

MATHEUS PIRES QUINTELA

DÉFICIT HÍDRICO NO PATOSSISTEMA CANA-DE-  
AÇÚCAR X NEMATOIDES

RECIFE - PE  
FEVEREIRO 2014

MATHEUS PIRES QUINTELA

DÉFICIT HÍDRICO NO PATOSSISTEMA CANA-DE-  
AÇÚCAR X NEMATOIDE

Tese apresentada à Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola, para obtenção do título de Doutor.

**Orientadora** : Profa. Elvira Maria Regis Pedrosa, Ph D.

RECIFE - PE  
FEVEREIRO 2014

Ficha catalográfica

Q7d

Quintela, Matheus Pires

Déficit hídrico no patossistema cana-de-açúcar x  
nematoides / Matheus Pires Quintela. – Recife, 2014.

129 f. : il.

Orientadora: Elvira Maria Régis Pedrosa.

Tese (Doutorado em Engenharia Agrícola) –  
Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento  
de Tecnologia Rural, Recife, 2014.

Referências.

1. Déficit hídrico 2. Estresse oxidativo 3. Meloidogyne  
4. Saccharum I. Pedrosa, Elvira Maria Régis, orientadora  
II. Título

CDD 631

MATHEUS PIRES QUINTELA

DÉFICIT HÍDRICO NO PATOSSISTEMA CANA-DE-AÇÚCAR X  
NEMATOIDE

Tese defendida e aprovada pela Banca examinadora em 21 / 02/ 2014

ORIENTADORA:

---

Prof<sup>a</sup> Dra. Elvira Maria Régis Pedrosa

EXAMINADORES:

---

Prof. Dr. Enio Farias França e Silva

---

Prof<sup>a</sup> Dra. Lilia Gomes Willadino

---

Dr. Maurício Antônio Coelho Filho

---

Dra. Andréa Chaves

Recife – PE  
Fevereiro, 2014

*“Não julgue cada dia pelo que você está colhendo,  
mas pelas sementes que você está plantando.”*

**Robert Louis Stevenson**

À minha família, tão importante em todos os momentos da minha vida. Minha querida mãe Geiza Pires do Carmo e minha irmã Manuelle Quintela Pires.

## **OFEREÇO**

Aos anjos que estão no céu,  
meus avós Moises Dias do Carmo e Milena Pires do Carmo  
pelo amor e exemplo de vida deixados e  
minha querida amiga Cirlene Farias de Barros,  
pernambucana, pelo exemplo de uma verdadeira amizade

**DEDICO**

## **AGRADECIMENTOS**

À Deus que sempre esteve a frente me conduzindo com sabedoria nos momentos difíceis, pela força interior dada para superar as dificuldades, por mostrar o caminho nas horas incertas e por suprir todas as minhas necessidades;

À Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), através do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola, pela oportunidade de realizar o doutorado;

À Fundação de Amparo a Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE) pela concessão da bolsa de estudo;

À minha orientadora Elvira Maria Régis Pedrosa, pela ótima orientação, confiança, apoio e ensinamentos durante todas as etapas de realização deste trabalho;

A professora Lilia Gomes Willadino pelo apoio e pelos conhecimentos transmitidos durante a execução deste trabalho;

Aos demais professores do Departamento de Engenharia Agrícola, pelos conhecimentos transmitidos;

À equipe e amigos do Laboratório de Fitonematologia, Aluízio Cordeiro, Ana Karina, Diego Huggins, Douglas Castro, Gabriela Cavalcante, Lílian Palhares, Luana Alves, Marcela Andrade, Mariana Ferreira, Matheus Silva, Mércia Cardoso, Mônica Freitas, Natália Ribeiro, Patrícia Ângelo, Sandra Maranhão e Thays Vicente pela amizade e agradável convívio durante a realização do doutorado;

A equipe do Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais pelo apoio e suporte em uma etapa do trabalho e minha formação acadêmica;

Aos colegas do curso de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola da UFRPE.  
A todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

**MUITO OBRIGADO**

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	17
2. OBJETIVOS.....	19
2.1. Objetivo geral .....	19
2.2. Objetivos específicos .....	19
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	20
3.1. Aspectos gerais da cana-de-açúcar.....	20
3.2. Estresse .....	22
3.2.1. Déficit hídrico.....	23
3.2.2. Estresse biótico originado por nematoides de galhas.....	26
3.3. Espécies reativas de oxigênio e o estresse oxidativo .....	29
3.3.1. Sistema antioxidante contra H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> .....	32
4. Referências Bibliográficas .....	36
Capítulo I.....	46
Época e intensidade do déficit hídrico no crescimento inicial e atividade enzimática da cana-de-açúcar parasitada por nematoide.....	47
1.1. Introdução.....	48
1.2. Material e métodos .....	51
1.3. Resultados e discussão .....	54
1.4. Conclusões .....	65
1.5. Referências bibliográficas.....	66
Capítulo II.....	70
Intensidade e duração do déficit hídrico no patossistema cana-de-açúcar x <i>Meloidogyne incognita</i> .....	71
2.1. Introdução.....	72
2.2. Material e método .....	74
2.3. Resultados e discussão .....	78
2.4. Conclusões .....	88
2.5. Referências bibliográficas.....	89
Capítulo III.....	94
Relações déficit hídrico-densidade de <i>Meloidogyne incognita</i> em cana-de-açúcar .....	95
3.1. Introdução.....	96



3.2. Material e métodos .....	98
3.3. Resultados e discussão .....	100
3.4. Conclusões .....	108
3.5. Referências bibliográficas.....	108
Capítulo IV.....	112
Influência do déficit hídrico nas relações entre <i>Meloidogyne incognita</i> e <i>M. Javanica</i> em cana-de-açúcar .....	113
4.1. Introdução.....	114
4.2. Material e métodos .....	116
4.3. Resultados e discussão .....	118
4.4. Conclusões .....	127
4.5. Referências bibliográficas.....	127

## LISTA DE TABELAS

### CAPÍTULO I

<b>Tabela 1. 1</b> – Caracterização física e química do solo.....	51
<b>Tabela 1. 2</b> - Altura de planta ( $h_{\text{planta}}$ ) e diâmetro do colmo ( $\varnothing_{\text{colmo}}$ ) da cana-de-açúcar variedade RB92579 submetida a sete tratamentos hídricos e dois níveis de infestação de nematoides aos 120 dias após o plantio. ....	59
<b>Tabela 1. 3</b> - Matéria seca da parte aérea (MSPA), matéria seca da raiz (MSR) e matéria seca total (MST) da variedade de cana-de-açúcar RB92579 submetida a sete tratamentos hídricos e dois níveis de infestação de nematoides aos 120 dias após o plantio. ....	60
<b>Tabela 1. 4</b> - Alocação de biomassa na parte aérea (ABPA), alocação de biomassa na raiz (ABR) e razão raiz/parte (R/PA) aérea da variedade de cana-de-açúcar RB92579 submetida a sete tratamentos hídricos e dois níveis de infestação de nematoides aos 120 dias após o plantio. ....	62
<b>Tabela 1. 5</b> – Número de ovos por sistema radicular (OVOS/SR), ovos por grama seca de raiz (OVOS/GR) e fator de reprodução (FR) de <i>Meloidogyne incognita</i> em cana-de-açúcar variedade RB92579 submetida a sete tratamentos hídricos aos 120 dias após o plantio. ....	64

### CAPÍTULO II

<b>Tabela 2. 1</b> – Caracterização física e química do solo.....	75
<b>Tabela 2. 2</b> - Altura de planta ( $h_{\text{planta}}$ ) e diâmetro do colmo ( $\varnothing_{\text{colmo}}$ ) da variedade de cana-de-açúcar RB92579 submetida a sete tratamentos hídricos e duas densidades de <i>M. incognita</i> aos 120 dias após o plantio. ....	83
<b>Tabela 2. 3</b> - Matéria seca da parte aérea (MSPA), matéria seca da raiz (MSR) e matéria seca total (MST) da variedade de cana-de-açúcar RB92579 submetida a sete tratamentos hídricos e duas densidades de <i>M. incognita</i> aos 120 dias após o plantio. ....	85
<b>Tabela 2. 4</b> - Alocação de biomassa na parte aérea (ABPA), alocação de biomassa na raiz (ABR) e razão raiz/parte aérea (R/PA) da variedade de cana-	

de-açúcar RB92579 submetida a sete tratamentos hídricos e duas densidades de <i>M. incognita</i> aos 120 dias após o plantio.....	86
<b>Tabela 2. 5</b> – Número médio de ovos por sistema radicular (OVOS/SR), ovos por grama seca de raiz (OVOS/GR) e fator de reprodução (FR) de <i>M. incognita</i> na variedade de cana-de-açúcar RB92579 submetida a sete tratamentos hídricos aos 120 dias após o plantio. ....	88

### CAPÍTULO III

<b>Tabela 3. 1</b> – Caracterização física e química do solo.....	98
<b>Tabela 3. 2</b> - Altura de planta ( $h_{\text{planta}}$ ), diâmetro do colmo ( $\emptyset_{\text{colmo}}$ ) e área foliar (AF) da variedade de cana-de-açúcar RB92579 submetida a três tratamentos hídricos (90, 70 e 56% CP) e quatro densidades populacionais (0, 10.000, 20.000 e 40.000 ovos/planta) do nematoide <i>Meloidogyne incognita</i> aos 120 dias após o plantio. ....	101
<b>Tabela 3. 3</b> - Produção de matéria seca na parte aérea (MSPA), matéria seca na raiz (MSR) e matéria seca total (MST) na variedade de cana-de-açúcar RB92579 submetida a três tratamentos hídricos (90, 70 e 50% CP) e quatro densidades populacionais (0, 10.000, 20.000 e 40.000 ovos/planta) do nematoide <i>Meloidogyne incognita</i> aos 120 dias após o plantio.....	102
<b>Tabela 3. 4</b> - Alocação de biomassa na parte aérea (ABPA), alocação de biomassa na raiz (ABR) e razão raiz/parte aérea (R/PA) na variedade de cana-de-açúcar RB92579 submetida a três tratamentos hídricos (90, 70 e 50% CP) e quatro densidades populacionais (0, 10.000, 20.000 e 40.000 ovos/planta) do nematoide <i>Meloidogyne incognita</i> aos 120 dias após o plantio.....	104
<b>Tabela 3. 5</b> - Atividade da enzima ascorbato peroxidase (APX) na variedade de cana-de-açúcar RB92579 submetida a três tratamentos hídricos (90, 70 e 50% CP) e quatro densidades populacionais (0, 10.000, 20.000 e 40.000 ovos/planta) de <i>Meloidogyne incognita</i> aos 120 dias após o plantio.....	106
<b>Tabela 3. 6</b> - Número médio de ovos por sistema radicular (OVOS/SR), ovos por grama de raiz (OVOS/GR) e fator de reprodução (FR) de <i>M. incognita</i> na variedade de cana-de-açúcar RB92579 submetida a três tratamentos hídricos (90, 70 e 50% da CP) e quatro densidades populacionais (0, 10.000, 20.000 e 40.000 ovos/planta) do nematoide aos 120 dias após o plantio.....	107

## CAPÍTULO IV

<b>Tabela 4. 1</b> – Caracterização física e química do solo.....	116
<b>Tabela 4. 2</b> - Altura de planta ( $h_{\text{planta}}$ ), diâmetro do colmo ( $\varnothing_{\text{colmo}}$ ) e área foliar (AF) da cana-de-açúcar variedade RB92579 submetida a três tratamentos hídricos (90, 70 e 50% CP) e três condições de infestação de nematoides (sem nematoide - M0, com <i>M. incognita</i> - MI, com <i>M. javanica</i> - MJ), 120 dias após o plantio.....	119
<b>Tabela 4. 3</b> – Matéria seca na parte aérea (MSPA), matéria seca na raiz (MSR) e matéria seca total (MST) da cana-de-açúcar variedade RB92579 submetida a três tratamentos hídricos (90, 70 e 50% CP) e três condições de infestação de nematoides (sem nematoide - M0, com <i>M. incognita</i> - MI, com <i>M. javanica</i> - MJ), aos 120 dias após o plantio.....	120
<b>Tabela 4. 4</b> – Alocação de biomassa na parte aérea (ABPA), de biomassa na raiz (ABR) e razão raiz/parte aérea (R/PA) em cana-de-açúcar variedade RB92579 submetida a três tratamentos hídricos (90, 70 e 50% CP) e três condições de infestação de nematoides (sem nematoide - M0, com <i>M. incognita</i> - MI, com <i>M. javanica</i> - MJ), aos 120 dias após o plantio.....	122
<b>Tabela 4. 5</b> – Atividade da enzima catalase (CAT) e ascorbato peroxidase (APX) na variedade de cana-de-açúcar RB92579 submetida a três tratamentos hídricos (90, 70 e 50% CP) e três condições de infestação de nematoides (sem nematoide - M0, com <i>M. incognita</i> - MI, com <i>M. javanica</i> - MJ), aos 120 dias após o plantio.....	124
<b>Tabela 4. 6</b> - Número médio de ovos por sistema radicular (OVOS/SR), ovos por grama seca de raiz (OVOS/GR) e fator de reprodução (FR) de <i>Meloidogyne incognita</i> e <i>M. javanica</i> em cana-de-açúcar variedade RB92579 submetida a três tratamentos hídricos (90, 70 e 50% da CP), aos 120 dias após o plantio. ....	125

## RESUMO

O Brasil é o maior produtor e exportador mundial da cana-de-açúcar, apesar disso, a região nordeste, em especial o estado de Pernambuco, um dos maiores produtores, apresenta baixa produtividade, estimada em 46.679 kg ha<sup>-1</sup>. Essa baixa produtividade está relacionada a diversos fatores ambientais, em especial, déficit hídrico e parasitismo de nematoides. O presente trabalho teve o objetivo de estudar o comportamento da cana-de-açúcar em relação ao déficit hídrico e parasitismo de nematoides formadores de galhas, em resposta a quatro experimentos. No primeiro experimento, avaliaram-se os efeitos no crescimento inicial da cana-de-açúcar variedade RB92579 e atividade das enzimas catalase e ascorbato peroxidase decorrentes do déficit hídrico (90, 56 e 22 % CP – capacidade de pote) imposto por 30 dias em diferentes períodos do crescimento da planta (0 a 30, 30 a 60 e 60 a 90 dias após aclimação) e parasitismo de *Meloidogyne incognita*. No segundo experimento, os efeitos no crescimento inicial da cana-de-açúcar e atividade das enzimas catalase e ascorbato peroxidase foi avaliada em função da intensidade (90, 56 e 22 % CP) e duração do déficit hídrico (30, 60 e 90 dias) associado ao parasitismo do nematoide. No terceiro experimento, estudou-se a influência conjunta da densidade populacional de *M. incognita* (0, 10.000, 20.000 e 40.000 ovos por planta) e do déficit hídrico (90%, 70% e 50% CP) e, no quarto, a relação entre as espécies *M. incognita* e *M. javanica* em condições de déficit hídrico (90, 70 e 50% CP). De maneira geral, a intensidade, período de aplicação e duração do déficit hídrico afetaram o crescimento da parte aérea, a atividade da enzima ascorbato peroxidase e a reprodução do *M. incognita*. A variedade RB92579 respondeu mais significativamente ao déficit hídrico correspondente a 22% da CP aplicado nos períodos de 0 a 30 dias e 30 a 60 dias. A condição 22% da CP com duração de 60 ou de 90 dias proporcionou as maiores reduções na altura da planta, diâmetro do colmo, matéria seca da parte aérea e raiz, e alocação de biomassa para a parte aérea; entretanto promoveu maior alocação de biomassa para as raízes e maior razão raiz/parte aérea. A reprodução de *M. incognita* sofreu redução severa quando a 22% CP aplicado nos intervalos de

0 a 30 dias ou 30 a 60 dias após aclimação e, também, com duração contínua de 90 dias; mas o nematoide não afetou as respostas da RB92579. A atividade da enzima catalase não variou com a intensidade, período de aplicação ou duração do déficit hídrico e estresse gerado pelo ataque dos nematoides. A associação dos efeitos déficit hídrico e densidade do nematoide proporcionaram redução na matéria seca da parte aérea e raiz. O estresse hídrico e nematológico aumentaram expressivamente a atividade de ascorbato peroxidase a 50% CP e 40.000 ovos/planta. Embora o estresse tenha diminuído a multiplicação de *M. incognita*, RB92579 foi mais severamente afetada a 70% CP com 40.000 ovos do nematoide. As respostas de RB92579 a *M. javanica* não diferiu de *M. incognita* a 50% CP. Entretanto, a 90% da CP e 70% CP a reprodução de *M. javanica* foi maior e os efeitos sobre o desenvolvimento das plantas, mais severo.

**Palavras chave:** Atividade enzimática, déficit hídrico, estresse oxidativo, *Meloidogyne*, *Saccharum*

## ABSTRACT

Brazil is the world highest producer and exporter of sugarcane. However, despite the high production of northeast region, especially the state of Pernambuco, productivity has been low, around 46.679 kg ha<sup>-1</sup>. The low productivity is related to several environmental factors, in particular, to hydric deficit and nematodes parasitism. The present work had as objective to study sugarcane responses to hydric deficit and root-knot nematode parasitism through four experiments. In the first one, it was evaluated responses in initial growth of sugarcane variety RB92579 and catalase and ascorbato peroxidase enzyme activity to hydric deficit (90, 56 and 22 % CP) for 30 days at three sugarcane growth stage (0-30, 30-60 and 60-90 days after acclimation) and *Meloidogyne incognita* parasitism. In the second experiment, the effects on RB92579 initial growth and catalase and ascorbato peroxidase enzyme activity were evaluated in relation to *Meloidogyne incognita* parasitism and drought intensity (90, 56 and 22 % CP) for 30, 60 and 90 days of continuous stress. In the third experiment, the joint influence of *M. incognita* density (0, 10.000, 20.000 and 40.000 eggs per plant) and hydric deficit (90%, 70% and 50% CP) was studied and, in the fourth experiment, relations between root-knot nematode species (*M. incognita* and *M. javanica*) and hydric deficit (90%, 70% and 50% CP) were evaluated. In general, the drought intensity, growth stage application and hydric deficit continuation affected shoots growth, ascorbato peroxidase activity and *M. incognita* reproduction. RB92579 response was more significantly to 22% CP applied at 0-30 and 30-60 days. When 22% CP was continuously applied for 60 or 90 days, there was the highest decreasing in plant height, stalk diameter, shoot and root dry matter and biomass allocation to shoots; but there was the highest biomass allocation to roots and highest root/shoot ratio. Reproduction of *M. incognita* was severely reduced at 22% CP applied at 0-30 or 30-60 days after seedlings acclimation, as well at 90 days at continuously drought, although there was no effect of nematode on plant responses. Catalase activity did not respond to drought intensity, growth stage application and continuous hydric deficit and stress generated by the attack of nematodes. The increase in hydric deficit and nematode density decreased

shoot and root dry mass. Nematode and drought stress increased ascorbate peroxidase activity at 40,000 eggs per plant and 50%. Although drought decreased *M. incognita* reproduction, RB92579 development was more affected at 70% CP under 40,000 eggs. RB92579 responses to *M. javanica* did not differ to *M. incognita* at 50 CP. However, *M. javanica* reproduction was higher and plant development was lower at 70% CP and 90% CP.

**Key-words:** Enzyme activity, hydric deficit, oxidative stress, *Meloidogyne*, *Saccharum*



## 1. INTRODUÇÃO

A cana-de-açúcar (*Saccharum* sp.) vem sendo cultivada no Brasil desde a época da colonização e, atualmente, o país conquistou o status de maior produtor e exportador mundial dessa cultura (CANAOSTE, 2008). Os Estados de São Paulo (56,26%), Goiás (9,49%), Minas Gerais (9,15%), Mato Grosso do Sul (6,48%), Paraná (6,45%), Alagoas (3,70%), Mato Grosso (2,59%) e Pernambuco (2,02%) são os responsáveis por essa conquista brasileira (Companhia Nacional de Abastecimento - CONAB, 2013).

O cultivo da cana-de-açúcar no Brasil assume grande importância econômica, social e ambiental, pelas grandes áreas plantadas, por gerar matéria prima como base para as agroindústrias do açúcar e álcool, além de representar para o país importante fonte de geração de empregos e renda no meio rural, proporcionando, desta forma, grande contribuição social para o país (Sindicato da Indústria do Açúcar e do Álcool do Estado de Pernambuco - SINDAÇÚCAR, 2003).

Na região Nordeste, para o Estado de Pernambuco, safra 2013/2014, está previsto uma produção de 13.351,6 mil toneladas de cana-de-açúcar em uma área cultivada de 286,030 mil hectares. Com a produtividade de 46.679 kg ha<sup>-1</sup>, estima-se obter aproximadamente 1.254,9 mil toneladas de açúcar e mais de 252 mil litros de álcool (Companhia Nacional de Abastecimento - CONAB, 2013).

Apesar de todas as vantagens geradas pelo cultivo da cana-de-açúcar, a produtividade pernambucana é baixa, em relação à nacional, que é de 74.891 kg ha<sup>-1</sup>. Isso se deve aos vários estresses impostos à cultura, resultando em perdas elevadas. Os estresses influenciam o crescimento vegetal ocasionando menor desempenho da cultura no campo. Seca, temperaturas extremas, deficiência mineral, baixo pH, além dos diversos estresses bióticos, são alguns dos fatores que restringem a adequada produtividade agrícola. Dentre os estresses abióticos, o déficit hídrico nos solos constitui sério problema mundial, que drasticamente reduz a produção e a qualidade agrícola.

Considerando-se os estresses bióticos, as nematoses se destacam devido à alta incidência e aos elevados prejuízos à produção agrícola e custos para o controle (BARROS et al., 2000; CHAVES et al., 2002, 2007). Prejuízos causados pela redução na produtividade devido aos principais nematoides da cultura, em particular as espécies *Meloidogyne javanica* e *M. incognita*, alcançam valores entre 20 a 50% no primeiro corte de variedades suscetíveis, reduzindo também a produtividade nas soqueiras e conseqüentemente à longevidade do canavial (DINARDO-MIRANDA, 2005).

Danos causados por estresses, bióticos e abióticos, induzem o estresse oxidativo, resultado da produção e acúmulo de espécies reativas de oxigênio (EROs) que afetam o metabolismo das plantas através da oxidação de membranas lipídicas, proteínas e ácidos nucleicos, além de inibir processos fisiológicos como fotossíntese e respiração (SCANDALIOS, 2005). Enzimas como a catalase (CAT) e ascorbato peroxidase (APX), dentre outras, além de compostos não enzimáticos, compõem sistemas antioxidantes efetivos na proteção contra o estresse oxidativo (HALLIWELL e GUTTERIDGE, 2006).

Diante do exposto, é extremamente relevante que as pesquisas enfatizem cada vez mais as respostas dos efeitos associados a estresses nas plantas, considerando que o efeito de um único estresse não explica a real complexidade dos múltiplos estresses de ocorrência simultânea na natureza (MITTLER, 2006). Assim, devido à importância econômica e social da cana-de-açúcar, a compreensão dessas interações biótica e abiótica no desenvolvimento da cultura contribuirá significativamente para obtenção de maior produtividade agrícola.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1. Objetivo geral

Estudar em casa de vegetação o comportamento da cana-de-açúcar em relação ao déficit hídrico e parasitismo de nematoides formadores de galhas.

### 2.2. Objetivos específicos

Avaliar o efeito da intensidade do déficit hídrico e parasitismo de *Meloidogyne incognita* no crescimento da cana-de-açúcar variedade RB92579 e atividade das enzimas catalase e ascorbato peroxidase nos estádios iniciais de desenvolvimento, 0 a 30, 30 a 60 e 60 a 90 dias após aclimação das plântulas em casa de vegetação;

Estudar a interação entre a intensidade, duração do déficit hídrico e parasitismo de *M. incognita* no desenvolvimento das plantas e comportamento da atividade das enzimas catalase e ascorbato peroxidase;

Analisar a influência conjunta da densidade populacional de *M. incognita* e o déficit hídrico no desenvolvimento e comportamento da planta e atividade das enzimas catalase e ascorbato peroxidase;

Comparar os efeitos das espécies de *M. incognita* e *M. javanica* sobre o desenvolvimento das plantas e atividade da catalase e ascorbato peroxidase em condições de déficit hídrico.

### 3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1. Aspectos gerais da cana-de-açúcar

A cana-de-açúcar (*Saccharum* sp. L.) pertence a uma das maiores famílias de angiospermas, a Poaceae, a qual inclui espécies importantes na alimentação humana (SOUZA et al., 2005). A principal espécie cultivada foi *Saccharum officinarum* L., mas os genótipos desta espécie passaram a ter problemas de adaptação ecológica e susceptibilidade a pragas agrícolas, provocando severas reduções na produtividade (TERAMOTO, 2003).

Atualmente, a cultura da cana-de-açúcar no mundo, e no Brasil, é constituída por híbridos provenientes do cruzamento entre as espécies do gênero *Saccharum* resultado da hibridação natural entre *Saccharum officinarum* e *Saccharum barberi* (DANIELS e ROACH, 1987). As espécies do gênero *Saccharum* apresentam ampla escala de adaptação sendo cultivada principalmente em regiões de clima tropical, quente e úmido situadas entre os paralelos 35°N e 35°S (SEGATO et al., 2006). Devido à ampla faixa, a cana é submetida a diferentes tipos de solos, sob interferência de diversos fatores abióticos e bióticos, evidenciando distintos níveis de produção (MAULE et al., 2001).

No Brasil, a região Nordeste é considerada tradicional no plantio da cana-de-açúcar, mas a produtividade (ton/ha) é baixa em relação às outras unidades produtoras. Isso se deve à baixa precipitação pluvial, distribuídos de forma irregular (SEGATO et al., 2006) e aos problemas fitossanitários, em particular as nematoses que estão amplamente disseminados nesta região.

Em virtude de apresentar ciclo semiperene, a cultura da cana-de-açúcar é influenciada por grandes variações climáticas durante o ano, o que interfere na produção, maturação e qualidade da cultura. Para manter índices de produção satisfatórios, a cultura necessita de período quente e úmido, com intensa radiação solar durante o estágio vegetativo, seguido de período seco na fase de maturação e colheita (ALFONSI et al., 1987).

Cultura de climas tropicais, a cana desenvolve-se bem em temperatura entre 19 a 32°C (MARQUES et al., 2001). Entretanto, temperaturas abaixo de 25°C e acima de 35°C são prejudiciais ao desenvolvimento da planta. Os atributos edáficos satisfatórios às exigências da cana-de-açúcar são: solos arejados, profundos, boa fertilidade e pH variando de 5,0 a 6,5 (MARQUES et al., 2001).

A planta é detentora de metabolismo C<sub>4</sub>, a qual minimiza a transpiração (utiliza mais eficientemente a água) e maximiza a utilização do gás carbônico (CO<sub>2</sub>) e a fotossíntese, sendo, portanto, altamente eficiente na conversão de energia luminosa em energia química. Embora adaptada às condições de altas temperaturas e baixos potenciais hídricos, a cultura necessita de grandes quantidades de água, uma vez que para a produção de uma parte de matéria seca são necessárias 250 partes de água (ENDRES et al., 2010).

Como características, a cultura produz muitos perfilhos, principalmente na fase inicial do desenvolvimento, sendo que a redução do perfilhamento inicia-se com a aceleração do crescimento do colmo principal. Os colmos são compostos por nós separados por entrenós, os entrenós são responsáveis pelo armazenamento da sacarose nas células do parênquima e tecido vascular, sendo o colmo o principal órgão de armazenamento dos fotoassimilados (OLIVEIRA et al., 2005; TEJERA et al., 2007). Rente ao solo, a cana-de-açúcar possui estrutura do tipo rizoma, responsável pela brotação toda vez que a parte aérea é cortada. Essa nova brotação é genericamente denominada soqueira (MATSUOKA, 1996). O sistema radicular é muito amplo e bem desenvolvido, do tipo fasciculado (BEAUCLAIR; SCARPARI, 2007).

O número de colmos por planta é inerente a cada genótipo, assim como a altura e o diâmetro do colmo, o comprimento e a largura das folhas e a arquitetura da parte aérea. A expressão destes caracteres é muito influenciada pelo clima, pelo manejo e pelas práticas culturais utilizadas (RODRIGUES, 1995).

O ciclo vegetativo pode ser dividido em quatro estádios: o primeiro estágio (um mês) caracteriza-se pela germinação e emergência da gema. No segundo estágio (dois meses), ocorre a brotação e o estabelecimento da arquitetura

foliar. O estágio subsequente é caracterizado pelo grande crescimento da planta (sete meses) e, o quarto e último estágio (dois meses), maturação ou amadurecimento, dá-se quando os colmos estão no ponto de colheita (GASCHO, 1985).

Períodos de deficiência hídrica podem ocorrer durante todo ciclo da cultura, mas seu efeito sobre a produtividade de cana-de-açúcar varia em função da interação entre época do ano em que ocorrem e a fase do ciclo fenológico da cultura (THOMPSON, 1976). Dentre os estágios de desenvolvimento, os três iniciais demandam muita água (DILLEWIJN, 1952). Estudando o período crítico de deficiência hídrica para cana-planta, Rosenfeld (1989) concluiu que o início do estágio de máximo desenvolvimento da planta é o período mais sensível a déficit hídrico. Ramesh (2000), estudando a resposta da cana-de-açúcar à seca em diferentes épocas de crescimento da cultura, verificou que na fase inicial de desenvolvimento, compreendendo as fases de emergência, perfilhamento e estabelecimento da cultura, é manifestada maior sensibilidade a esta condição, influenciando a fase de maturação.

### **3.2. Estresse**

O estresse é considerado um fator externo que exerce influência negativa sobre a planta, proporcionando mudanças e respostas em todos os níveis funcionais do organismo, as quais são reversíveis a princípio, mas podem se tornar permanentes (TAIZ e ZEIGER, 2009).

De acordo com Larcher (2004), um organismo vegetal atravessa uma sucessão de fases características em resposta a estresses: a fase de alarme, em que ocorre a perda de estabilidade das estruturas e das reações que mantêm as funções vitais (processos bioquímicos e metabolismo de produção de energia), na qual também a planta pode reagir e se restituir do estresse imposto; a fase de resistência, a qual é aumentada sob estresse contínuo, iniciando um processo de rusticidade, no qual, dependendo da duração, a planta pode apresentar adaptação através de ajustamento osmótico; e a fase de exaustão, que ocorre quando o estresse é muito demorado ou sua

intensidade aumenta rapidamente, deixando a planta suscetível às infecções que ocorrem como conseqüência da diminuição das defesas do hospedeiro, levando ao colapso prematuro.

Em condições naturais e agricultáveis, as plantas estão freqüentemente expostas aos diversos estresses que limitam o desenvolvimento e as chances de sobrevivência, dentre os diversos fatores abióticos e bióticos que influenciam o crescimento e o desenvolvimento vegetal, o déficit hídrico e o estresse decorrente do ataque de fitonematoides destacam-se pelos danos que causam na produção agrícola da cana-de-açúcar.

### **3.2.1. Déficit hídrico**

Uma planta pode submeter-se a vários tipos de estresses em seu ambiente. No que se refere à disponibilidade hídrica, a planta pode sofrer injúrias tanto por excesso como por falta de água, mas como o estresse por deficiência é mais comum na natureza, esse termo tem sido abreviado para estresse hídrico ou déficit hídrico, gerando conflito no modo de utilização (ANGELOCCI, 2002). Logo, deficiência hídrica pode ser definida como todo o conteúdo de água de um tecido ou célula que está abaixo do conteúdo de água mais alto exibido no estado de maior hidratação (TAIZ e ZEIGER, 2009).

A água é uma das substâncias essenciais à vida de um vegetal, pois está relacionada com várias funções como estrutura, crescimento, transporte e metabolismo. É a substância mais abundante nos tecidos vegetais, formando um meio contínuo entre as células, através dos plasmodesmas, atuando na absorção de calor e controle da temperatura interna. Além disso, permite o desenvolvimento da pressão de turgescência, responsável pela rigidez celular e de micro movimentos nas plantas, provocados pela entrada e saída de água de certos tecidos ou células (MENESES et al., 2006).

A deficiência hídrica inicia-se a partir de uma complexa via de respostas, começando com a percepção do estresse pela planta, a partir da qual ocorre ativação de vias de transdução de sinais que acarreta na síntese de proteínas e outros compostos (SHULAEV et al., 2008), o qual desencadeia uma

seqüência de eventos moleculares, finalizando com várias respostas fisiológicas, metabólicas e de desenvolvimento. Dessa forma, as plantas podem apresentar tolerância ou resistência (quando sobrevivem às adversidades) ou suscetibilidade (quando sofre redução em seu crescimento, podendo chegar à morte) às circunstâncias ambientais limitantes (CAMBRAIA, 2005). Mudança no potencial osmótico, através da membrana plasmática, pode ser a maior causa de resposta ao estresse hídrico a nível molecular (BRAY, 1997).

A capacidade da planta em responder e sobreviver ao déficit hídrico depende dos mecanismos expressados pela planta inteira. As respostas podem ocorrer dentro de poucos segundos, como uma mudança no estado de fosforilação de uma proteína, ou dentro de minutos e/ou horas, como uma mudança na expressão gênica, variando de acordo com a intensidade, com o tempo de estresse, com a interação com outros tipos de estresse, com o estágio de desenvolvimento e o genótipo (BRAY, 1997).

Como mecanismos de tolerância à seca, as plantas possuem capacidade de manterem o teor de umidade em seus tecidos em nível próximo aos das plantas não estressadas. Para isso, em curto prazo, devido a síntese do fitohormônio ácido abscísico (ABA) no sistema radicular, fecham seus estômatos nas horas mais quentes do dia, ou, em longo prazo, aumentam a razão raiz/parte aérea, a capacidade de acumular água nos tecidos e o espessamento da cutícula (TAIZ e ZEIGER, 2009). O fechamento estomático pode ser eficiente em curta duração (KRAMER e BOYER, 1995), todavia, promove redução na concentração interna de CO<sub>2</sub>, receptor de elétrons no ciclo de Calvin, ocasionando a fotoinibição. A fotoinibição é a redução no potencial fotossintético quando a atividade dos fotossistemas é máxima, produzindo poder redutor (NADPH) e energia química (ATP) que não são consumidos pelo ciclo de Calvin, devido à baixa disponibilidade de CO<sub>2</sub> (LUDLOW e POWLES, 1988). Como não ocorre a transferência dos elétrons provenientes da fotólise da água, estes levam à formação de espécies reativas de oxigênio (EROs), que oxidam inicialmente compostos dos fotossistemas (PS), como centros de reação do PSII e proteína D1, e também diversas moléculas biológicas (MAXWELL e JOHNSON, 2000).



A taxa fotossintética é uma das variáveis metabólicas que apresentam maior sensibilidade à seca. Porém, as plantas podem continuar realizando fotossíntese por tempo superior àquele destinado ao crescimento em expansão, pois o estômato responde mais lentamente no início do estresse hídrico que o turgor celular, responsável pelo alongamento de células que causa à expansão foliar (INMAN-BAMBER; SMITH, 2005).

Com a diminuição da transpiração em casos de déficit hídrico severo, as plantas não conseguem manter o equilíbrio entre a captação e a perda de água. Neste caso, a redução no potencial hídrico dos tecidos vegetais torna-se inevitável. Novas estratégias que evitem a dessecação celular sejam impedindo o efluxo ou promovendo o influxo de água, são necessárias. O primeiro caso ocorre devido ao espessamento da parede celular e, o segundo é resultado do acúmulo de solutos na célula que reduz o potencial osmótico em processo denominado ajustamento osmótico (ZHANG et al., 1999), auxiliando na manutenção do turgor à medida que a planta experimenta o déficit hídrico (HALLIWELL e GUTTERIDGE, 2006).

Outro efeito bastante visível da restrição hídrica nas plantas é a redução no crescimento, causado principalmente pela inibição do alongamento de haste e folhas quando o potencial hídrico é reduzido a um ponto crítico. No entanto, os órgãos que não estão em crescimento, como folhas maduras, são também fortemente afetados por uma inibição das trocas gasosas, fotossíntese e modificações metabólicas, freqüentemente associadas à osmorregulação (SILVA et al., 2008).

Na cana-de-açúcar, os principais efeitos causados pelo estresse hídrico são: a redução no crescimento da parte aérea, sobretudo a produção de folhas, acelerando a senescência foliar e da planta como um todo, podendo, ainda, levar a uma redução na interceptação da radiação, na eficiência do uso de água e na fotossíntese, e o desenvolvimento diferencial do sistema radicular, cuja distribuição está intimamente ligada às condições de umidade do solo. Além destes, o fechamento estomático, padrões de alocação de massa seca, produção de enzimas antioxidantes e ajustamento osmótico também são mecanismos influenciados pela dessecação do solo (OLIVEIRA et

al., 2007). Inman-Bamber e Smit (2005) relatam que as folhas tendem a se acumular no cartucho durante períodos de estresse hídrico e boa parte dessas folhas retoma novamente o crescimento quando passado o período de estresse. Para Rosolem (1994), quem define a profundidade das raízes da cana-de-açúcar é a água, relatando que a sobrevivência das raízes varia durante o ano agrícola em função das chuvas. Quando ocorre veranico e a superfície seca, aumentam então as raízes em profundidade, e estas só ficam vivas onde existe umidade.

Nem sempre o estresse hídrico em cana está relacionado a efeitos negativos. Rodrigues (1995) afirma que a deficiência hídrica durante o ciclo indutivo atrasa e reduz o florescimento. Desse modo, é recomendável interromper a irrigação na fase de maturação da cultura, em torno de três meses antes da colheita, de modo a evitar o florescimento e seus efeitos indesejáveis à qualidade industrial da matéria prima para a fabricação de açúcar e álcool.

Como resultado dos efeitos negativos do estresse hídrico, vale destacar as perdas de produtividade que ultrapassam 80% em diversas culturas agrícolas. Na cana-de-açúcar, os danos causados pela deficiência hídrica são mais expressivos, principalmente, no estágio inicial do desenvolvimento da planta. Somado a isto, observa-se diminuição na produtividade e mortalidade das soqueiras (SILVA et al., 2008).

Muitos pesquisadores têm investigado a cana em condições de deficiência hídrica, no sentido de desvendar as alterações fisiológicas, bioquímicas e moleculares apresentadas sob condições de seca severa (HEMEPRABHA et al., 2004; ZHANG et al., 2006; GRAÇA et al., 2010).

### **3.2.2. Estresse biótico originado por nematoides de galhas**

A cultura da cana-de-açúcar é suscetível a várias espécies de nematoides nas diferentes regiões produtoras do mundo, e os danos à produtividade são crescentes em função da monocultura e intenso uso do solo. As perdas

causadas por esses patógenos à cultura, em termos mundiais, foram estimadas em 15,3% (SASSER e FRECKMAN, 1987).

Embora as principais espécies que causam danos à cana-de-açúcar possam variar de região para região, *Pratylenchus zae* Graham, 1951, *Meloidogyne javanica* (Treub, 1885) Chitwood, 1949 e *M. incognita* (Kofoid & White 1919) Chitwood, 1949 são consideradas as espécies-chaves para a cultura (CADET e SPAULL, 2005). De acordo com Dinardo-Miranda (2005), essas espécies são responsáveis por prejuízos na ordem de 20 a 50% nos canaviais.

Os danos provocados pelos nematoides dependem do sucesso da relação hospedeiro – nematoide e requer sinais moleculares para transformar direta ou indiretamente as células do tecido vascular das raízes das plantas suscetíveis em elaborados sítios de alimentação, chamados células gigantes. Hipertrofia das células do córtex e hiperplasia das células vizinhas leva ao engrossamento na região em que o parasitismo ocorre, dando origem às galhas na raiz, primeiro sintoma da infecção (HUANG et al., 2005).

Como qualquer outro nematoide parasita de plantas, os nematoides formadores de galhas possuem dentre as suas adaptações morfológicas, um estilete e um esôfago conectado a três glândulas esofágicas uninucleadas, uma dorsal e duas subventrais. O estilete é utilizado pelo nematoide para penetrar na raiz das plantas e perfurar a parede celular das células do hospedeiro, injetando as secreções das glândulas esofagianas, transformando essas células em verdadeiros sítios de alimentação de onde retiram os nutrientes (ABAD e WILLIAMSON, 2010).

As células gigantes e as galhas são respostas distintas a um mesmo evento, qual seja a injeção de secreções produzidas pelas glândulas esofagianas do nematoide em células das raízes da planta hospedeira. As células gigantes são essenciais ao desenvolvimento e a reprodução do parasito, porém as galhas não. As galhas constituem apenas bons indicadores da extensão das reações hiperplástica e hipertrófica dos tecidos afetados pelas secreções, podendo ser formadas bem antes das células gigantes ou mesmo na ausência destas (FERRAZ, 2001).

Da íntima associação entre o parasita (*Meloidogyne* spp.) e a planta hospedeira, resultam fêmeas em forma de saco, que perdem a mobilidade e tornam-se verdadeiras máquinas de produzir ovos (TRUDGILL, 1991). As espécies *M. javanica* e *M. incognita* produzem, em média, 400 ovos ao longo de período variável de quatro a seis semanas, sob condições favoráveis de temperatura, 15 a 30 °C (FERRAZ, 2001). Antes de atingir a diferenciação sexual, os nematoides formadores de galhas passam por uma série de transformações denominadas de ecdises. No ovo o juvenil de primeiro estágio (J1) sofre ecdise, tornando-se juvenil de segundo estágio (J2). Após a eclosão o J2 move-se no solo até encontrar a raiz da planta e penetrá-la (FERRAZ, 2001). Dentro da raiz o J2 migra para a região dos vasos e torna-se sedentário, começando a alimentar-se das células em volta da sua região labial, iniciando a formação das células de alimentação. Estabelecidos os sítios de alimentação, o nematoide continua seu desenvolvimento, sofrendo mais três ecdises até atingir a fase adulta de macho ou fêmea (FERRAZ, 2001).

Ao penetrar e desenvolver no interior das raízes, os nematoides impedem o fluxo regular de água e nutrientes por toda a extensão da planta. Com a indução e a formação de sítios de alimentação nos elementos vasculares, ocorrem modificações celulares e perdas das raízes, resultando em redução do tamanho e eficiência do sistema radicular (ZAMBIASI e BELOT, 2010). Estas modificações ocasionam sintomas reflexos, como diminuição na área foliar, deficiência mineral e murcha temporária durante os períodos mais quentes do dia (GOMES e CAMPOS, 2003), predispondo as plantas ao ataque de outras pragas e doenças (ABAWI e CHEN, 1998).

Praticamente não há no mercado material genético com resistência aos nematoides das galhas. Apenas a variedade SP70-1143 foi relatada com esta característica (NOVARETTI et al., 1985). Por outro lado, a suscetibilidade das variedades de cana-de-açúcar a estes patógenos já foi comprovada por diversos pesquisadores (NOVARETTI et al., 1998; DINARDO-MIRANDA, 1999; MOURA et al., 2000; CHAVES et al., 2007).

As perdas provocadas variam em função da espécie e densidade do nematoide no solo, idade e suscetibilidade da cultura, intensidade dos

estresses impostos, textura e tipo de solo. Em geral, os danos maiores ocorrem em solos arenosos (SINCLAIR e BACKMANN, 1993). De maneira geral, no campo, as perdas são basicamente devidas à redução da vida útil da planta e à queda brusca na produção (COHN e DUNCAN, 1990). Em viveiros, as mudas perdem vigor e o crescimento é retardado (COHN e DUNCAN, 1990).

### **3.3. Espécies reativas de oxigênio e o estresse oxidativo**

O oxigênio molecular ( $O_2$ ) é muito importante para a existência dos organismos aeróbios, por ser o acceptor final de elétrons no processo respiratório. Em seu estado natural o  $O_2$  é pouco reativo, mas tem capacidade de originar estados intermediários excitados e altamente reativos durante sua redução a  $H_2O$ , conhecidos por Espécies Reativas de Oxigênio - EROs (SCANDALIOS, 1993).

As principais formas de EROs são: radical superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ), peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ), radical hidroxila ( $OH^{\cdot}$ ) e oxigênio singleto ( $^1O_2$ ). O radical superóxido, radical hidroxila são formados a partir da adição seqüencial de elétrons ao  $O_2$ , enquanto o radical oxigênio singleto é gerado a partir de uma desestabilização nas camadas de elétrons do  $O_2$  (HAGAR et al., 1996). Especial atenção deve ser dada ao  $H_2O_2$  que, apesar de ser moderadamente reativa, tem uma vida relativamente longa podendo difundir-se a distâncias de seu local de produção, e quando na presença de metais redutores como  $Fe^{+2}$  é formado no PSII via reação de Fenton ou Haber-Weiss o radical hidroxil ( $OH^{\cdot}$ ), considerado o radical mais reativo entre as EROs podendo reagir com integrantes de todos os compartimentos celulares (MOLLER et al., 2007). Os cloroplastos, especificamente os tilacóides, são os principais locais de produção do  $H_2O_2$ , através da dismutação do  $O_2^{\cdot-}$ , não diretamente através da redução de dois elétrons do  $O_2$  (APEL e HIRT, 2004).

O  $H_2O_2$  é também um produto das reações de fotorrespiração peroxissomal (SCANDALIOS, 1993), fenômeno muito comum em plantas  $C_3$ . Na fotorrespiração é formado  $H_2O_2$  como consequência da oxidação do glicolato, catalizada pela enzima glicolato-oxidase. A fotorrespiração resulta da

atividade oxigenásica da Ribulose-1,5–bifosfato (Rubisco), produzindo o ácido 2-fosfoglicólico. Neste processo, o ácido 2-fosfoglicólico é hidrolisado a glicolato no estroma e transportado para os peroxissomas, onde é oxidado a glioxilato pela enzima glicolato-oxidase, com formação de  $H_2O_2$  (TAIZ e ZEIGER, 2009).

O efeito exercido pela EROs em células varia de acordo com suas concentrações, podendo ter efeito sinalizador, quando em baixas concentrações, ou destrutivo (GECHEV, 2006). Se ocorrer um efeito destrutivo, a severidade do estresse oxidativo depende da capacidade das plantas produzirem mecanismos de defesa conhecido como sistema antioxidante (NOCTOR e FOYER, 1998).

Em condições normais de crescimento, as plantas produzem EROs as quais são provenientes, dentre outras fontes, de processos ocorrentes nos cloroplastos e da respiração mitocondrial, porém mantidos em níveis basais através de sistemas antioxidantes de defesa (DOUDICAN et al., 2005). Nessas condições podem agir como moléculas sinalizadoras, para o controle de processos como mecanismo de defesa após ataque de patógenos, morte celular programada e comportamento estomatal (LOW e MÉRIDA, 1996; APEL e HIRT, 2004). Portanto, as EROs podem ser vistas tanto como indicadores celulares de estresse como mensageiros secundários envolvidos na via de transdução de sinais na resposta ao estresse (MITTLER, 2002).

Em condições adversas, como extremos hídricos, metais pesados, estresse mecânico, baixa disponibilidade de nutrientes, ataque de patógenos, entre outros, há um aumento na produção celular de EROs em plantas. Quando esse aumento é maior que a capacidade antioxidante da célula, caracteriza-se o processo de estresse oxidativo (MOLLER et al., 2007).

Sob efeito de estresse resultante da deficiência de umidade no solo, muitas vezes intensificado pelo parasitismo no sistema radicular por fitopatógenos, como os fitonematoides formadores de galhas, as taxas fotossintéticas sofrem reduções devidas às fortes limitações bioquímicas no aparato de fixação do carbono, em especial devido a baixa disponibilidade de  $CO_2$  pelo fechamento estomático em defesa a dessecação dos órgãos da

planta (PINHEIRO et al., 2004). Dessa forma, o contínuo transporte de elétrons entre os fotossistemas gera um excesso de energia na forma de poder redutor (NADPH), o qual deixa de ser consumido de maneira adequada pela fase bioquímica da fotossíntese sob condições de déficit hídrico. Como consequência disso, a cadeia de transporte de elétrons permanece reduzida por um tempo maior e os elétrons provenientes da contínua absorção de energia pelos fotossistemas encontram-se potencialmente livres para reagir com o oxigênio molecular livre no estroma, que resulta na produção de EROs, tais como radical superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ) e peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) (MITTLER, 2002).

O fechamento dos estômatos é uma das primeiras respostas de tolerância à seca. Isso ocorre porque, com um ligeiro secamento do solo, em determinadas plantas, há aumento na concentração do ácido abscísico (ABA) no xilema, que promove o fechamento estomático, fazendo com que a planta perca menos água pela transpiração (CHAVES et al., 2008). No entanto, o fechamento estomático também restringe a troca de gases entre o interior da folha e a atmosfera, causando diminuição da assimilação de  $CO_2$  e da fotossíntese, da produção de fotoassimilados e do acúmulo de massa e sacarose (INMAN-BAMBER e SMITH, 2005; GAVA et al., 2010; SILVA e PINCELLI, 2010).

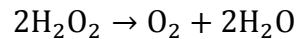
As EROs geradas durante o estresse hídrico são extremamente reativas às proteínas, DNA, RNA e, principalmente, aos lipídios de membrana, ocasionando a perda de seletividade e a capacidade de compartimentalização celular, afetando a atividade respiratória nas mitocôndrias e a fotossíntese nos cloroplastos. O efeito negativo da ação das EROs é responsável pela ocorrência de danos fotoinibitórios, em plantas sob condições de seca (PITZSCHKE et al. 2006), que se manifesta nos tecidos das plantas em forma de necrose e/ou clorose, devido à degradação das clorofilas (KARPINSKI et al., 2002).

Para aliviar os danos causados pelas EROs, as plantas apresentam uma série de mecanismos de defesa, tanto de origem enzimática como não enzimática, que se encontram em diferentes compartimentos celulares

(cloroplastos, mitocôndrias, peroxissomos). Nos enzimáticos estão incluídas, entre outras enzimas, a catalase (CAT) e a enzima do ciclo ascorbato-glutationa, ascorbato peroxidase (APX), que detoxificam o  $H_2O_2$  produzido pela enzima superóxido dismutase (SOD) formando água e oxigênio (MITTLER, 2002). Como o estresse oxidativo compreende uma complexa série de fenômenos, o aumento simultâneo em diversos componentes do sistema de defesa antioxidante se faz necessário a fim de se obter maior tolerância ao estresse (RADETSKI et al., 2000).

### 3.3.1. Sistema antioxidante contra $H_2O_2$

A catalase (CAT) é uma enzima oxirredutase, tetramérica Fe porfirina, constituídas por quatro grupos heme sendo largamente, mas não exclusivamente, encontrado nos peroxissomos de folhas (SCANDALIOS, 2005). A sua atividade promove a eliminação de grandes quantidades de  $H_2O_2$ , ao catalisar a reação (Figura1):



A CAT apresenta níveis catalíticos bastante elevados, na ordem dos mM, o que sugere que a sua ação esteja relacionada com a eliminação de excesso de  $H_2O_2$  acumulado em situações de estresse (MITTLER, 2002). No entanto, possui baixa afinidade para o substrato na medida em que são necessárias duas moléculas de  $H_2O_2$  para o centro ativo da enzima (GRATÃO et al., 2005). Além disso, a CAT protege a enzima superóxido dismutase da inativação por altos níveis de  $H_2O_2$  (FRIDOVICH, 1995).

As evidências sugerem que a CAT utiliza mecanismo de dois estádios tanto nas reações peroxidativas como nas catalíticas. No primeiro estágio o ferro do grupo heme da CAT interage com o  $H_2O_2$  para formar um peróxido de ferro rico em oxigênio. Este composto intermediário é denominado de componente I. A baixas concentrações de  $H_2O_2$  ( $< 1 \mu M$ ), o componente I pode ser reduzido por uma variedade de doadores de hidrogênio (por exemplo etanol e ácido ascórbico). A elevadas concentrações de  $H_2O_2$ , o componente I reage



com uma segunda molécula de  $H_2O_2$  para produzir água e uma molécula de oxigênio (SCANDALIOS, 2005).

Existem três tipos distintos de isoenzimas de CAT identificadas ( $CAT_1$ ,  $CAT_2$ ,  $CAT_3$ ) (SCANDALIOS, 2005). Em plantas a  $CAT_1$  é responsável por 80% da atividade total desta enzima e está localizada no interior dos peroxissomos, sendo responsável pela transformação do  $H_2O_2$  produzido na fotorrespiração em  $H_2O$  e  $O_2$  (WILLEKENS et al., 1997). A  $CAT_2$  é encontrada nos tecidos vasculares. A  $CAT_3$  está localizada no mesófilo das folhas (SCANDALIOS, 1993). Em plantas, as CAT concentram-se no citoplasma, principalmente nos peroxissomos de folhas e glioxissomos de tecidos que armazenam lipídeos (IWAMOTO et al., 1998).

De acordo com Foyer e Noctor (2003) a CAT é essencial para destruição de  $H_2O_2$  formado na fotorrespiração realizada em plantas  $C_3$ . Em plantas  $C_4$  onde a fotorrespiração é reduzida a atividade da CAT é praticamente inexpressiva.

Alguns trabalhos evidenciaram a variabilidade e complexidade na atividade da catalase em plantas sob estresse hídrico. Baisak et al. (1994) verificaram aumento acentuado na atividade da catalase em plantas de trigo, sendo que depois de algum tempo de exposição à seca houve redução. Em plantas de milho sob déficit hídrico verificou aumento na atividade dessa enzima (JIANG e ZHANG, 2002). Vários trabalhos revelam aumento na atividade da CAT sob déficit hídrico em trigo e milho (NAYYAR e GUPTA, 2006), arroz (REDDY et al., 2004). Em cana-de-açúcar sob condições de seca o efeito das enzimas antioxidantes é pouco conhecido.

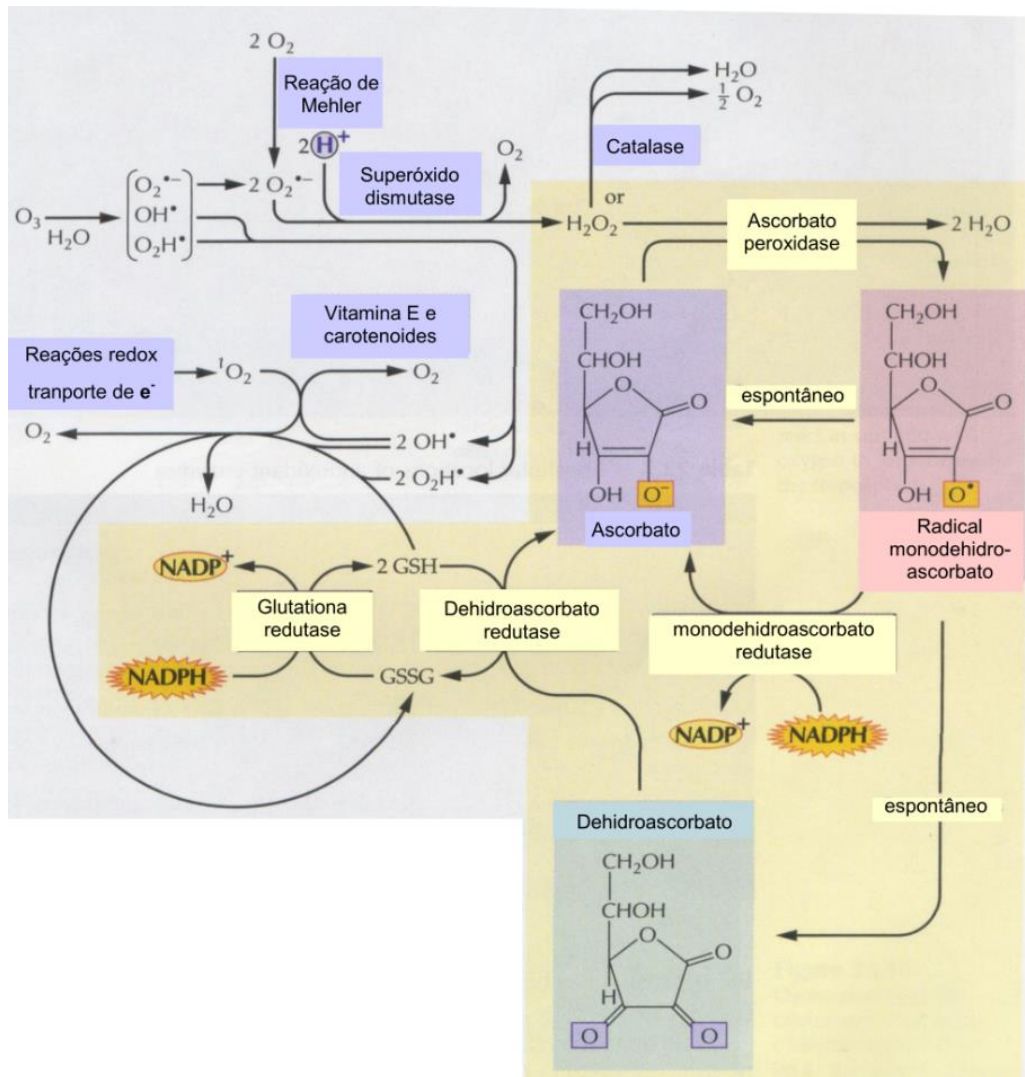


Figura 1 - Sistema antioxidante de defesa composto por componentes enzimáticos e não enzimáticos. Em amarelo, o ciclo ascorbato-glutationa. Adaptado de Buchanan et al. (2000).

A ascorbato peroxidase (APX) é uma heme peroxidase (ASADA, 1999) responsável pela conversão do  $H_2O_2$  em  $H_2O$  e  $O_2$  (Figura 1).

A APX e a CAT pertencem a duas diferentes classes de enzimas de limpeza do  $H_2O_2$ , devido às suas diferentes afinidades. Então, enquanto a APX seria responsável pela fina regulação da resposta às EROs, a CAT seria responsável pela remoção do excesso gerado durante o estresse (MITTLER, 2002). Porém deve-se levar em consideração a importância desta enzima, pois em situações de estresse oxidativo, a APX atua em compartimentos celulares onde a CAT não está presente (ASADA, 1999). Mittler (2002) sugere que a

APX poderá ser responsável pelo controle dos níveis de EROs para efeitos de sinalização molecular uma vez que permite o controle de pequenas quantidades de  $H_2O_2$ , na ordem dos  $\mu M$ , e em localizações mais específicas do que a CAT, como referido anteriormente.

A APX é regulada por sinal redox e peróxido de hidrogênio (SHARMA e DUBEY, 2004). A APX apresenta alta especificidade por ascorbato como substrato redutor e catalisa a redução do peróxido de hidrogênio em água.

O processo de detoxificação do peróxido de hidrogênio catalisado pela enzima ascorbato peroxidase é acompanhado por uma série de reações que, em conjunto, formam uma das vias antioxidantes mais importantes presentes nas plantas, o ciclo do ascorbato-glutationa (Figura 1). Neste ciclo, o ascorbato e a glutathione são utilizados como fonte redutora para a detoxificação do peróxido de hidrogênio e os compostos oxidados são recuperados por várias reações, à custa de ATP e NAD(P)H. Desta maneira, o radical monodehidroascorbato (MDHA), gerado pela oxidação do ascorbato pela APX durante a detoxificação do peróxido de hidrogênio é regenerado por duas vias: na primeira pode ser convertido à ascorbato pela ação da enzima monodehidroascorbato redutase (MDHAR) utilizando NAD(P)H ou, na segunda via, devido à sua instabilidade, ele pode gerar o radical dehidroascorbato (DHA) em uma reação não enzimática. Em seguida, o DHA é regenerado a ascorbato pela enzima dehidroascorbato redutase (DHAR) utilizando a glutathione como fonte redutora. Por fim, a glutathione oxidada é recuperada pela ação da glutathione redutase (GR), às custas de NAD(P)H (TEIXEIRA, 2005).

O principal papel do ciclo do ascorbato-glutationa é a proteção dos compartimentos celulares contra os danos oxidativos causados pelas EROs. Nas plantas, o ciclo do ascorbato-glutationa é particularmente importante nos cloroplastos, visto que estes são importantes fontes produtoras de peróxido de hidrogênio. Este ciclo também opera no citosol, no peroxissomo e nas mitocôndrias (JIMÉNEZ et al., 1997).

Vários são os trabalhos que evidenciam a importância da APX no controle do potencial redox celular, através do aumento da atividade dessa

enzima em milho (JIANG e ZHANG, 2002) e soja (RIEKERT VAN HEERDEN e KRUGER, 2002).

#### 4. Referências Bibliográficas

ABAD, P., WILLIAMSON, M. V. Plant Nematode Interaction: A Sophisticated Dialogue. **Advances in Botanical Research**, v. 53, p. 147-192, 2010.

ABAWI, G. S.; CHEN, J. Concomitant pathogen and pest interactions. In: BARKER, K. R.; PEDERSON, G. A.; WINDHAN, G. L. **Plant and nematode interactions**. Madison: American Society of Agronomy, Crop Science Society of America, Soil Science Society of America, 1998. p. 135-158.

ALFONSI, R. R. et al. Condições climáticas para a cana-de-açúcar. In: PARANHOS, S. B. (ed.). **Cana-de-açúcar: Cultivo e utilização**. Campinas: Fundação Cargill, 1987. v.1, p. 42-55.

ANGELOCCI, L. R. **Água na planta e trocas gasosas/energéticas com a atmosfera: Introdução ao tratamento biofísico**. 1.ed. Piracicaba: Autor, 2002. 272p.

APEL, K.; HIRT, H. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. **Annual Review of Plant Biology**, v. 55, p. 373–399, 2004.

ASADA, K. The water cycle in chloroplasts: scavenging of active oxygens and dissipation of excess photons. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v. 50, p. 601-639, 1999.

BAISAK, R. et al. Alterations in the activities of active oxygen scavenging enzymes of wheat leaves subject to water stress. **Plant and Cell Physiology**, v. 35, p. 489-495, 1994.

BARROS, A. C. B.; MOURA, R. M.; PEDROSA, E. M. R. Aplicação de Terbufos no controle de *Meloidogyne incognita* raça 1 e *Pratylenchus zeae* em cana-de-

açúcar. Parte 1 – Efeitos na cana planta. **Fitopatologia Brasileira**, v.24, p. 73-78, 2000.

BEAUCLAIR, E. G. F. de; SCARPARI, M. S. Noções fitotécnicas. In: RIPOLI, T. C. C.; RIPOLI, M. L. C.; CASAGRANDE, D. V.; IDE, B. Y. **Plantio de cana-de-açúcar: estado da arte**. Piracicaba: T.C.C. Ripoli, 2007. p. 65-73.

BRAY, E. A. Plant responses to water deficit. **Trends in Plant Science**, v. 2, p. 48-54, 1997.

BUCHANAN, B. B.; GRUÍSSEM, W.; JONES, R. L. Biochemistry & Molecular Biology of plants. **Rockville, American Society of Plant Physiologists**, 2000, 1367p.

CADET, P.; SPAULL, V. W. Nematode parasites of sugarcane. In: LUC, M.; SIKORA, R. A.; BRIDGE, J. **Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture**. Wallingford: C. A. B. International Institute of Parasitology, 2005. p. 645- 674.

CAMBRAIA, J. Aspectos bioquímicos, celulares e fisiológicos dos estresses nutricionais em plantas. In: NOGUEIRA, R. J. M. C.; ARAÚJO, E. DE L.; WILLADINO, L. G.; CAVALCANTE, U. M. T. (eds.). **Estresses ambientais: danos e benefícios em plantas**. Recife: UFRPE, 2005. cap. 2, p. 95-104.

CANAOESTE. **Setor sucroalcooleiro**. 2008. Disponível em: <[http://www.canaoeste.com.br/principal.php?ago=35&local=setor\\_canavieiro](http://www.canaoeste.com.br/principal.php?ago=35&local=setor_canavieiro)>. Acesso em: 16 dez. 2010.

CHAVES, A. et. al. Declínio severo do desenvolvimento da cana-de-açúcar em tabuleiros costeiros de Pernambuco. **Nematologia Brasileira**, v. 131, p. 10-12, 2007.

CHAVES, A.; PEDROSA, E. M. R.; MOURA, R. M. Efeitos da aplicação de terbufos sobre a densidade populacional de fitonematoides endoparasitos em cinco variedades de cana-de-açúcar no Nordeste. **Nematologia Brasileira**, v. 26, p. 167-176, 2002.

CHAVES, M. M.; FLEXAS, J.; PINHEIRO, C. Photosynthesis under drought and salt stress: Regulation mechanisms from whole plant to cell. **Annals of Botany**, v. 103, p. 551-560, 2008.

COHN, E.; DUNCAN, L. W. Nematode parasites of subtropical and tropical fruit trees. In: LUC, M.; SIKORA, R. A.; BRIDGE, J. (Eds.) **Plant-parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture**. Walingford, UK: CAB International, 1990. p. 347-362.

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. 2013. **Acompanhamento da safra brasileira: cana-de-açúcar**, 3º levantamento: dezembro. <[http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/13\\_12\\_20\\_10\\_56\\_08\\_bol\\_etim\\_cana\\_portugues\\_-\\_dez\\_2013\\_3o\\_lev\\_-\\_original.pdf](http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/13_12_20_10_56_08_bol_etim_cana_portugues_-_dez_2013_3o_lev_-_original.pdf) > Acesso em: 04 fev. 2014.

DANIELS, J.; ROACH, B. T. Taxonomy and evolution. In.: HEINZ, D. J. (Ed.) **Sugarcane improvement through breeding**. Amsterdam: Elsevier, 1987. p. 7-84.

DINARDO MIRANDA, L. L. Reação de variedades de cana-de-açúcar ao parasitismo de *Meloidogyne javanica* e *M. incognita*. **Nematologia Brasileira**, v. 23, p. 76-83, 1999.

DINARDO-MIRANDA, L. L. Manejo de fitonematoides em cana-de-açúcar. **Jornal Cana**, v. 5, p. 64-67, 2005.

DOUDICAN, N. A. et al. Oxidative DNA damage causes mitochondrial genomic instability in *Saccharomyces cerevisiae*. **Molecular and Cellular Biology**, v. 25, p. 5196-5204, 2005.

ENDRES, L. et al. Photosynthesis and water relations in brazilian sugarcane. **The Open Agriculture Journal**, v. 4, p. 31-37, 2010.

FERRAZ, L. C. C. B. As meloidogynoses da soja: passado, presente e futuro. In: FERRAZ, L. C. C. B.; ASMUS, G. L.; CARNEIRO, R. G.; MAZAFFERA, P.; SILVA, J. F. V. **Relações parasito-hospedeiro nas meloidogynoses da soja**. Londrina: Embrapa Soja, 2001.

FOYER, C. H.; NOCTOR, G. Redox sensing and signalling associated with reactive oxygen in chloroplasts, peroxisomes and mitochondria. **Physiologia Plantarum**, v. 119, p. 355-364, 2003.

FRIDOVICH, I. Superoxide radical and superoxide dismutases. **Annual Review of Biochemistry**, v. 27, p. 97-112, 1995.

GASCHO, G. J. Water-sugarcane relationships. **Sugar Journal**, v. 48, p. 11-17, 1985.

GAVA, G. J. C. et al. Interação entre água e nitrogênio na produtividade de cana-de-açúcar (*Saccharum* sp.). In: CRUSCIOL, C. A. C.; SILVA, M. de A.; ROSSETO, R.; SORATTO, R. P. **Tópicos em Ecofisiologia da Cana-de-Açúcar**. Botucatu: FEPAF, 2010. p. 49-66.

GECHEV, T. S. et al. Reactive oxygen species as signals that modulate plant stress responses and programmed cell death. **BioEssays**, v. 28, p. 1091-1101, 2006.

GOMES, C. B.; CAMPOS, A. D. Nematoides. In: RASEIRA, M. C. B.; QUEZADA, A. C. (Ed.) **Pêssego: produção**. Brasília: Serviço de Produção de Informações, 2003. p. 115-122 (Frutas do Brasil, 49).

GRAÇA, J. P. et al. Physiological parameters in sugarcane cultivars submitted to water deficit. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 22, p. 189-197, 2010.

GRATÃO, P. L. et al. Making the life of heavy metal stressed plants a little easier. **Functional Plant Biology**, v. 32, p. 481-494, 2005.

HAGAR, H.; UEDA, N.; SHAH, S. V. Role of reactive oxygen metabolites in DNA damage and cell death in chemical hypoxic injury to LLC-PK1 cells. **American Journal of Physiology**, v. 271, p. 209-215, 1996.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. **Free Radicals in Biology and Medicine**, 4 ed., Oxford: Clarendon Press, 2006.

HEMEPRABHA, G. et al. Responses of sugarcane genotypes to water deficit stress. **Sugar Tech**, v. 6, p.165-168, 2004.

HUANG, G. Z. et al. Two chorismate mutase genes from the root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. *Mol. Plant Pathology*, v. 6, p. 23–30, 2005.

INMAN-BAMBER, N. G.; SMITH, D. M. Water relations in sugarcane and response to water deficits. *Field Crops Research*, v. 92, p. 185-202, 2005.

IWAMOTO, M. et al. Evolutionary relationship of plant catalase genes inferred from exon-intron structures: isozyme divergence after the separation of monocots and dicots. *Theoretical and Applied Genetics*, v. 97, p. 9-19, 1998.

JIANG, M.; ZHANG, J. Water stress induced abscisic acid accumulation triggers the increased generation of reactive oxygen species and up-regulates the activities of antioxidant enzymes in maize leaves. *Journal of Experimental Botany*, v. 53, p. 2401-2410, 2002.

JIMÉNEZ, A. et al. Evidence for the presence of the ascorbate-glutathione cycle in mitochondria and peroxisomes of pea leaves. *Plant Physiology*, v. 114, p. 275-284, 1997.

KARPINSKI, S. et al. Photosynthetic carbon assimilation and associated metabolism in relation to water deficits in higher plants. *Plant, Cell and Environment*, v. 25, p. 275-294, 2002.

KRAMER, P. J.; BOYER, J. S. **Water relations of plants and soils**. San Diego: Academic Press, 1995. 495p.

LARCHER, W. **A Planta sob Estresse**. São Carlos: RiMa Artes e Textos, 2004. Ecofisiologia vegetal, p. 341-478.

LOW, P. S.; MÉRIDA, J. R. The oxidative burst in plant defense: Function and signal transduction. *Physiologia Plantarum*, v. 96, p. 533-542, 1996.

LUDLOW, M. M.; POWLES, S. B. Effects of photoinhibition induced by water stress on growth and yield of grain sorghum. *Australian Journal of Plant Physiology*, v. 15, p. 179-194, 1988.

MARQUES, M. O; MARQUES, T. A.; TASSO JÚNIOR, L. C. **Tecnologia do açúcar**: produção e industrialização da cana-de-açúcar. Jaboticabal: FUNEP, 2001. 166 p.



MATSUOKA, S. **Botânica e ecofisiologia da cana-de-açúcar** (Apostila). São Paulo: Curso de Qualificação em Plantas Industriais – Cana-de-açúcar, 1996. 93p.

MAULE, R. F.; MAZZA, A.; MARTHA JÚNIOR, G. B. Produtividade agrícola de cultivares de cana-de-açúcar em diferentes solos e épocas de colheita. **Scientia Agricola**, v. 58, p. 295-301, 2001.

MAXWELL, K.; JOHNSON, G. N. Chlorophyll fluorescence – a practical guide. **Journal of Experimental Botany**, v. 51, p. 659-668, 2000.

MENESES, C. H. S. G. et al. Aspectos genéticos e moleculares de plantas submetidas ao déficit hídrico. **Revista Brasileira de Oleaginosas e Fibrosas**, v. 10, p. 1039-1072, 2006.

MITTLER, R. Abiotic stress, the field environment and stress combination. **Trends in Plant Science**, v. 11, p. 15–19, 2006.

MITTLER, R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. **Trends in Plant Science**, v. 7, p. 405-410, 2002.

MOLLER, I. M.; JENSEN, P. E.; HANSSON, A. Oxidative modifications to cellular components in plants. **Annual Review of Plant Biology**, v. 58, p. 459-481, 2007.

MOURA, R. M. Controle integrado dos nematoides da cana-de-açúcar no Nordeste do Brasil. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA, 22., 2000, Uberlândia. **Anais...** Brasília: Sociedade Brasileira de Nematologia, 2000. p. 88-94.

NAYYAR, H.; GUPTA, D. Differential sensitivity of C3 and C4 plants to water deficit stress: Association with oxidative stress and antioxidants. **Environmental and Experimental Botany**, v. 58, p. 106-113, 2006.

NOCTOR, G.; FOYER, C. H. Ascorbate and glutathione: keeping active oxygen under control. **Annual Review of Plant Physiology and Molecular Biology**, v. 49, p. 249-279, 1998.

NOVARETTI, W. R. T. et al. Comportamento varietal de cana-de-açúcar em relação ao nematoide *Meloidogyne incognita*. In: REUNIÃO BRASILEIRA DE NEMATOLOGIA, 9., 1985, Piracicaba. **Resumos...** Piracicaba: Sociedade Brasileira de Nematologia, 1985. p. 43.

NOVARETTI, W. R. T.; MONTEIRO, A. R.; FERRAZ, L. C. C. B. Controle químico de *Meloidogyne incognita* e *Pratylenchus zae* em cana-de-açúcar com Carbofuran e Terbufos. **Nematologia Brasileira**, v. 22, p. 60-74, 1998.

OLIVEIRA, R. A. et al. Crescimento e desenvolvimento de três cultivares de cana-de-açúcar, em cana-planta, no Estado do Paraná: taxas de crescimento. **Scientia Agraria**, v. 6, p. 85-89, 2005.

OLIVEIRA, R. A. et al., Área foliar em três cultivares de cana-de-açúcar e sua correlação com a produção de biomassa. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 37, p. 71-76, 2007.

PINHEIRO, H. A. et al. Drought tolerance in relation to protection against oxidative stress in clone of *coffea canephora* subjected to long-term drought. **Plant Science**, v.167, p.1307-1314, 2004.

PITZSCHKE, A. et al. Reactive oxygen species signaling in plants. **Antioxidants and Redox Signaling**, v. 8, p. 1757-1764, 2006.

RADETSKI, C. M., COTELLE, S., FÉRARD, J. F. Classical and biochemical endpoints in the evaluation of phytotoxic effects caused by the herbicide trichloroacetate. **Environmental and Experimental Botany**, v. 44, p. 221-229, 2000.

RAMESH, P. Effect of different levels of drought during the formative phase on growth parameters and its relationship with dry matter accumulation in sugarcane. **Journal of Agronomy & Crop Science**, v. 185, p. 83-89, 2000.

REDDY, A. R.; CHAITANYA, K. V.; VIVEKANANDAN, M. Drought-induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higherplants. **Journal of Plant Physiology**, v. 161, p. 1189-1202, 2004.

RIEKERT VAN HEERDEN, P. D.; KRUGER, G. H. J. Separately and simultaneously induced dark chilling and drought stress effects on photosynthesis, proline accumulation and antioxidant metabolism in soybean. **Journal of Plant Physiology**, v. 159, p. 1077-1086, 2002.

RODRIGUES, J. D. **Fisiologia da cana-de-açúcar**. Botucatu: UNESP, 1995. 101p.

ROSENFELD, U. **Determinação do período crítico de deficiência hídrica para a cultura da cana-de-açúcar (*Saccharum spp.*)**. 1989. 88 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1989.

ROSOLEM, C. A. Interpretação de análise de solo e desenvolvimento radicular da cana-de-açúcar. In: SEMINÁRIO SOBRE TECNOLOGIAS DE MANEJO DO SOLO E ADUBAÇÃO DA CANA-DE-AÇÚCAR, 1., 1994. Ribeirão Preto. **Anais...** Ribeirão Preto: SOPRAL SUCRESP/ALCOPLAN. 1994. p. 53873.

SASSER, J. N.; FRECKMAN, D. W. A world perspective on nematology; the role of the society. In: VEECH, J. A.; DICKSON, D. W. (Ed.). **Vistas on nematology**. Hyattsville: Society of Nematologists, 1987. p. 7-14.

SCANDALIOS, J. G. Oxidative stress: molecular perception and transduction of signals triggering antioxidant gene defenses. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 38, p. 995-1014, 2005.

SCANDALIOS, J. G. Oxygen stress and superoxide dismutase. **Plant Physiology**, v. 101, p. 7-12, 1993.

SEGATO, S. V.; MATTUIZ, C. F. M.; MOZANBANI, A. E. Aspectos fenológicos da cana-de-açúcar. In: SEGATO, S. V. et al. (Org.). **Atualização em produção de cana-de-açúcar**. Piracicaba: Livrocere, 2006. p. 19-36.

SHARMA, P.; DUBEY, R. S. Ascorbate peroxidase from rice seedlings: properties of enzyme isoforms, effects of stresses and protective roles of osmolytes. **Plant Science**, v. 167, p. 541-550, 2004.

SHULAEV, V. et al. Metabolomics for plant stress response. **Physiologia Plantarum**, v. 132, p. 199–208, 2008.

SILVA, M. A. et al. Agronomic performance of sugarcane families in response to water stress. **Bragantia**, v. 67, p. 656-661, 2008.

SILVA, M. A.; PINCELLI, R. P. Alterações morfofisiológicas na cana-de-açúcar em resposta à deficiência hídrica. In: CRUSCIOL, C. A. C et al. **Tópicos em ecofisiologia da cana-de-açúcar**. Botucatu: FEPAF, 2010. p. 43-48.

SINCLAIR, J. B.; BACKMANN, P. A. **Compendium of soybean diseases**. 3.ed. Minnessota: APS Press, 1993. 106p.

SINDICATO DA INDÚSTRIA DO AÇÚCAR E DO ÁLCOOL DO ESTADO DE PERNAMBUCO. SINDAÇÚCAR. **Sistema de recuperação automática**. Pernambuco: sindicato da indústria do açúcar e do álcool do estado de Pernambuco, 2003. Disponível em: <[www.sindacucar.com.br](http://www.sindacucar.com.br)>. Acesso: 16 dez. 2012.

SOUZA, Z. M. et al. Manejo de palhada de cana colhida sem queima, produtividade do canavial e qualidade do caldo. **Ciência Rural**, v. 35, p. 1062-1068, 2005.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 4.ed. Porto Alegre: Artmed, 2009. 848p.

TEIXEIRA, F. K. **Identificação e caracterização dos genes que codificam as isoformas de ascorbato peroxidase em arroz (*Oryza sativa* L.)**. 2005. 121 p. Tese de Mestrado, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2005.

TEJERA, N. A. et al. Comparative analysis of physiological characteristics and yield components in sugarcane cultivars. **Field Crops Research**, v. 102, p. 64-72, 2007.

TERAMOTO, E. R. **Avaliação e aplicação de modelos de estimativa de produção de cana-de-açúcar (*Saccharum* spp) baseado em parâmetros do**

**solo e clima**. 2003. 96 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2003.

THOMPSON, G. D. Water use by sugarcane. **The South African Sugar Journal**, v. 60, p. 5928600, 1976.

TRUDGILL, D. L. Resistance to and tolerance of plant parasitic nematodes in plants. **Annual Review of Phytopatology**, v. 29, p. 167-192, 1991.

VAN DILLEWIJN, C. **Botany of sugarcane**. Waltham: Chronica Botanica, 1952. v. 1, p. 53-58.

WILLEKENS, H. et al. Catalase is a sink for H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and is indispensable for stress defense in C<sub>3</sub> plants. **EMBO Journal**, v. 16, p. 4806-4816, 1997.

ZAMBIASI, T.; BELOT, J. L. **Proteção integrada. Cultivar (Grandes Culturas)** - Caderno Técnico: Pragas. 2010.

ZHANG, J.; NGUYEN, H. T.; BLUM, A. Genetic analysis of osmotic adjustment in crop plants. **Journal of Experimental Botany**, v. 50, p. 291–302, 1999.

ZHANG, S. Z. et al. Expression of the *Grifola frondosa* trehalose synthase gene and improvement of drought-tolerance in sugarcane (*Saccharum officinarum* L). **Journal of Integrative Plant Biology**, v. 48, p. 453-459, 2006.

***Capítulo I***

---

**ÉPOCA E INTENSIDADE DO DÉFICIT HÍDRICO NO CRESCIMENTO INICIAL  
E ATIVIDADE ENZIMÁTICA DA CANA-DE-AÇÚCAR PARASITADA POR  
NEMATOIDE**

## **Época e intensidade do déficit hídrico no crescimento inicial e atividade enzimática da cana-de-açúcar parasitada por nematoide**

**Resumo:** Este trabalho teve por objetivo estudar o efeito da época e intensidade do déficit hídrico associado ao parasitismo do nematoide *Meloidogyne incognita* sobre o crescimento e atividade das enzimas catalase e ascorbato peroxidase em cana-de-açúcar variedade RB92579, nos primeiros estádios de desenvolvimento da planta. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em arranjo fatorial 7 (tratamentos hídricos: controle [90% CP – capacidade de pote], 56% CP aplicado de 0 a 30 dias após aclimação das plântulas e inoculação do nematoide, 56% CP aplicado de 30 a 60 dias, 56% CP aplicado de 60 a 90 dias, 22% CP aplicado de 0 a 30 dias, 22% CP aplicado de 30 a 60 dias, e 22% CP aplicado de 60 a 90 dias) × 2 (densidade do nematoide: 0 e 20.000 ovos por planta) com quatro repetições. A área foliar e atividade da enzima ascorbato peroxidase (mas não da catalase) foram afetados pela intensidade e período de aplicação do déficit hídrico. O estresse 22% CP diminuiu a altura da planta, mas o diâmetro não modificou com a intensidade ou período de aplicação do déficit hídrico. A intensidade e período do déficit hídrico, em especial 22% CP nos períodos de 0 a 30 e 30 a 60 dias, reduziram a matéria seca da parte aérea e raiz, contudo, 56% CP no período de 60 a 90 dias não afetou o crescimento da planta. Embora não tenha sido detectado efeito de *M. incognita* sobre as variáveis analisadas, o déficit hídrico diminuiu a reprodução do nematoide, com maior severidade a 22% CP nos períodos de 0 a 30 e 30 a 60 dias.

**Palavras chave:** Biomassa, estresse oxidativo, *Meloidogyne incognita*, *Saccharum*

## Season and intensity of hydric deficit on the growth and enzymatic activity of cane sugar parasitized by nematode

**Abstract:** This study aimed to study effects of intensity and plant growth stage occurrence of hydric deficit associated with the nematode *Meloidogyne incognita* parasitism on sugarcane variety RB92579 growth and catalase and ascorbate peroxidase activity, in early plant growth stages. Experimental design was completely randomized in a factorial arrangement 7 (drought treatment: control [90% of CP], 56% CP applied from 0 to 30 days after seedlings acclimation, 56% CP applied from 30 to 60 days, 56% CP applied from 60 to 90 days, 22% CP applied from 0 to 30 days, 22% CP applied from 30 to 60 days, and 22% CP applied from 60 to 90 days) × 2 (nematode density: 0 and 20,000 eggs per plant) with four replicates. Leaf area and activity of the enzyme ascorbate peroxidase (but not catalase) were affected by the intensity and period of application of hydric deficit. Stress 22% CP decreased plant height but the diameter did not change with the intensity and period of application of hydric deficit. Shoots and roots dry mass were decreased by drought, with higher reductions at 22% CP from 0 to 30 and 30 to 60 days, but plant growth was not affected by 56% CP from 60 to 90 days. Although it was not detected *M. incognita* effect on variables evaluated, hydric deficit decreased nematode reproduction, with highest severity at 22% CP from 0 to 30 and 30 to 60 days.

**Key-words:** Biomass, oxidative stress, *Meloidogyne incognita*, *Saccharum*

### 1.1. Introdução

Frequentemente as plantas estão submetidas a condições adversas, resultando em estresses. O estresse causa desvio significativo das condições ótimas para a vida e induz mudanças e respostas em todos os níveis funcionais do organismo, os quais são reversíveis a princípio, mas podem se tornar permanente (LARCHER, 2000; CAMBRAIA, 2005).



As causas que levam as plantas ao estresse são variadas, em geral, são distribuídas em duas classes, as de origem abiótica (resultantes do excesso ou déficit de algum fator físico ou químico do meio ambiente) e biótica (resultantes da ação de microrganismos), ocorrendo de forma isolada ou concomitante (GONÇALVES, 2008).

Dentre os fatores abióticos, o estresse gerado pela baixa disponibilidade de água às culturas é apontado como o de maior importância, principalmente nas condições ambientais do nordeste brasileiro. O déficit hídrico na planta ocorre, na maioria das vezes, quando a taxa de transpiração é superior à absorção de água, sendo comum durante o ciclo de diversas culturas agrícolas, inclusive em cana-de-açúcar (*Saccharum* spp. L.), por apresentar elevado consumo de água, sendo necessárias 250 partes de água para a formação de uma parte de matéria seca (PIMENTEL, 2004).

Embora razoavelmente conhecidas, as respostas das plantas ao déficit são dependentes, entre tantos fatores, da intensidade do estresse e do estágio de desenvolvimento da planta, sendo este último crítico para a produtividade agrícola (INMAN-BAMBER e SMITH, 2005).

Câmara (1993) divide o ciclo da cana em quatro estádios fenológicos: brotação e emergência; perfilhamento; crescimento dos colmos ou de rápido crescimento; e maturação dos colmos. Conforme estágio fenológico, o déficit hídrico pode ter maior ou menor impacto na produtividade agrícola (RAMESH, 2000; PIMENTEL, 2004; INMAN-BAMBER e SMITH, 2005). Para fins de irrigação, o período de maior suscetibilidade ao déficit hídrico é o de rápido desenvolvimento da cultura, quando as plantas apresentam grande área foliar e necessitam de maior quantidade de água para a realização de troca de gases com a atmosfera (PIRES et al., 2008).

Inman-Bamber e Smith (2005) relatam que a suscetibilidade da cana-de-açúcar à deficiência hídrica é maior quando as plantas estão na fase de alongamento dos colmos, o que causa sérios prejuízos na produção de fitomassa e rendimento de sacarose (ROBERTSON et al., 1999; SILVA e COSTA, 2004). No entanto, Ramesh (2000) relata alta demanda hídrica durante a fase de formação da cana-de-açúcar, que compreende os períodos

de perfilhamento e de rápido crescimento e ocorre entre 60 e 150 dias após o plantio. Durante esses períodos a planta se torna mais sensível à redução na disponibilidade de água no solo, influenciando negativamente a fase de maturação.

Intensificando ainda mais os efeitos do estresse hídrico, a ocorrência de nematoides causa redução acentuada na produtividade da cultura. Essa redução é decorrente da interferência no crescimento, redução no número de raízes funcionais e na capacidade de absorção de água e nutrientes pelas plantas, levando a um aumento do ciclo da cultura (MOURA et al., 1999).

Associados ao cultivo da cana-de-açúcar, já foram encontrados na rizosfera pelo menos 48 gêneros de nematoides parasitos de planta. Dentre os principais gêneros responsáveis pela redução na produção da cana-de-açúcar, destaca-se *Meloidogyne*, pela alta capacidade reprodutiva (CADET e SPAULL, 2005). Abawi e Chen (1998) relatam que as reduções na produtividade promovidas por *M. incognita* (Kofoid & White 1919) Chitwood chegam a alcançar 40 a 50 %.

Em condições de estresse, em especial o hídrico acentuado pelos efeitos do parasitismo de nematoides, ocorre o fechamento estomático como mecanismo de defesa contra a dessecação. Esse fenômeno reduz a absorção de CO<sub>2</sub> para os processos fotossintéticos e, ao mesmo tempo, o excesso de energia resultante do aumento na fração do fluxo de fótons fotossintéticos que não foram utilizados na fotossíntese nem dissipados como calor, promove aumentos na formação de espécies reativas de oxigênio (EROs), em especial o peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) desencadeando o estresse oxidativo (ASADA, 1999). Como mecanismo de defesa ao surgimento do peróxido de hidrogênio, o sistema antioxidante, composto, em especial, pelas enzimas catalase (CAT) e ascorbato peroxidase (APX), responsabiliza-se pela eliminação desta ERO através da sua conversão em água e O<sub>2</sub> (IGAMBERDIEV et al., 2001).

O objetivo do estudo foi avaliar a intensidade do estresse hídrico em diferentes épocas do crescimento inicial da cana-de-açúcar variedade RB92579 associada ao parasitismo de *M. incognita* sobre crescimento da planta e atividade das enzimas catalase e ascorbato peroxidase.

## 1.2. Material e métodos

O estudo foi desenvolvido em casa de vegetação na Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife – PE, entre os meses de maio a agosto de 2012. Durante esse período a temperatura foi monitorada com termômetros de máximo e mínimo sendo a média experimental de 29,5°C.

O solo empregado no experimento segundo classificação textural de Atterberg foi areia, coletado na camada de 0 – 20 cm de profundidade. A Tabela 1.1 apresenta as análises físicas e químicas do solo utilizado. Visando a eliminação de formas de vida microscópica existente no solo, o material foi esterilizado em autoclave a 120°C e 1 atm de pressão, durante 1 hora, sendo este procedimento repetido após 24h.

Tabela 1. 1 – Caracterização física e química do solo

Areia grossa	Areia fina	Silte		Argila	Classe textural		
%							
64	26	4	6	Areia			
pH	P	Na <sup>+</sup>	K <sup>+</sup>	Ca <sup>+2</sup>	Mg <sup>+2</sup>	Al <sup>+3</sup>	H <sup>+</sup> +Al <sup>+3</sup>
Água (1:2,5)	mg.dm <sup>-3</sup>			cmol <sub>c</sub> .dm <sup>-3</sup>			
4,7	13	0,23	0,15	0,25	0,25	0,1	0,2

A população de *M. incognita* foi obtida de raízes de cana-de-açúcar parasitadas por *Meloidogyne* spp., identificada pela técnica de eletroforese de isoenzimas, purificada e multiplicada em tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.) ‘Santa Cruz Kadá’, mantidas em casa de vegetação. O inoculo foi extraído do sistema radicular das plantas parasitadas empregando a metodologia descrita por Hussey e Barker (1973), calibrando-se a suspensão com auxílio da lâmina de Peters e microscópio óptico.

A variedade de cana-de-açúcar RB92579 foi micropropagada e fornecida pelo Centro de Tecnologias Estratégicas do Nordeste – CETENE. As plântulas de cana-de-açúcar foram postas para aclimatar durante um período de 15 dias em substrato na casa de vegetação. Após esse período, as plantas foram

selecionadas quanto à sanidade e homogeneidade e transplantadas para vasos com capacidade de 5.000 cm<sup>3</sup> preenchidos com solo autoclavado, corrigido e adubado segundo as necessidades da cultura (IPA, 2008), com base no resultado de análise do solo. Durante os 15 dias que sucederam o transplante, as plantas foram supridas em relação às necessidades hídricas com irrigações diárias. Durante esse período, os vasos ficaram na Capacidade de Pote (CP), determinada previamente pelo método gravimétrico, de acordo com Souza et al. (2000). Decorrido 10 primeiros dias em capacidade de pote, as plantas foram inoculadas com 20.000 ovos de *M. incognita* dispostos em quatro orifícios com 3 cm de profundidade, abertos ao redor de cada planta.

A diferenciação dos tratamentos foi iniciada 5 dias após a inoculação das plantas com o nematoide. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em arranjo fatorial 7 (tratamentos hídricos: controle [90% CP], 56% CP aplicado de 0 a 30 dias após aclimação das plântulas e inoculação do nematoide, 56% CP aplicado de 30 a 60 dias, 56% CP aplicado de 60 a 90 dias, 22% CP aplicado de 0 a 30 dias, 22% CP aplicado de 30 a 60 dias, e 22% CP aplicado de 60 a 90 dias) × 2 (densidade do nematoide: 0 e 20.000 ovos por planta) com quatro repetições, totalizando 56 unidades experimentais. As plantas fora do período de imposição dos estresses (56 e 22% CP) foram mantidas na condição controle, ou seja, em 90% CP. A manutenção dos tratamentos foi realizado diariamente pela pesagem dos vasos e reposição da água evapotranspirada, utilizando-se balança digital com capacidade máxima de 15 kg e precisão de 0,005 kg. Assim, em cada rega, a correção da umidade do solo foi feita com base na diferença entre a massa atual do sistema (planta+vaso+solo) e a massa prefixada para cada tratamento.

Avaliações mensais (0, 30, 60 e 90 dias após a aplicação dos tratamentos) foram realizadas para a área foliar e as análises bioquímicas: atividade das enzimas catalase e ascorbato peroxidase.

A área foliar (AF) foi determinada pela metodologia proposto por Hermann e Camara (1999). Nas análises bioquímicas, a terceira folha de cada planta foi retirada, congelada em N<sub>2</sub> líquido e armazenada em freezer. Para a extração das enzimas, 200 mg de tecido foliar foram macerados em N<sub>2</sub> líquido e

homogeneizado em 2 mL do seguinte tampão de extração: fosfato de potássio 100 mM, pH 7,0, EDTA 1 mM e ácido ascórbico 1mM. O homogeneizado foi centrifugado a 10.000 g por 10 min a 4 °C e o sobrenadante coletado. A atividade do ascorbato peroxidase (APX) foi realizada segundo Nakano e Asada (1981), monitorando-se a taxa de oxidação do ascorbato a 290 nm. A catalase (CAT) foi estimada pelo decréscimo na absorbância a 240 nm durante 1 min em um meio de reação contendo fosfato de potássio 100 mM, pH 7,0, e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 500 mM (HAVIR e McHALE, 1987).

Aos 120 dias após a aclimação das plântulas, portanto aos 90 dias após a imposição dos tratamentos hídricos, foi realizada a coleta final do experimento onde as plantas foram avaliadas em relação à altura da planta, diâmetro do colmo, peso seco dos órgãos e reprodução do nematoide nas raízes.

A altura de planta ( $h_{\text{planta}}$ ) foi determinada pela distância entre a base até inserção da folha +1 com a utilização de uma fita métrica e o diâmetro do colmo ( $\varnothing_{\text{colmo}}$ ) obtido através do paquímetro. Após a obtenção desses dados, as plantas foram retiradas dos vasos e as raízes separadas da parte aérea (colmo e folhas) e acondicionados em sacos de papel. Os materiais foram pesados separadamente e o sistema radicular dividido em duas partes de igual peso, sendo uma parte usada para determinação da reprodução do nematoide e a outra parte levada com a biomassa da parte aérea para secagem em estufa de circulação forçada de ar a temperatura de 65°C até atingir peso constante. Após este período, determinou-se a matéria seca da parte aérea (MSPA), da raiz (MSR) e total (MST). Com base nos dados calculou-se a alocação da biomassa para parte aérea (ABPA), raiz (ABR) e a razão raiz/parte aérea (R/PA), conforme metodologia descrita por Benincasa (2003). Para avaliação da resposta da cana ao parasitismo de *M. incognita* foi determinado o número de ovos por sistema radicular (OVOS/SR), ovos por grama seca de raiz (OVOS/GR) e fator de reprodução (FR), obtido pela relação entre a população final (Pf) e população inicial (Pi) do nematoide ( $FR = Pf/Pi$ ).

Os dados foram submetidos à análise de variância e, quando aplicável, análises de medidas repetidas no tempo foram realizadas com o auxílio do

software SAS – Statistical Analytical System (SAS Institute, 2009). Modelos de regressões linear, quadrático e cúbico foram testados, objetivando melhor descrição do comportamento dos dados em função do tempo. Quando necessário, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Para análise estatística, os dados de número de ovos de *M. incognita* foram transformados em  $\log_{10}(X+1)$ .

### 1.3. Resultados e discussão

As variáveis, área foliar e ascorbato peroxidase, avaliadas ao longo do tempo apontaram interação entre o tempo avaliado e os tratamentos hídricos estudadas. O parasitismo de *M. incognita* não afetou as variáveis da planta estudadas (Figura 1.1).

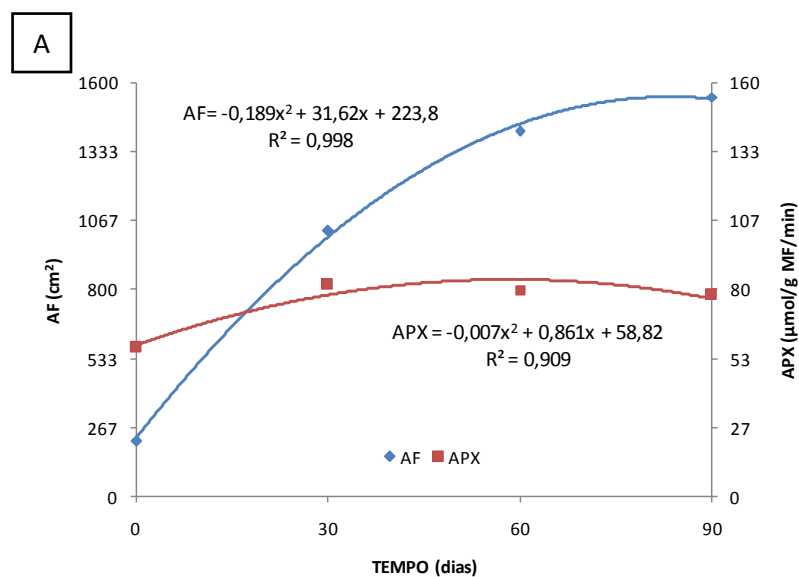


Figura1. 1 - Atividade da ascorbato peroxidase (APX) e área foliar (AF) em cana-de-açúcar variedade RB92579 no tratamento hídrico 90% CP durante todo período experimental (A).

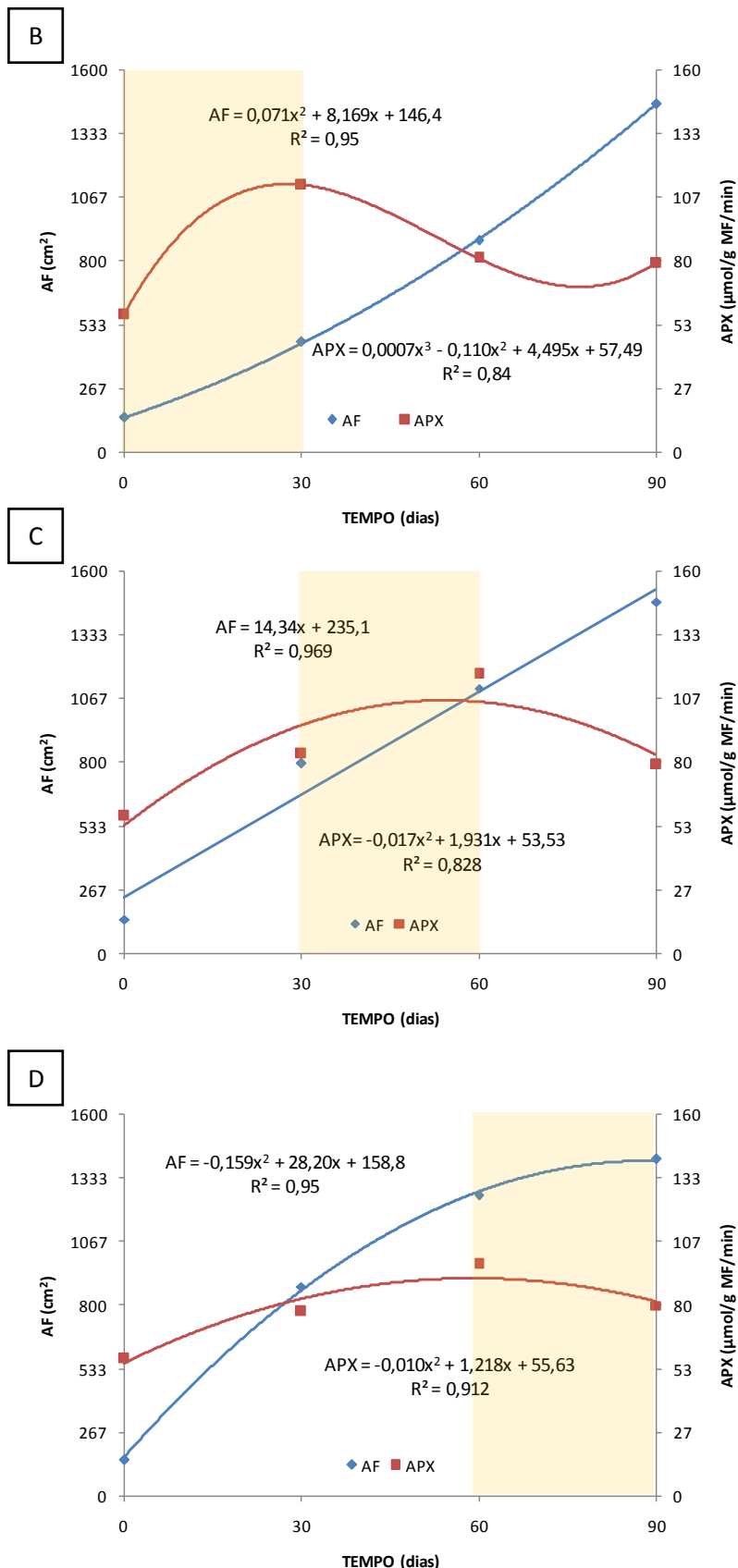


Figura1. 1 - Atividade da ascorbato peróxidase (APX) e área foliar (AF) em cana-de-açúcar variedade RB92579 nos tratamentos hídricos: 56% CP no período de 0 a 30 dias (B), 56% CP no período de 30 a 60 dias (C), 56% da CP no período de 60 a 90 dias (D).

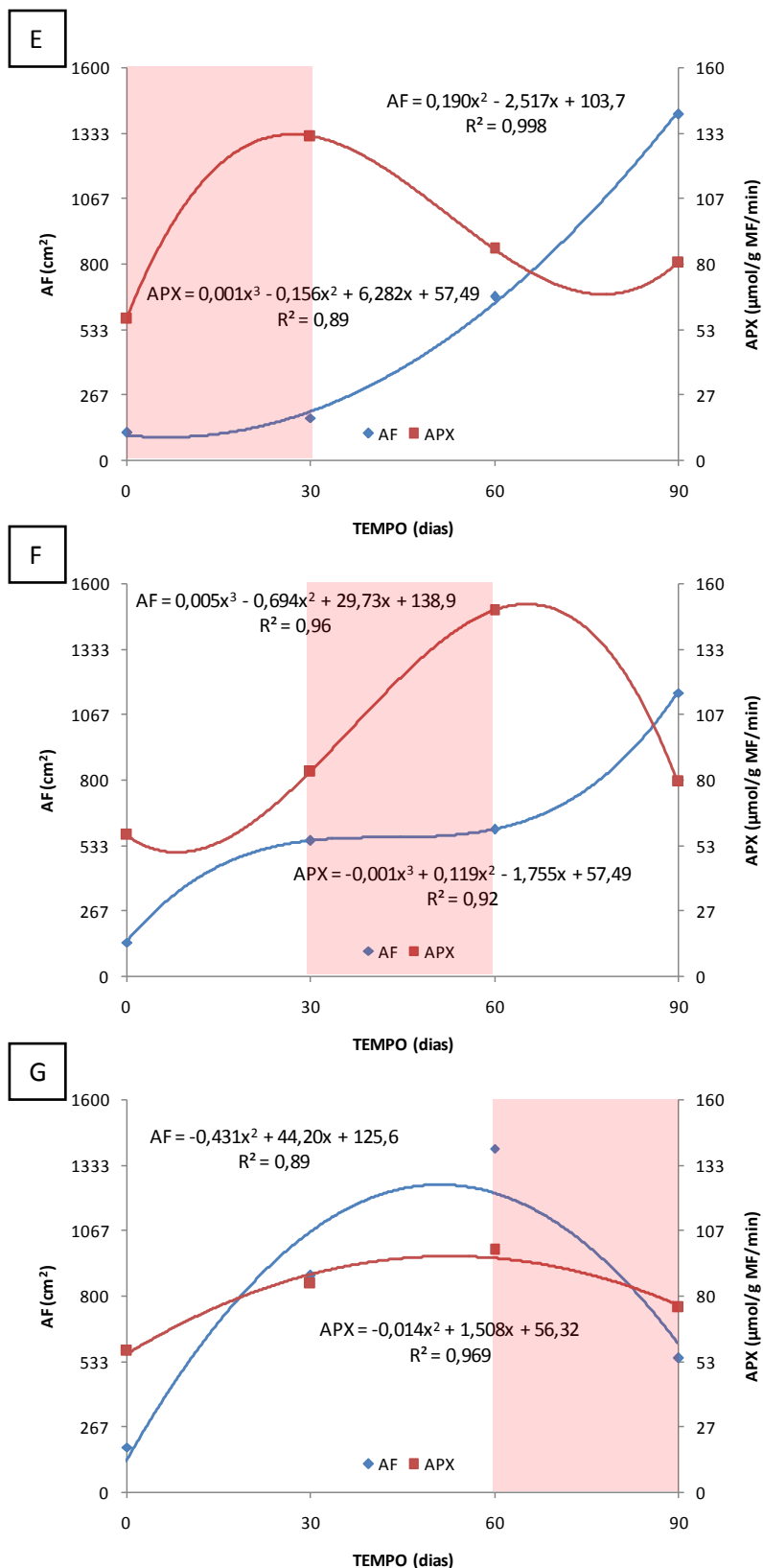


Figura1. 1 - Atividade da ascorbato peróxidase (APX) e área foliar (AF) em cana-de-açúcar variedade RB92579 nos tratamentos hídricos: 22% da CP no período de 0 a 30 dias (E), 22% da CP no período de 30 a 60 dias (F), 22% da CP no período de 60 a 90 dias (G).



Os tratamentos hídricos impostos à variedade RB92579 reduziram o ritmo de crescimento da área foliar. Essa redução variou de acordo com o período e a intensidade do déficit hídrico aplicado. Comparando as Figuras 1.1 E, F, G com B, C e D correspondentes ao estresse de 22 e 56% CP, observa-se uma redução mais pronunciada sob condição de 22% da CP, onde a taxa de crescimento absoluto foi de 2,01 e 1,53 cm<sup>2</sup>/dia em relação a 10,55 e 10,41 cm<sup>2</sup>/dia para o estresse de 56% da CP, aplicados 0 a 30 dias e 30 a 60 dias, respectivamente. Com relação ao período, quando o estresse hídrico foi aplicado na época de 0 a 30 dias, a redução no ritmo de desenvolvimento da área foliar foi menor em relação ao estresse aplicado de 30 a 60 e 60 a 90 dias. O estresse de 56% da CP aplicado no período 0 a 30 dias induziu taxa de crescimento absoluto de 10,55 cm<sup>2</sup>/dia, passando para 10,41 e 5,07 cm<sup>2</sup>/dia quando aplicado 30 a 60 dias e 60 a 90 dias, respectivamente (Figuras 1.1 B, C e D). Quando a variedade RB92579 esteve sob estresse de 22% CP durante o período de 60 a 90 dias (Figura 1.1 G), a área foliar apresentou comportamento diferenciado das demais condições estudadas. Durante esse período houve redução na área foliar, possivelmente devido o fato da planta estar na condição controle (90% CP) nos primeiros 60 dias.

Plantas cultivadas em condições adequadas de suprimento hídrico são, normalmente, menos resistentes ao déficit hídrico e, quando da ocorrência rápida do déficit hídrico, os mecanismos morfofisiológicos são severamente afetados, pois a planta necessitaria adaptar-se rapidamente a nova condição de déficit (SANTOS e CARLESSO, 1998). Entretanto, quando o déficit hídrico ocorre gradualmente e/ou no início do ciclo, mais facilmente ocorre a adaptação das plantas. Segundo (MUNNS, 2002), entre as variáveis morfológicas, a área foliar é uma das primeiras afetadas pelo estresse hídrico, exibindo um dos mecanismos de defesa das plantas a estresses ambientais, reduzindo a área disponível à transpiração e o gasto metabólico para a manutenção da turgescência dos tecidos (INMAN-BAMBER e SMITH, 2005).

A atividade da enzima ascorbato peroxidase, quando da imposição do estresse, em especial, nos períodos de 0 a 30 e 30 a 60 dias, independente da intensidade (56% CP ou 22% CP), teve um aumento em relação ao período anterior (Figuras 1.1 B, C, E, F), na ordem de no máximo 56,47%

correspondente ao estresse de 22% da CP aplicado entre 0 a 30 dias. Isso demonstra que o aparato metabólico da planta reduz os efeitos deletérios do estresse oxidativo induzido, em especial, pelo déficit hídrico, visto que os nematoides não proporcionaram efeito com relação a variável em estudo. Efeito semelhante foi obtido por Silva (2010) quando submeteu o genótipo CL002 de cana-de-açúcar ao estresse hídrico severo (0 – 20% de água disponível), obtendo como resultado acréscimo de 30,23% em relação ao controle. Isso demonstra que a atividade da ascorbato peroxidase é fator importante na neutralização das EROs geradas pela exposição das plantas às condições adversas (ASADA et al., 1999).

Para a enzima ascorbato peroxidase, as Figuras 1.1 D e G mostraram que quando a variedade RB92579 esteve submetida ao déficit hídrico correspondente a 56% e 22% da CP, respectivamente, no período de 60 a 90 dias, houve redução na atividade dessa enzima, redução que alcançou no máximo 23,95% quando da imposição do estresse máximo. O comportamento da atividade da ascorbato peroxidase e da área foliar (Figura 1.1 G) demonstra que a planta não estava preparada para o estresse imposto, possivelmente por se encontrar em boas condições hídricas (90% da CP) durante os 60 dias iniciais do experimento.

Ao comparar o comportamento da área foliar e da atividade da enzima ascorbato peroxidase submetida a estresses de 22 e 56% CP, independente do período (0 a 30 ou 30 a 60 dias), observa-se que sob 22% CP, as plantas apresentaram recuperação mais acentuada em relação a 56% CP, o que resultou no final em valores praticamente iguais para área foliar e atividade da ascorbato peroxidase (Figuras 1.1 B, C, E, F).

Alterações significativas na atividade da catalase não foram detectadas ao longo do experimento. A catalase é uma enzima praticamente ligada aos peroxissomos, portanto, atua basicamente na eliminação do  $H_2O_2$  produzida pela fotorrespiração (APEL e HIRT, 2004). A cana-de-açúcar, sendo uma planta  $C_4$ , é munida de mecanismos que reduzem a fotorrespiração a valores praticamente desprezíveis, portanto, nesse vegetal a enzima catalase

possivelmente não constitui a principal forma de eliminação do  $H_2O_2$  produzido pelo estresse imposto através dos tratamentos testados.

Embora a cana-de-açúcar seja uma planta  $C_4$ , trabalhos mostraram diferentes respostas da catalase ao estresse hídrico imposto, aumentando (SILVA, 2010), diminuindo (VASCONCELOS et al., 2009) ou até mesmo se mantendo estável (SOUSA, 2013).

A altura de planta mostrou que somente houve efeito significativo para o fator tratamento hídrico ao nível de 1% de probabilidade. O fitonematoide e a interação não interferiram nos dados de diâmetro do colmo e altura da planta (Tabela 1.2).

Tabela 1. 2 - Altura de planta ( $h_{\text{planta}}$ ) e diâmetro do colmo ( $\varnothing_{\text{colmo}}$ ) da cana-de-açúcar variedade RB92579 submetida a sete tratamentos hídricos e dois níveis de infestação de nematoides aos 120 dias após o plantio.

Tratamentos hídricos	$\varnothing_{\text{colmo}}$ (cm)	$h_{\text{planta}}$ (cm)
90% da CP (controle)	1,175 a	75,250 a
56% da CP aplicado de 0 a 30 dias	1,175 a	63,188 a
56% da CP aplicado de 30 a 60 dias	1,163 a	65,688 a
56% da CP aplicado de 60 a 90 dias	1,188 a	70,313 a
22% da CP aplicado de 0 a 30 dias	1,013 a	47,688 b
22% da CP aplicado de 30 a 60 dias	1,063 a	48,563 b
22% da CP aplicado de 60 a 90 dias	1,188 a	66,563 a
CV (%)	10,74	12,63

Médias seguidas de letras iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

A variedade RB92579 quando submetida a 22% CP aplicado de 0 a 30 dias e de 30 a 60 dias apresentou as menores alturas quando comparada a outras condições hídricas (Tabela 1.2). A diferença na altura foi de 36,62% e 35,46%, respectivamente, em relação ao controle. Decréscimos na altura da cana-de-açúcar foram verificados por Gonçalves (2008) em experimento conduzido em Alagoas, onde o mesmo observou redução superior a 40% ao comparar os tratamentos controle (80 a 100% da capacidade de campo) e o

estresse severo (0 a 20% da capacidade de campo). Santos (2012), estudando o efeito do déficit hídrico e nematológico em cana observou redução de 31,5% na altura de plantas em níveis de déficit hídrico de 100 a 40% da CP.

O diâmetro do colmo não sofreu mudanças significativas devido aos tratamentos hídricos testados (Tabela 1.2), isso possivelmente ocorreu por ser o diâmetro do colmo menos sensível a variações ambientais instantâneas (BENINCASA, 2003).

O déficit hídrico afetou ao nível de 1% de probabilidade a matéria seca da parte aérea e da raiz enquanto a matéria seca total foi significativa ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F. Não houve efeito do fitonematoide e nem da interação (Tabela 1.3).

Tabela 1. 3 - Matéria seca da parte aérea (MSPA), matéria seca da raiz (MSR) e matéria seca total (MST) da variedade de cana-de-açúcar RB92579 submetida a sete tratamentos hídricos e dois níveis de infestação de nematoides aos 120 dias após o plantio.

Tratamentos hídricos	MSPA (g)	MSR (g)	MST (g)
90% da CP (controle)	24,100 a	4,890 c	28,990 a
56% da CP aplicado de 0 a 30 dias	19,600 bc	6,423 a	26,023 ab
56% da CP aplicado de 30 a 60 dias	20,220 abc	5,453 bc	25,672 ab
56% da CP aplicado de 60 a 90 dias	21,890 ab	5,303 bc	27,193 ab
22% da CP aplicado de 0 a 30 dias	17,310 c	6,228 ab	23,538 b
22% da CP aplicado de 30 a 60 dias	18,040 bc	5,904 ab	23,944 ab
22% da CP aplicado de 60 a 90 dias	19,340 bc	5,778 abc	25,118 ab
CV (%)	14,27	10,77	13,10

Médias seguidas de letras iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

A matéria seca da parte aérea (Tabela 1.3) foi afetada negativamente quando o estresse máximo foi aplicado no período de 0 a 30 dias com redução de 28,17% quando comparado ao controle. Resultados estatisticamente parecidos foram constatados nas plantas expostas a 22% da CP nos períodos de 30 a 60 dias e 60 a 90 dias e 56% CP aplicados de 0 a 30 dias e 30 a 60

dias. Quando a variedade em estudo foi submetida à condição hídrica de 56% CP no período final do experimento (60 a 90 dias após aclimatação) houve redução de 9,17% na matéria seca da parte aérea, estatisticamente igual a condição controle. Resultados semelhantes foram obtidos em experimentos realizados por Inman-Bamber (2004) e Robertson et al. (1999), onde foram observados reduções de 18,1% e 25% na matéria seca da parte aérea de cana-de-açúcar, respectivamente.

A matéria seca da raiz (Tabela 1.3) não se comportou como a matéria seca da parte aérea. Para essa variável, a variedade RB92579 produziu mais matéria seca quando 56% CP foi aplicado no período inicial do experimento, 0 a 30 dias, tendo um acúmulo 23,87% superior ao controle. Comportamento similar foi observado quando 22% CP foi aplicado nos períodos de 0 a 30 dias, 30 a 60 dias e 60 a 90 dias. Silva et al. (2005), estudando o sistema radicular de variedades de cana-de-açúcar sob condições de campo em Alagoas, concluíram que a variedade RB92579 possui como característica intrínseca o desenvolvimento de raízes para camadas mais profundas do solo, sendo esta um mecanismo de tolerância à deficiência hídrica de grande importância para as condições do Nordeste brasileiro.

A produção total de matéria seca (Tabela 1.3) no final do experimento ficou comprometida quando a variedade RB92579 foi submetida ao déficit hídrico correspondente a 22% CP no primeiro período (0 a 30 dias). Essa redução foi na ordem de 18,81% em relação ao controle. Para os demais tratamentos hídricos, a variável matéria seca total teve um comportamento semelhante ao controle. Esse comportamento corresponde ao relato de Nable et al. (1999), que afirmam que os efeitos do estresse hídrico, em curto prazo, podem ser reversíveis ou não, interferindo, provavelmente, em perdas de rendimento.

Em decorrência dos tratamentos hídricos, a alocação da biomassa na parte aérea, alocação de biomassa na raiz e razão raiz/parte aérea sofreram efeitos significativos ao nível de 1% de probabilidade pelo teste F, não havendo efeito do nematoide e interação (Tabela 1.4).

Tabela 1. 4 - Alocação de biomassa na parte aérea (ABPA), alocação de biomassa na raiz (ABR) e razão raiz/parte (R/PA) aérea da variedade de cana-de-açúcar RB92579 submetida a sete tratamentos hídricos e dois níveis de infestação de nematoides aos 120 dias após o plantio.

Tratamentos hídricos	ABPA (%)	ABR (%)	R/PA
90% da CP (controle)	83,07 a	16,93 e	0,20 e
56% da CP aplicado de 0 a 30 dias	75,22 de	24,78 ab	0,33 ab
56% da CP aplicado de 30 a 60 dias	78,65 bc	21,35 cd	0,27 cd
56% da CP aplicado de 60 a 90 dias	80,39 b	19,61 d	0,24 d
22% da CP aplicado de 0 a 30 dias	73,46 e	26,54 a	0,36 a
22% da CP aplicado de 30 a 60 dias	75,31de	24,69 ab	0,33 ab
22% da CP aplicado de 60 a 90 dias	77,01 cd	22,99 bc	0,30 bc
CV(%)	1,83	6,34	8,24

Médias seguidas de letras iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

A alocação da biomassa na parte aérea (Tabela 1.4) mostrou que quando a variedade RB92579 experimentou um estresse correspondente a 22% da CP no período de 0 a 30 dias alocou pouca biomassa nessa região, a diferença entre essa condição e o controle foi de 9,61%. Entretanto, quando essa variedade recebeu um estresse de 56% CP no período de 60 a 90 dias, a redução na alocação da biomassa na parte aérea em relação ao controle foi de apenas 2,68%.

Para a alocação de biomassa na raiz (Tabela 1.4), a variedade RB92579 demonstrou que sob o maior estresse imposto (22% CP) durante os primeiros 30 dias do experimento houve maior distribuição da biomassa para o sistema radicular. Resultados semelhantes estatisticamente foram obtidos quando a variedade em estudo foi submetida à condição de 22% CP aplicado no período de 30 a 60 dias e 56% da CP aplicados nos primeiros 30 dias do experimento. Na condição controle, onde as plantas foram mantidas com umidade correspondente a 90% CP, o comportamento foi inverso, ou seja, houve menor alocação de biomassa para as raízes. A diferença entre os valores extremos alcançou 9,61%.

A razão raiz/parte aérea (R/PA), uma das variáveis que demonstra a adaptação morfológica das plantas à situação de déficit hídrico (Tabela 1.4), indica que quanto maior essa razão, maior o desenvolvimento radicular em busca de condições ideais de umidade no perfil do solo. Para essa variável, a RB92579 apresentou a maior razão quando, nos primeiros 30 dias de imposição do tratamento, experimentou estresse correspondente a 22% CP. Resultados similares estatisticamente foram verificados em duas situações, quando as plantas ficaram submetidas a 56% da CP durante o período de 0 a 30 dias e 22% da CP no período intermediário, 30 a 60 dias. Gonçalves (2008) e Silva (2010), estudando o efeito do estresse hídrico em diversos genótipos de cana, verificaram aumento na razão raiz/parte aérea.

Segundo Steudle (2000) e Taiz e Zeiger (2009), o aumento na razão raiz/parte aérea juntamente com o fechamento estomático em condição de baixos potenciais hídricos no solo constituem mecanismos que favorecem a planta a enfrentar os efeitos do déficit hídrico. Essa diferenciação na razão raiz/parte aérea possivelmente deve a síntese do ácido abscísico (ABA) no sistema radicular que exerce efeito positivo no crescimento da raiz por suprimir a produção de etileno.

Embora significativa, a aplicação de 56% da CP nos últimos 30 dias afetou em menor intensidade a alocação de biomassa na parte aérea, alocação de biomassa na raiz, massa seca total e razão raiz/parte aérea da variedade em estudo, com diferença de 16,66% na R/PA em relação ao controle (Tabela 1.4).

A reprodução do *M. incognita* foi afetada pelos tratamentos hídricos nesse trabalho ao nível de 1% de probabilidade pelo teste F. De uma forma geral, houve reprodução dos nematoides nos tratamentos hídricos testadas, visto que inicialmente foram inoculados cerca de 20.000 ovos, porém, sob 22% CP aplicado de 0 a 30 e 30 a 60 dias foram observadas as maiores reduções, tanto no número médio de ovos por sistema radicular, como no número médio de ovos por grama de raiz seca. (Tabela 1.5). O déficit hídrico juntamente com a época de ocorrência interferiu na multiplicação de *M. incognita* e isso, possivelmente, explica a ausência do efeito dos nematoides sobre as outras

variáveis trabalhadas. O número de ovos utilizados na inoculação (20.000 ovos) também pode ser outro fator que justifica a ausência do efeito do nematoide sobre as variáveis analisadas na cana-de-açúcar. Segundo Barros et al. (2005) e Dias-Arieira et al. (2010), o comportamento de diferentes variedades de cana-de-açúcar é variável e nem sempre os maiores números de nematoides refletem em redução nos parâmetros vegetativos da planta.

Tabela 1. 5 – Número de ovos por sistema radicular (OVOS/SR), ovos por grama seca de raiz (OVOS/GR) e fator de reprodução (FR) de *Meloidogyne incognita* em cana-de-açúcar variedade RB92579 submetida a sete tratamentos hídricos aos 120 dias após o plantio.

Tratamentos hídricos	OVOS/SR	OVOS/GR	FR
90% da CP (controle)	115123 a	24864 a	5,76
56% da CP aplicado de 0 a 30 dias	64530 ab	10013 ab	3,23
56% da CP aplicado de 30 a 60 dias	68895 ab	13314 ab	3,44
56% da CP aplicado de 60 a 90 dias	80625 ab	15267 ab	4,03
22% da CP aplicado de 0 a 30 dias	40265 b	6654 b	2,01
22% da CP aplicado de 30 a 60 dias	40265 b	7114 b	2,01
22% da CP aplicado de 60 a 90 dias	49180 ab	8363 ab	2,46
CV(%)	49,15	62,75	

Médias seguidas de letras iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

O fator de reprodução variou com a intensidade e com a época de aplicação do déficit hídrico (Tabela 1.5), sendo que, de um modo geral, nos 30 dias iniciais e intermediários de imposição do estresse hídrico os fatores de reprodução obtidos foram os menores. Possivelmente essa relação está ligada ao efeito direto do déficit hídrico sobre os nematoides. Como o ciclo do nematoide varia de quatro a seis semanas, a aplicação do déficit hídrico nos trinta dias iniciais e intermediários afetou diretamente, tanto os juvenis do nematoide que ainda encontravam-se no solo, quanto a oviposição e eclosão dos ovos da fêmea de *M. incognita*.



A reprodução, assim como a locomoção de *M. incognita* encontra-se intimamente ligada às condições ambientais ao redor do nematoide, sendo a umidade um dos principais fatores. De acordo com Ferraz (2004), as fêmeas depositam seus ovos em massas envoltas por uma matriz gelatinosa, que atua como um sinalizador. Em condições de déficit hídrico no solo, essa geléia fica desidratada, levando a interrupção do desenvolvimento embrionário dentro dos ovos. Além disso, o baixo suprimento hídrico leva as raízes a desenvolverem camadas mais espessas e grossas, o que muitas vezes, dependendo da espécie vegetal inoculada, dificulta a penetração do parasito.

#### **1.4. Conclusões**

A intensidade assim como o período de aplicação do déficit hídrico diminuiu a taxa de crescimento da área foliar e aumentou a atividade da enzima ascorbato peroxidase, no entanto, o déficit hídrico máximo (22% CP) aplicado no final do experimento reduziu a área foliar e a atividade da enzima ascorbato peroxidase;

A recuperação pós-estresse da variedade RB92579 é maior a 22% CP do que a 56% da CP;

A atividade da catalase não responde a intensidade ou período de aplicação do déficit hídrico;

O déficit hídrico correspondente a 22% CP aplicado nos períodos de 0 a 30 ou 30 a 60 dias iniciais diminui a altura da planta, mas não afeta o diâmetro do colmo;

A produção de matéria seca da parte aérea diminui com o aumento da intensidade do déficit hídrico principalmente quando ocorre nos estádios mais iniciais da planta, enquanto a produção de matéria seca das raízes tem comportamento inverso;

O parasitismo de *M. incognita* não afeta o crescimento inicial da cana-de-açúcar, a atividade da catalase e ascorbato peroxidase, entretanto a

reprodução do nematoide é diminuída com o aumento da intensidade do déficit hídrico, principalmente nos estádios mais iniciais de crescimento da planta;

O tratamento hídrico 56% CP não afeta o desenvolvimento da variedade RB92579 quando imposta dos 60 aos 90 dias após aclimação.

### 1.5. Referências bibliográficas

ABAWI, G. S.; CHEN, J. Concomitant pathogen and pest interactions. In: BARKER, K. R.; PEDERSON, G. A.; WINDHAN, G. L. **Plant and nematode interactions**. Madison: American Society of Agronomy, Crop Science Society of America, Soil Science Society of America, 1998. p. 135-158.

APEL, K.; HIRT, H. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. **Annual Review of Plant Biology**, v.55, p.373-399, 2004.

ASADA, K. The water cycle in chloroplasts: scavenging of active oxygens and dissipation of excess photons. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v. 50, p. 601-639, 1999.

BARROS, A. C. B.; MOURA, R. M.; PEDROSA, E. M. R. Estudo de interação variedade-nematicida em cana-de-açúcar em solo naturalmente infestado por *Meloidogyne incognita*, *M. javanica* e *Pratylenchus zaeae*. **Nematologia Brasileira**, v. 29, p. 39-46, 2005.

BENINCASA, M. M. P. **Análise de crescimento de plantas (noções básicas)**. 2 ed. Jaboticabal: FUNEP, 2003. 41p.

CADET, P.; SPAULL, V. W. Nematode parasites of sugarcane. In: LUC, M.; SIKORA, R. A.; BRIDGE, J. **Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture**. Wallingford: C. A. B. International Institute of Parasitology, 2005. p. 645- 674.

CÂMARA, G. M. S. Ecofisiologia da cultura da cana-de-açúcar. In: CÂMARA, G. M. S.; OLIVEIRA, E. A. M. **Produção de cana-de-açúcar**. Piracicaba: FEALQ, 1993. p. 31-64.

CAMBRAIA, J. Aspectos bioquímicos, celulares e fisiológicos dos estresses nutricionais em plantas. In: NOGUEIRA, R. J. M. C.; ARAÚJO, E. DE L.; WILLADINO, L. G.; CAVALCANTE, U. M. T. (eds.). **Estresses ambientais: danos e benefícios em plantas**. Recife: UFRPE, 2005. cap. 2, p. 95-104.

DIAS-ARIEIRA, C. R. et al. Reação de variedades de cana-de-açúcar aos nematoides-das-galhas. **Nematologia Brasileira**, v. 34, p. 198-203, 2010.

EMPRESA PERNAMBUCANA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - IPA. **Recomendações de adubação para o Estado de Pernambuco: segunda aproximação**. 3 ed. Recife, 2008. 212p.

FERRAZ, S.; FREITAS, L. G. Use of antagonistic plants and natural products. In: CHEN, Z. X.; CHEN, S. Y.; DICKSON, D. W. (Ed) **Nematology – Advances and Perspectives**. CABI, Wallingford - UK, p. 931-960, 2004.

GONÇALVES, E. R. **Fotossíntese, osmorregulação e crescimento inicial de quatro variedades de cana-de-açúcar submetidas à deficiência hídrica**. 2008. 79 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal de Alagoas, Alagoas, 2008.

HERMANN, E. R.; CÂMARA, G. M. S. Um método simples para estimar a área foliar de cana-de-açúcar. **Revista da STAB**, v. 17, p. 32-34, 1999.

IGAMBERDIEV, A. U. et al. The role of photorespiration in redox and energy balance of photosynthetic plant cells: a study with a barley mutant deficient in glycine decarboxylase. **Physiol Plant**, v. 111, p. 427-438, 2001.

INMAN-BAMBER, N. G. Sugarcane water stress criteria for irrigation and drying off. **Field Crops Research**, v. 89, p. 107-122, 2004.

INMAN-BAMBER, N. G.; SMITH, D. M. Water relations in sugarcane and response to water deficits. **Field Crops Research**, v. 92, p. 185-202, 2005.

LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Carlos: RiMa, 2000. 531p.

MOURA, R. M. et al. Nematoides associados à cana-de-açúcar no Estado de Pernambuco. **Nematologia Brasileira**, v. 23, p. 92-99, 1999.

MUNNS, R. Comparative physiology of salt and water stress. **Plant, Cell and Environment**, v. 25, p. 239–250, 2002.

NABLE, R. O.; ROBERTSON, M. J.; BERTHELSEN, S. Response of shoot growth and transpiration to soil drying in sugarcane. **Plant and Soil**, v. 207, p. 59-65, 1999.

PIMENTEL, C. **A relação da planta com a água**. Seropédica: EDUR, 2004. 191p.

PIRES, R. C. M.; ARRUDA, F. B.; SAKAI, E. Irrigação e drenagem. In: DINARDO-MIRANDA, L. L.; VASCONCELOS, A. C. M. de; LANDELL, M. G. de A. (Ed.). **Cana-de-açúcar**. Campinas: Instituto Agrônômico, 2008. p. 631-670.

ROBERTSON, M. J. et al. Estimating the risk associated with drying-off strategies for irrigated sugarcane before harvest. **Australian Journal of Agricultural Research**, v. 50, p. 65-77, 1999.

SANTOS, H. R. B. **Respostas agronômicas, bioquímicas e fisiológicas de variedades de cana-de-açúcar submetidas a estresse hídrico associado à nematoide de galhas**. 2012. 96 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Pernambuco, 2012.

SANTOS, R. F.; CARLESSO, R. Déficit hídrico e os processos morfológicos e fisiológicos das plantas. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 2, p. 287-294, 1998.

SILVA, A. L. C. da; COSTA, W. A. J. M. de. Varietal variation in growth, physiology and yield of sugarcane under two contrasting water regimes. **Tropical Agricultural Research**, v. 16, p. 1-12, 2004.

SILVA, J. V. et al. Distribuição do sistema radicular em variedades de cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum*). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FISILOGIA VEGETAL, 10., 2005, Recife. **Anais...** Recife: DataAgros, 2005. 1 CD-ROM.

SILVA, P. B. **Aspectos fisiológicos de seis genótipos de cana-de-açúcar submetidos a estresse hídrico**. 2010. 98 p. Dissertação (Mestrado em

Produção Vegetal e Proteção de Plantas) – Universidade Federal de Alagoas, Alagoas, 2010.

SOUSA, C. C. M. **Influência do estresse hídrico e da compactação do solo na associação nematoide, fungos micorrízicos arbusculares e rizobactérias.** 2013. 145 p. Tese (Doutorado em Engenharia Agrícola) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Pernambuco, 2013.

STEUDLE, E. Water uptake by roots: effects of water deficit. **Journal of Experimental Botany**, v. 51, p. 1531-1542, 2000.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal.** 4.ed. Porto Alegre: Artmed, 2009. 848p.

VASCONCELOS, A. C. F. et al. Enzymatic antioxidant responses to biostimulants in maize and soybean subjected to drought. **Scientia Agrícola**, v. 66, p. 395-402, 2009.

***Capítulo II***

---

**INTENSIDADE E DURAÇÃO DO DÉFICIT HÍDRICO NO PATOSSISTEMA  
CANA-DE-AÇÚCAR X *MELOIDOGYNE INCOGNITA***

**Intensidade e duração do déficit hídrico no patossistema cana-de-açúcar  
x *Meloidogyne incognita***

**Resumo:** Este trabalho teve por objetivo estudar a interação entre a intensidade e duração do déficit hídrico (90, 56 e 22 % CP por 30, 60 e 90 dias de estresse contínuo) associado ao parasitismo do nematoide *Meloidogyne incognita* no crescimento inicial da cana-de-açúcar variedade RB92579 e atividade das enzimas catalase e ascorbato peroxidase. A intensidade e duração do déficit hídrico diminuíram a taxa de crescimento absoluto da área foliar e aumentaram a atividade da enzima ascorbato peroxidase, mas não da catalase. O nematoide não afetou as respostas da RB92579 nas condições estudadas, mas o déficit hídrico correspondente a 22% CP com duração de 90 dias reduziu a reprodução de *M. incognita*. Os tratamentos hídricos mais severos (22% CP com duração de 60 ou 90 dias) proporcionaram as maiores reduções na altura da planta, diâmetro do colmo, matéria seca da parte aérea, matéria seca da raiz e alocação de biomassa na parte aérea; entretanto promoveram maior alocação de biomassa para o sistema radicular, maior razão raiz/parte aérea e maior atividade da enzima ascorbato peroxidase.

**Palavras chave:** atividade enzimática, biomassa, nematoide de galhas, *Saccharum*

**Intensity and duration of hydric deficit at pathossystem sugarcane x  
*Meloidogyne incognita***

**Abstract:** This study aimed to evaluate the interaction between the intensity and duration of hydric deficit (90, 56 and 22 % CP for 30, 60 and 90 days of continuous stress) and *Meloidogyne incognita* parasitism on sugarcane variety RB92579 growth and catalase and ascorbate peroxidase enzymes activity. Intensity and time of continuous drought decreased the rate of leaf area

absolute growth and increased the ascorbate peroxidase activity, but it did not affect the catalase activity. Nematode did not affect RB92579 responses to drought stress conditions, but hydric deficit corresponding to 22% CP for 90 days reduced *M. incognita* reproduction. The most severe water treatments (22% CP for 60 or 90 days) induced the highest reductions in plant height, stem diameter, shoots dry weight, root dry matter and biomass allocation in the shoots. However, it provided greater biomass allocation to the root system, higher root/shoot ratio, and increases on ascorbate peroxidase activity.

**Key-words:** enzyme activity, biomass, root-knot nematode, *Saccharum*

## 2.1. Introdução

A cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.), uma das principais e mais antigas culturas do Brasil, encontra-se, em condições de cultivo sob diversos tipos de estresses. Dentre os principais estresses, a deficiência hídrica (estresse abiótico) e a pressão exercida por altas densidades de nematoides (estresse biótico) têm gerado preocupação entre os produtores devido aos altos custos gerados.

O estresse decorrente da quantidade inadequada de água à cultura é um dos fatores que causa maiores danos nos processos fisiológicos e metabólicos das plantas, resultando em reduções na produtividade (PIMENTEL, 2004; TAIZ e ZEIGER, 2009). No Brasil, esse é um problema comum na região Nordeste, na qual aproximadamente 54% de toda a área estão situadas no semiárido, abrangendo campos de cultivo irrigados ou não (Food Production and Security - FAO, 2008).

A ocorrência de deficiência hídrica no início do desenvolvimento da cana-de-açúcar afeta o rendimento e outros parâmetros de desenvolvimento da cultura, a exemplo da área foliar e número, altura, diâmetro e peso de colmos industrializáveis (ROBERTSON et al., 1999; RAO et al., 2005; GONÇALVES, 2008). Segundo Inman-Bamber (2004), redução de 35% na fitomassa de cana-



de-açúcar foi verificada em consequência da restrição hídrica, em um período de alta demanda evaporativa em plantas jovens.

Tratando-se do déficit hídrico, além do efeito causado pela intensidade, o tempo de exposição à seca atua intensificando negativamente o crescimento da parte aérea, sobretudo a produção de folhas, acelerando a senescência foliar e da planta como um todo. O déficit hídrico pode, ainda, levar a uma redução na interceptação da radiação, na eficiência do uso de água e na fotossíntese (INMAN-BAMBER, 2004).

No estado de Pernambuco, as áreas cultivadas com cana-de-açúcar, além de estarem submetidos ao estresse decorrente da deficiência hídrica, são afetados por um segundo estresse também de grande relevância o parasitismo de nematoides, intensificando ainda mais os efeitos negativos sobre as plantas, elevando as perdas de produção que variam de suaves até a destruição total da cultura. Esses problemas agravam-se com a expansão do cultivo da cana-de-açúcar para os tabuleiros costeiros, áreas com predominância de espécies pertencentes aos gêneros *Meloidogyne* e *Pratylenchus*, onde é comum a presença de solos arenosos e a ocorrência de estações secas prolongadas (MOURA et al., 2000).

Embora o parasitismo de *Meloidogyne* spp. à cana-de-açúcar limite-se às raízes, de onde extraem nutrientes para o crescimento e desenvolvimento, os efeitos decorrentes afetam a fisiologia de toda a planta. A célula eleita para alimentação sofre profundas mudanças caracterizadas por hipertrofia, aumento no número de núcleos e organelas, ausência de vacúolo central, engrossamento da parede celular e elevação das taxas metabólicas (HUSSEY e WILLIAMSON, 1998). A alimentação do parasito provoca um dreno contínuo de grande quantidade de solutos da parte aérea, aumentando a atividade metabólica nos segmentos da raiz próximos à estrutura de alimentação. Como consequência, as raízes tornam-se pobres em radículas e incapazes de absorver a água e nutrientes necessários ao adequado desenvolvimento das plantas que assim ficam menores, raquíticas e cloróticas (DINARDO-MIRANDA, 2005).

Sob déficit hídrico intensificado pelo ataque de nematoides, as plantas fecham os estômatos para limitar a perda de água pela transpiração. Entretanto, o fechamento estomático restringe o influxo de CO<sub>2</sub> para as folhas prejudicando o aparato fotossintético. Esse prejuízo se deve a redução no consumo de energia na forma de poder redutor (NADPH) na fase bioquímica, deixando os elétrons provenientes da continua absorção de energia pelos fotossistemas potencialmente livres para reagir com o oxigênio molecular no estroma, resultando na produção de espécies reativas de oxigênio (EROs), tais como o peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) (MITTLER, 2002). O aumento de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> causa peroxidação dos lipídeos e danos nos pigmentos, proteínas e ácidos nucleicos (GRATÃO et al., 2005). Em resposta, as plantas possuem mecanismos que reduzem a formação de radicais livres e minimizam danos causados pelo estresse oxidativo, removendo enzimaticamente o H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> através de enzimas de varredura de radicais livres, como a catalase (CAT) e a ascorbato peroxidase (APX) (PURVIS e SHEWFELT, 1993).

O estudo do comportamento dessas enzimas em plantas cultivadas em condições adversas ainda é incipiente, existindo lacunas no conhecimento. Diversos autores relatam que a tolerância à seca pode ser correlacionada com aumento de atividade da CAT (SGHERRI et al., 1995; LI et al., 1998). Van Rensburg e Krüger (1994) recomendam o monitoramento da atividade da APX como um possível critério de seleção de plantas tolerantes a seca. Vasconcelos et al. (2009) afirmam que em milho o comportamento da CAT e APX são semelhantes, aumentam de acordo com a intensidade do estresse.

O objetivo do presente estudo foi estudar a interação entre intensidade e duração do déficit hídrico associado ao parasitismo de *Meloidogyne incognita* sobre o crescimento da cana-de-açúcar e atividade das enzimas catalase e ascorbato peroxidase.

## **2.2. Material e método**

O trabalho foi desenvolvido em casa de vegetação na Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife - PE, entre os meses de maio a agosto

de 2012. Durante esse período a temperatura foi monitorada com termômetros de máximo e mínimo sendo a média experimental de 29,5°C.

O solo empregado no experimento foi caracterizado como areia, segundo classificação textural de Atterberg e foi coletado na camada de 0 – 20 cm de profundidade. A Tabela 2.1 corresponde às análises físicas e químicas do solo utilizado. Visando a eliminação de formas de vida microscópica, o solo foi esterilizado em autoclave à temperatura de 120°C a 1 atm de pressão durante 1 hora, sendo este procedimento repetido após 24h.

Tabela 2. 1 – Caracterização física e química do solo

Areia grossa	Areia fina	Silte		Argila		Classe textural	
%							
64	26	4		6		Areia	
pH	P	Na <sup>+</sup>	K <sup>+</sup>	Ca <sup>+2</sup>	Mg <sup>+2</sup>	Al <sup>+3</sup>	H <sup>+</sup> +Al <sup>+3</sup>
Água (1:2,5)	mg.dm <sup>-3</sup>			cmol <sub>c</sub> .dm <sup>-3</sup>			
4,7	13	0,23	0,15	0,25	0,25	0,1	0,2

A população de *M. incognita* foi obtida de raízes de cana-de-açúcar parasitadas por *Meloidogyne* spp., identificada pela técnica de eletroforese de isoenzimas, purificada e multiplicada em tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.) ‘Santa Cruz Kadá’, mantidas em casa de vegetação. O inoculo foi extraído do sistema radicular das plantas utilizando a metodologia descrita por Hussey e Barker (1973), sendo a suspensão calibrada com auxílio da lâmina de Peters e microscópio óptico.

A variedade de cana-de-açúcar estudada foi a RB92579, micropropagada e fornecida pelo Centro de Tecnologias Estratégicas do Nordeste – CETENE. As plântulas de cana-de-açúcar foram postas para aclimatar durante um período de 15 dias em substrato na casa de vegetação. Após esse período, as plantas foram selecionadas quanto à sanidade e homogeneidade e transplantadas para vasos com capacidade de 5.000 cm<sup>3</sup> preenchidos com solo autoclavado, corrigido e adubado segundo as necessidades da cultura (IPA, 2008) com base no resultado da análise do solo. Durante os 15 dias que se sucederam o transplante, as plantas foram supridas em suas necessidades

hídricas com irrigações diárias. Durante esse período, os vasos ficaram na Capacidade de Pote (CP), determinada previamente pelo método gravimétrico, de acordo com Souza et al. (2000). Decorrido 10 primeiros dias em capacidade de pote, as plantas foram inoculadas com 20.000 ovos de *M. incognita* dispostos em quatro orifícios com 3 cm de profundidade abertos ao redor de cada planta.

A diferenciação dos tratamentos foi iniciada 5 dias após a inoculação das plantas com o nematoide. O delineamento experimental adotado foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 7 (tratamentos hídricos: controle [90% da CP], 56% CP por 30 dias, 56% CP por 60 dias, 56% CP por 90 dias, 22% CP por 30 dias, 22% CP por 60 dias e 22% CP por 90 dias) × 2 (densidade de *M. incognita*: 0 e 20.000 ovos por planta) com quatro repetições, totalizando 56 unidades experimentais. As plantas fora do período de imposição do déficit hídrico (56 e 22% CP) foram mantidas na condição controle, ou seja, em 90% CP. A manutenção dos tratamentos foi realizada diariamente pela pesagem dos vasos e reposição da água evapotranspirada, utilizando-se uma balança digital com capacidade máxima de 15 kg e precisão de 0,005 kg.

Avaliações mensais (0, 30, 60 e 90 dias após a aplicação dos tratamentos) foram realizadas para determinação da área foliar, além das análises bioquímicas para atividade das enzimas catalase e ascorbato peroxidase.

A área foliar (AF) foi determinada pela metodologia proposto por Hermann e Camara (1999). Para as análises bioquímicas, a terceira folha de cada planta foi retirada, congelada em N<sub>2</sub> líquido e armazenada em freezer. Para a extração das enzimas, 200 mg de tecido foliar foram macerados em N<sub>2</sub> líquido e homogeneizado em 2 mL do seguinte tampão de extração: fosfato de potássio 100 mM, pH 7,0, EDTA 1 mM e ácido ascórbico 1mM. O homogeneizado foi centrifugado a 10.000 g por 10 min a 4 °C e o sobrenadante coletado. A atividade do ascorbato peroxidase (APX) foi realizada segundo Nakano e Asada (1981), monitorando-se a taxa de oxidação do ascorbato a 290 nm. A catalase (CAT) foi estimada pelo decréscimo na absorbância a 240

nm durante 1 min em um meio de reação contendo fosfato de potássio 100 mM, pH 7,0, e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 500 mM (HAVIR e McHALE, 1987).

Aos 120 dias após a aclimatação das plântulas, portanto aos 90 dias após a imposição dos tratamentos hídricos, foi realizada a coleta final do experimento onde as plantas foram avaliadas com relação à altura da planta, diâmetro do colmo, matéria seca da parte aérea e raiz e reprodução de *M. incognita* no sistema radicular.

A altura de planta ( $h_{\text{planta}}$ ) foi determinada pela distância entre a base até inserção da folha +1 com a utilização de uma fita métrica e o diâmetro do colmo ( $\varnothing_{\text{colmo}}$ ) obtido através do paquímetro. Após a obtenção desses dados, as plantas foram retiradas dos vasos e as raízes separadas da parte aérea (colmo e folhas) e acondicionados em sacos de papel. Os materiais foram pesados separadamente e o sistema radicular dividido em duas partes de igual peso, sendo uma parte usada para determinação da reprodução do nematoide e a outra parte levada com a biomassa da parte aérea para secagem em estufa de circulação forçada de ar a temperatura de 65°C até atingir peso constante. Após este período, determinou-se a matéria seca da parte aérea (MSPA), da raiz (MSR) e total (MST). Com base nos dados foram calculadas a alocação da biomassa para parte aérea (ABPA), raiz (ABR) e a razão raiz/parte aérea (R/PA), conforme metodologia descrita por Benincasa (2003). Para avaliação da reprodução do nematoide foi determinado o número de ovos por sistema radicular (OVOS/SR), o número de ovos por grama de raiz seca (OVOS/GR) e o fator de reprodução obtido pela relação entre a população final e inicial do nematoide ( $FR = P_f/P_i$ ).

Os dados foram submetidos à análise de variância e, quando aplicável, análises de medidas repetidas no tempo foram aplicadas com o auxílio do software SAS – Statistical Analytical System (SAS Institute, 2009). Modelos de regressões linear, quadrático e cúbico foram testados objetivando melhor descrição do comportamento dos dados em função do tempo. Quando necessário, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Para análise estatística, os dados de número de ovos de *M. incognita* foram transformados em  $\log_{10}(X+1)$ .

### 2.3. Resultados e discussão

Avaliações ao longo do tempo mostraram que para as variáveis, área foliar e atividade do ascorbato peroxidase houve interação entre o tempo utilizado na avaliação e os tratamentos hídricos testados (Figura 2.1). Para essas variáveis a presença dos nematoides não influenciou estatisticamente.

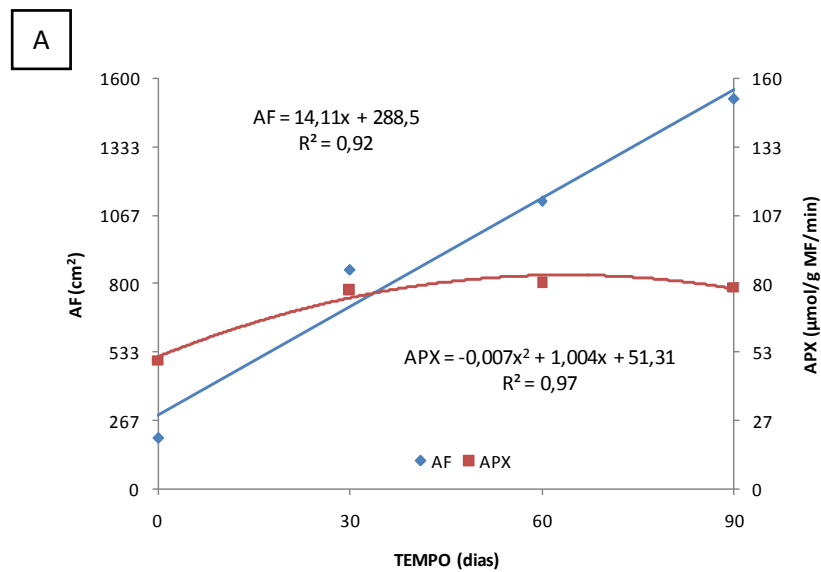
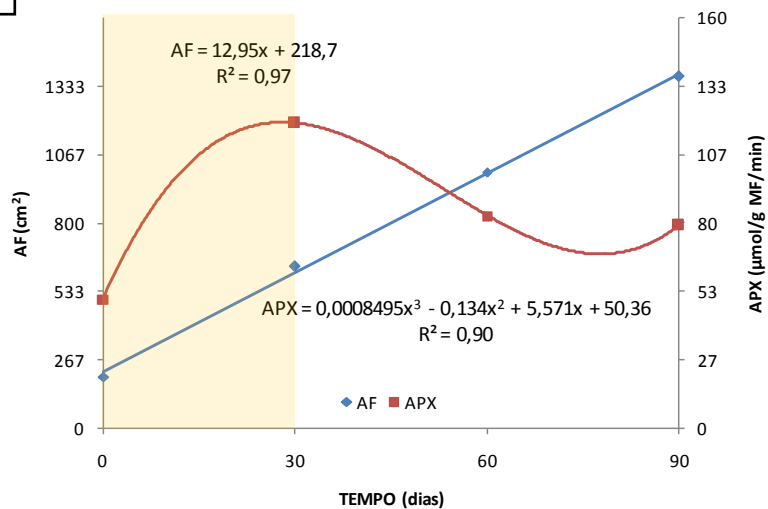
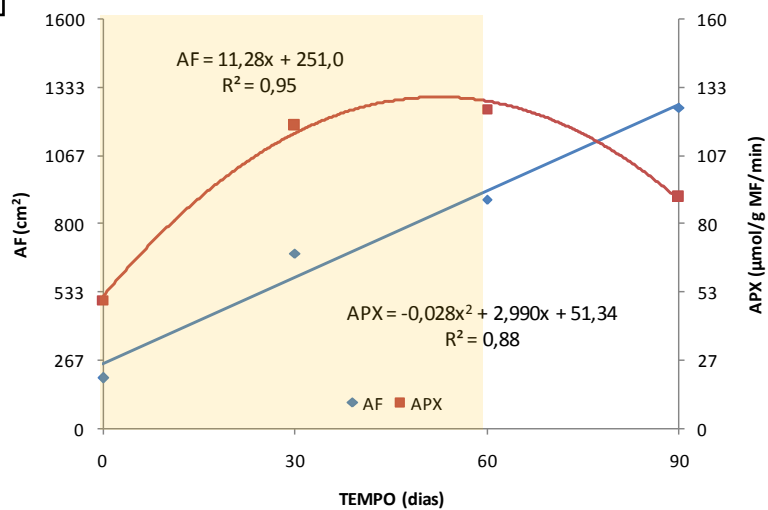


Figura 2. 1 - Atividade da ascorbato peróxidase (APX) e área foliar (AF) para a cana-de-açúcar variedade RB92579 sob os tratamentos hídricos: 90% da CP durante todo período experimental (A).

B



C



D

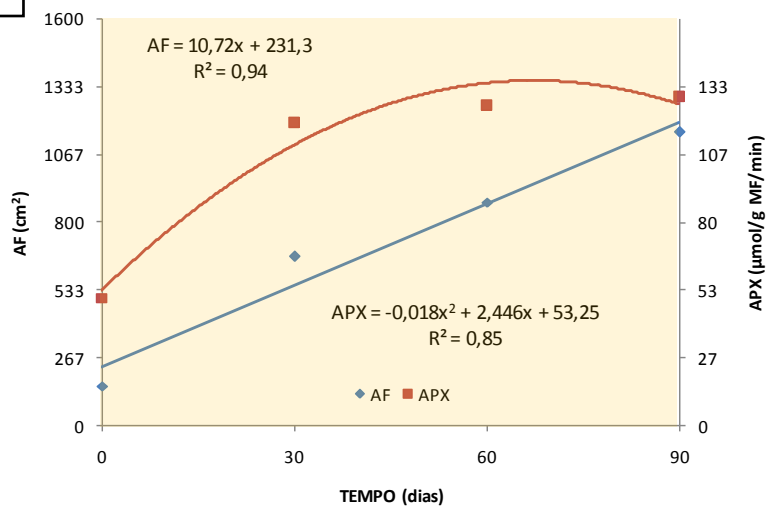


Figura 2. 1 - Atividade da ascorbato peróxidase (APX) e área foliar (AF) para a cana-de-açúcar variedade RB92579 sob os tratamentos hídricos: 56% CP por 30 dias (B), 56% CP por 60 dias (C), 56% CP por 90 dias (D).

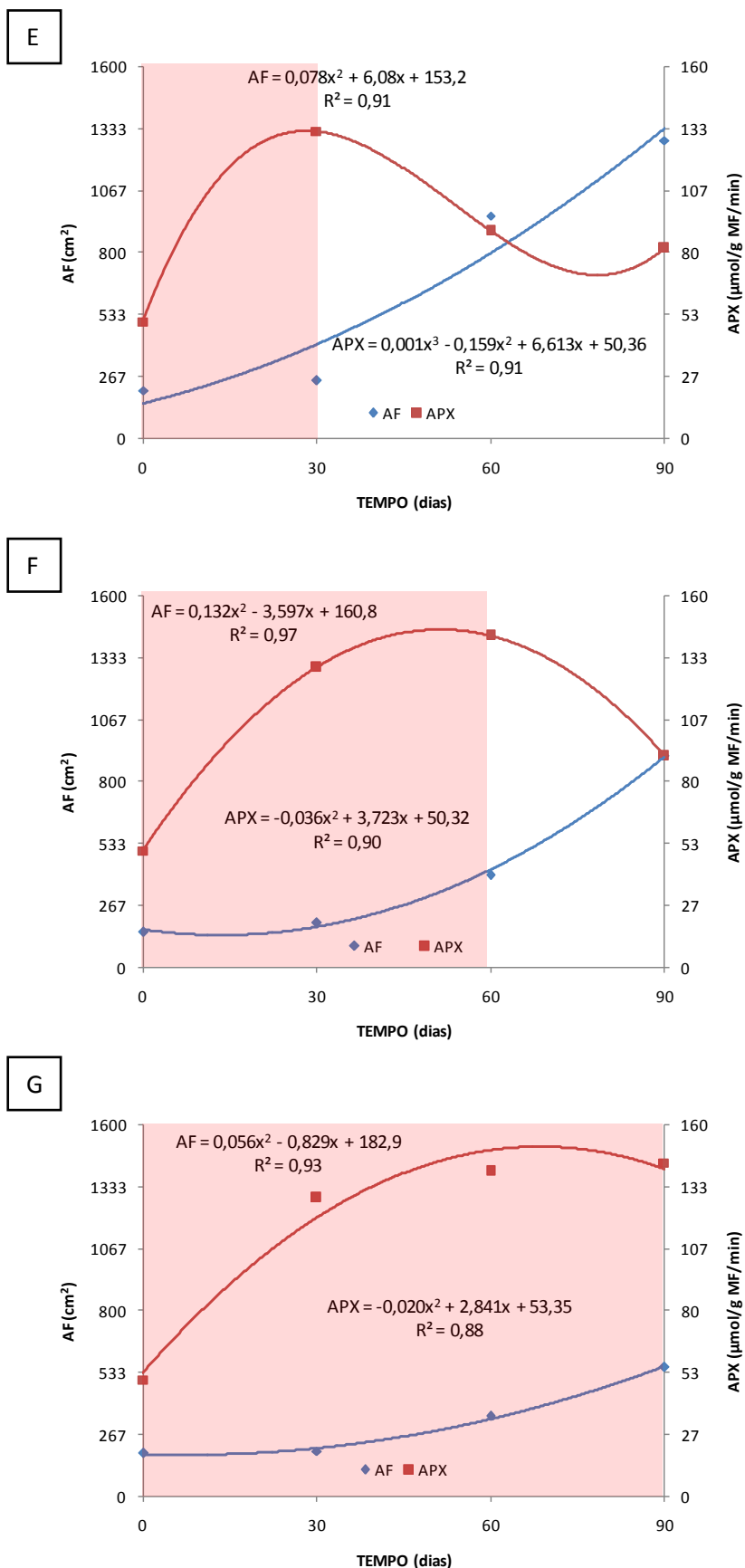


Figura 2. 1 - Atividade da ascorbato peróxidase (APX) e área foliar (AF) para a cana-de-açúcar variedade RB92579 sob os tratamentos hídricos: 22% CP por 30 dias (E), 22% CP por 60 dias (F), 22% CP por 90 dias (G).



Independente da intensidade do déficit hídrico (22 e 56% CP) e da duração (30, 60 e 90 dias) a área foliar da variedade RB92579 mostrou redução no ritmo de crescimento (Figura 2.1). A redução foi mais intensa sob o déficit hídrico correspondente a 22% CP, onde as plantas que estiveram submetidas por mais tempo aos efeitos desse estresse apresentaram as menores taxas de crescimento absoluto, respectivamente 8,46 e 4,11 cm<sup>2</sup>/dia para a duração de 60 e 90 dias (Tabelas 2.1 F e G), quando comparado ao controle (14,70 cm<sup>2</sup>/dia). Nas intensidades do déficit hídrico estudados, 22 e 56% CP, a área foliar teve redução máxima de 65,13% e 22,70%, respectivamente, quando o tempo de imposição do estresse foi de 90 dias (Tabelas 2.1 G e D). Esta tendência, presumidamente, deve-se ao efeito primário do déficit hídrico no decréscimo do alongamento celular, devido à diminuição do turgor da célula influenciando negativamente a área foliar (TAIZ e ZEIGER, 2009). Inman-Bamber e Smith (2005) e Cha-Um e Kirdmanee (2009) observaram que plantas de cana-de-açúcar cultivadas em baixa disponibilidade hídrica do solo reduziram significativamente a área foliar com o aumento da deficiência hídrica no solo.

De um modo geral, ao comparar os déficits hídricos referentes a 22 e 56% CP, com duração de 30 e 60 dias, fica evidente que com a maior duração do estresse (60 dias) a recuperação das plantas no mês seguinte foi mais lenta (Figuras 2.1 B, C com E, F).

A enzima ascorbato peroxidase mostrou aumento superior na atividade quando as plantas estiveram sob 22% CP, independente da duração. Esse aumento correspondeu a no máximo 38,08% em comparação a condição controle (Tabela 2.1 G). Para o déficit hídrico de 56% CP, o aumento máximo foi de 32,44% quando as plantas ficaram expostas ao estresse durante os 90 dias analisados (Tabela 2.1 D). Esses valores corroboram o experimento realizado por Silva (2010), onde o genótipo codificado como CL002 de cana-de-açúcar apresentou acréscimo de 30,23% em relação ao controle, quando esteve sob o estresse máximo estudado por 90 dias, enquanto a atividade da catalase permaneceu constante.

Ponto importante relacionado à enzima ascorbato peroxidase é que, independente da intensidade do déficit hídrico testado, 22 ou de 56% CP, a atividade enzimática reduziu a taxa de aumento à medida que o tempo de exposição se prolongava, tendendo a uma estabilização como observado na Figura 2.1D. A taxa de aumento da atividade enzimática passou de 2,29, para 0,23 até 0,11  $\mu\text{mol/g MF/min}$ , à medida que o estresse se prolongou até atingir 90 dias. Isso indica que o aumento na duração do estresse foi afetando negativamente o aparato metabólico da planta associado à enzima ascorbato peroxidase. Cia (2010) relatou em seu experimento com cana-de-açúcar que à medida que o estresse hídrico tornava-se severo, o sistema de defesa antioxidante, em especial as enzimas superóxido dismutase e ascorbato peroxidase, começaram a entrar em colapso.

Alterações significativas na atividade da catalase não foram detectadas ao longo do experimento. Esse resultado deve estar associado ao fato da catalase ser uma enzima encontrada em sua grande maioria nos peroxissomos, e, portanto, ligada a metabolização do  $\text{H}_2\text{O}_2$  liberado em decorrência da conversão do glicolato a glioxalato durante a fotorrespiração (VELJOVIC-JOVANOVIC et al., 2002). Como a cana-de-açúcar é uma gramínea  $\text{C}_4$ , possui mecanismos que mantêm a fotorrespiração em níveis extremamente baixos através da manutenção da alta razão  $\text{CO}_2:\text{O}_2$  no sítio de ação da enzima ribulose 1,5 bisfosfato (RuBP) carboxilase/oxigenase, favorecendo as reações de carboxilação (SCANDALIOS, 2005). O metabolismo  $\text{C}_4$  é uma evolução fisiológica que evita os efeitos provocados pelo estresse hídrico (MITTLER, 2002).

A atividade de enzimas antioxidantes em condições de déficit hídrico é extremamente variável entre diferentes espécies de plantas, e mesmo entre cultivares da mesma espécie (BARTOLI et al. 1999). Para a catalase, trabalhos mostraram variação muito grande nessa enzima sob déficit hídrico. Zhang e Jiang (2002) verificaram aumento na atividade desta enzima em plantas de milho sob déficit hídrico. Vasconcelos et al. (2009), trabalhando com milho sob restrição hídrica, observaram que aos 60 dias após plantio houve redução de apenas 6,9% da atividade desta enzima. Já Cia (2010), trabalhando com vinte variedades de cana-de-açúcar sob déficit hídrico, observou que a depender da

duração e intensidade do estresse, as variedades testadas apresentaram aumento, redução e até houve variedades que não alteraram a atividade dessa enzima.

Os dados da atividade enzimática mostraram que a ascorbato peroxidase desempenhou papel importante na detoxificação do  $H_2O_2$  produzido em condições de estresse. Segundo Wang et al. (2009), quando a atividade da catalase não é eficaz em plantas, outras enzimas eliminadoras de  $H_2O_2$ , como a ascorbato peroxidase, mostraram aumento na atividade.

Os tratamentos hídricos testados influenciaram a altura da planta e o diâmetro do colmo ao nível de 1% de probabilidade pelo teste F, porém os nematoides e a interação não foram significativos para essas variáveis (Tabela 2.2). Resposta semelhante foi obtida por Gonçalves (2008) ao testar quatro variedades de cana sob efeito de três níveis de água no solo por 71 dias, obtendo redução significativa na altura das plantas e diâmetro do colmo ao final do experimento.

Tabela 2. 2 - Altura de planta ( $h_{\text{planta}}$ ) e diâmetro do colmo ( $\varnothing_{\text{colmo}}$ ) da variedade de cana-de-açúcar RB92579 submetida a sete tratamentos hídricos e duas densidades de *M. incognita* aos 120 dias após o plantio.

Tratamentos hídricos	$\varnothing_{\text{colmo}}$ (cm)	$h_{\text{planta}}$ (cm)
90% da CP (controle)	1,33 a	76,38 a
56% da CP com duração de 30 dias	1,32 a	68,94 ab
56% da CP com duração de 60 dias	1,23 ab	68,25 ab
56% da CP com duração de 90 dias	1,16 ab	58,63 bc
22% da CP com duração de 30 dias	1,15 ab	46,13 cd
22% da CP com duração de 60 dias	1,06 b	42,63 d
22% da CP com duração de 90 dias	0,76 c	27,63 e
CV (%)	10,90	16,83

Médias seguidas de letras iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

O diâmetro do colmo teve o desenvolvimento normal comprometido, quando a variedade RB92579 permaneceu por 60 e 90 dias sob umidade de

22% CP (Tabela 2.2). A redução máxima, correspondente a 42,86% em relação ao controle, foi observada sob 22% CP com duração de 90 dias.

A altura da planta da variedade RB92579 teve redução máxima de 63,83% em relação ao controle, quando a planta esteve durante 90 dias sob os efeitos do déficit hídrico máximo (22% da CP). De uma maneira geral, a altura da planta mostrou ser uma variável mais sensível ao déficit hídrico, não apenas pela maior redução no crescimento quando comparado ao diâmetro, mas também por expressar diferença estatística a partir de 30 dias sob imposição do déficit hídrico, fato não observado para o diâmetro do colmo, onde os efeitos, de uma forma geral, só foram percebidos a partir de 60 dias de duração. Efeoğlu et al. (2009) estudando os efeitos do baixo potencial hídrico em plantas de milho verificou que conforme o estresse se intensificava, o crescimento reduzia significativamente. Porém a redução observada foi superior a que Silva (2010) obteve quando submeteu os genótipos de cana-de-açúcar ao estresse severo (0 a 20% de água disponível no solo), tendo uma redução média de 25%.

A matéria seca da parte aérea, matéria seca da raiz e matéria seca total sofreram efeito dos tratamentos hídricos impostos, não havendo efeito isolado da presença dos nematoides e nem interação entre os fatores estudados.

A matéria seca da parte aérea sofreu redução significativa de 68,87 e 79,97% quando plantas da variedade RB92579 permaneceram sob déficit hídrico de 22% CP por 60 e 90 dias, respectivamente (Tabela 2.3). Reduções significativas também foram constatadas quando as plantas estiveram sob déficit hídrico de 56% CP por 30, 60 e 90 dias e 22% da CP por 30 dias. Os resultados obtidos por Gonçalves (2008) mostraram que das variedades testadas sob três níveis de água no solo, a RB92579 apresentou a maior redução na matéria seca da parte aérea, sendo de 59,2% após 71 dias sob o estresse máximo.

Tabela 2. 3 - Matéria seca da parte aérea (MSPA), matéria seca da raiz (MSR) e matéria seca total (MST) da variedade de cana-de-açúcar RB92579 submetida a sete tratamentos hídricos e duas densidades de *M. incognita* aos 120 dias após o plantio.

Tratamentos hídricos	MSPA (g)	MSR (g)	MST (g)
90% da CP (controle)	25,06 a	4,83 d	29,89 a
56% da CP com duração de 30 dias	21,79 b	6,24 c	28,03 ab
56% da CP com duração de 60 dias	20,13 bc	7,34 ab	27,47 ab
56% da CP com duração de 90 dias	19,60 bc	8,09 a	27,68 ab
22% da CP com duração de 30 dias	17,84 c	6,64 bc	24,48 b
22% da CP com duração de 60 dias	7,80 d	3,73 e	11,54 c
22% da CP com duração de 90 dias	5,02 d	2,60 f	7,62 c
CV (%)	12,42	11,10	11,52

Médias seguidas de letras iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

As maiores reduções da matéria seca da raiz ocorreram nas plantas submetidas a 22% CP por 60 e 90 dias, com valores de 22,77 e 46,17% em relação ao controle (Tabela 2.3). Gonçalves (2008) também observou reduções na matéria seca da raiz nas variedades testadas sob efeito do estresse hídrico severo, sendo essa redução superior a 40%. As reduções observadas na matéria seca das raízes e na parte aérea influenciaram, seja aumentando ou diminuindo, a relação raiz/parte aérea, sobretudo comparando-se as plantas submetidas à menor disponibilidade hídrica do solo àquelas bem hidratadas (Tabela 2.4).

Para a matéria seca total, o déficit hídrico de 22% CP com duração de 60 e 90 dias proporcionaram as maiores reduções, respectivamente, de 61,39 e 74,51%. Efeitos negativos para a matéria seca total foram observados em outros tratamentos hídricos, ou seja, 56% CP com durações de 30, 60 e 90 dias e 22% CP com duração de 30 dias, porém as reduções na matéria seca total foram inferior aos verificados anteriormente (Tabela 2.3).

Em decorrência dos tratamentos hídricos, a alocação da biomassa na parte aérea, alocação de biomassa na raiz e razão raiz/parte aérea sofreram

efeitos significativos ao nível de 1% de probabilidade pelo teste F, não havendo efeito do nematoide ou interação.

Os dados de alocação de biomassa na parte aérea (Tabela 2.4) mostram que, de modo geral, com a imposição do déficit hídrico, independente da intensidade e da duração, houve redução nessa variável, que se tornou mais pronunciada quando as plantas estiveram sob a condição de umidade no solo correspondente a 22% da CP, em especial com duração de 60 e 90 dias, onde as reduções foram de 16,12 e 17,76%, respectivamente, em relação ao controle.

Tabela 2. 4 - Alocação de biomassa na parte aérea (ABPA), alocação de biomassa na raiz (ABR) e razão raiz/parte aérea (R/PA) da variedade de cana-de-açúcar RB92579 submetida a sete tratamentos hídricos e duas densidades de *M. incognita* aos 120 dias após o plantio.

Tratamentos hídricos	ABPA (%)	ABR (%)	R/PA
90% da CP (controle)	83,81 a	16,19 e	0,19 d
56% da CP com duração de 30 dias	77,67 b	22,33 d	0,29 c
56% da CP com duração de 60 dias	73,25 c	26,75 c	0,37 b
56% da CP com duração de 90 dias	70,75 d	29,25 b	0,41 b
22% da CP com duração de 30 dias	72,81 cd	27,19 bc	0,37 b
22% da CP com duração de 60 dias	67,69 e	32,31 a	0,48 a
22% da CP com duração de 90 dias	66,05 e	33,95 a	0,52 a
CV (%)	2,06	5,50	8,17

Médias seguidas de letras iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Para a alocação de biomassa na raiz, o comportamento foi inverso ao observado na alocação de biomassa na parte aérea, ou seja, o tratamento hídrico que permitiu uma menor alocação da biomassa na parte aérea resultou em maior alocação de biomassa no sistema radicular (Tabela 2.4). Os tratamentos hídricos mais extremos testados nesse trabalho, ou seja, 22% CP com durações de 60 e no máximo 90 dias, foram as que permitiram a maior alocação de biomassa nas raízes. Queiroz (2006) estudando o efeito da

intensidade (55%, 40% e 25% da disponibilidade hídrica no solo - DHS) e duração (30 e 60 dias) em duas cultivares de cana-de-açúcar, percebeu que sob o déficit hídrico severo (25% DHS) as cultivares tenderam a distribuir maior parte dos fotoassimilados para o sistema radicular em detrimento da parte aérea. Ramesh (2000) afirmou que, de um modo geral, quando gramíneas estão em condições de déficit hídrico tendem a diminuir a alocação de massa seca para folhas proporcionalmente à redução da disponibilidade hídrica do solo, priorizando o crescimento radicular.

A razão raiz/parte aérea, variável importante para o estudo do déficit hídrico, mostrou que quando a variedade RB92579 esteve sob condições extremas, ou seja, 22% CP com durações de 60 e 90 dias, o sistema radicular teve desenvolvimento superior em relação à parte aérea da planta. Essa característica permite a planta explorar um maior volume de solo em busca de umidade, tornando-a mais tolerante aos efeitos do déficit hídrico. Estudos apontam que esse comportamento frente ao déficit hídrico se deve à síntese do ácido abscísico no sistema radicular que exerce efeito positivo no crescimento da raiz por suprimir a produção de etileno (STEUDLE, 2000; TAIZ e ZEIGER, 2009). À medida que o déficit hídrico ia se tornando mais brando, ou seja, da condição de 22% CP com duração de 30 dias para a de 56% CP com duração de 30 dias, a razão raiz/parte foi mudando o comportamento, adquirindo ao longo dessa passagem um menor valor. Isso evidencia que nas melhores condições hídricas estudadas, o sistema radicular teve um menor desenvolvimento em comparação com a parte aérea da planta.

A multiplicação de *M. incognita* foi afetada pelos tratamentos hídricos testados (Tabela 2.5). De uma maneira geral houve multiplicação dos nematoides, uma vez que ao final do experimento o número de ovos foi superior ao inoculado (20.000 ovos/planta). Exceção a essa afirmação ocorreu no déficit hídrico correspondente a 22% CP com duração de 90 dias, onde o número final de ovos foi inferior ao inoculado, diferindo estatisticamente dos demais tratamentos hídricos estudado.

Tabela 2. 5 – Número médio de ovos por sistema radicular (OVOS/SR), ovos por grama seca de raiz (OVOS/GR) e fator de reprodução (FR) de *M. incognita* na variedade de cana-de-açúcar RB92579 submetida a sete tratamentos hídricos aos 120 dias após o plantio.

Tratamentos hídricos	OVOS/SR	OVOS/GR	FR
90% da CP (controle)	96.340 a	19.472 a	4,82
56% da CP com duração de 30 dias	62.660 ab	10.379 ab	3,13
56% da CP com duração de 60 dias	50.810 ab	7.094 ab	2,54
56% da CP com duração de 90 dias	46.945 ab	5.382 b	2,35
22% da CP com duração de 30 dias	43.700 ab	6.515 b	2,18
22% da CP com duração de 60 dias	29.715 ab	6.407 b	1,49
22% da CP com duração de 90 dias	13.015 b	5.642 b	0,65
CV (%)	62,44	63,27	

Médias seguidas de letras iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Para o número de ovos por grama de raiz seca, os tratamentos hídricos mais severos, 56% CP por 90 dias a 22% CP por 90 dias, foram estatisticamente inferiores aos demais tratamentos hídricos impostos a variedade RB92579. Este resultado se deve possivelmente a dois fatores, o efeito negativo do déficit hídrico na multiplicação de *M. incognita* e o número de ovos (20.000 ovos) utilizado na inoculação das plantas de cana-de-açúcar. O fator de reprodução teve comportamento inverso ao aumento na intensidade e duração do déficit hídrico, tendo o tratamento hídrico controle e déficit hídrico de baixa severidade um maior fator de reprodução. Provavelmente esse resultado deve-se ao fato da planta nessas condições proporcionar uma maior produção de fotoassimilados utilizados pelo nematoide na sua alimentação.

## 2.4. Conclusões

A maior intensidade e duração do déficit hídrico diminuem o ritmo de crescimento da área foliar e aumenta a atividade da enzima ascorbato peroxidase, mas não afeta a atividade da enzima catalase;



O aumento na duração do déficit hídrico afeta negativamente a recuperação pós-estresse;

O parasitismo de *M. incognita* não afeta as respostas da variedade RB92579 aos déficits hídricos estudados, mas o déficit hídrico com maior severidade (22% CP por 90 dias) reduz a reprodução do *M. incognita*;

Os tratamentos hídricos mais severos, 22% CP com duração de 60 e 90 dias, intensifica as reduções em altura de planta, diâmetro de colmo, matéria seca da parte aérea, matéria seca da raiz, matéria seca total e alocação de biomassa na parte aérea, entretanto induzem maior alocação de biomassa para o sistema radicular, aumentos na razão raiz/parte aérea e na atividade da enzima ascorbato peroxidase.

## 2.5. Referências bibliográficas

BARTOLI, C. G.; SIMONTACCHI, M.; TAMBUSI, E.; BELTRANO, J.; MONTALDI, E.; PUNTARULO, S. Drought and watering-dependent oxidative stress: effect on antioxidant content in *Triticum aestivum* L. leaves. **Journal of Experimental Botany**, v. 50, p. 375-383, 1999.

BENINCASA, M. M. P. **Análise de crescimento de plantas (noções básicas)**. 2 ed. Jaboticabal: FUNEP, 2003. 41p.

CHA-UM, S.; KIRDMANEE, C. Proline accumulation, photosynthetic abilities and growth characters of sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) plantlets in response to iso-osmotic salt and water-deficit stress. **Agricultural Sciences in China**, v. 8, p. 51-58, 2009.

CIA, M. C. **Resposta antioxidativa em variedades de cana-de-açúcar (*Saccharum spp.*) sob déficit hídrico**. 2010. 91 p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.

DINARDO-MIRANDA, L. L. Manejo de fitonematoides em cana-de-açúcar. **Jornal Cana**, v. 5, p. 64-67, 2005.

EFEOĞLU, B.; EKMEKÇI, Y.; ÇIÇEK, N. Physiological responses of three maize cultivars to drought stress and recovery. **South African Journal of Botany**, v. 75, p. 34-42, 2009.

EMPRESA PERNAMBUCANA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - IPA. **Recomendações de adubação para o Estado de Pernambuco: segunda aproximação**. 3 ed. Recife, 2008. 212p.

FAO – Food Production and Security.  
<http://www.fao.org/ag/AGL/agll/spush/topic1.htm#brazil>. 22 out. 2012

GONÇALVES, E. R. **Fotossíntese, osmorregulação e crescimento inicial de quatro variedades de cana-de-açúcar submetidas à deficiência hídrica**. 2008. 79 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal de Alagoas, Alagoas, 2008.

GRATÃO, P. L. et al. Making the life of heavy metal stressed plants a little easier. **Functional Plant Biology**, v. 32, p. 481-494, 2005.

HAVIR, E. A.; MCHALE, N. A. Biochemical and developmental characterization of multiple forms of catalase in tobacco leaves. **Plant Physiology**, v. 84, p. 450-455, 1987.

HERMANN, E. R.; CÂMARA, G. M. S. Um método simples para estimar a área foliar de cana-de-açúcar. **Revista da STAB**, v. 17, p. 32-34, 1999.

HUSSEY, R. S.; BARKER, K. R. A comparison of methods of collecting inocula of *Meloidogyne* spp., including a new technique. **Plant Disease Reporter**, v. 57, p. 1025-1028, 1973.

HUSSEY, R.S.; WILLIAMSON, V.M. Physiological and molecular aspects of nematode parasitism. In: Barker, K.R.; Pederson, G.A. & Windham, G.L. (Ed.) **Plant Nematode Interactions**. Madison, WI. ASA-CSSA-SSSA. 1998. Agronomy Monograph No. 36. pp. 87-108.

INMAN-BAMBER, N. G. Sugarcane water stress criteria for irrigation and drying off. **Field Crops Research**, v. 89, p. 107-122, 2004.

INMAN-BAMBER, N. G.; SMITH, D. M. Water relations in sugarcane and response to water deficits. **Field Crops Research**, v. 92, p. 185-202, 2005.

LI, L.; VAN-STADEN, J.; JAGER, A. K. Effects of plant regulators on the antioxidant system in seedlings of maize cultivars subjected to water stress. **Plant growth Regul**, v. 25, p. 81-87, 1998.

MITTLER, R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. **Trends in Plant Science**, v. 7, p. 405-410, 2002.

MOURA, R. M. Controle integrado dos nematoides da cana-de-açúcar no Nordeste do Brasil. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA, 22., 2000, Uberlândia. **Anais...** Brasília: Sociedade Brasileira de Nematologia, 2000. p. 88-94.

NAKANO, Y.; ASADA, K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. **Plant and Cell Physiology**, v. 22, p. 867-880, 1981.

PIMENTEL, C. **A relação da planta com a água**. Seropédica: EDUR, 2004. 191p.

PURVIS, A. C.; SHEWFELT, R. L. Does the alternative pathway ameliorate chilling injury in sensitive plant tissues? **Plant Physiology**, v. 88, p. 712-718, 1993.

QUEIROZ, R. J. B. **Quantificação da trealose e da prolina livre em cana-de-açúcar sob efeito da disponibilidade hídrica do solo**. 2006. 70 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Estadual Paulista, São Paulo, 2006.

RAMESH, P. Effect of different levels of drought during the formative phase on growth parameters and its relationship with dry matter accumulation in sugarcane. **Journal of Agronomy & Crop Science**, v. 185, p. 83-89, 2000.

RAO, C. M.; KUMAR, M. V.; REDDY, L. K. Management of sugarcane clones under limited moisture situations (drought) at formative stage. **Indian Sugar**, p. 949-953, 2005.

ROBERTSON, M. J. et al. Estimating the risk associated with drying-off strategies for irrigated sugarcane before harvest. **Australian Journal of Agricultural Research**, v. 50, p. 65-77, 1999.

SAS Institute Inc. SAS/STAT 9.3 User's guide. Cary, NC: SAS Institute Inc. 2009.

SCANDALIOS, J. G. Oxidative stress: molecular perception and transduction of signals triggering antioxidant gene defenses. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 38, p. 995-1014, 2005.

SGHERRI, C. L. M.; NAVARI-IZZO, F. Sunflower seedlings subjected to increasing water deficit stress: oxidative stress and defence mechanisms. **Plant Physiology**, v. 93, p. 25-30, 1995.

SILVA, P. B. **Aspectos fisiológicos de seis genótipos de cana-de-açúcar submetidos a estresse hídrico**. 2010. 98 p. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal e Proteção de Plantas) – Universidade Federal de Alagoas, Alagoas, 2010.

SOUZA, C. C. et al. Avaliação de métodos de determinação de água disponível e manejo da irrigação em terra roxa sob cultivo de algodoeiro herbáceo. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 4, p. 338-342, 2000.

STEUDLE, E. Water uptake by roots: effects of water deficit. **Journal of Experimental Botany**, v. 51, p. 1531-1542, 2000.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 4.ed. Porto Alegre: Artmed, 2009. 848p.

VAN RENSBURG, L.; KRÜGER, G. H. Evaluation of Oxidative stress metabolism for use in selection to drought tolerant cultivars of *Nicotiana tabacum* L. J. **Plant Physiology**, v. 143. p. 730-737, 1994.

VASCONCELOS, A. C. F. et al. Enzymatic antioxidant responses to biostimulants in maize and soybean subjected to drought. **Scientia Agrícola**, v. 66, p. 395-402, 2009.

VELJOVIC-JOVANOVIC, S.; NOCTOR, G.; FOYER, C. H. Are leaf hydrogen peroxide concentrations commonly overestimated? The potential influence of artefactual interference by tissue phenolics and ascorbate. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 40, p. 501–507, 2002.

WANG; W. B et al., Analysis of antioxidant enzyme activity during germination of alfalfa under salt and drought stresses. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 47, p. 570–577, 2009.

ZHANG, J.; JIANG, M. Water stress induced abscisic acid accumulation triggers the increased generation of reactive oxygen species and up-regulates the activities of antioxidant enzymes in maize leaves. **Journal of Experimental Botany**, v. 53, p. 2401-2410, 2002.

***Capítulo III***

---

**RELAÇÕES DÉFICIT HÍDRICO-DENSIDADE *MELOIDOGYNE INCOGNITA*  
EM CANA-DE-AÇÚCAR**

## **Relações déficit hídrico-densidade de *Meloidogyne incognita* em cana-de-açúcar**

**Resumo:** Este trabalho teve por objetivo estudar a influência conjunta da densidade populacional de *Meloidogyne incognita* e do déficit hídrico no crescimento da cana-de-açúcar variedade RB92579 e atividade das enzimas catalase e ascorbato peroxidase. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado em arranjo fatorial 3 (tratamentos hídricos: 90% CP, 70% CP e 50% CP) × 4 (densidades de *M. incognita* - 0, 10.000, 20.000 e 40.000 ovos por planta) com quatro repetições. Aos 90 dias, a altura da planta, o diâmetro do colmo e a área foliar foram influenciados negativamente pelo déficit hídrico. A associação dos efeitos do déficit hídrico e nematoide proporcionaram redução na matéria seca da parte aérea e raiz, com maiores reduções em estresse 50% CP e 40.000 ovos por planta de *M. incognita*. A atividade de ascorbato peroxidase respondeu ao déficit hídrico e nematológico, aumentando expressivamente a 50% CP e 40.000 ovos/planta. Embora o déficit hídrico tenha diminuído a multiplicação de *M. incognita*, o crescimento da variedade RB92579 foi mais severamente afetado a 70% CP com 40.000 ovos do nematoide.

**Palavras chave:** déficit hídrico, enzimas, estresse oxidativo, nematoide das galhas, *Saccharum*.

### **Relations hydric deficit - *Meloidogyne incognita* density in sugarcane**

**Abstract:** This work aimed to study the joint influence of hydric deficit and *Meloidogyne incognita* density on sugarcane growth and the catalase and ascorbate activity. The experiment was conducted in a completely randomized design in a factorial arrangement 3 (water treatments : 90% CP, 70% CP and 50% CP) × 4 (*M. incognita* density: 0, 10,000 20,000 and 40,000 eggs per

seedling) with 4 replications. At 90 days, plant height, diameter culm and leaf area were negatively influenced by hydric deficit intensities. The association of drought effects with nematode parasitism decreased shoots and root dry matter with highest reductions at 50% of CP and 40,000 *M. incognita* eggs per plant. Ascorbate peroxidase activity responds to drought and nematode stresses with expressive increases at 50% PC and 40,000 eggs per plant. Despite of *M. incognita* density decrease under hydric deficit, RB92579 growth was more severally affected under 70% of CP and 40,000 eggs per plant.

**Key-words:** hydric deficit; enzyme, oxidative stress; root-knot nematode, *Saccharum*

### 3.1. Introdução

A seca é um dos fatores abióticos que mais altera a produtividade e distribuição de um vegetal, tendo influência negativa em mais de 10% das áreas agrícolas do globo terrestre (BARTELS e SUNKAR, 2005).

Quando a quantidade de água não atende às necessidades hídricas da cultura, tem início um quadro de estresse hídrico que afeta negativamente o crescimento da planta e, por fim, o rendimento da cultura, devido ao fechamento dos estômatos e à diminuição da fotossíntese em adaptação a escassez de água (BERGONCI e PEREIRA, 2002).

Dados obtidos por Inman-Bamber (2004) mostraram que se o déficit hídrico ocorresse durante o desenvolvimento da cultura da cana-de-açúcar (*Saccharum* spp. L.) haveria restrição nos processos fisiológicos como a divisão e alongação celular, o que causaria danos a exemplo da diminuição na taxa de acúmulo de massa seca e área foliar.

Outro tipo de estresse que tem causado sérios prejuízos aos canaviais são os de origem biótica, em especial os oriundos do parasitismo de nematoides. Os danos causados dependem da susceptibilidade da cultura, das condições ambientais, da presença de outros patógenos que podem interagir com os nematoides e, sobretudo, da densidade populacional desses patógenos



(TIHOHOD, 1993). Em climas tropicais, a densidade populacional pode variar durante todo o ano. Oscilações de temperatura e da umidade do solo podem levar à dormência dos nematoides no período frio ou de seca (LORDELLO, 1992).

Existe relação direta entre densidades populacionais e dano. O crescimento da planta pode ser estimulado em baixas densidades populacionais de nematoides, no entanto, as densidades aumentam na medida em que o tempo avança, relacionando-se diretamente às limitações de crescimento da cultura ou produtividade (BARKER e OLTHOF, 1976).

O parasitismo pelos nematoides, especialmente em condições de elevada densidade populacional tornam o sistema radicular das plantas enfraquecido e pobre em radículas, reduzindo a absorção de água e nutrientes, intensificando os efeitos negativos do déficit hídrico (DINARDO-MIRANDA, 2005). Diante dessa situação, a planta fecha os estômatos para reduzir os efeitos do déficit hídrico, limitando a perda de água por evapotranspiração e, conseqüentemente, a absorção de CO<sub>2</sub>. Com a limitação na disponibilidade de CO<sub>2</sub>, a planta não consegue utilizar toda a energia absorvida pelos fotossistemas, e o excedente, que não é utilizado nas reações bioquímicas da fotossíntese, aumenta a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs), em especial, a produção do peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) pela reação com O<sub>2</sub> no estroma dos cloroplastos desencadeando o estresse oxidativo (GRATÃO et al., 2005). O aumento no H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> é prejudicial à célula, em especial pela degradação de suas membranas. Sob influência deletéria do H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, mecanismos antioxidativos atuam produzindo enzimas de varredura de radicais livres, como: a catalase (CAT) e a ascorbato peroxidase (APX) (PURVIS e SHEWFELT, 1993).

O presente trabalho tem por objetivo estudar a influência conjunta da densidade populacional do *Meloidogyne incognita* e do déficit hídrico no crescimento da cana-de-açúcar e atividade das enzimas catalase e ascorbato peroxidase.

### 3.2. Material e métodos

O trabalho foi desenvolvido em casa de vegetação na Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife – PE, entre os meses de setembro a dezembro de 2012. Durante esse período a temperatura foi monitorada com termômetros de máximo e mínimo sendo a média experimental de 32,5°C.

O solo empregado no experimento segundo classificação textural de Atterberg foi areia, coletado na camada de 0 – 20 cm de profundidade. A Tabela 3.1 apresenta as análises físicas e químicas do solo utilizado. Visando a eliminação de formas de vida microscópica existente no solo, o material foi esterilizado em autoclave a temperatura de 120°C a 1 atm de pressão durante 1 hora, sendo este procedimento repetido após 24h.

Tabela 3. 1 – Caracterização física e química do solo

Areia grossa	Areia fina	Silte		Argila		Classe textural	
%							
64	26	4		6		Areia	
pH	P	Na <sup>+</sup>	K <sup>+</sup>	Ca <sup>+2</sup>	Mg <sup>+2</sup>	Al <sup>+3</sup>	H <sup>+</sup> +Al <sup>+3</sup>
Água (1:2,5)	mg.dm <sup>-3</sup>			cmol <sub>c</sub> .dm <sup>-3</sup>			
4,7	13	0,23	0,15	0,25	0,25	0,1	0,2

A população de *M. incognita* foi obtida de raízes de cana-de-açúcar parasitadas por *Meloidogyne* spp., identificada pela técnica de eletroforese de isoenzimas, purificada e multiplicada em tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.) ‘Santa Cruz Kadá’, mantidas em casa de vegetação. Os inóculos foram extraídos do sistema radicular das plantas através da metodologia descrita por Hussey e Barker (1973), sendo a suspensão calibrada com auxílio da lâmina de Peters e microscópio óptico.

As plantas foram obtidas de rebolos da variedade de cana-de-açúcar RB92579, fornecida pela estação experimental de cana-de-açúcar de Carpina, base fixa da UFRPE. Os rebolos foram postos para germinar em copos com capacidade de 500 cm<sup>3</sup> contendo areia lavada e esterilizada. Após 15 dias da emergência, plantas foram selecionadas quanto à sanidade e homogeneidade

e transplantadas para vasos com capacidade de 5.000 cm<sup>3</sup> preenchidos com solo autoclavado, corrigido e adubado segundo as necessidades da cultura (IPA, 2008) com base no resultado de análise do solo. Durante os 15 dias que se sucederam o transplante, as plantas foram supridas em suas necessidades hídricas com irrigações diárias. Nesse período, os vasos foram mantidos em Capacidade de Pote (CP) determinada previamente pelo método gravimétrico de acordo com Souza et al. (2000). Decorrido 10 primeiros dias em capacidade de pote, as plantas foram inoculadas com diferentes densidades de *M. incognita* dispostos em quatro orifícios com 3 cm de profundidade abertos ao redor de cada planta.

Decorridos 5 dias da inoculação dos nematoides, as plantas foram submetidas aos diferentes tratamentos hídricos. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em arranjo fatorial 3 (tratamentos hídricos: 90% CP, 70% CP e 50% CP) × 4 (densidades de *M. incognita* - 0, 10.000, 20.000 e 40.000 ovos por planta) com quatro repetições, totalizando 48 unidades experimentais. A manutenção dos tratamentos foi realizada diariamente pela pesagem dos vasos e reposição da água evapotranspirada. Para isso foi utilizada uma balança digital com capacidade máxima de 15 kg e precisão de 0,005 kg.

Terminado o experimento, aos 120 dias após a germinação, portanto aos 90 dias após a imposição dos tratamentos hídricos, avaliou-se a altura de planta, diâmetro do colmo, área foliar, atividade das enzimas catalase e ascorbato peroxidase, matéria seca da parte aérea e raiz e a reprodução de *M. incognita* no sistema radicular.

A altura de planta ( $h_{\text{planta}}$ ) foi determinada pela distância entre a base até inserção da folha +1 com a utilização de uma fita métrica. O diâmetro do colmo ( $\varnothing_{\text{colmo}}$ ) foi obtido através do paquímetro e, a área foliar (AF), conforme metodologia de Hermann e Camara (1999).

Para as análises bioquímicas, a terceira folha de cada planta foi retirada, submersa em nitrogênio líquido e armazenada em freezer. O extrato das amostras foi preparado a partir da homogeneização de 200 mg de matéria fresca em 2 mL do tampão fosfato de potássio 100 mM, pH 7,0, EDTA 1 mM e

ácido ascórbico. O homogeneizado foi centrifugado a 10.000 g a 4°C por 10 min e o sobrenadante coletado. A partir do sobrenadante foi realizada análises da atividade das enzimas, catalase (CAT) (HAVIR e McHALE, 1987) e ascorbato peroxidase (APX) (NAKANO e ASADA, 1981).

Para obtenção da biomassa, as plantas foram retiradas dos vasos e o sistema radicular separado da parte aérea. Os materiais foram pesados separadamente e o sistema radicular dividido em duas partes de igual peso, sendo uma parte usada para determinação da reprodução do nematoide e a outra parte levada com a biomassa da parte aérea para secagem em estufa de circulação forçada de ar a temperatura de 65°C até atingir peso constante. Após este período, determinou-se a matéria seca da parte aérea (MSPA), da raiz (MSR) e total (MST). Com base nesses dados foram calculadas a alocação da biomassa para parte aérea (ABPA), raiz (ABR) e a razão raiz/parte aérea (R/PA), conforme metodologia descrita por Benincasa (2003). Para avaliação da reprodução do nematoide foi determinado o número de ovos por sistema radicular (OVOS/SR), ovos por grama seca de raiz (OVOS/GR) e o fator de reprodução (FR) obtido pela relação entre a população final (Pf) e população inicial (Pi) do nematoide ( $FR = Pf/Pi$ ).

Os dados obtidos foram analisados estatisticamente pela análise da variância (Teste F). Quando significativos, foram efetuados teste de comparação de médias dos tratamentos pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, com o auxílio do software SAS – Statistical Analitical System (SAS Institute, 2009). Para análise estatística, os dados de número de ovos de *M. incognita* foram transformados em  $\log_{10}(X+1)$ .

### 3.3. Resultados e discussão

As variáveis altura de planta, diâmetro do colmo e área foliar foram influenciados pelo déficit hídrico, mas não pela densidade populacioanal do nematoide ou interação. As plantas foram afetadas negativamente pelo aumento na intensidade do déficit hídrico, com maiores reduções na altura e a área foliar, 63,11 e 84,82%, respectivamente. Redução no diâmetro do colmo foi mais expressivo a 50% CP, correspondendo a 38,88% (Tabela 3.2).

Tabela 3. 2 - Altura de planta ( $h_{\text{planta}}$ ), diâmetro do colmo ( $\varnothing_{\text{colmo}}$ ) e área foliar (AF) da variedade de cana-de-açúcar RB92579 submetida a três tratamentos hídricos (90, 70 e 56% CP) e quatro densidades populacionais (0, 10.000, 20.000 e 40.000 ovos/planta) do nematoide *Meloidogyne incognita* aos 120 dias após o plantio.

Tratamentos hídricos	$h_{\text{planta}}$ (cm)	$\varnothing_{\text{colmo}}$ (cm)	AF (cm <sup>2</sup> )
90% da CP (controle)	66,06 a	2,16 a	1313,59 a
70% da CP	45,50 b	1,92 b	954,86 b
50% da CP	24,37 c	1,32 c	199,36 c
CV (%)	16,52	10,46	13,86

Médias seguidas de letras iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Santos (2012), estudando o efeito conjunto do déficit hídrico e nematológico em três variedades de cana, relatou que o déficit hídrico foi o principal responsável pelas mudanças observadas na altura de planta e diâmetro do colmo, porém as reduções em seu experimento foram inferiores, possivelmente devido ao tempo experimental de apenas 42 dias. Silva et al. (2012) observaram que a variedade RB92579 quando submetida a densidades crescentes do *M. incognita* não demonstrou mudanças perceptíveis nas variáveis altura da planta, peso da biomassa fresca da parte aérea e sistema radicular, porém o comportamento do diâmetro foi diferente na densidade populacional mais elevada (20.000 ovos por planta).

A Tabela 3.3. apresenta os dados referentes a matéria seca da parte aérea, raiz e total as quais sofreram mudanças quando o déficit hídrico interagiu com as densidades populacionais de *M. incognita*. A matéria seca da parte aérea diminuiu à medida que a intensidade do déficit hídrico passou de 90, para 70 até 50% CP, alcançando redução média de 72,92%. Na ausência do déficit hídrico, a densidade populacional de 40.000 ovos/planta foi suficiente para reduzir essa variável, esse prejuízo correspondeu a 32,02%. Porém, quando os estresses se associaram, ou seja, 70% da CP com 40.000 ovos/planta, o dano foi mais intenso, alcançando 52,80%. O déficit hídrico correspondente de 50% CP prejudicou tanto a planta como o nematoide, não sendo possível a percepção da sua ação sobre a massa seca da parte aérea

da cana-de-açúcar. Santos (2012) verificou que a interação entre o *M. incognita* e déficit hídrico promoveu mudanças nesta variável, sendo a redução em 62,10% para a variedade RB92579.

Tabela 3. 3 - Produção de matéria seca na parte aérea (MSPA), matéria seca na raiz (MSR) e matéria seca total (MST) na variedade de cana-de-açúcar RB92579 submetida a três tratamentos hídricos (90, 70 e 50% CP) e quatro densidades populacionais (0, 10.000, 20.000 e 40.000 ovos/planta) do nematoide *Meloidogyne incognita* aos 120 dias após o plantio.

Tratamentos hídricos	Densidade populacional			
	0	10.000	20.000	40.000
MSPA (g)				
90% da CP (controle)	29,89 Aa	28,78 Aa	28,19 Aa	20,32 Ab
70% da CP	23,56 Ba	22,39 Ba	21,13 Ba	11,12 Bb
50% da CP	8,33 Ca	7,08 Ca	6,63 Ca	6,57 Ca
CV (%) = 14,43				
MSR (g)				
90% da CP (controle)	5,20 Bb	5,04 Bb	4,99 Bb	6,81 Aa
70% da CP	7,83 Aa	8,42 Aa	7,87 Aa	7,01 Aa
50% da CP	5,58 Ba	4,83 Ba	4,54 Ba	4,51 Ba
CV (%) = 12,38				
MST (g)				
90% da CP (controle)	35,09 Aa	33,82 Aa	33,18 Aa	27,13 Ab
70% da CP	31,39 Aa	30,63 Aa	29,00 Aa	18,13 Bb
50% da CP	13,91 Ba	11,91 Ba	11,17 Ba	11,08 Ca
CV (%) = 13,21				

Médias seguidas de letras iguais, entre as três condições hídricas dentro de cada concentração de nematoide (maiúscula) e entre as concentrações de nematoides dentro de cada uma das três condições hídricas (minúsculas), não diferem estatisticamente entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

A matéria seca da raiz (Tabela 3.3), quando submetida às densidades populacionais de 0, 10.000 e 20.000 ovos por planta, tiveram respostas semelhantes quanto ao teor de umidade no solo; sendo que a 70% da CP a matéria seca da raiz foi significativamente maior, tendo um aumento médio de 36,77% em relação ao controle. É possível que esse aumento esteja associado

ao desenvolvimento radicular em detrimento da parte aérea induzido pelo déficit hídrico.

Influenciado pela densidade de 40.000 ovos por planta na condição controle, 90% CP, a matéria seca do sistema radicular (Tabela 3.3) aumentou em 23,64%. Isso possivelmente está ligado ao efeito direto do nematoide promovendo a formação de galhas e engrossamentos na raiz, mas também ao efeito indireto do parasitismo induzindo na planta estado de estresse por dificultar a absorção de água presente no solo. Nessas condições, a planta sintetiza o fitohormônio ácido abscísico (ABA) no sistema radicular, que em longo prazo, promove aumento na razão raiz/parte aérea (TAIZ e ZEIGER, 2009). Santos (2012) teve resultado parecido com a variedade RB92579, onde o aumento foi de 17,20% em um período de 42 dias em plantas inoculadas com 30.000 ovos de *M. incognita*. Quando sob a influência do déficit hídrico correspondente a 70 e 50% da CP não houve efeito da densidade do *M. incognita* na matéria seca da raiz, esse comportamento deve-se ao efeito desses teores de umidades no solo serem prejudiciais tanto a planta como ao nematoide.

Para a variável matéria seca total (Tabela 3.3), as intensidades do déficit hídrico, em especial 50% da CP resultaram em maiores reduções nas plantas, em média de 62,66%. Especial atenção deve ser dada ao efeito que a maior densidade populacional de nematoide testada proporcionou à produção total de matéria seca. Na ausência do estresse hídrico, os 40.000 ovos inoculados foram capazes de reduzir esta variável em 22,67%, porém, quando associados a 70% da CP, as reduções alcançaram 42,25%. Quando em condições de 50% CP, os efeitos foram mais severos às plantas e aos nematoides, não sendo possível obter diferença estatística entre as densidades populacionais testadas. Resultados similares foram observados por Bond et al. (2004), em experimento com cana-de-açúcar submetida a densidades crescentes de *M. incognita*. Entretanto, estudando a associação entre fungos micorrízicos arbusculares, *M. incognita* e estresse hídrico, Sousa (2012) concluiu que a produção total de matéria seca foi comprometida unicamente pelo nematoide. Por outro lado, Santos (2013) atribuiu ao estresse hídrico a responsabilidade pela redução nessa variável.

Sendo as variáveis alocação de biomassa na parte aérea, alocação de biomassa na raiz e razão raiz/parte aérea dependentes diretamente de massa seca da parte aérea, massa seca da raiz e massa seca total, as interações responsáveis pelas mudanças sofridas nestas variáveis, também afetaram aquelas (Tabela 3.4). A alocação de biomassa na parte aérea no déficit hídrico mais intenso diminuiu essa variável, proporcionando redução média de 23%. A densidade populacional de 40.000 ovos de *M. incognita* por planta também reduziu essa variável, em especial quando a variedade RB92579 esteve sob 90 ou 70% CP.

Tabela 3. 4 - Alocação de biomassa na parte aérea (ABPA), alocação de biomassa na raiz (ABR) e razão raiz/parte aérea (R/PA) na variedade de cana-de-açúcar RB92579 submetida a três tratamentos hídricos (90, 70 e 50% CP) e quatro densidades populacionais (0, 10.000, 20.000 e 40.000 ovos/planta) do nematoide *Meloidogyne incognita* aos 120 dias após o plantio.

Tratamentos hídricos	Densidades populacionais			
	0	10.000	20.000	40.000
	ABPA (%)			
90% da CP (controle)	85,15 Aa	85,10 Aa	84,94 Aa	74,76 Ab
70% da CP	75,05 Ba	73,01 Ba	72,81 Ba	61,43 Bb
50% da CP	59,93 Ca	59,39 Ca	59,34 Ca	59,28 Ca
CV (%) = 2,22				
	ABR (%)			
90% da CP (controle)	14,85 Cb	14,90 Cb	15,06 Cb	25,24 Ca
70% da CP	24,95 Bb	26,99 Bb	27,19 Bb	38,57 Aa
50% da CP	40,07 Aa	40,61 Aa	40,66 Aa	40,72 Ba
CV (%) = 5,39				
	R/PA			
90% da CP (controle)	0,17 Cb	0,18 Cb	0,18 Cb	0,34 Ba
70% da CP	0,33 Bb	0,37 Bb	0,37 Bb	0,63 Aa
50% da CP	0,67 Aa	0,68 Aa	0,69 Aa	0,69 Aa
CV (%) = 8,35				

Médias seguidas de letras iguais, entre as três condições hídricas dentro de cada concentração de nematoide (maiúscula) e entre as concentrações de nematoides dentro de cada uma das três condições hídricas (minúsculas), não diferem estatisticamente entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.



Sob déficit hídrico o comportamento da alocação de biomassa na raiz (Tabela 3.4) foi inverso a alocação de biomassa na parte aérea, conseqüentemente, o melhor teor de umidade no solo proporcionou redução na alocação de biomassa na raiz. Estes dados demonstram que à medida que as condições de umidade no solo se tornam inadequados, as plantas emitem raízes para possibilitar o aproveitamento da água existente no solo de forma mais eficiente. Não só a restrição no teor de umidade do solo levaram a esse comportamento, mas também, situações que indiretamente proporcionam restrição na absorção de água pelo sistema radicular, como observado quando as plantas estavam sob a ação de 40.000 ovos do *M. incognita*.

A razão raiz/parte aérea (Tabela 3.4), uma das principais variáveis estudadas em experimentos de déficit hídrico, mostrou que à medida que o meio restringia a disponibilidade de água para o desenvolvimento normal da cana-de-açúcar, a planta utilizava-se de mecanismos adaptativos que levaram ao maior aproveitamento da água, como o aumento no desenvolvimento radicular, observado na condição de 50% da CP e sob a influência de 40.000 ovos do *M. incognita*. A densidade máxima estudada (40.000 ovos/planta) do nematoide não proporcionou mudanças nessa variável na condição de 50% da CP. Possivelmente, esse teor de umidade foi inadequado para a multiplicação de *M. incognita* por restringir os sítios de alimentação na planta induzidos pelo nematoide (VAN GUNDY, 1985)

Alterações significativas na atividade da catalase não foram detectadas. Esta enzima atua em maior intensidade nos peroxissomos, microcorpúsculo que tem papel fundamental no metabolismo do ácido glicólico que está associado à fotorrespiração. A cana, por ter metabolismo C<sub>4</sub>, limita muito a fotorrespiração. Isso se deve à alta concentração de CO<sub>2</sub> no sítio de ação da enzima ribulose 1,5 bisfosfato carboxilase/oxigenase (RuBP) mantida pelo constante bombeamento do CO<sub>2</sub> das células do mesófilo para as células da bainha vascular (TAIZ e ZEIGER, 2009). Resultado similar foi obtido por Sousa (2012) em experimento com cana-de-açúcar, estresse hídrico, *M. incognita* e fungo micorrizico arbuscular.

Tabela 3. 5 - Atividade da enzima ascorbato peroxidase (APX) na variedade de cana-de-açúcar RB92579 submetida a três tratamentos hídricos (90, 70 e 50% CP) e quatro densidades populacionais (0, 10.000, 20.000 e 40.000 ovos/planta) de *Meloidogyne incognita* aos 120 dias após o plantio.

Tratamentos hídricos	APX ( $\mu\text{mol/g}$ matéria fresca/minuto)
90% da CP (controle)	82,30 c
70% da CP	113,54 b
50% da CP	134,12 a
Densidade de populacional (ovos/planta)	APX ( $\mu\text{mol/g}$ matéria fresca/minuto)
0	103,65 b
10.000	104,98 b
20.000	105,91 b
40.000	125,40 a
CV (%)	13,16

Médias seguidas de letras iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

A ação isolada dos estresses estudados (déficit hídrico e densidade de *M. incognita*) promoveram mudanças significativas na atividade da enzima ascorbato peroxidase (Tabela 3.5). A atividade da enzima respondeu às intensidades de estresse testados, sendo que a 50% CP ocorreu aumento de 38,6% em relação ao controle. Com relação ao nematoide, apenas 40.000 ovos/planta promoveu diferenciação na atividade da ascorbato peroxidase, com aumento de 17,34%. Apesar da planta ativar meios bioquímicos e morfológicos para reduzir os efeitos dos estresses testados, a maior densidade de nematoide e o déficit hídrico mais intenso promoveram redução na produção total de matéria seca. Quando sob 70% CP e 20.000 ovos de *M. incognita*, a planta manteve acúmulo total de matéria seca similar ao verificado na condição controle, indicando que, nessa condição, as estratégias utilizadas pela planta para reduzir os efeitos deletérios dos estresses testados foram eficientes.

Sousa (2013) observou redução na atividade da ascorbato peroxidase em cana-de-açúcar sob déficit hídrico e parasitismo de *M. incognita*. Para Lima (2007), os sistema antioxidante, ascorbato peroxidase e catalase, entram em

sincronia envolvendo mecanismos moleculares e bioquímicos na regulação e desintoxicação das espécies reativas de oxigênio produzidas nas células vegetais durante situações de estresse ambiental.

A multiplicação de *M. incognita* sofreu influência dos efeitos isolados, intensidade do estresse hídrico e densidade populacional utilizado no início do experimento (Tabela 3.6).

Tabela 3. 6 - Número médio de ovos por sistema radicular (OVOS/SR), ovos por grama de raiz (OVOS/GR) e fator de reprodução (FR) de *M. incognita* na variedade de cana-de-açúcar RB92579 submetida a três tratamentos hídricos (90, 70 e 50% da CP) e quatro densidades populacionais (0, 10.000, 20.000 e 40.000 ovos/planta) do nematoide aos 120 dias após o plantio.

Tratamentos hídricos	OVOS/SR	OVOS/GR	FR
90% da CP (controle)	117.025 a	20.716 a	-
70% da CP	65.841 b	8.858 b	-
50% da CP	16.660 c	3.671 b	-
Densidade populacional	OVOS/SR	OVOS/GR	FR
0	-	-	-
10.000	46.028 b	8.363 b	4,6
20.000	49.354 b	8.855 b	2,4
40.000	104.144 a	16.027 a	2,6
CV (%)	41,28	48,66	

Médias seguidas de letras iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Com o aumento na intensidade do déficit hídrico houve diminuição na multiplicação do nematoide, alcançando até 85,76% de redução no número de ovos por sistema radicular (Tabela 3.6) na umidade correspondente a 50% CP. Não houve diferença estatística para ovos por grama de raiz a 70 e 50% CP. Provavelmente tal fato se deve a maior quantidade de raízes de cana-de-açúcar proporcionado pela umidade de 70% da CP.

Em todas as densidades populacionais testadas houve multiplicação do *M. incognita*. A população final do nematoide aumentou com o inóculo inicial, sendo que na densidade de 40.000 ovos/planta o número de ovos por sistema

radicular e o número de ovos por grama de raiz foi estatisticamente superior às demais densidades populacionais testadas. Silva et al. (2012) concluíram que com o aumento da densidade (0, 5.000, 10.000 e 20.000 ovos/planta) de *M. incognita*, o número de ovos ao final do experimento aumentou. No entanto, o fator de reprodução do nematoide teve comportamento inverso a população inicial inoculada. Provavelmente, tal fato se deve à quantidade de raízes disponíveis em proporção ao número de nematoides inoculados, havendo melhor relação entre ambos (GONÇALVES, 1998)

### 3.4. Conclusões

Altura da planta, diâmetro do colmo e área foliar foram influenciados negativamente pelas intensidades do déficit hídrico, sendo essa redução mais intensa sob 50% da CP.

O estresse hídrico e nematológico proporcionaram redução na matéria seca da parte aérea, raiz e total, sendo mais severos com o aumento na intensidade dos estresses.

Diferentemente da catalase, a atividade da ascorbato peroxidase mostrou atuação na defesa antioxidativa da cana contra o estresse hídrico e nematológico, aumentando expressivamente no estresse correspondente a 50% da CP e densidade de 40.000 ovos de *M. incognita* por planta.

As intensidades do déficit hídrico estudadas diminuíram a multiplicação de *M. incognita*.

A associação 40.000 ovos e 70% da CP restringiu severamente o desenvolvimento inicial da cana-de-açúcar variedade RB92579.

### 3.5. Referências bibliográficas

BARKER, K. R.; OLTHOF, T. H. A. Relationships between nematode population densities and crop responses. **Annual Review Phytopathology**, v. 14, p. 327-353, 1976.

BARTELS, D.; SUNKAR, R. Drought and salt tolerance in plants. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 24, p. 23-58, 2005.

BENINCASA, M. M. P. **Análise de crescimento de plantas (noções básicas)**. 2 ed. Jaboticabal: FUNEP, 2003. 41p.

BERGONCI, J. I.; PEREIRA, P. G. Comportamento do potencial da água na folha e da condutância estomática do milho em função da fração de água disponível no solo. **Revista Brasileira de Agrometeorologia**, v. 10, p. 229-235, 2002.

BOND, J. P.; MCGAWLEY E. C.; HOY, J. W. The impact of nematodes on sugarcane cultivars. **Nematropica**, v.34, p. 235-243, 2004.

DINARDO-MIRANDA, L. L. Manejo de fitonematoides em cana-de-açúcar. **Jornal Cana**, v. 5, p. 64-67, 2005.

EMPRESA PERNAMBUCANA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - IPA. **Recomendações de adubação para o Estado de Pernambuco: segunda aproximação**. 3 ed. Recife, 2008. 212p.

GONÇALVES, W. Efeito de diferentes níveis de inóculo na avaliação precoce da reação do cafeeiro a *Meloidogyne exigua*. **Nematologia Brasileira**, v. 2, p.75-78, 1998.

GRATÃO, P. L. et al. Making the life of heavy metal stressed plants a little easier. **Functional Plant Biology**, v. 32, p. 481-494, 2005.

HAVIR, E. A.; MCHALE, N. A. Biochemical and developmental characterization of multiple forms of catalase in tobacco leaves. **Plant Physiology**, v. 84, p. 450-455, 1987.

HERMANN, E. R.; CÂMARA, G. M. S. Um método simples para estimar a área foliar de cana-de-açúcar. **Revista da STAB**, v. 17, p. 32-34, 1999.

HUSSEY, R. S.; BARKER, K. R. A comparison of methods of collecting inocula of *Meloidogyne* spp., including a new technique. **Plant Disease Reporter**, v. 57, p. 1025-1028, 1973.

INMAN-BAMBER, N. G. Sugarcane water stress criteria for irrigation and drying off. **Field Crops Research**, v. 89, p. 107-122, 2004.

LIMA, J. P. M. S. **Sincronia entre catalases e peroxidases de ascorbato na proteção contra danos oxidativos em folhas de feijão caupi expostas ao estresse hídrico e salino**. 136p. Tese (Doutorado em Bioquímica). Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2007.

LORDELLO, L. G. E. (Ed.). **Nematoides das plantas cultivadas**. São Paulo: Nobel, 1992. 314p.

NAKANO, Y.; ASADA, K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. **Plant and Cell Physiology**, v. 22, p. 867-880, 1981.

PURVIS, A. C.; SHEWFELT, R. L. Does the alternative pathway ameliorate chilling injury in sensitive plant tissues? **Plant Physiology**, v. 88, p. 712-718, 1993.

SANTOS, H. R. B. **Respostas agrônômicas, bioquímicas e fisiológicas de variedades de cana-de-açúcar submetidas a estresse hídrico associado à nematoide de galhas**. 2012. 96 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Pernambuco, 2012.

SAS Institute Inc. SAS/STAT 9.3 User's guide. Cary, NC: SAS Institute Inc. 2009.

SILVA, A. P. et al. Reação de variedades de cana-de-açúcar ao parasitismo de *Meloidogyne incognita* e *M. enterolobii*. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 7, p. 814-819, 2012.

SOUSA, C. C. M. **Influência do estresse hídrico e da compactação do solo na associação nematoide, fungos micorrízicos arbusculares e rizobactérias**. 2013. 145 p. Tese (Doutorado em Engenharia Agrícola) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Pernambuco, 2013.

SOUZA, C. C. et al. Avaliação de métodos de determinação de água disponível e manejo da irrigação em terra roxa sob cultivo de algodoeiro herbáceo.

**Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 4, p. 338-342, 2000.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 4.ed. Porto Alegre: Artmed, 2009. 848p.

TIHOHOD, D. (Ed.). **Nematologia agrícola aplicada**. Jaboticabal: FUNEP, 1993. 372p.

VAN GUNDY, S. D. Ecology of *Meloidogyne* spp. - emphases on environmental factors affecting survival and pathogenicity. In: SASSER, J. N.; CARTER, C. C. **An advanced treatise on *Meloidogyne***. North Carolina: Raleigh, v. 1, p. 177-182, 1985.

***Capítulo IV***

---

**INFLUÊNCIA DO DÉFICIT HÍDRICO NAS RELAÇÕES ENTRE  
*MELOIDOGYNE INCOGNITA* E *M. JAVANICA* EM CANA-DE-AÇÚCAR**



### **Influência do déficit hídrico nas relações entre *Meloidogyne incognita* e *M. Javanica* em cana-de-açúcar**

**Resumo:** Este trabalho teve por objetivo estudar o efeito do déficit hídrico nas relações entre atividade das enzimas catalase e ascorbato peroxidase, crescimento inicial da cana-de-açúcar variedade RB92579 e parasitismo dos nematoides *Meloidogyne incognita* e *M. javanica*. O estudo foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado em arranjo fatorial 3 (tratamentos hídricos: 90, 70 e 50% CP) × 3 (nematóide: *M. incognita*, *M. javanica* e testemunha não inoculada) com 4 repetições. Após 90 dias, 50% CP promoveu as maiores reduções em altura de plantas, diâmetro do colmo e área foliar, não sendo detectado efeito dos nematoides; entretanto, as maiores reduções na matéria seca da parte aérea e raiz foram induzidas por *M. javanica* e 50% CP. A atividade da catalase não foi afetada pelos nematoides ou tratamento hídrico, mas ascorbato peroxidase respondeu à defesa antioxidativa da planta à associação desses estresses. A reprodução do *M. incognita* foi severamente afetada pelos tratamentos hídricos, mas a reprodução de *M. javanica* não foi inibida a 70% CP. A associação *M. javanica* e 70% CP foi a mais danosa para a variedade de cana em estudo.

**Palavras chave:** atividade enzimática, estresse oxidativo, nematóide de galhas, *Saccharum*

### **Influence of hydric deficit in relations between *Meloidogyne incognita* and *M. javanica* on sugarcane**

**Abstract:** This work aimed to study the effect of hydric deficit on relations of the root-knot nematodes *Meloidogyne incognita* and *M. javanica* on sugarcane variety RB92579 initial growth and activity of catalase and ascorbate peroxidase enzymes. The study was carried out in completely randomized design with

factorial arrangement 3 (water treatments: 90, 70 and 50% CP) × 3 (nematode: *M. incognita*, *M. javanica* and a non inoculated control) with 4 replications. After 90 days, 50% CP induced the highest decreases on plant height, diameter stalk and leaf area, but nematode effect was not detected; however, 50% CP along with *M. javanica* induced the highest decrease on root and shoots dry biomass. Catalase activity was not affected by either nematodes or water treatments, but ascorbate peroxidase promptly respond to plant antioxidant defense against both stresses. Reproduction of *M. incognita* was severely affected by water treatments, although *M. javanica* reproduced freely under 70% CP. The association *M. javanica* and 70% CP was the most damaging to RB92579.

**Keywords:** enzyme activity, oxidative stress, root-knot nematode, *Saccharum*

#### 4.1. Introdução

A cana-de-açúcar (*Saccharum* spp. L.) é considerada como uma das principais culturas agrícolas brasileiras, mas é severamente afetada por vários fatores abióticos e bióticos presentes nas áreas de cultivo. Dentre os abióticos, a inadequada umidade do solo é um dos mais importantes nas condições de cultivo do nordeste brasileiro. Além disso, o parasitismo do sistema radicular por nematoides, principalmente os endoparasitos, promove severo estresse nas plantas, causando reduções consideráveis na produção.

O déficit hídrico induz modificações no comportamento das plantas (temperatura foliar, diminuição na área foliar, redução na absorção de CO<sub>2</sub>, resistência da cultura a evapotranspiração, etc.), acarretando alterações na fotossíntese e, portanto, no crescimento e desenvolvimento das culturas (ROMANO, 2005).

Suscetível a várias espécies de nematoides, a cana-de-açúcar vem sofrendo perdas elevadas pela incidência desses organismos, que a nível mundial alcançam o valor de 15,3%. Entre as espécies de nematoides mais importantes para esta cultura, *Meloidogyne javanica* e *M. incognita* destacam-se pela ocorrência e severidade. Estes parasitos causam sérios danos ao

sistema radicular que se torna mal desenvolvido e pouco eficiente na absorção de água e nutrientes (ZAMBIASI, 2010). De acordo com Dinardo-Miranda (2005), ambas as espécies de nematoides são prejudiciais aos canaviais brasileiros contribuindo com reduções que variam de 20 a 50% já no primeiro corte.

A espécie e densidade no solo do nematoide, assim como a suscetibilidade da variedade e intensidade dos estresses sofridos são fatores que regulam os danos causados a cana-de-açúcar. Os prejuízos intensificam-se quando associam-se ao parasitismo do nematoide as irregularidades pluviométricas, solos de baixa fertilidade e textura arenosa com baixos níveis de matéria orgânica, comuns no Nordeste brasileiro (ASANO e MOURA, 1995; MOURA e RÉGIS, 1991).

O déficit hídrico intensificado pelo parasitismo de *Meloidogyne* spp. leva as plantas a um conflito entre a conservação da água através do fechamento estomático e absorção de gás carbônico ( $\text{CO}_2$ ) para a produção de carboidratos (TAIZ e ZEIGER, 2009; ZAMBIASI, 2010). Nesse conflito, as plantas tendem a favorecer a redução na perda de água através dos estômatos, evitando a dessecação dos tecidos. Essa limitação na perda de água tem como custo a redução na concentração interna do gás carbônico, receptor de elétrons no ciclo de Calvin.

Em se tratando de plantas  $\text{C}_4$ , como a cana-de-açúcar, a redução do  $\text{CO}_2$  minimiza o consumo de energia captada pelos fotossistemas nos tilacóides dos cloroplastos que seria utilizada na fase bioquímica da fotossíntese. Essa energia excedente acaba reagindo com o oxigênio que se encontra em grande quantidade no estroma levando à produção de espécies reativas de oxigênio, em especial o peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ). Muitas enzimas do ciclo de Calvin dentro dos cloroplastos são extremamente sensíveis ao  $\text{H}_2\text{O}_2$ , e altos níveis de  $\text{H}_2\text{O}_2$  inibem diretamente a fixação de  $\text{CO}_2$ . Visando eliminar o  $\text{H}_2\text{O}_2$ , enzimas como catalase (CAT) e ascorbato peroxidase (APX) são produzidas, ambas atuando na transformação de  $\text{H}_2\text{O}_2$  em  $\text{H}_2\text{O}$  e  $\text{O}_2$  (MITTLER, 2002).

O presente estudo teve por objetivo estudar a relação entre as espécies de nematoides *M. incognita* e *M. javanica* no crescimento inicial da cana-de-

açúcar e comportamento da atividade das enzimas catalase e ascorbato peroxidase em condições de déficit hídrico.

#### 4.2. Material e métodos

O trabalho foi desenvolvido em casa de vegetação na Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife – Pernambuco, entre os meses de setembro a dezembro de 2012. Durante esse período a temperatura foi monitorada com termômetros de máximo e mínimo sendo a média experimental de 32,5°C.

O solo empregado no experimento é uma areia, segundo classificação textural de Atterberg e foi coletado na camada de 0 – 20 cm de profundidade. A Tabela 4.1 apresenta as análises físicas e químicas do solo utilizado. Visando a eliminação de formas de vida microscópica existente no solo, o material foi esterilizado em autoclave a temperatura de 120°C a 1 atm de pressão durante 1 hora, sendo este procedimento repetido após 24h.

Tabela 4. 1 – Caracterização física e química do solo

Areia grossa	Areia fina	Silte		Argila		Classe textural	
%							
64	26	4	6	Areia			
pH	P	Na <sup>+</sup>	K <sup>+</sup>	Ca <sup>+2</sup>	Mg <sup>+2</sup>	Al <sup>+3</sup>	H <sup>+</sup> +Al <sup>+3</sup>
Água (1:2,5)	mg.dm <sup>-3</sup>			cmol <sub>c</sub> .dm <sup>-3</sup>			
4,7	13	0,23	0,15	0,25	0,25	0,1	0,2

As populações de nematoides usadas no experimento consistiram nas espécies *M. incognita* e *M. javanica*, obtidas de raízes de cana-de-açúcar parasitadas por *Meloidogyne* spp., identificada pela técnica de eletroforese de isoenzimas, purificada e multiplicada em tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.) ‘Santa Cruz Kadá’, mantidas em casa de vegetação. O inóculo foi extraído do sistema radicular das plantas conforme metodologia descrita por Hussey e Barker (1973), sendo a suspensão calibrada com auxílio da lâmina de Peters e microscópio óptico.

As plantas foram obtidas de rebolos da variedade de cana-de-açúcar RB92579, fornecida pela estação experimental de cana-de-açúcar de Carpina, base fixa da UFRPE. Os rebolos foram postos para germinar em copos com capacidade de 500 cm<sup>3</sup> contendo areia lavada e esterilizada. Após 15 dias da emergência, as plantas foram selecionadas quanto à sanidade e homogeneidade e transplantadas para vasos com capacidade de 5.000 cm<sup>3</sup> preenchidos com solo autoclavado, corrigido e adubado segundo as necessidades da cultura (IPA, 2008) com base no resultado de análise do solo. Durante os 15 dias que sucederam o transplante, as plantas foram supridas em suas necessidades hídricas com irrigações diárias. Durante esse período, os vasos ficaram na Capacidade de Pote (CP), determinada previamente pelo método gravimétrico, de acordo com Souza et al. (2000). Decorrido 10 primeiros dias em capacidade de pote, as plantas foram inoculadas com 20.000 ovos de *M. incognita* e *M. javanica* dispostos em quatro orifícios com 3 cm de profundidade abertos ao redor de cada planta.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado em arranjo fatorial 3 (tratamentos hídricos: 90, 70 e 50% CP) × 3 (nematóide: *M. incognita*, *M. javanica* e testemunha não inoculada) com 4 repetições, totalizando 36 unidades experimentais. Os tratamentos hídricos impostos a cana-de-açúcar foram iniciados 5 dias após a inoculação das plantas com os nematoides. A manutenção dos tratamentos foi realizado diariamente pela pesagem dos vasos e reposição da água evapotranspirada, utilizando-se balança digital com capacidade máxima de 15 kg e precisão de 0,005 kg.

Terminado o experimento, aos 120 dias após a germinação das plantas, portanto 90 dias após a imposição dos tratamentos hídricos, avaliou-se a altura de planta, diâmetro do colmo, área foliar, atividade das enzimas catalase e ascorbato peroxidase, matéria seca da parte aérea e raiz e reprodução dos nematoides no sistema radicular.

A altura de planta ( $h_{\text{planta}}$ ) foi determinada pela distância entre a base até inserção da folha +1 com a utilização de uma fita métrica, diâmetro do colmo ( $\varnothing_{\text{colmo}}$ ) obtido através do paquímetro e a área foliar (AF) conforme metodologia de Hermann e Camara (1999).

Para as análises bioquímicas, a terceira folha de cada planta foi retirada, submersa em nitrogênio líquido e armazenada em freezer. O extrato das amostras foi preparado a partir da homogeneização de 200 mg de matéria fresca em 2 mL do tampão fosfato de potássio 100 mM, pH 7,0, EDTA 1 mM e ácido ascórbico 1mM. O homogeneizado foi centrifugado a 10.000 g a 4°C por 10 minutos e o sobrenadante coletado. A partir do sobrenadante foi realizada análises da atividade das enzimas, catalase (CAT) (HAVIR e McHALE, 1987) e ascorbato peroxidase (APX) (NAKANO e ASADA, 1981).

A biomassa da parte aérea e raiz foram obtidas assim que as plantas foram retiradas dos vasos e o sistema radicular separado da parte aérea. Os materiais foram pesados separadamente e o sistema radicular dividido em duas partes de igual peso, sendo uma parte usada para determinação da reprodução do nematoide e a outra parte levada com a biomassa da parte aérea para secagem em estufa de circulação forçada de ar a temperatura de 65°C até atingir peso constante. Após este período, determinou-se a matéria seca da parte aérea (MSPA), da raiz (MSR) e total (MST). Com base nesses dados foram calculadas a alocação da biomassa para parte aérea (ABPA), raiz (ABR) e a razão raiz/parte aérea (R/PA), conforme metodologia descrita por Benincasa (2003). Para avaliação da resposta da cana ao parasitismo do nematoide foi determinado o número de ovos por sistema radicular (OVOS/SR), número de ovos por grama seca de raiz (OVOS/GR) e fator de reprodução (FR) obtido pela relação entre a população final (Pf) e população inicial (Pi) do nematoide ( $FR = Pf/Pi$ ).

Os dados coletados para as diferentes variáveis foram analisados estatisticamente pela análise da variância (Teste F) e, quando significativos, submetidos à comparação de médias dos tratamentos pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, utilizando-se o software SAS – Statistical Analytical System (SAS Institute, 2009). Para análise estatística, os dados de número de ovos foram transformados em  $\log_{10}(X+1)$ .

#### **4.3. Resultados e discussão**

A altura das plantas, diâmetro do colmo e área foliar foram afetadas pelos tratamentos hídricos testadas, não havendo efeito das espécies de nematoides ou interação entre nematoides e tratamentos hídricos (Tabela 4.2). A 50% CP a altura da planta e a área foliar reduziram em 62,79% e 89,72%, respectivamente. Os efeitos sobre o diâmetro do colmo foram menores, com reduções significativas de 34,31% em relação ao controle na condição de 50% CP.

Tabela 4. 2 - Altura de planta ( $h_{\text{planta}}$ ), diâmetro do colmo ( $\varnothing_{\text{colmo}}$ ) e área foliar (AF) da cana-de-açúcar variedade RB92579 submetida a três tratamentos hídricos (90, 70 e 50% CP) e três condições de infestação de nematoides (sem nematoide - M0, com *M. incognita* - MI, com *M. javanica* - MJ), 120 dias após o plantio.

Tratamentos hídricos	$h_{\text{planta}}$ (cm)	$\varnothing_{\text{colmo}}$ (cm)	AF (cm <sup>2</sup> )
90% da CP (controle)	61,25 a	2,08 a	1496,85 a
70% da CP	42,08 b	1,90 a	968,82 b
50% da CP	22,79 c	1,37 b	153,87 c
CV (%)	12,45	12,18	15,99

Médias seguidas de letras iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Os tratamentos hídricos e nematoides interagiram proporcionando mudanças significativas nas matérias secas da parte aérea, raiz e total (Tabela 4.3). À medida que a intensidade do déficit hídrico aumentava, passando de 90 para 50% CP, a massa seca da parte aérea reduzia consideravelmente, sendo em média de 78,26%.

O *M. javanica* reduziu a massa seca da parte aérea em 18,61% na ausência do déficit hídrico, porém quando associado a 70% da CP a redução foi maior, sendo de 53,36% (Tabela 4.3). Esse comportamento pode estar ligado a dois fatores. O primeiro à agressividade desta espécie, que sob condição controle, mesmo não apresentando diferença estatística na produção de ovos em relação ao *M. incognita*, proporcionou maior redução nessa variável. Resultado semelhante foi obtido por Barbosa et al. (2009) que

concluíram que *M. javanica* é mais agressivo que *M. incognita*, ao trabalhar com a variedade SP911049 de cana-de-açúcar. O segundo relativo à intensa multiplicação do *M. javanica* na condição de 70% da CP como observado na Tabela 4.6.

Tabela 4. 3 – Matéria seca na parte aérea (MSPA), matéria seca na raiz (MSR) e matéria seca total (MST) da cana-de-açúcar variedade RB92579 submetida a três tratamentos hídricos (90, 70 e 50% CP) e três condições de infestação de nematoides (sem nematoide - M0, com *M. incognita* - MI, com *M. javanica* - MJ), aos 120 dias após o plantio.

Tratamentos hídricos	Nematoides		
	M0	MI	MJ
	MSPA (g)		
90% da CP (controle)	29,12 Aa	26,49 Aab	23,70 Ab
70% da CP	22,00 Ba	21,10 Ba	10,26 Bb
50% da CP	6,05 Ca	5,83 Ca	5,32 Ca
CV (%) = 15,91			
	MSR (g)		
90% da CP (controle)	5,45 Ba	5,15 Ba	6,17 Ba
70% da CP	8,00 Aab	8,92 Aa	7,84 Ab
50% da CP	2,94 Ca	3,20 Ca	2,68 Ca
CV (%) = 10,29			
	MST (g)		
90% da CP (controle)	34,57 Aa	31,64 Aa	29,90 Aa
70% da CP	30,00 Aa	30,02 Aa	18,10 Bb
50% da CP	8,99 Ba	9,03 Ba	8,00 Ca
CV (%) = 12,68			

Médias seguidas de letras iguais, entre as três condições hídricas dentro de cada espécie de nematoide (maiúscula) e entre as espécies de nematoides dentro de cada uma das três condições hídricas (minúsculas), não diferem estatisticamente entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Segundo Cofcewicz et al. (2001), ao parasitar o sistema radicular das plantas, os nematoides formadores de galhas induzem a formação de células gigantes que reduzem a absorção de água e aumentam a translocação de



nutrientes para a raiz, suprimindo as necessidades do parasito, acarretando redução no desenvolvimento da parte aérea das plantas.

A massa seca da raiz na variedade RB92579 sob imposição do estresse de 50% CP reduziu em média 46,84% em relação ao controle (Tabela 4.3). Porém na condição 50% CP, a matéria seca da raiz não respondeu às diferentes espécies de nematoide testadas, possivelmente devido ao efeito negativo que o estresse hídrico exerceu, não somente sobre o desenvolvimento da cana-de-açúcar, mas também, sobre a reprodução dos nematoides. Avaliando o efeito dos nematoides, verifica-se que associado a 70% da CP o *M. javanica* reduziu em 2% o desenvolvimento do sistema radicular.

O menor teor de umidade no solo (50% da CP) acarretou redução média de 72,89% na massa seca total da variedade RB92579 (Tabela 4.3), porém nessa condição não houve efeito dos nematoides testados. O *M. javanica* associado ao estresse 70% CP reduziu a produção total de matéria seca em 39,68%.

A suscetibilidade da cana-de-açúcar a *M. javanica* já foi confirmada por outros pesquisadores. Stirling e Blair (2000) mostraram que população inicial de *M. javanica* superior a 100 espécimes por 200g de solo foi suficiente para promover redução na produção da cana-de-açúcar. Dinardo-Miranda (2001) obteve aumentos na ordem de 20 a 30% pelo simples controle de *M. javanica* em variedades como RB835486, RB845257 e RB72454. Dias-Arieira et al. (2010) também constataram a suscetibilidade das variedades de cana ao *M. javanica*.

A alocação de biomassa na parte aérea, alocação de biomassa na raiz e a razão raiz/parte aérea sofreram efeito conjunto da intensidade do déficit hídrico e das espécies de nematoides testados (Tabela 4.4). Na ausência e presença do *M. incognita* a alocação de biomassa na parte aérea reduziu com o aumento na intensidade do déficit hídrico. Porém, a presença de *M. javanica* induziu mudanças na resposta às intensidades do déficit hídrico, registrando-se a menor alocação de biomassa na parte aérea sob o déficit hídrico de 70% da CP. Das espécies de nematoides testadas, o *M. javanica* foi o grande

responsável pelas mudanças na alocação de biomassa na parte aérea na variedade RB92579. Na ausência do déficit hídrico (90% CP), *M. javanica* fez com que a alocação de biomassa na parte aérea reduzisse em 4,81%. A 70% CP, *M. javanica* diminuiu a alocação de biomassa na parte aérea em 16,58% (Tabela 4.4).

Tabela 4. 4 – Alocação de biomassa na parte aérea (ABPA), de biomassa na raiz (ABR) e razão raiz/parte aérea (R/PA) em cana-de-açúcar variedade RB92579 submetida a três tratamentos hídricos (90, 70 e 50% CP) e três condições de infestação de nematoides (sem nematoide - M0, com *M. incognita* - MI, com *M. javanica* - MJ), aos 120 dias após o plantio.

Tratamentos hídricos	Nematoides		
	M0	MI	MJ
	ABPA (%)		
90% da CP (controle)	84,04 Aa	83,68 Aab	79,23 Ab
70% da CP	73,19 Ba	70,05 Ba	56,61 Cb
50% da CP	67,26 Ca	64,55 Ca	66,47 Ba
CV (%) = 3,87			
	ABR (%)		
90% da CP (controle)	15,96 Cb	16,32 Cab	20,77 Ca
70% da CP	26,81 Bb	29,95 Bb	43,39 Aa
50% da CP	32,74 Aa	35,45 Aa	33,53 Ba
CV (%) = 9,78			
	R/PA (%)		
90% da CP (controle)	0,19 Ca	0,20 Ca	0,26 Ca
70% da CP	0,37 Bb	0,43 Bb	0,77 Aa
50% da CP	0,49 Aa	0,55 Aa	0,51 Ba
CV (%) = 14,74			

Médias seguidas de letras iguais, entre as três condições hídricas dentro de cada espécie de nematoide (maiúscula) e entre as espécies de nematoides dentro de cada uma das três condições hídricas (minúsculas), não diferem estatisticamente entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

A alocação de biomassa na raiz (Tabela 4.4) aumentou com a intensidade do déficit hídrico, porém, na presença do *M. javanica*, o maior valor para alocação de biomassa na raiz foi a 70% da CP. O *M. javanica* na ausência do

déficit hídrico promoveu aumento nessa variável. Possivelmente esse aumento esteja ligado a reação adaptativa da planta a baixa absorção de água devido a agressividade dessa espécie de nematoide ao sistema radicular. Como mecanismo redutor dos efeitos do baixo potencial hídrico na planta, ela passa a emitir raízes buscando aproveitar ao máximo a água existente no solo.

A razão entre raiz/parte aérea, muito utilizada na avaliação da adaptação das plantas ao déficit hídrico, mostrou que a medida que o teor de umidade no solo ia reduzindo, passando de 90 para 50% da CP, a variedade RB92579 aumentava a relação entre raiz/parte aérea (Tabela 4.4). Demonstrando que nas condições de restrição hídrica a planta emite raízes buscando aproveitar ao máximo a água existente no solo. Porém, na presença do *M. javanica* o comportamento dessa variável modificou, sendo que a 70% da CP a razão raiz/parte aérea teve o maior valor. Essa mudança deve-se a contribuição do *M. javanica*, aumentando o efeito do estresse hídrico e exigindo da planta uma resposta adaptativa a altura.

A atividade da enzima ascorbato peroxidase foi influenciada pela interação dos estresses testados, porém a atividade da enzima catalase permaneceu constante, não apresentando mudança com os estresses de forma isolada ou em interação (Tabela 4.5). O comportamento da catalase em resposta às condições impostas deve estar associada ao fato desta enzima estar contida em grande maioria nos peroxissomos das células vegetais, portanto, ligada diretamente a anulação dos efeitos perniciosos do  $H_2O_2$  originados pela fotorrespiração. Como a cana-de-açúcar é uma gramínea detentora do metabolismo  $C_4$ , tem possibilidade de manter a fotorrespiração em níveis desprezíveis, por aumentar a relação  $CO_2/O_2$  no sítio de ação da enzima ribulose 1,5 bisfosfato (RuBP) carboxilase/oxigenase, favorecendo as reações de carboxilação (SCANDALIOS, 2005). Os dados apresentados nesse estudo mostram que a catalase não foi responsável pela contenção dos efeitos deletérios causados pelo estresse oxidativo nas células em decorrência dos baixos níveis de umidade no solo e ação do parasitismo dos nematoides.

Tabela 4. 5 – Atividade da enzima catalase (CAT) e ascorbato peroxidase (APX) na variedade de cana-de-açúcar RB92579 submetida a três tratamentos hídricos (90, 70 e 50% CP) e três condições de infestação de nematoides (sem nematoide - M0, com *M. incognita* - MI, com *M. javanica* - MJ), aos 120 dias após o plantio.

Tratamentos hídricos	Nematoides		
	M0	MI	MJ
CAT ( $\mu\text{mol/g}$ matéria fresca/minuto)			
90% da CP (controle)	8,13 Aa	8,38 Aa	8,56 Aa
70% da CP	8,56 Aa	8,79 Aa	8,90 Aa
50% da CP	8,94 Aa	9,02 Aa	9,12 Aa
CV (%) = 9,30			
APX ( $\mu\text{mol/g}$ matéria fresca/minuto)			
90% da CP (controle)	75,43 Cb	77,03 Cb	101,1 Ca
70% da CP	101,43 Bb	103,51 Bb	156,98 Aa
50% da CP	127,43 Aa	129,29 Aa	131,28 Ba
CV (%) = 12,34			

Médias seguidas de letras iguais, entre as três condições hídricas dentro de cada espécie de nematoide (maiúscula) e entre as espécies de nematoides dentro de cada uma das três condições hídricas (minúsculas), não diferem estatisticamente entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

A enzima ascorbato peroxidase aumentou com a intensidade do déficit hídrico testado, tendo o maior valor a 50% da CP (Tabela 4.5). Porém na presença do *M. javanica* houve mudanças no comportamento dessa enzima. Esse nematoide proporcionou distinção na ação da enzima, tanto isolado como associado ao estresse 70% CP. A ação isolada de *M. javanica* foi suficiente para ativar o sistema de defesa antioxidante responsável pela eliminação do  $\text{H}_2\text{O}_2$  produzido nos cloroplastos, ou seja, a enzima ascorbato peroxidase. Isso se deve a ação deletéria do nematoide no sistema radicular da cana-de-açúcar, provocando restrição na absorção de água pelo surgimento de células gigantes nutridoradas do nematoide. Esta limitação na absorção de água, possivelmente leva os estômatos a permanecerem fechados por mais tempo, reduzindo a fotossíntese e estimulando a produção de espécies reativas de oxigênio, em especial o  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Yordanov et al. (2003) afirmam que em condições de déficit hídrico, a primeira linha de defesa das plantas é a restrição na abertura estomática mesmo antes que ocorram reduções no conteúdo de água foliar.

O efeito deletério do *M. javanica* associado ao déficit hídrico 70% CP aumentou a atividade da enzima ascorbato peroxidase, fazendo com que esta alcançasse 156,98  $\mu\text{mol/g}$  matéria fresca/minuto, levando a um aumento de 35,39% (Tabela 4.5). Apesar das respostas adaptativas, tanto morfológicas como bioquímicas, a RB92579 quando submetida a associação do *M. javanica* e 70% da CP teve produção total de matéria seca comprometida. Já o efeito isolado do *M. javanica* foi contido pelas adaptações morfológicas e bioquímicas da variedade RB92579, como observado na produção total de matéria seca.

A reprodução dos nematóides foi influenciada pela interação do estresse hídrico e espécie de nematoide testada (Tabela 4.6).

Tabela 4. 6 - Número médio de ovos por sistema radicular (OVOS/SR), ovos por grama seca de raiz (OVOS/GR) e fator de reprodução (FR) de *Meloidogyne incognita* e *M. javanica* em cana-de-açúcar variedade RB92579 submetida a três tratamentos hídricos (90, 70 e 50% da CP), aos 120 dias após o plantio.

Tratamentos hídricos	Nematoides		
	M0	MI	MJ
	OVOS/SR		
90% da CP (controle)	-	99154 Aa	97821 Aa
70% da CP	-	52833 Bb	129251 Aa
50% da CP	-	8712 Ca	17312 Ba
CV (%) = 45,02			
	OVOS/GR		
90% da CP (controle)	-	18959,37 Aa	15590,73 Aa
70% da CP	-	5793,66 Bb	16542,29 Aa
50% da CP	-	2690,45 Ba	6431,42 Ba
CV (%) = 35,84			
	FR		
90% da CP (controle)	-	4,96	4,89
70% da CP	-	2,64	6,46
50% da CP	-	0,43	0,86

Médias seguidas de letras iguais, entre as três condições hídricas dentro de cada espécie de nematoide (maiúscula) e entre as espécies de nematoides dentro de cada uma das três condições hídricas (minúsculas), não diferem estatisticamente entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

As intensidades do déficit hídrico testadas proporcionaram redução na reprodução dos nematoides, com maior severidade em *M. incognita*, tendo a partir de 70% CP redução estatística de 46,72%, passando para 91,21% quando submetido a 50% da CP. Em 70% CP, *M. javanica* encontrou condição propícia para multiplicação, apresentando acréscimo de 24,32% na produção de ovos por sistema radicular em relação a condição controle (90% CP). De uma forma geral, a 50% CP ambos os nematoides apresentaram redução final no número de ovos por sistema radicular em relação a quantidade utilizada na inoculação (20.000 ovos/planta).

O número de ovos por grama de matéria seca de raiz respondeu de forma similar ao número de ovos por sistema radicular. O *M. incognita* mostrou maior sensibilidade ao déficit hídrico que o *M. javanica*, apresentando redução no número de ovos por grama de raiz seca a partir do teor de umidade correspondente a 70% da CP.

A maior diferença no fator de reprodução foi possível quando o *M. javanica* esteve submetida a 70% da CP, essa condição de umidade possibilitou maior produção de ovos do nematoide, o que acarretou em mudanças nas variáveis morfológicas e bioquímicas da variedade RB92579. De um modo geral, o aumento do déficit hídrico reduziu o fator de reprodução.

A ausência dos efeitos de *M. incognita* nesse estudo possivelmente está relacionada à redução que o déficit hídrico proporcionou em sua reprodução, mas também a quantidade de ovos utilizada na inoculação. Contudo, é possível que um aumento na densidade populacional ocorresse se fosse estendido o tempo experimental. Na Nigéria, Salawu (1990) avaliando a reação de 12 variedades comerciais de cana-de-açúcar ao *M. incognita*, observou que todos os materiais comportaram-se como altamente suscetíveis após 195 dias de inoculação.

Barros et al. (2005) testando nematicidas sistêmicos em três variedades de cana em duas condições, irrigado e não, no Nordeste brasileiro, verificaram

que o principal fator responsável pela redução populacional do nematoide foi a falta de água na área não irrigada.

A redução na reprodução de *Meloidogyne* sob baixa disponibilidade hídrica no solo tem duas causas principais, uma é a interrupção ou suspensão temporária do desenvolvimento embrionário no interior dos ovos e a outra a diferenciação do juvenil de quarto estágio (J<sub>4</sub>) em machos adultos que acabam abandonando as raízes; essa forma não se alimenta da raiz e move-se livremente no solo. Esses comportamentos objetivam a sobrevivência das espécies desse gênero, pois o efeito do parasitismo sobre a planta infectada será menor, garantindo a sobrevivência das poucas fêmeas formadas (FREITAS et al., 2005).

#### **4.4. Conclusões**

O déficit hídrico diminuiu o desenvolvimento da cana-de-açúcar variedade RB92579 reduzindo a altura da planta, diâmetro do colmo, área foliar, matéria seca da parte aérea e raiz, com maior intensidade a 50% CP;

A enzima ascorbato peroxidase respondeu a defesa antioxidativa da planta contra os estresses hídrico e nematológico, mostrando pouca eficiência a partir da associação entre o *M. javanica* e 70% CP;

A catalase não atuou no sistema enzimático antioxidante;

O déficit hídrico diminuiu a reprodução das duas espécies de nematoide, exceto de *M. javanica* a 70% CP;

A associação *M. javanica* e 70% CP foi a mais prejudicial ao desenvolvimento da RB92579.

#### **4.5. Referências bibliográficas**

ASANO, S.; MOURA, R. M. Efeitos dos macro e dos micronutrientes na severidade da Meloidoginose da cana-de-açúcar. **Nematologia Brasileira**, v. 19, p. 15-20, 1995.

BARBOSA, B. F. F. et al. Avaliação comparativa da agressividade de *Meloidogyne javanica* e *M. incognita* à variedade SP 911049 de cana-de-açúcar. **Nematologia Brasileira**, v. 33, p. 243-247, 2009.

BARROS, A. C. B.; MOURA, R. M.; PEDROSA, E. M. R. Estudo de interação variedade-nematicida em cana-de-açúcar em solo naturalmente infestado por *Meloidogyne incognita*, *M. javanica* e *Pratylenchus zaeae*. **Nematologia Brasileira**, v. 29, p. 39-46, 2005

BENINCASA, M. M. P. **Análise de crescimento de plantas (noções básicas)**. 2 ed. Jaboticabal: FUNEP, 2003. 41p.

COFCEWICZ, E. T. et al. Interação de fungos micorrízicos arbusculares *Glomus etunicatum* e *Gigaspora margarita* e o nematoide das galhas *Meloidogyne javanica* em tomateiro. **Fitopatologia Brasileira**, v. 26, p. 65-70, 2001.

DIAS-ARIEIRA, C. R. et al. Reação de variedades de cana-de-açúcar aos nematoides-das-galhas. **Nematologia Brasileira**, v. 34, p. 198-203, 2010.

DINARDO-MIRANDA, L. L. **Manejo de fitonematoides em cana-de-açúcar**. *Jornal Cana*, Ribeirão Preto, v. 5, p. 64-67, 2005.

DINARDO-MIRANDA, L. L. Efeito de carbofuran sobre a cana-de-açúcar infestada ou não por nematoides. **Summa Phytopathologica**, v. 27, p. 436-438, 2001.

EMPRESA PERNAMBUCANA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - IPA. **Recomendações de adubação para o Estado de Pernambuco: segunda aproximação**. 3 ed. Recife, 2008. 212p.

FREITAS, L. G. et al. Isolamento e seleção de rizobactérias para controle de nematoides formadores de galhas (*Meloidogyne* spp.) na cultura do tomateiro. **Nematologia Brasileira**, v. 29, p. 215-220, 2005.



HAVIR, E. A.; MCHALE, N. A. Biochemical and developmental characterization of multiple forms of catalase in tobacco leaves. **Plant Physiology**, v. 84, p. 450-455, 1987.

HERMANN, E. R.; CÂMARA, G. M. S. Um método simples para estimar a área foliar de cana-de-açúcar. **Revista da STAB**, v. 17, p. 32-34, 1999.

HUSSEY, R. S.; BARKER, K. R. A comparison of methods of collecting inocula of *Meloidogyne* spp., including a new technique. **Plant Disease Reporter**, v. 57, p. 1025-1028, 1973.

MITTLER, R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. **Trends in Plant Science**, v. 7, p. 405-410, 2002.

MOURA, R. M.; RÉGIS E. M. O. Interações entre a Meloidoginose da cana-de-açúcar e deficiências minerais observadas através de biotestes. **Nematologia Brasileira**, v. 15, p. 179-188, 1991.

NAKANO, Y.; ASADA, K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. **Plant and Cell Physiology**, v. 22, p. 867-880, 1981.

ROMANO, M. R. **Desempenho fisiológico da cultura de milho com plantas de arquitetura contrastante: parâmetros para modelos de crescimento**. 2005. 100 p. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2005.

SALAWU, E. O. Susceptibility and growth response of selected sugarcane cultivars to infection by *Meloidogyne incognita*. **Nematologia Mediterranea**, v. 18, p. 63-64, 1990.

SAS Institute Inc. SAS/STAT 9.3 User's guide. Cary, NC: SAS Institute Inc. 2009.

SCANDALIOS, J. G. Oxidative stress: molecular perception and transduction of signals triggering antioxidant gene defenses. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 38, p. 995-1014, 2005.

SOUZA, C. C. et al. Avaliação de métodos de determinação de água disponível e manejo da irrigação em terra roxa sob cultivo de algodoeiro herbáceo. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 4, p. 338-342, 2000.

STIRLING, G. R.; BLAIR, B. Nematodes. In: ROTT, P.; BAILEY, R. A.; COMSTOCK, J. C.; CROFT, B. J.; SAUMTALLY, A. S. (Ed). **A guide to sugarcane diseases**. Montpellier: CIRAD Publications Service, 2000. p. 299–305.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 4.ed. Porto Alegre: Artmed, 2009. 848p.

YORDANOV, I.; VELIKOVA, V.; TSONEV, T. Plant responses to drought and stress tolerance. **Bulgarian Journal of Plant Physiology**, special issue, p.187-206, 2003.

ZAMBIASI, T.; BELOT, J. L. **Proteção integrada. Cultivar (Grandes Culturas)** - Caderno Técnico: Pragas. 2010.