

Efluente de biodigestor a base de esterco bovino no manejo de *Meloidogyne javanica* em alface americana 'Tainá'

Bovine manure based biodigestor effluent in the management of *Meloidogyne javanica* in 'Tainá' american lettuce

Anderson Lemes Fontes da Silva¹; Júlio César Ferreira Antunes²; Érika Cristina Souza da Silva Correia¹

¹ Centro Universitário Sagrado Coração, Bauru/SP, Brasil.

² Faculdade de Ciências Agronômicas (Unesp) – Botucatu/SP, Brasil

E-mail (autor principal): anderson_fontes789@hotmail.com

RESUMO

O parasitismo por nematoides do gênero *Meloidogyne* vem causando grandes perdas na produção de hortaliças e por isso, tem-se exigido o emprego de estratégias de manejo economicamente viáveis baseadas no controle cultural, biológico e genético. Este estudo teve como objetivo determinar a influência do efluente de biodigestor a base de esterco bovino na redução populacional de *Meloidogyne javanica* em alface. O experimento foi conduzido em estufa utilizando-se um delineamento experimental inteiramente casualizado com cinco tratamentos e dez repetições, sendo cada parcela constituída de uma planta/ vaso. A infestação do substrato foi realizada com 3.000 ovos e eventuais juvenis de segundo estágio do nematoide. Pode-se constatar redução significativa do fator de reprodução (FR) do nematoide na alface Tainá nas concentrações 15 e 20 mL do efluente em 100 mL de água. Nessas concentrações também foram observadas as menores médias do IG e IMO. Houve aumento linear de todas as características vegetativas da alface à medida que aumentou a concentração do efluente de biodigestor de esterco bovino. Essa tendência foi observada em todas as concentrações do efluente, sendo os maiores valores médios verificados na concentração de 20 mL diluídos em 100 mL de água destilada. Apesar dos resultados promissores, *M. javanica* foi capaz de se reproduzir na alface 'Tainá', o que indica que esta espécie de *Meloidogyne* pode ser considerada uma ameaça para a produção da alface em estudo e por isso, salienta-se a importância da identificação, monitoramento e redução da densidade populacional por meio de práticas fundamentadas no manejo integrado de nematoides.

Palavras-chave: Composto orgânico; *Lactuca sativa*; Nematóide-das-galhas.

ABSTRACT

Parasitism by nematodes of the Meloidogyne genus has caused large losses in vegetable production and, therefore, the use of economically viable management strategies based on cultural, biological, and genetic control has been required. This study aimed to determine the influence of effluent from a bovine manure based biodigester on the population reduction of Meloidogyne javanica in lettuce. The experiment was carried out in a greenhouse using a completely randomized design with five treatments and ten replications, with each plot consisting of a plant/pot. Substrate infestation was carried out with 3,000 eggs and occasional second-stage nematode juveniles. A significant reduction in the RF of the nematode can be seen in Tainá lettuce at concentrations of 15 and 20 mL of effluent in 100 mL of water. At these concentrations, the lowest means of GI and EMI were also observed. There was a linear increase in all vegetative characteristics of lettuce as the concentration of effluent from bovine manure biodigester increased. This trend was observed at all concentrations of the effluent, with the highest mean values verified at the concentration of 20 mL diluted in 100 mL of distilled water. Despite the promising results, M. javanica was able to reproduce in 'Tainá' lettuce, which indicates that this species of Meloidogyne can be considered a threat to the production of lettuce under study and for this reason, the importance of identification is highlighted, monitoring and reduction of population density through practices based on the integrated management of nematodes.

Keywords: Organic compost; Lactuca sativa; Root-knot nematode.

INTRODUÇÃO

A alface é uma das hortaliças folhosas mais consumidas no Brasil e no mundo na forma de salada. Esta hortaliça apresenta um alto valor nutricional e um custo baixo de produção, sendo cultivada principalmente por pequenos produtores, o que assegura sua importância socioeconômica. O Estado de São Paulo ocupa o ranking de maior produtor e consumidor de hortaliças folhosas, com destaque para as regiões de Mogi das Cruzes e Sorocaba (Figueira 2013; Faquin & Andrade, 2018).

As hortaliças são altamente suscetíveis ao ataque de nematoides do gênero *Meloidogyne* (nematóide-das-galhas), sendo as espécies *M. incognita*, *M. javanica* e *M. enterolobii*, as mais comuns em áreas de produção. A alta predominância destas espécies é atribuída a sua grande capacidade de reprodução onde o solo apresenta maior temperatura, tornando um ambiente propício a alta proliferação. É também importante ressaltar que tais espécies podem ser encontradas conjuntamente ou desassociadas ocasionando muitos problemas e prejuízos ao produtor. As perdas ocasionadas por esses fitoparasitas são estimadas na ordem de 14,6% e 12,3% nos países subdesenvolvidos e desenvolvidos, respectivamente. No país, espécies de *Meloidogyne* foram detectadas em 45% das amostras coletadas (solo + raiz), sendo *M. incognita*, *M. javanica* e *M. enterolobii* as de maior prevalência (Rosa et al., 2013; Pinheiro et al., 2019).

Meloidogyne spp. apresenta alta taxa reprodutiva, favorecendo o acúmulo de grandes populações de ovos no solo e, conseqüentemente, pode inviabilizar áreas de cultivo de alface após plantios consecutivos da cultura. A ação nociva dos nematoides-das-galhas pode ainda ser agravada quando há associação com outros patógenos como fungos, bactérias ou vírus, resultando em efeito sinérgico (Brass et al., 2008).

As plantas atacadas por *Meloidogyne* spp. apresentam a formação de galhas no sistema radicular, as quais são ocasionadas pela injeção de toxinas que implicam em hiperplasia e hipertrofia das células adjacentes às células nutridoras (multinucleadas), reduzindo o potencial de absorção de água e nutrientes da planta. Além das galhas, pode-se observar lesões radiculares e crescimento paralisado das raízes infectadas. Na região aérea ocorre nanismo, amarelecimento com reduzido volume foliar, diminuição da produção e até mesmo a morte da planta (Ferraz & Monteiro, 2011; Pinheiro & Pereira, 2013).

Diversos fatores estão associados ao aumento populacional de nematoide em áreas de produção, a citar, o cultivo sucessivo adotado pelo produtor rural, a extensão de áreas com monocultivo, a escassez de plantas resistentes, assim como, a locomoção de pessoas, animais e máquinas agrícolas que implicam na disseminação dos nematoides. Tais fatores podem acarretar prejuízos significativos para a produção agrícola e dessa forma, é de suma importância a adoção de técnicas agrônômicas que visem a diminuição da densidade populacional dos nematoides (Correia, 2013; Rosa et al., 2013; Costa et al., 2016).

Entre as alternativas de manejo, podemos citar limpeza dos restos culturais, maquinário, implementos e ferramentas agrícolas, uso de cultivares resistentes, alqueive aliado com aração e gradagem de forma contínua, pousio, solarização, biofumigação, agentes biológicos, cultivo de plantas com efeito antagônico, rotação de cultura e adição de compostos orgânicos. O uso de agrotóxicos deve ser evitado em decorrência do ciclo curto da alface (Rozário 2013; Ravichandra, 2014; Pinheiro et al., 2019).

Os compostos orgânicos vêm sendo estudados como um método alternativo no manejo de fitonematoides, com efeitos promissores sob a redução populacional dos patógenos e aumento da tolerância da planta, além da promoção de nutrientes e melhoria da estrutura do solo. Sendo assim, o objetivo deste estudo é avaliar o efeito do efluente de biodigestor a base de esterco bovino na redução populacional de *M. javanica* em alface americana 'Tainá'.

O objetivo do presente trabalho foi avaliar a eficiência do efluente de biodigestor a base de esterco bovino na redução populacional de *Meloidogyne javanica* em alface americana, a partir da determinação do fator de reprodução, dos índices de galhas e de massas de ovos de *M. javanica* em alface e determinação da altura e a massa de matéria fresca e seca da parte aérea das plantas de alface.

MATERIAIS E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Canteiro Experimental do Centro Universitário Sagrado Coração - UNISAGRADO, Bauru, SP (Latitude: -22.32819375178991, Longitude: -49.05184574710522). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com cinco tratamentos e dez repetições, sendo cada parcela constituída por uma planta/ vaso. O efluente biodigerido foi diluído em cinco concentrações, sendo elas, 0 (testemunha); 5; 10; 15 e 20 mL do efluente em 100 mL de água destilada, e aplicado na parte aérea da planta, por aspersão foliar, até o ponto de escoamento superficial, cinco dias antes e cinco dias após o transplante.

As sementes de alface americana cv. Tainá foram germinadas em bandejas de polietileno com substrato esterilizado e posteriormente transplantadas para vasos com capacidade de 2 L. As plantas foram conduzidas em estruturas de cultivo protegido não climatizadas.

Para obtenção do efluente de esterco bovino, construiu-se um biodigestor usando dois recipientes de polietileno com capacidade para 2 L, interligados entre si, por uma mangueira de borracha. Em um dos recipientes foi adicionado 100 g de esterco bovino, completando o volume para 1 L na proporção de 10:1, pela adição de água destilada, enquanto no outro recipiente foi adicionado 1,5 L de água. No recipiente contendo a mistura com esterco bovino, a mangueira foi adicionada e mantida a 10 cm da superfície do líquido e, no outro, a mangueira foi imersa na água. Em ambos, o contato entre a mangueira e o recipiente foi totalmente vedado evitando a entrada e saída de ar. Desta forma, os gases liberados no processo de decomposição saíram do recipiente contendo a mistura, diretamente para a água do outro recipiente, a qual evitou a entrada de ar. A decomposição foi mantida por um período de 60 dias, sendo uma alíquota retirada e enviada para análise química laboratorial. Posteriormente, o efluente foi filtrado usando papel filtro qualitativo com gramatura de 80 g m⁻² e porosidade de 3 micras.

As plantas foram inoculadas individualmente com 3.000 ovos e eventuais juvenis de segundo estágio da população de *M. javanica*, dois dias após o transplante. A inoculação foi efetuada colocando-se 2 mL da suspensão de inóculo em dois orifícios de 3 cm de profundidade na rizosfera de cada planta.

O efluente obtido a partir da biodigestão do esterco bovino foi aplicado na parte aérea da planta, por aspersão foliar, até o ponto de escoamento superficial, cinco dias antes e cinco dias após o transplante. No momento da aplicação, o solo foi protegido utilizando-se papel filme.

Aos 45 dias após a inoculação do nematoide, as plantas foram avaliadas considerando as seguintes variáveis: altura, massa da matéria fresca e seca da parte aérea, índice de galhas e de massas de ovos e o fator de reprodução do nematoide. A altura da parte aérea foi determinada com auxílio de uma régua graduada em cm, medindo a distância entre a superfície do solo e a parte mais alta da planta. A massa fresca da parte aérea foi determinada pela pesagem em balança analítica com precisão de 0,1 g. A massa seca da parte aérea foi obtida após a secagem

dos materiais em estufa de circulação de ar forçada a 65 °C até atingir massa constante, sendo assim determinada pela pesagem em balança analítica com precisão de 0,1 g.

Os índices de galhas e de massas de ovos e do fator de reprodução foram obtidos a partir da lavagem cuidadosa das raízes em água corrente, as quais foram pesadas após a retirada do excesso de água com papel toalha e submetidas à coloração com Floxine B (Daykin & Hussey, 1985) para facilitar a quantificação das massas de ovos externas. Os índices de galhas (IG) e de massas de ovos (IMO) foram obtidos e classificados de acordo com a escala de notas de 0 a 5 (0= ausência galhas ou massas de ovos; 1= 1-2; 2 = 3-10; 3= 11-30; 4= 31-100; 5= > 100 galhas ou massas de ovos por raiz) (Taylor & Sasser, 1978). Em seguida, os sistemas radiculares foram processados (Coolen & D'Herde, 1972) usando solução de hipoclorito de sódio a 0,5%, ao invés de água, para triturar as raízes em liquidificador.

O número final de ovos e eventuais juvenis recém-eclodidos na suspensão final foi determinado com o auxílio da lâmina de Peters sob microscópio óptico. Esse número foi utilizado para a obtenção do fator de reprodução (FR= população final (Pf)/ população inicial (Pi) dos nematoides). Plantas que proporcionaram FR igual ou maior que 1,0 foram consideradas suscetíveis (S), menor que 1,0, resistentes (R) e igual a 0, imunes (Oostenbrink, 1966).

Os dados foram submetidos à análise de variância e, em caso de efeito significativo para concentrações do efluente de biodigestor de acordo com o teste F a 5% de probabilidade, foi realizada a análise de regressão para verificar o efeito das concentrações do efluente nas características avaliadas.

RESULTADOS

As principais características químicas do esterco e do efluente bovino estão representadas na Tabela 1.

Houve efeito linear para o fator de reprodução do nematoide à medida que aumentou a concentração do efluente de biodigestor, com redução significativa a partir de 15 e 20 mL do efluente em 100 mL de água destilada. Pode-se observar que os maiores valores médios para o FR de *M. javanica* na cultivar 'Tainá' ocorreram nas concentrações de 5 e 10 mL do efluente em 100 mL de água destilada (Figura 1).

O aumento da concentração do efluente de biodigestor de esterco resultou na diminuição do IG e IMO da alface 'Tainá', sendo atribuídas notas mínimas a partir de 10 e 15 mL de efluente em 100 mL de água destilada (Tabela 2).

Tabela 1. Principais composições químicas do esterco e do efluente bovino.

Características dos resíduos orgânicos*		
	Esterco	Efluente
pH	6,0	6,5
N-total (%)	1,8	1,8
N-NH ₄ (mg kg ⁻¹)	1063,3	2409,5
N-NO ₃ +N-NO ₂ (mg kg ⁻¹)	0,0	0,0
N-orgânico (%)	1,74	1,61
C-orgânico (%)	38,4	38,9
Ca (%)	0,83	0,89
Mg (%)	0,65	0,68
P (%)	0,75	0,93
K (%)	1,54	1,80
Matéria Seca (%)	16,73	14,23
Relação C/N	19,44	19,67
Celulose (%)	37,03	30,63
Hemicelulose (%)	15,37	10,04
Lignina (%)	12,54	17,05

*Os dados analíticos do composto orgânico referem-se à composição seca.

Figura 1. Fator de reprodução de *Meloidogyne javanica* em alface americana cv. Tainá sob diferentes concentrações de efluente de biodigestor de esterco bovino.

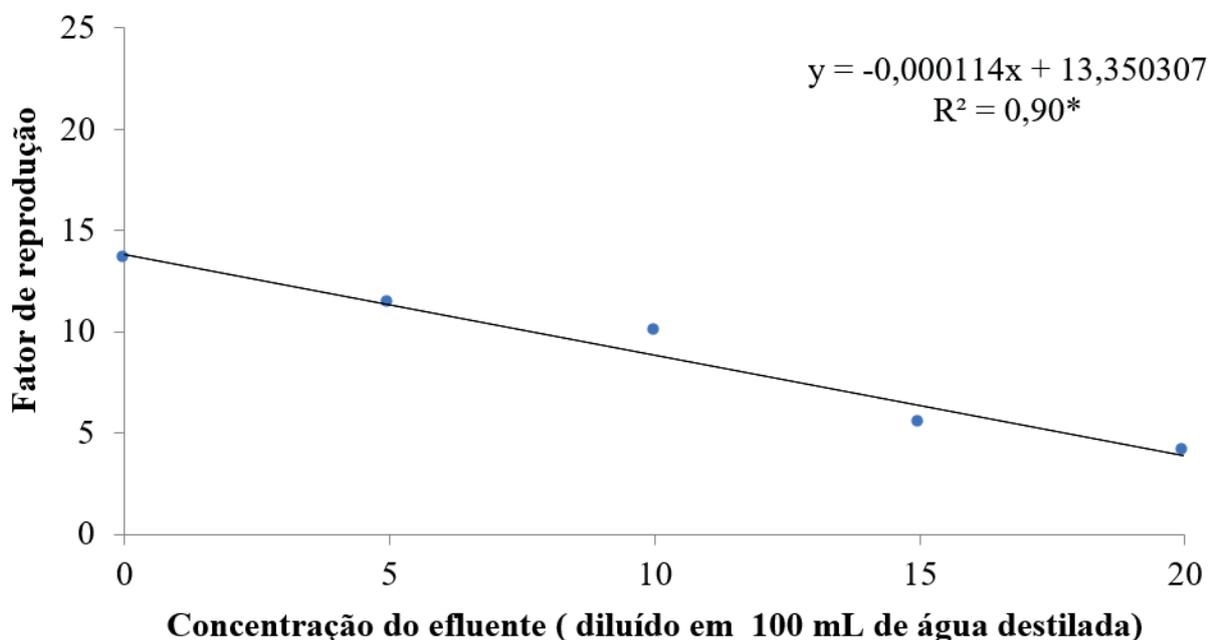


Tabela 2. Médias observadas do índice de galhas (IG) e de massa de ovos (IMO) de *Meloidogyne javanica* em função da concentração de efluente de biodigestor de esterco bovino na alface americana cv. Tainá aos 45 dias após a inoculação.

Concentração (mL)*	IG	IMO
0	5,0	5,0
5	5,0	5,0
10	4,6	4,6
15	4,0	4,0
20	3,0	3,0

*As concentrações foram diluídas em 100 mL de água destilada.

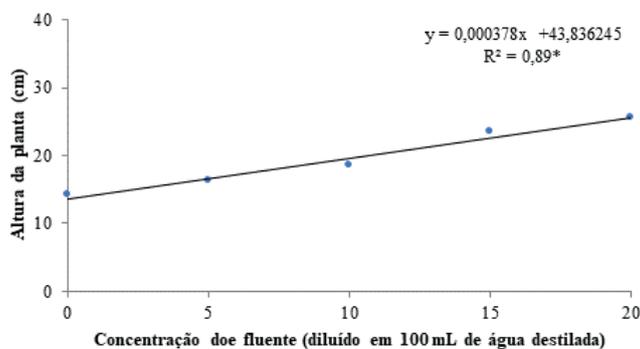
Houve aumento linear de todas as características vegetativas da alface americana 'Tainá' à medida que aumentou a concentração de efluente de biodigestor de esterco bovino (Figura 2). Essa tendência foi observada em todas as concentrações do efluente, sendo os maiores valores médios verificados na concentração de 20 mL diluídos em 100 mL de água destilada.

Em decorrência do parasitismo de *M. javanica* na cultivar Tainá, os valores médios da altura de plantas variaram de 14,18 a 25,55 cm. Para a massa fresca e seca da parte aérea, os valores médios variaram de 30,38 a 42,65 g e 4,15 a 2,57 g, respectivamente.

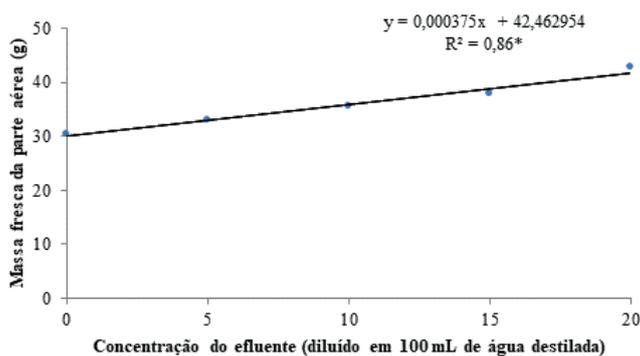
Figura 2. Altura da parte aérea (A) - Massa da matéria fresca (B) - Massa seca da parte aérea da alface americana 'Tainá' infestada com *M. javanica* (C), submetida a aplicação foliar de diferentes concentrações de efluente de bio-

digestor de esterco bovino.

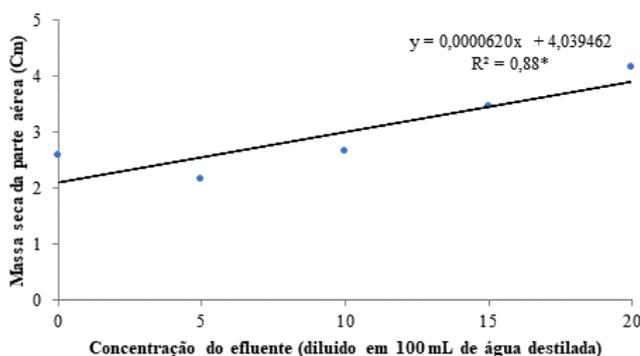
A



B



C



DISCUSSÃO

A aplicabilidade da adubação com esterco bovino e/ou efluente vem ganhando espaço em áreas de cultivo agrícola em decorrência das altas concentrações de minerais oriundos das excretas dos animais. É importante destacar também que a reutilização de esterco bovino representa uma alternativa viável para diminuir o impacto ambiental provindo do acúmulo deste resíduo.

M. javanica mostrou-se capaz de penetrar e se desenvolver nas raízes da cultivar Tainá e reduzir suas características vegetativas. Embora tenha sido observada variação no Fator de Reprodução do nematoide na alface 'Tainá', a suscetibilidade da mesma impede de ser recomendada para o plantio em áreas infestadas com *M. javanica*, uma vez que permitiu a sobrevivência e a reprodução do nematoide. Isto deve ser estendido, principalmente, às áreas com presença simultânea de espécies de nematoides parasitas de plantas, fato comum em campos de cultivo de olerícolas. Apesar da alface se tratar de uma cultura anual, a população nematológica poderá atingir níveis elevados, sendo esse problema agravado pela ausência de cultivares resistentes a esta espécie de *Meloidogyne*. Por isso, medidas preventivas devem ser adotadas a fim de evitar a introdução desse fitoparasito em áreas de cultivo.

A variação no FR de espécies de *M. javanica* em olerícolas têm sido verificadas em estudos anteriores. Na África do Sul, houve variação significativa no FR de *M. incognita* e *M. javanica* em sete genótipos de beterraba, em que os valores variaram de 3,09 a 45,84 e 4,50 a 18,83, respectivamente (Steyn et al., 2014). No Brasil, as beterrabas 'Chata do Egito', 'Maravilha' e 'Early Wonder' foram suscetíveis à *M. javanica* com FR de 3,45, 5,04 e 9,16, respectivamente (Rosa et al., 2013).

Os IG e IMO de *M. javanica* atribuído à cultivar Tainá mostrou-se alto assim como o FR do nematoide. Isso indica a suscetibilidade desse material à espécies de *Meloidogyne*, pois os altos IG e IMO demonstram a facilidade do nematoide estabelecer o parasitismo e completar o ciclo biológico nas raízes da cultivar. Além disso, o IG também indica que a cultivar quando parasitada pelo nematoide permitiu a formação de galhas bem definidas e por isso, pode ser utilizado como parâmetro auxiliar na avaliação de resistência dessa cultura.

As concentrações do efluente de biodigestor afetaram significativamente os parâmetros relacionados à multiplicação do nematoide na alface 'Tainá'. O aumento da concentração do efluente foi correspondente a diminuição do fator de reprodução.

O sistema radicular da alface 'Tainá' continha galhas típicas de interações compatíveis entre *Meloidogyne* spp. e hospedeiros suscetíveis, sendo visualmente mais acentuadas nas concentrações de 5 e 10 mL, diluídas em 100 mL de água destilada. Os valores médios do IG e IMO da cultivar 'Tainá' foram correspondentes a diminuição das concentrações de biodigestor, em que notas máximas foram atribuídas nas concentrações 5 e 10 mL.

Todas as características vegetativas da alface 'Tainá' avaliadas foram significativamente reduzidas, independente da concentração do efluente de biodigestor. Isto pode ser justificado, visto que plantas suscetíveis na presença de *Meloidogyne* spp. podem apresentar alterações anatômicas em decorrência da formação de células gigantes e hipertrofia de células parenquimáticas, provocando a obstrução parcial do xilema e a desorganização total do cilindro vascular. Tais mudanças anatômicas comprometem a eficácia do sistema radicular e conseqüentemente reduzem a absorção e transporte de água e nutrientes, com reflexos no crescimento e produção das plantas (Westerich et al., 2012; Premachandra & Gowen, 2015).

CONCLUSÃO

A aplicação foliar do efluente de biodigestor a base de esterco bovino foi capaz de reduzir a densidade populacional de *M. javanica* em alface americana 'Tainá', podendo ser mais uma alternativa para programas de manejo integrado de nematoides.

REFERÊNCIAS

- BRASS, F.E.B.; VERONEZZE, N. C.; PACHECO, E.; BOSQUÊ, G. G. Aspectos biológicos do *Meloidogyne* spp. relevantes à cultura do café. *Revista científica eletrônica de Agronomia*. Ano VII, n. 14, dezembro de 2008, Periódicos Semestral.
- COOLEN, W. A.; D'HERD, C. J. A method for the quantitative extraction of nematodes from plant tissue. Ghent. State Agricultural Research Centre. 1972.
- CORREIA, E. C. S. S. Reação de cultivares de alface do grupo americano a *Meloidogyne incognita*, *M. javanica* e *M. enterolobii*. 2013. 63 f. Dissertação (Mestrado em Proteção de Plantas) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Botucatu, SP, 2013.
- COSTA, B. O. G; OLIVEIRA, M. U.; SENÔ, K.C.A. Efeito do extrato aquoso de hortelã e cambará no desenvolvimento do tomateiro infestado por *Meloidogyne javanica*. *Nucleus*, v. 13, n. 1, p. 15-24, 2016. ok
- DAYKIN, M. E.; HUSSEY, H. S. Staining and histopathological techniques in nematology. In: Barker, K. R.; Carter, C. C.; Sasser, J.N. (Eds.) *An advanced treatise on Meloidogyne: methodology*. Raleigh. North Carolina State University Graphics. 1985. pp.39-48.
- FAQUIN V.; ANDRADE A. T. Nutrição mineral e diagnose do estado nutricional de hortaliças. Lavras: UFLA/FAEPE. 2004. 88p.
- FERRAZ, L. C. C. B.; MONTEIRO, A. R. Nematoides. In: BERGAMIN FILHO, A. AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M. *Manual de Fitopatologia: princípios e conceitos*. 4 ed. São Paulo: Agronômica Ceres, v. 1, p. 277-305. 2011.
- FILGUEIRA, F. A. R. *Novo manual de olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças*. 3 ed. Viçosa, MG: UFV, 2013.
- PINHEIRO, J. B.; PEREIRA, R. B. Nematode-das-galhas: importante patógeno para a cultura do tomateiro. Embrapa Hortaliças-Artigo de divulgação na mídia (INFOTECA-E), 2013.
- PINHEIRO, J. B; CASTRO, R. A.; RAGASSI, M. C. F. Manejo de nematoides em hortaliças sob plantio direto. Embrapa Hortaliças-Circular Técnica (INFOTECA-E), 2019.
- PREMACHANDRA, D. W. T. S., E GOWEN, S. R. Influence of pre-plant densities of *Meloidogyne incognita* on growth and root infestation of spinach (*Spinacia oleracea* L.) (Amaranthaceae) – an important dimension towards enhancing crop production. *Future of Food: Journal on Food, Agriculture and Society* v.3, 18-26, 2015.
- RAVICHANDRA, N. G. Phytonematodes: Threat to Horticulture. RAVICHANDRA, N. G. In: *Horticultural Nematology*. India: Springer. Pp. 5-16, 2014.
- ROSA, J. M.; WESTERICH, J. N.; WILCKEN, S. R. S. Reprodução de *Meloidogyne javanica* em olerícolas e em plantas utilizadas na adubação verde. *Tropical Plant Pathology*, v. 38, n. 2, p. 133-141, 2013.

ROZÁRIO, I. L. M. Uso de cultivares resistentes e fungos nematófagos no manejo de *Meloidogyne enterolobii* em alface. 2013. Tese de Doutorado. UEMA.

STEYN, W. P.; DANEEL, M. S.; SLABBERT, M. M. Host suitability and response of different vegetable genotypes to *Meloidogyne incognita* race 2 and *Meloidogyne javanica* in South Africa. *International Journal of Pest Management*, v. 60, p. 59–66, 2014.

TAYLOR, A. L.; SASSER, J. N. Biology, identification and control of root-knot nematodes (*Meloidogyne* species). Raleigh. North Carolina State University Graphics. 1978.

WESTERICH, J. N.; RODELLA, R. A.; ROSA, J. M. O.; WILCKEN S. R. S. Alterações anatômicas induzidas por *Meloidogyne enterolobii* (= *M. mayaguensis*) e *Meloidogyne javanica* em tomates resistentes a meloidoginose. *Summa Phytopathologica*, v. 38, 192-197, 2012.