<i>Aspergillus</i>	22
COF37	<i>Paecylomices</i>	19
COF38	<i>Aspergillus</i>	15
COF39	<i>Aspergillus</i>	23

#### **4.5 Quantificação de actinomicetos totais e detecção de antagonistas a *Ralstonia pseudosolanacearum* presentes nas pilhas de compostagem**

A população total de actinomicetos no composto variou de 3,8 a 9,5 x 10<sup>4</sup> UFC.g<sup>-1</sup> de composto. Rebolledo et al. (2008) quantificaram a população total de actinomicetos em frações de resíduos sólidos urbanos, e verificaram níveis populacionais variando de 2,0 a 4,4 x 10<sup>6</sup> UFC.g<sup>-1</sup> de composto. Os actinomicetos são um dos principais grupos de micro-organismos responsáveis pela conversão da matéria orgânica durante a fase termofílica e final da compostagem. Suportam altas temperaturas, degradam compostos orgânicos recalcitrantes, tais como lignocelulose, e eliminam micro-organismos patogênicos e alergênicos (CHOPRA, 2004). Além disso, competem com outros micro-organismos por nutrientes e podem inibir o crescimento microbiano devido à produção de antibióticos, enzimas líticas ou mesmo pelo parasitismo (REBOLLITO et al., 2008).

Com base em características culturais foram selecionados 33 isolados de actinomicetos (Tabela 6), dos quais, quatro produziram metabólitos tóxicos contra *R. pseudosolanacearum* CRMRS74<sup>Rif</sup>, com halos de inibição variando de 22 a 33 mm. Suárez-Estrella et al. (2013), observaram que 25 isolados de actinomicetos obtidos de compostos agro-industriais inibiram o crescimento de *F. oxysporum* f. sp. *melonis* enquanto que apenas quatro foram antagonistas a *X. campestris*. Dentre um total de 137 isolados de actinomicetos obtidos de vermicompostagem, 79 potenciais antagonistas a *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goidanich foram detectados, cujos mecanismos de ação podem ser devido a produção de enzimas hidrolíticas ou metabólitos tóxicos (GOPALAKRISHNAN et al., 2011).

**Tabela 6 - Atividade antagônica de actinomicetos presentes nas pilhas de compostagem a *R. pseudosolanacearum*.**

Isolado	Halo de inibição <sup>1</sup>	Isolado	Halo de inibição
CRMCO63	-	CRMCO18	-
CRMCO2	-	CRMCO19	-
CRMCO3	-	CRMCO20	-
CRMCO4	+ (22 mm)	CRMCO21	-
CRMCO5	-	CRMCO22	-
CRMCO6	-	CRMCO23	-
CRMCO7	-	CRMCO24	-
CRMCO8	-	CRMCO25	-
CRMCO9	-	CRMCO26	-
CRMCO10	-	CRMCO27	-
CRMCO11	-	CRMCO28	-
CRMCO12	+ (23 mm)	CRMCO29	-
CRMCO13	-	CRMCO30	-
CRMCO14	-	CRMCO31	-
CRMCO15	-	CRMCO32	+ (30 mm)
CRMCO16	-	CRMCO33	+ (33 mim)
CRMCO17	-		

<sup>1</sup> Presença (+) ou ausência (-) de halo de inibição do crescimento bacteriano.

Isolados de bactérias, fungos e actinomicetos, presentes nas pilhas de compostagem formada de restos culturais de tomateiro e capim elefante e de esterco de ovino, apresentaram atividade antagônica contra *R. pseudosolanacearum* CRMRS74<sup>Rif</sup> e, provavelmente, junto com as altas temperaturas evidenciadas no início do processo de compostagem podem ter sido responsáveis pela rápida eliminação da bactéria fitopatogênica do composto.

#### 4.6. Quantificação de compostos fenólicos totais

Compostos fenólicos totais foram encontrados nas pilhas de compostagem em uma concentração média de 0,0065%. Essa concentração é considerada baixa em relação à obtida em outros estudos, a exemplo da compostagem de restos culturais de videira (0,013%) (SILVA et al., 2012). Compostos fenólicos, também referidos como polifenóis, são considerados antioxidantes naturais e representam um importante grupo de compostos bioativos, estando presentes em todas as plantas, mas o seu tipo e níveis variam enormemente, dependendo da espécie, dos fatores genéticos e das condições ambientais (KRIS-ETHERTON et al., 2002). Estes compostos, mesmo em baixas concentrações, são capazes de erradicar

microrganismos, pois Elorrieta et al. (2003) verificaram que 0,01% de vários compostos fenólicos purificados foram suficientes para inibir o crescimento de *X. campestris* pv. *vesicatoria*, *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* e *P. syringae* pv. *syringae*. Provavelmente, os compostos fenólicos atuaram na eliminação de *R. pseudosolanacearum* do composto.

#### 4.7 Determinação da qualidade do composto orgânico

Os valores determinados para pH, C, N, Ca e Fe no composto foram superiores aos estabelecidos como limites mínimos pela legislação existente, IN n° 25/2009 do MAPA (BRASIL, 2009), para uso e comercialização de composto orgânico (Tabela 7). Já o valor de 17,61% de C/N foi inferior ao máximo estabelecido pela IN n° 25/2009, e também satisfatório. O fator umidade (54%) excedeu o limite estabelecido de 50%, porém, Pereira Neto (2011) recomenda um valor ideal de umidade do composto orgânico em torno de 55%.

**Tabela 7- Sistematização dos resultados da análise do composto para teor de pH, umidade, C, N, relação C/N, matéria orgânica, CTC, CTC/C, macro e micronutrientes e valores limites estabelecidos pela legislação IN 25/2009.**

Variável	Composto	Limite (IN 25/2009)
pH	6,9	mínimo 6,0
Umidade (%)	54	máximo 50%
C (%)	20,56	mínimo 15 %
N (%)	1,17	mínimo 0,5
C/N	17,61	máximo 20/1
MO	35,44	conforme declarado
CTC (cmolc/kg)	443,5	conforme declarado
CTC/C	21, 57	conforme declarado
P (%)	0,47	conforme declarado
K (%)	0,47	conforme declarado
Na (%)	0,03	conforme declarado
Ca (%)	1,45	mínimo 1%
Mg (%)	0,25	mínimo 1%
Zn (%)	0,011	mínimo 0,1 %
Cu (%)	0,0071	mínimo 0,05%
Fe (%)	0,31	mínimo 0,2 %
Mn (%)	0,015	mínimo 0,05%

Para os teores de MO, CTC, CTC/C, K, P e Na não existe um limite mínimo estabelecido. Destacou-se a elevada concentração de CTC (443,5 cmolc.kg<sup>-1</sup>) no composto, que foi superior a indicada por Pereira Neto (2011), onde a CTC de um composto orgânico pode variar de 100 a 300 cmolc.kg<sup>-1</sup>. A CTC é responsável pela retenção de nutrientes,

favorecendo a absorção destes pelas plantas (MATOS, 2006). Em resíduos orgânicos, a CTC origina-se e tem seu valor aumentado com a decomposição do material, sendo utilizada para monitoramento e comprovação de maturação desses resíduos. O aumento no valor da CTC dos resíduos é o resultado da formação de substâncias húmicas com a decomposição do material orgânico (MONACO et al., 2013).

Os nutrientes Mg, Zn, Cu e Mn foram detectados em valores abaixo dos limites mínimos estabelecidos pela IN 25/2009 para composto orgânico. Tal fato possivelmente deve estar relacionado ao conteúdo destes nutrientes no resíduo de tomateiro utilizado. Segundo Embrapa (2003) os níveis adequados de Mg, Zn, Cu e Mn em plantas de tomateiro devem ser respectivamente, 0,6; 0,007; 0,001 e 0,040%.

O número mais provável (NMP) de coliformes totais, coliformes termotolerantes, *E. coli*, *Salmonella* sp. e ovos de helmintos viáveis obtidos do composto (Tabela 8) estão conforme os limites estabelecidos pela IN n° 27/2006.

**Tabela 8- Análise de micro-organismos patogênicos presentes no composto.**

Variável	Composto	IN 27/2006
Coliformes totais (NMP/g de MS)	$1,3 \times 10^4$	–
Coliformes termotolerantes (NMP/g de MS)	$1 \times 10^3$	$1 \times 10^3$
<i>Escherichia coli</i> (NMP/g de MS)	$1,76 \times 10^1$	$1 \times 10^3$
<i>Salmonella</i> sp. (NMP/g de MS)	Ausente	Ausente em 10 g
Ovos de helmintos (NMP/g de MS)	Ausente	1,00

A eliminação de micro-organismos patogênicos tem sido confirmada na compostagem de vários resíduos orgânicos, tais como: composto de esterco de ave poedeira (SANTOS et al., 2010); lodo de curtume (ARAÚJO et al., 2008); resíduos sólidos domiciliares (MASSUKADO, 2008); e resíduos orgânicos domiciliares, poda vegetal e lodo de esgoto (HECK et al., 2013). O sucesso na eliminação de micro-organismos patogênicos durante o processo de compostagem depende de altas temperaturas e do tempo de exposição do material a essas temperaturas (ARTHUSON, 2008). Temperaturas acima de 55°C são responsáveis pela eliminação de micro-organismos patogênicos no processo de compostagem (HASSEN et al., 2001; SANTOS et al., 2010). No presente estudo, verificou-se altas temperaturas na fase termofílica (em média 60°C), o que ocasionou a eliminação ou diminuição da população de patógenos humanos.

A qualidade do composto atendeu a legislação vigente, o que indica não haver restrições no seu uso em relação à possibilidade de causar impacto negativo no ambiente;

assim, as análises dos resultados comprovam que o composto de tomateiro pode ser utilizado para fins agrícolas.

## 5. CONCLUSÕES

- Composto orgânico estabilizado foi obtido de restos de tomateiro, capim elefante e esterco de ovino em 30 dias;
- O processo de compostagem foi capaz de eliminar *Ralstonia pseudosolanacearum* de tecidos infectados de tomateiro em 10 dias;
- Bactérias, fungos e actinomicetos foram detectados em alta população no composto, predominando as bactérias *Pseudomonas* do grupo fluorescente e identificados fungos dos gêneros *Aspergillus* spp., *Cladosporium* spp., *Curvularia* spp., *Fusarium* spp., *Paecilomyces* spp. e *Trichoderma* spp., e também o Oomiceto *Pythium* sp.;
- No composto estavam presentes bactérias (33 isolados), fungos (nove isolados) e actinomicetos (quatro isolados) com atividade antagônica a *R. pseudosolanacearum*;
- Compostos fenólicos foram encontrados no composto;
- As altas temperaturas geradas nas pilhas durante a fase termofílica, a presença de microorganismos antagonistas e compostos fenólicos foram responsáveis pela rápida eliminação de *R. pseudosolanacearum* do composto;
- Os fatores físicos, físico-químicos e microbiológicos analisados atenderam aos limites estabelecidos pelo Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento do Brasil, atestando a boa qualidade do composto orgânico para uso em sistemas agrícolas.

## REFERÊNCIAS

- AGRIANUAL: **Anuário da agricultura brasileira**. São Paulo: FNP Consultoria, 2013. 546 p.
- ALBUQUERQUE, G. M. R.; SANTOS, L.A.; FELIX, K. C. S.; ROLLEMBERG, C. L.; SILVA, A. M. F.; SOUZA, E. B.; CELLIER, G.; PRIOR, P.; MARIANO, R. L. R. Moko Disease-Causing Strains of *Ralstonia solanacearum* from Brazil Extend Known Diversity in Paraphyletic Phylotype II. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 104, n.11, p. 1175-82, 2014.
- AL-QASIM, M.; ABU-GHARBIEH, W.; ASSAS, K. Nematophagal ability of Jordanian isolates of *Paecilomyces variotii* on the root-knot nematode *Meloidogyne javanica*. **Nematologia Mediterrânea**, Bari, v. 37, n.1, p. 53-57, 2009.
- ALVARENGA, M. A. R. Cultivares. In: \_\_\_\_\_. (Ed.). **Tomate: produção em campo, em casa-de-vegetação e em hidroponia**. Lavras: UFLA, 2004a. p. 37-49.
- ALVARENGA, M. A. R. Origem, botânica e descrição da planta. In: \_\_\_\_\_. (Ed.). **Tomate: produção em campo, em casa-de-vegetação e em hidroponia**. Lavras: UFLA, 2004b. p. 14-23.
- ANIS, M.; ABBASI, M.W.; ZAKI, M. J. Bioefficacy of microbial antagonists against *Macrophomina phaseolina* on sunflower. **Pakistan Journal of Botany**, Pakistan, v. 42, n. 4, p. 2935-40, 2010.
- ARAÚJO, F. F.; TIRITAN, C. S.; PEREIRA, H. M.; CAETANO JÚNIOR, O. Desenvolvimento do milho e fertilidade do solo após aplicação de lodo de curtume e fosforita. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 12, n. 5, p. 507-11, 2008.
- ARTHURSON, V. Proper sanitization of sewage sludge: A critical issue for a sustainable society. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 74, n. 17, p. 5267-75, 2008.
- ASSIS, S. M. P.; MARIANO, R. L. R.; MICHEREFF, S. J.; COELHO, R. S. B. Survival and redistribution of *Bacillus* spp., potencial biocontrol agent of black rot, on kale phylloplane. In: WEHUA, T.; COOK, R. J.; ROVIRA, A. (Eds). **Advances in Biological control of Plant Disease**. Beijing: China Agricultural University Press. 1996. p.374-379.
- BERTOLDI, M. Composting food processing waste in the european economic community. **Compost Science and Utilization**, Emmaus, v. 3, n. 2, p. 87-92, 1995.

BERTOLDI, M.; GRISELLI, V. M. C. **Microbial populations in the compost process** In: Composting the staff of compost Science and land utilization. New York: J. G. Press, Emmaus Pam, 1992. 26p.

BIDONE, F. R. A.; POVINELLI, J. **Conceitos Básicos de Resíduos Sólidos**. São Carlos: EESS/USP, 1999. 120 p.

BOLLEN, G. J. The fate of plant pathogens during composting of crop residues. In: GRASSER, J. K. R. (Ed.). **Composting of Agricultural and Other Wastes**. London: Elsevier, 1985. p. 282-90.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n° 62, de 26 de agosto de 2003. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 26 de agosto de 2003. Seção 1, p.14.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n° 27, de 05 de junho de 2006. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 09 de junho de 2006. Seção 1, p.15.

BRASIL Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n° 25, de 23 de julho de 2009. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 28 de julho de 2009. Seção 1, p.15.

BUSTAMANTE, M. A.; MORAL, R.; PAREDES, C.; VARGAS-GARCÍA, M. C.; SUÁREZ-ESTRELLA, F.; MORENO, J. Evolution of the pathogen content during co-composting of winery and distillery wastes. **Bioresource Technology**, Essex, v. 99, n. 15, p.7299-7306, 2008.

CAMPBELL, S. T. U. **Manual de compostagem para hortas e jardins**: como aproveitar bem o lixo orgânico doméstico; tradução de Marcelo Jahnel. São Paulo: Nobel, 1999. 144 p.

CARMICHAEL, C. J. **Economic and social aspects of food waste composting alternatives for New York State Communities**. 1999. Thesis (Master of Science Degree). College of Environmental Science and Forestry, State University of New York. Syracuse, NY. 147 p.

CHANDNA, P.; NAIN, L.; SINGH, S.; KUHA R. C. Assessment of bacterial diversity during composting of agricultural byproducts. **BMC Microbiology**, London, v. 13, n. 99, p.1-14, 2013.

CHENG, S. S.; CHU, E. Y. **Tomicultura em gramado, na região do Trópico Úmido Brasileiro**. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 1999. 28 p. (Circular Técnica, 3).

CHOPRA, S. **Quantification and composition audit of waste generated at the early morning market in Vientiane, Lao PDR**. 2004. 104 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil) - Universidade de Toronto, Toronto.

COUTINHO, T. A. Introduction and prospectus on the survival of *Ralstonia solanacearum*. In: ALLEN, C.; PRIOR, P.; HAYWARD, A. C. (Eds.). **Bacterial wilt disease and the *Ralstonia solanacearum* species complex**. Saint Paul: APS Press, 2005. p. 29-38.

D'ALMEIDA, M. L. O.; VILHENA, A. (Coords.). **Lixo municipal**: manual de gerenciamento integrado. 2ª ed. São Paulo: IPT/CEMPRE, 2000. 370 p.

DE BOER, S. H. Survival of phytopathogenic bacteria. In: MOUNT, M. S.; LACY, G. H. (Eds.). **Phytopathogenic Prokaryotes**. New York: Academic Press, 1982. p. 285-306.

ELORRIETA, M. A.; SUÁREZ-ESTRELLA, F.; LÓPEZ, M. J.; VARGAS-GARCÍA, M. C.; MORENO, J. Survival of phytopathogenic bacteria during waste composting. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, Amsterdam, v. 96, n. 1, p. 141-46, 2003.

EMBRAPA - Embrapa Solos. **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**. Brasília, DF: Embrapa Informação tecnológica, 2009. 627 p.

FAYOLLE, L.; NOBLE, R.; COVENTRY, E.; AIME, S.; ALABOUVETTE, C. Eradication of *Plasmodiophora brassicae* during composting of waste. **Plant Pathology**, Oxford, v. 55, n. 6, p. 553-58, 2006.

FEGAN, M.; PRIOR, P. How complex is the *Ralstonia solanacearum* species complex? In: ALLEN, C.; PRIOR, P.; HAYWARD, A. C. **Bacterial wilt disease and the *Ralstonia solanacearum* species complex**. Saint Paul: APS Press, 2005. p. 449-61.

FELIX, K. C. S.; SOUZA, E. B.; MICHEREFF, S. J.; MARIANO, R. L. R. Survival of *Ralstonia solanacearum* in infected tissues of *Capsicum annuum* and in soils of the state of Pernambuco, Brazil. **Phytoparasitica**, Bet Dagan, v. 40, n. 1, p.53-62, 2012.

FERNADES, F.; SILVA, S. M. C. P. **Manual prático para compostagem de biossólidos**. 1ª ed. Rio de Janeiro: ABES, 1999. 84 p.

FRANCISCO NETO, J. **Manual de horticultura ecológica**: guia de auto-suficiência em pequenos espaços. São Paulo: Nobel, 1995. p. 57-76.

GARCIA, A. L.; LIMA, W. G.; SOUZA, E. B.; MICHEREFF, S. J.; MARIANO, R. L. R. Characterization of *Ralstonia solanacearum* causing bacterial wilt bell pepper in the state of Pernambuco, Brazil. **Journal of Plant Pathology**, Bari, v. 95, n. 2, p. 237-45, 2013.

GILBERTSON, R. L.; RAND, R. E.; HAGEDORN, D. J. Survival of *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* and pectolytic strains of *X. campestris* in bean debris. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 74, n. 4, p. 322-27, 1990.

GOMEZ, A. The evaluation of compost quality. **Trends in analytical chemistry**, Amsterdam, v. 17, n. 5 p. 310-14, 1998.

GOPALAKRISHNAN, S.; KIRAN, B. K.; HUMAYUN, P.; VIDYA, M. S.; DEEPTHI, K.; JACOB, S.; VADLAMUDI, S.; ALEKHYA, G.; RUPELA, O. Biocontrol of charcoal-rot of sorghum by actinomycetes isolated from herbal vermicompost. **African Journal of Biotechnology**, Nairobi, v. 10, n.79, p. 18142-52, 2011.

HAYWARD, A. C. Biology and epidemiology of bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum*. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 29, n. 1, p. 65-87, 1991.

HAYWARD, A. C. The hosts of *Pseudomonas solanacearum*. In: HAYWARD, A. C.; HARTMAN, G. L. (Eds.). **Bacterial wilt - the disease and its causative agent, *Pseudomonas solanacearum***. Wallingford: CAB International, 1994. p. 9-24.

HASSEN, A.; BELGUTH, K.; JEDIDI, N.; CHERIF, A.; CHERIF, M.; BOUDABOUS, A. Microbial characterization during composting of municipal solid waste. **Bioresource Technology**, Amsterdam, v. 80, n. 3, p. 217-25, 2001.

HECK, K.; MARCO, E. G.; HAHN, A. A. H.; KLUGE, M.; SPILKI, F. R.; SAND, S. T. V. D. Temperatura de degradação de resíduos em processo de compostagem e qualidade microbiológica do composto final. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 17, n. 1, p. 54-59, 2013.

HELLMAN, B.; ZELLES, L; PALOJAVI, A; BAI, Q. Emission of climate relevant trace gases and succession of microbial communities during open windrow composting. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 63, n. 3, p. 1011-18, 1997.

HOITINK, H.A.J. HERR, L. J.; SCHMITTHENNER, A. F. Survival of some plant pathogens during composting of hardwood tree bark. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 66, n.12 p.1369-72, 1976.

HOITINK, H. A. J.; FAHY, P. C. Basis for the control of soil-borne plant pathogens with composts. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 24, n. 1, p.93-114, 1986.

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

IBGE-INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Levantamento sistêmico de produção agrícola**. Rio de Janeiro, 2015. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br>>. Acesso em: 12 jun. 2015.

JAHNEL, M. C.; MELLONI, R.; CARDOSO, E. J. B. Maturidade de composto de lixo urbano. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 56, n. 2, p. 301-4, 1999.

JURADO, M. M.; SUÁREZ-ESTRELLA, F.; VARGAS-GARCÍA, M. C.; LÓPEZ, M. J.; LÓPEZ-GONZÁLEZ, J. A.; MORENO, J. Evolution of enzymatic activities and carbon fractions throughout composting of plant waste. **Journal of Environmental Management**, London, v. 133, n. 15, p. 355-64, 2014.

KAVROULAKIS, N.; NTOUGIAS, S.; BESI, M. I.; KATSOU, P.; DAMASKINO, A.; EHALIOTIS, C.; ZERVAKIS, G. I.; PAPADOPOULOU, K. K. Antagonistic bacteria of composted agro-industrial residues exhibit antibiosis against soil-borne fungal plant pathogens and protection of tomato plants from *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici*. **Plant and Soil**, Holanda, v. 333, n.1, p. 233-47, 2010.

KELMAN, A. The bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum*: A literature review and bibliography. **Agricultural Experiment Technical Bulletin**, North Carolina, 1953. 194 p.

KHAMFOROUSH, M.; BIJAN-MANESH, M. J.; HATAMI, T. Application of the Haug model for process design of petroleum hydrocarbon-contaminated soil bioremediation by composting process. **International Journal of Environmental Science and Technology**, Tehran, v.10, n. 3, p. 533-44, 2013.

KIEHL, E. J. **Manual de Compostagem: Maturação e Qualidade do Composto**. Piracicaba: E. J. KIEHL, 1998. 180 p.

KIEHL, E. J. **Manual de compostagem: Maturação e Qualidade do composto**. 4<sup>a</sup> ed. Piracicaba: E. J. Kiehl, 2004. 173 p.

KIEHL, E.J. **Fertilizantes Orgânicos**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1985. 429p.

KRIS-ETHERTON, P. M.; HECKER, K. D.; BONANOME, A.; COVAL, S. M.; BINKOSKI, A. E.; HILPERT, K. F.; GRIEL, A. E.; ETHERTON T. D. Bioactive compounds in foods: their role in the prevention of cardiovascular disease and cancer. **The American Journal of Medicine**, New York, v. 113, p. 71-88, 2002.

LEBEN, C. How plant-pathogenic bacteria survive. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 65, n. 8, p. 633-37, 1981.

LIMA, L. M. Q. **Tratamento de lixo**. 2<sup>a</sup> ed. São Paulo: Hemus, 1991. 242p.

LOPES, C. A.; QUEZADO-SOARES, A. M.; MELO, P. E. Differential resistance of tomato cultivars to biovars I e III of *Pseudomonas solanacearum*. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 78, n. 11, p. 1091-94, 1994.

LOPES, C. A.; ÁVILA, A. C. **Doenças do tomateiro**. Embrapa Hortaliças, Brasília. 2005. 152 p.

LOPES, C. A.; BOITEUX, L. S.; ESCHEMBACK, V. Eficácia relativa de porta-enxertos comerciais de tomateiro no controle da murcha-bacteriana. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 33, n. 1, p. 125-30, 2015.

LOPES, C. A.; DUVAL, A. M. Q. Epidemiologia e controle das bacterioses das hortaliças. In: ZAMBOLIM, L.; LOPES, C. A.; PICANÇO, M. C.; COSTA, H. (Eds). **Manejo integrado de doenças e pragas: hortaliças**. Viçosa: Editora UFV, 2007. 502 p.

LOPES, C. A.; QUEZADO-SOARES, A. M. **Doenças bacterianas das hortaliças: diagnose e controle**. Brasília: Embrapa - CNPH, 2001. 72 p.

LOPES, C. A.; ROSSATO, M. **Diagnóstico de *Ralstonia solanacearum* em tomateiro**. Brasília, DF: Embrapa Hortaliças, 2013. 10 p. (Comunicado técnico, 92). Disponível em: <<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/84927/1/cot-92.pdf>>. Acesso em: 14 jun. 2015.

- LU, A. L.; KUMAR, M., TSAI, J. C.; LIN, J. G. High-rate composting of barley dregs with sewage sludge in a pilot scale bioreactor. **Bioresource Technology**, Essex, v. 99, n. 7, p. 2210-17, 2008.
- MALAVOLTA Jr., V. A.; BERIAM, L. O. S.; ALMEIDA, I. M. G.; RODRIGUES NETO, J.; ROBBS, C. F. Bactérias fitopatogênicas no Brasil: uma atualização. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 34 (suplemento especial), p. 1-88, 2008.
- MAVRODI, O. V., WALTER, N., ELATEEK, S., TAYLOR, C. G., OKUBARA, P. A. Suppression of *Rhizoctonia Pythium* root rot of wheat by new strains of *Pseudomonas*. **Biological Control**, Orlando, v. 62, n. 2, p. 93-102, 2012.
- MARIANO, R. L. R.; MACARTER, S. M. Epiphytic survival of *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* on tomato and weeds. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 16, n. 2, p. 86-91, 1991.
- MARIANO, R. L. R.; MELO, R. A. G.; HOLANDA, V. T.; CABRAL, G. B.; SILVA, M. S. S. G. Levantamento das fitobacterioses do estado de Pernambuco no biênio 1987-1988. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 14, n. 2, p. 158, 1989.
- MARIANO, R. L. R.; GOMES, A. M. A.; ASSIS, S. M. P.; SILVEIRA, E. B. Mecanismos de ação de bactérias promotoras de crescimento de plantas. In: MARIANO, R. L. R.; SILVEIRA, E. B. **Manual de práticas em fitobacteriologia**. Recife: UFRPE, 2005. p. 143-158.
- MARCANO, M.; TRUJILLO, G. Perpetuación de la bacteria *Xanthomonas campestris* pv. *manihotis* (Berthet y Bonder) Dye. en el suelo através de restos de cosecha. **Agronomia Tropical**, Maracay, v. 34, n. 1, p. 7-19, 1984.
- MARQUES, A. S. A.; ROBBS, C. F.; BOITEUX, L. S.; PARENTE, P. M. G. **Índice de fitobacterioses assinaladas no Brasil**. Brasília: Embrapa-SPI, 1994. 65 p.
- MAPA-Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Manual de métodos analíticos oficiais para fertilizantes e corretivos**. Brasília: MAPA, 2014. 150 p.
- MATOS, A. T. **Tratamento e aproveitamento agrícola de resíduos sólidos**. Editora UFV: Viçosa, 2006. 119 p. (Série Caderno Didático, 37)
- MASSUKADO, L. M. **Desenvolvimento do processo de compostagem em unidade descentralizada e proposta de software livre para o gerenciamento municipal dos resíduos sólidos domiciliares**. 2008. 204 f. Tese (Doutorado em Ciências da Engenharia Ambiental) - Escola de Engenharia Ambiental de São Carlos da Universidade de São Paulo, São Carlos.
- MEHAN, V. K.; LIAO, B. S.; TAN, Y. J.; ROBINSON-SMITH, A.; McDONALD, D.; HAYWARD, A. C. **Bacterial wilt of Groundnut**. Patancheru: Internacional Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics, 1994. 28 p. (Boletim Informativo, 35).
- MONACO, P. A. V. L.; PAIVA, E. C. R.; MATOS, A. T.; FERRES, G. C.; RIBEIRO, I. C. A. Avaliação da relação c/n e da qualidade do composto produzido em leiras de

Compostagem de carcaça e diferentes camadas de criatório de frangos. **Engenharia na Agricultura**, Viçosa, v. 21 n. 6, p. 563-73, 2013.

MUKHTAR, S.; KALBASI, A.; AHMED, A. **Carcass Disposal**: A Comprehensive Review. Kansas State University: Manhattan, 2004. 717 p.

NASCIMENTO FILHO, A. J. **Preceitos para a compostagem numa perspectiva empresarial, o caso SEBRAE-Recife**. 2012. 73 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Ambiental) - Instituto de Tecnologia de Pernambuco, Recife.

NOBLE, R.; ROBERTS, S. J. Eradication of plant pathogens and nematodes during composting: a review, **Plant Pathology**, Oxford, v. 53, n. 5, p. 548-68, 2004.

OLIVEIRA, A. **Colonização de *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* em meloeiro e sobrevivência em restos de cultura e no solo**. 2008. 72 f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Pernambuco- Recife.

PEREIRA NETO, J. T. **Tratamento e destinação de resíduos provenientes de empreendimentos agrícolas**. Viçosa: ABEAS, 1996. 77 p.

PEREIRA NETO, J. T. **Manual de Compostagem**: processo de baixo custo. Editora UFV: Viçosa, 2011. 81 p.

PEREIRA CARVALHO, R. C. P.; RESENDE, R. O.; DUVAL, A. Q.; COSTA, H.; LOPES, C. A.; BOITEUX, L. S.; LIMA, M. F.; PINHEIRO, J. B.; SOUZA, C. A. **Doenças do Tomate**. Sociedade Brasileira de Fitopatologia (SBF), 2014. Disponível em: <<http://www.agronomiacassilandia.uems.br/admin/arquivos/Doencas%20do%20tomate.pdf>>. Acesso em: 18 jun. 2015.

PERVEEN, Z.; SHAHZAD, S. A comparative study of the efficacy of *Paecilomyces* species against root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. **Pakistan Journal of Nematology**, Pakistan, v. 31, n. 2, p.125-31, 2013.

PRIMO, D. C.; FADIGAS, F. S.; CARVALHO, J. C. R.; SCHMIDT, C. D. S.; BORGES FILHO, A. C. S. Avaliação da qualidade nutricional de composto orgânico produzido com resíduos de fumo. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 14, n. 7, p.742-46, 2010.

QUEDA, A. C. F. C. **Dinâmica do azoto durante a compostagem de materiais biológicos putrescíveis**. 1999. 257 f. Tese (Doutorado em Engenharia Agro-Industrial) - Instituto Superior de Agronomia, Universidade Técnica de Lisboa, Portugal.

RAO, A. V. Lycopene, tomatoes, and the prevention of coronary heart disease. **The Journal of Experimental Biology**, Cambridge, v. 227, n. 10, p. 908-13, 2002.

REBOLLIDO, R.; MARTÍNEZ, J.; AGUILERA, Y.; MELCHOR, K.; KOERNER, I.; STEGMANN R. Microbial populations during composting process of organic fraction of municipal solid waste. **Applied Ecology and Environmental Research**, Budapest, v. 6, n. 3, p. 61-67, 2008.

REICHER, F.; SIERAKOWSKI, M. R.; CORREA, J. B. C. Determinação espectrofotométrica de taninos pelo reativo, fosfotúngstico-fosfomolibdico. **Arquivos de Biologia e Tecnologia**, Curitiba, v. 24, n. 4, p.401-11, 1981.

RODRIGUES, M. S. Resíduos orgânicos como matéria prima para a compostagem. In: I SICOM- Simpósio sobre compostagem – Ciência e Tecnologia, Botucatu. 4. 2004. **Anais...** Botucatu: Universidade Estadual Paulista, 2004. p. 1-27.

RODRIGUES, M. S.; SILVA, F. C.; BARREIRA, L. P.; KOVACS, A. Compostagem: reciclagem de resíduos sólidos orgânicos. In: SPADOTTO, C. A.; RIBEIRO, W. **Gestão de resíduos na agricultura e agroindústria**. Botucatu: FEPAF, 2006. p. 63-94.

ROMEIRO, R. S. **Bactérias Fitopatogênicas**. 2ª. ed. Viçosa: UFV, Imprensa Universitária, 2005. 417 p.

RUSSO, M. A. **Tratamento de resíduos sólidos**. Universidade de Coimbra, 2003. Disponível em: <[http://www1.ci.uc.pt/mhidro/edicoes\\_antigas/Tratamentos\\_Residuos\\_Solidos.pdf](http://www1.ci.uc.pt/mhidro/edicoes_antigas/Tratamentos_Residuos_Solidos.pdf)>. Acesso em: 15 jun. 2015.

SAFNI, I.; CLEENWERCK, I.; VOS, P.; FEGAN, M.; SLY, L.; ULRIKE KAPPLER, U. Polyphasic taxonomic revision of the *Ralstonia solanacearum* species complex: proposal to emen The descriptions of *Ralstonia solanacearum* and *Ralstonia syzygii* and reclassify current *R. Syzygii* strains as *Ralstonia syzygii* subsp. *syzygii* subsp., *R. Solanacearum* phylotype IV strains as *Ralstonia syzygii* subsp. *indonesiensis* subsp., Banana blood disease bacterium strains as *Ralstonia syzygii* subsp. *Celebesensis* subsp. and *R. solanacearum* phylotype I and III strains as *Ralstonia pseudosolanacearum* sp. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, Reading, v. 64, n. 9, p. 3087-3103, 2014.

SAILE, E.; MCGARVEY, J. A.; SCHELL, M. A.; DENNY, T. P. Role of extracellular polysaccharide and endoglucanase in root invasion and colonization of tomato plants by *Ralstonia solanacearum*. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 87, n. 12, p. 1264-71, 1997.

SANCHUKI, C. E.; SOCCOL, C. R.; CARVALHO, J. C.; SOCCOL, V. T.; NASCIMENTO, C.; WOICIECHOWSKI, A. L. Evaluation of poultry litter traditional composting process. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 54 n. 5, p. 1053-58, 2011.

SANTOS, F. G.; PEDRO A. V. ESCOSTEGUY, P. A.V.; RODRIGUES, L. B. Qualidade de esterco de ave poedeira submetido a dois tipos de tratamentos de compostagem. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 14, n. 10, p. 1101-08, 2010.

SANTOS, F. F. B.; RIBEIRO, A.; SIQUEIRA, W. J.; MELO, A. M. Desempenho agrônômico de híbridos F1 de tomate de mesa. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 29, n. 3, p. 304-10, 2011.

SCHROTH, M. N. Risks of releasing wild-type and genetically engineered biocontrol organisms into the ecosystem. In: TJAMOS, E. S.; PAPAIVIZAS, G. C.; COOK, R. J. (Eds.). **Biological control of plant diseases**. New York: Plenum Press, 1992. p. 371-79.

SEQUEIRA, L. Bacterial wilt: past, present, and future. In: HAYWARD, A. C.; HARTMAN, G. L. (Eds.). **Bacterial wilt**. Taiwan: ACIAR Proceedings, 1993. p. 12-21.

SHAMI, N. J. I. E.; MOREIRA, E. A. M. Licopeno como agente antioxidante. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 17, n. 2, p. 227-36, 2004.

SIDHU, M. S.; HEIR, E.; LEEGAARD, T.; WIGER, K.; HOLCK, A. Frequency of disinfectant resistance genes and genetic linkage with beta-lactamase transposon TN552 among clinical *Staphylococci*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, Bethesda, v. 46, n. 11, p. 2797-803, 2002.

SILVA, A. M. F.; MENEZES, E. F.; SOUZA, E. B.; MELO, N. F.; MARIANO, R. L. R. Sobrevivência de *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* em tecido infectado de videira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 34, n. 3, p. 757-65, 2012.

SILVA, J. R. **Diversidade de isolados de *Ralstonia solanacearum* das regiões Norte e Nordeste do Brasil**. 2014. 48 f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife- PE.

SILVA, J. B. C.; GIORDANO, L. B.; FURUMOTO, O.; BOITEUX, L. S.; FRANÇA, F. H.; BÔAS, G. L. V.; BRANCO, M. C.; MEDEIROS, M. A.; MAROUELLI, W.; SILVA W. L. C.; LOPES, C. A.; ÁVILA, A. C.; NASCIMENTO, W. M.; PEREIRAI, W. **Cultivo de tomate para industrialização**. Brasília: Embrapa Hortaliças, 2003. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Tomate/TomateIndustrial/adubacao.htm>>. Acesso em: 10 Jul. 2015.

SOUZA, A. Q. L.; SOUZA, A. D. L.; FILHO, S. A.; PINHEIRO, M. L. B.; SARQUIS, M. I. M.; PEREIRA, J. O. Atividade antimicrobiana de fungos endofíticos isolados de plantas tóxicas da amazônia: *Palicourea longiflora* (Aubl.) Rich e *Strychnos cogens* Benth. **Acta Amazonica**, Manaus, v. 34, n. 2, p. 185-195, 2004.

SUÁREZ-ESTRELLA, F.; VARGAS-GARCÍA, M.C.; LÓPEZ, M.J.; MORENO, J. Effect of horticultural waste composting on infected plant residues with pathogenic bacteria and fungi: Integrated and localized sanitation. **Waste Management**, Oxford, v. 27, n. 9, p.886-92, 2007.

SUÁREZ-ESTRELLA, F.; ARCOS-NIEVAS, M.A.; LÓPEZ, M.J.; M.C. VARGAS-GARCÍA, J. MORENO. Biological control of plant pathogens by microorganisms isolated from agro-industrial composts. **Biological Control**, Orlando, v. 67, n. 3, p. 509-15, 2013.

SYMANSKI, C. S. **Caracterização de bactérias mesófilas presentes em processo de compostagem**. 2005. 100 f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola e do Ambiente) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

TAKATSU, A.; LOPES, C. A.; Murcha bacteriana em hortaliças: avanços científicos e perspectivas de controle. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 15, n. 3, p. 170-77, 1997.

TOYOTA, K.; KIMURA, M. Growth of the bacterial wilt pathogen *Pseudomonas solanacearum* introduced into soil colonized by individual soil bacteria. **Soil Biology & Biochemistry**, Elmsford, v. 28, n. 10, 1489-94, 1996.

- TUOMELA, M.; VIKMAN, M.; HATAKKA, A.; ITAVAARA, M. Biodegradation of lignin in a compost environment: a review. **Bioresource Technology**, Amsterdam, v. 72, p. 169-83, 2000.
- VALENTE, B. S.; XAVIER, E. G.; MORSELLI, T. B. G. A.; JAHNKE, D. S.; BRUM JR., B. S.; CABRERA, B. R.; MORAES, P. O.; LOPES, D. C. N. Fatores que afetam o desenvolvimento da compostagem de resíduos orgânicos. **Arquivos de Zootecnia**, Córdoba, v. 5, p. 59-85, 2009.
- VAN OVERBEEK, L. S.; BERGEVOET, J. H. W.; JACOBS, F. H. H.; VAN ELSAS, J. D. The low-temperature-induced viable-but-nonculturable state affects the virulence of *Ralstonia solanacearum* biovar 2. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 94, n. 5, p. 463-69, 2004.
- XU, J.; PAN, Z. C.; XU, J. S.; ZHANG, Z.; ZHANG, H.; ZHANG, L. Q.; HE, L. Y.; FENG, J. Genetic diversity of *Ralstonia solanacearum* strains from China. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 125, n. 4, p. 641-53, 2009.
- WEI, Y. S.; FAN, Y. B.; WANG, M. J.; WANG, J. S. Composting at compost application in China. **Resources, Conservation and Recycling**, Amsterdam, v. 30, n.4, p. 277-300, 2000.
- WICKER, E.; GRASSRT, L.; CORANSON-BEAUDU, R.; MIAN, D.; GUILBAUD, C.; FEGAN, M.; PRIOR, P. *Ralstonia solanacearum* strains from Martinique (French West Indies) exhibiting a new pathogenic potential. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 73, n. 21, p. 6790-6801, 2007.
- YABUUCHI, E.; KOSAKO, Y.; OYAIZU, H.; YANO, I.; HOTTA, H.; HASHIMOTO, Y.; EZAKI, T.; ARAKAWA, M. Transfer of two *Burkholderia* and an *Alcaligenes* species to *Ralstonia* gen. nov. – Proposal of *Ralstonia pickettii* (Ralston, Palleroni and Doudoroff, 1973) com nov., *Ralstonia solanacearum* (Smith, 1896) com nov. and *Ralstonia eutropha* (Davis, 1969) comb. nov. **Microbiology and Immunology**, Tokyo, v. 39, n. 11, p.897-904, 1995.
- YABUUCHI, E.; KOSARO, Y.; OYIZU, H.; YANO, I.; HOTTA, H.; HASHIMOTO, Y.; EZAKI, T.; ARAKAWA, M. Proposal of *Burkholderia* gen. nov. and transfer of seven species of the genus *Pseudomonas* homology group II to the new genus, with the type species *Burkholderia cepacia* (Palleroni and Holmes, 1981) comb. nov. **Microbiology and Immunology**, Tokyo, v. 36, n. 12, p. 1251-75, 1992.
- ZACCARDELLI, M.; NICOLA, F.; D. VILLECCO, V.; SCOTTI, R. The development and suppressive activity of soil microbial communities under compost amendment. **Soil Science and Plant Nutrition**, Japan, v. 13, n. 3, p. 730-42, 2013.
- ZHAO, Y.; DAMICOMI, J. P.; BENDER, C. L. Detection, survival, and sources of inoculum for bacterial diseases of leafy crucifers in Oklahoma. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 86, n. 8, p. 883-88, 2002.
- ZUCCONI, F. F. M.; BERTOLDI, M. Biological evaluation of compost maturity. **Biocycle**, Emmaus, v. 22, n. 4, p. 27-29, 1981.