



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL  
DE PERNAMBUCO**  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO



**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO  
EM FITOPATOLOGIA**

**Tese de Doutorado**

**DINÂMICA DE FITONEMATOIDES, RESPOSTAS NUTRICIONAIS E  
ENZIMÁTICAS DA CANA-DE-AÇÚCAR**

**LUANA MARIA ALVES DA SILVA**

**Recife-PE**

**2017**

**LUANA MARIA ALVES DA SILVA**

**DINÂMICA DE FITONEMATOIDES, RESPOSTAS NUTRICIONAIS E  
ENZIMÁTICAS DA CANA-DE-AÇÚCAR**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutora em Fitopatologia.

**COMITÊ DE ORIENTAÇÃO:**

Orientadora: Profa. Dra. Elvira Maria Regis Pedrosa

Co-Orientadora: Dra. Mércia Soares de Oliveira Cardoso

**RECIFE-PE**

**FEVEREIRO-2017**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
Sistema Integrado de Bibliotecas da UFRPE  
Biblioteca Central, Recife-PE, Brasil

S586d Silva, Luana Maria Alves da  
Dinâmica de fitonematoides, respostas nutricionais e enzimáticas da cana-de-açúcar / Luana Maria Alves da Silva. – 2017.  
115 f. : il.

Orientadora: Elvira Maria Regis Pedrosa.

Coorientadora: Mércia Soares de Oliveira Cardoso.

Tese (Doutorado) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia, Recife, BR-PE, 2017.

Inclui referências.

1. Enzimas oxidativas 2. Nutrição mineral 3. Meloidogyne  
4. Pratylenchus 5. Saccharum sp., 6. Distribuição espacial  
I. Pedrosa, Elvira Maria Regis, orient. II. Cardoso, Mércia Soares de Oliveira, coorient. III. Título

CDD 632

**DINÂMICA DE FITONEMATOIDES, RESPOSTAS NUTRICIONAIS E  
ENZIMÁTICAS DA CANA-DE-AÇÚCAR**

**LUANA MARIA ALVES DA SILVA**

Tese \_\_\_\_\_ e \_\_\_\_\_ pela Banca Examinadora em: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

**ORIENTADORA:**

---

Profa. Dra. Elvira Maria Regis Pedrosa

**EXAMINADORES:**

---

Dr. Alessandro Nicoli (UFRPE - PPGF)

---

Profa. Dra. Lílian Margarete Paes Guimarães (UFRPE - PPGF)

---

Prof. Dr. Egídio Bezerra Neto (UFRPE)

---

Profa. Dra. Cláudia Ulisses de Carvalho Silva (UFRPE)

**RECIFE-PE**

**FEVEREIRO-2017**

“Todas as vitórias ocultam uma  
abdicação.”

(Simone de Beauvoir)

Aos meus pais Joaquim e Maria

**DEDICO**

iv

## AGRADECIMENTOS

A **Deus**, pela presença e proteção durante minha vida;

Ao **Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico-CNPq** pela concessão da bolsa de estudo;

À **Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE)**, por meio do Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia, pela oportunidade de realizar o curso de Doutorado e ao **corpo docente** pelos ensinamentos;

À minha orientadora Prof. **Elvira Maria Regis Pedrosa**, pelos ensinamentos durante todos esses anos de convívio, orientação e aprendizado;

À minha família, meus pais **Joaquim** e **Maria** e meus irmãos **Thiago** e **Lili** pelo apoio incondicional, compreensão, pelo estímulo, amor e carinho;

Aos meus orientadores da graduação e mestrado (**Beatriz Barguil** e **Fernandes Almeida**), que despertaram em mim a vontade de seguir a carreira científica;

À **Usina Olho D'Água** pela parceria e colaboração no experimento;

Aos amigos **Diego Huggins** pelo apoio e suporte na Geoestatística e pela boa vontade em ajudar sempre que precisei, e **Mércia Cardoso** pela ajuda incansável nas análises estatísticas, pela valiosa contribuição científica para o desenvolvimento deste trabalho, amizade e pela força nas batalhas diárias;

À toda a equipe do laboratório de fitonematologia pela amizade e companheirismo nesses anos de convivência e pela contribuição para realização deste trabalho: **Alain Sousa, Alessandro Gomes, Ana Karina, Carol Lima, Douglas Castro, Franklin Michael, Profa. LÍlian Guimarães, Marcela Andrade, Mariana Ferreira, Marilene Lunardi, Matheus Silva, Patrícia Ângelo, Sandra Maranhão, Stanyslau Chaves e Thais Vicente**;

À minha família do Piauí, **Ananda Rosa, Carmem Abade, Emanuel Feitosa, Guilherme Rolim, Kathia Raquel, Rezanio Martins e Tamiris Joana** pela convivência e companheirismo;

**Enfim**, minha gratidão sincera a todas as pessoas que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

## SUMÁRIO

<b>LISTA DE TABELAS</b>	viii
<b>LISTA DE FIGURAS</b>	ix
<b>RESUMO GERAL</b>	xi
<b>GENERAL ABSTRACT</b>	xii
<b>CAPÍTULO I – Introdução Geral</b>	13
1. Aspectos gerais da cana-de-açúcar	14
2. Fitonematoides associados à cultura da cana-de-açúcar	15
2.1 <i>Meloidogyne</i> sp.	17
2.2 <i>Pratylenchus</i> sp	18
3. Relação entre fitonematoses e nutrição mineral da cana-de-açúcar	18
4. Atividade enzimática das plantas sob estresses bióticos e abióticos	23
4.1 Atividade enzimática da cana-de-açúcar sob estresses bióticos e abióticos	27
5. Referências Bibliográficas	29
<b>CAPÍTULO II – Seasonal variation of plant-parasitic nematodes and relationship with nutritional and growth properties of sugarcane plantations</b>	41
Abstract	42
Acknowledgements	48
References	48
<b>CAPÍTULO III – Antioxidant enzyme activity associated to <i>Meloidogyne</i> and <i>Pratylenchus</i> infection in sugarcane</b>	57
Abstract	57
Introduction	57
Material and Methods	59
Study sites	59
Sampling design	59
Nematode analysis	60
Sugarcane growth measurements	60
Antioxidant enzymes analysis	60
APX activity	60
SOD activity	60
Statistical Analyses	60

Results	61
Relationship among plant-parasitic nematodes, growth plant parameters and antioxidant enzymes	61
APX and SOD activity associated to <i>Pratylenchus</i> and <i>Meloidogyne</i> abundance	62
Discussion	65
References	67
<b>CAPÍTULO IV – Relação espaço-temporal de <i>Meloidogyne</i> e <i>Pratylenchus</i> com atributos biométricos, nutricionais e enzimáticos da cana-de açúcar</b>	73
Resumo	73
Abstract	74
Introdução	75
Material e Métodos	77
Área de estudo	77
Análise nutricional da planta	78
Análise biométrica	78
Análise nematológica	78
Análise enzimática da folha	79
Geoestatística	80
Resultados	82
Estatística Descritiva	82
Estrutura espacial das variáveis nematológicas e de crescimento, nutrição e enzimas da cana-de-açúcar	83
Alcance da dependência espacial e semivariogramas	84
Mapas das áreas estudadas	85
Discussão	85
Referências Bibliográficas	90
<b>CAPÍTULO V – Conclusões Gerais</b>	114

## LISTA DE TABELAS

### CAPÍTULO II

**Table 1.** Metadata associated with two sugarcane study areas in Pernambuco State, Brazil.....52

**Table 2.** Nematode populations and sugarcane growth from plantations (mean  $\pm$  SD, n = 36) in different tillage and sampling period.....53

### CAPÍTULO III

**Table 1.** General characteristics of the two study sites in Pernambuco State, Brazil.....59

**Table 2.** Plant-parasitic nematode abundances, growth plant parameters and antioxidant enzyme activities in sugarcane leave at six and nine months after planting in area 1 and at six and nine months after cutting (ratoon crop) in area 2. ....61

**Table 3.** Principal component analysis parameters.....62

**Table 4.** Pearson correlation for plant-parasitic nematodes abundance, antioxidant enzymes and plant growth parameters. ....63

### CAPÍTULO IV

**Tabela 1.** Estatística descritiva dos nematoides em raiz, variáveis de crescimento, nutrição e enzimas em cana-planta e cana-soca em diferentes épocas de amostragem.....96

**Tabela 2.** Parâmetros dos semivariogramas teóricos, grau de dependência espacial (GDE) e validação cruzada (Jack-Knifing) das variáveis de crescimento, nutrição e enzimas em cana-de-açúcar em duas áreas e diferentes tempos amostrais.....100

## LISTA DE FIGURAS

### CAPÍTULO II

**Figure 1.** Rainfall in different sampling dates (January to August 2014) in two sugarcane plantations in Pernambuco State, Brazil. *T1* 6 months after planting; *T2* 9 months after planting; *T3* 12 months after planting.....54

**Figure 2.** Redundancy analysis ordination biplot for *Meloidogyne* and *Pratylenchus* abundance and plant parameters. *Ca* calcium; *Mg* magnesium; *P* phosphorus; *K* potassium.....55

### CAPÍTULO III

**Figure 1.** Principal component analysis ordination biplot for plant-parasitic nematodes abundance, antioxidant enzymes, and plant growth parameters. *SOD* superoxide dismutase activity.....61

**Figure 2.** Ascorbate peroxidase (APX) and superoxide dismutase (SOD) activity in sugarcane leaf in response to *Meloidogyne* (2A; 2B) and *Pratylenchus* (2C; 2D). Level 0 (0 individuals); Level 1 (1-100 individuals); Level 2 (100+ individuals); *T6* plant cane 6 months after planting; *T9* plant cane 9 months after planting.....64

**Figure 3.** Ascorbate peroxidase (APX) and superoxide dismutase (SOD) activity in sugarcane leaf in response to *Meloidogyne* (3A; 3B) and *Pratylenchus* (3C; 3D). Level 0 (0 individuals); Level 1 (1-100 individuals); Level 2 (100+ individuals); *T6* ratoon cane 6 months after planting; *A2T9* ratoon cane 9 months after planting.....65

### CAPÍTULO IV

**Figura 1.** Distribuição das chuvas nas áreas de cultivo de cana-planta e de cana-soca durante o período experimental. ....104

**Figura 2.** Semivariogramas teóricos para fitonematoides endoparasitas em cana-de-açúcar na Área 1, aos seis, nove e 12 meses após o plantio e na Área 2, aos seis, nove e 12 meses após o corte.....105

**Figura 3.** Semivariogramas teóricos para variáveis biométricas em cana de açúcar, na Área 1, aos seis, nove e 12 meses após o plantio.....106

**Figura 4.** Semivariogramas teóricos para variáveis biométricas em cana-de-açúcar na Área 2, aos seis, nove e 12 meses após o corte.....107

<b>Figura 5.</b> Semivariogramas teóricos para as enzimas ascorbato peroxidase (APX) e superóxido dismutase (SOD) em cana-de-açúcar na Área 1, aos seis e nove meses após o plantio e na Área 2, aos seis e nove meses após o corte. ....	108
<b>Figura 6.</b> Semivariogramas teóricos para os nutrientes fósforo (P), cálcio (Ca), magnésio (Mg), potássio (K) em plantas de cana-de-açúcar na Área 1, aos seis, nove e 12 meses após o plantio.....	109
<b>Figura 7.</b> Semivariogramas teóricos para os nutrientes Fósforo – P, Cálcio – Ca, Magnésio – Mg, Potássio – K em plantas de cana de açúcar na Área 2, aos seis, nove e 12 meses após o corte. ....	110
<b>Figura 8.</b> Mapas de isolinhas para fitonematoides endoparasitas em cana-de-açúcar na Área 1 e 2 durante as épocas de amostragem. ....	111
<b>Figura 9.</b> Mapas de isolinhas para variáveis biométricas em cana-de-açúcar na Área 1 e 2 durante as épocas de amostragem. ....	112
<b>Figura 10.</b> Mapas de isolinhas para as enzimas ascorbato peroxidase (APX), superóxido dismutase (SOD), para os nutrientes fósforo (P), Cálcio – Ca, e Magnésio – Mg na Área 1 e cálcio (Ca) e Potássio – K em plantas de cana-de-açúcar na Área 2 durante as épocas de amostragem. ....	113

## RESUMO GERAL

O Brasil é o maior produtor de cana-de-açúcar, no entanto, a região nordeste, apresenta baixa produtividade, quando comparada ao centro-sul do País. Essa baixa produtividade está relacionada a diversos fatores, abióticos e bióticos, entre estes os causados por fitonematoides. Conhecer os efeitos do manejo atribuído à cana-de-açúcar nas condições da Mata Norte de Pernambuco sobre a dinâmica das populações de fitonematoides, em particular *Meloidogyne* sp. e *Pratylenchus* sp., atributos químicos do solo, respostas enzimáticas e biométricas da planta são fundamentais para compreensão das variações na atividade da população desses organismos e consequentes efeitos na produtividade agrícola. Os objetivos do presente estudo foram: 1) observar mudanças sazonais e avaliar a relação entre comunidades de fitonematoides e parâmetros das plantas em cana-de-açúcar; 2) avaliar as mudanças sazonais e as relações entre os fitonematoides *Meloidogyne* e *Pratylenchus*, os parâmetros de crescimento da planta e as variações nos níveis das enzimas antioxidantes SOD e APX em diferentes densidades de fitonematoides em cana-de-açúcar em condições de campo; 3) avaliar relações entre a distribuição espaço-temporal dos nematoides endoparasitas *Meloidogyne* e *Pratylenchus* e atributos biométricos, nutricionais e enzimáticos da cana-de-açúcar (cana-planta e cana-soca). O estudo foi conduzido em duas áreas cultivadas com cana-de-açúcar em manejo de sequeiro situadas na Usina Olho D'água, município de Camutanga, Pernambuco/Brasil. Os resultados obtidos indicaram que abundância de *Meloidogyne* e *Pratylenchus*, nutrientes de plantas e parâmetros de crescimento em plantações de cana-de-açúcar respondem diferentemente à variação ambiental. Em geral, as populações de *Meloidogyne* e *Pratylenchus* foram positivamente associadas aos parâmetros de crescimento da cana-de-açúcar, sugerindo que as variedades plantadas em ambas as áreas foram tolerantes a esses fitonematoides. Os resultados sugerem também que a infecção da cana-de-açúcar por *Pratylenchus* e *Meloidogyne* está associada a um aumento da atividade da enzima SOD, destacando-se com um papel protetor para reduzir o dano oxidativo na cana-de-açúcar. Na área 1, os padrões de distribuição espaço-temporal de *Meloidogyne* sp. e *Pratylenchus* sp. diferiram conforme a época de amostragem, tornando-se no geral mais homogêneos ao longo do tempo; o desenvolvimento da cana-soca na área 2 foi prejudicado por regiões de alta densidade populacional de *Pratylenchus* sp., as quais coincidiram com regiões de baixos teores de K e Mg.

**Palavras-chaves:** Enzimas oxidativas, nutrição mineral, *Meloidogyne*, *Pratylenchus*, *Saccharum* sp., distribuição espacial

## GENERAL ABSTRACT

Brazil is the largest producer of sugar cane, however, the northeast region has low productivity, when compared to the center-south of the country. This low productivity is related to several factors, abiotic and biotic, among them the ones caused by plant parasitic nematodes. To know the effects of the management attributed to sugarcane in the conditions of the Northern Pernambuco Forest on the dynamics of populations of phytonematoids, in particular *Meloidogyne* sp. and *Pratylenchus* sp., soil chemical attributes, enzymatic and biometric responses of the plant are fundamental for understanding the variations in the activity of the population of these organisms and consequent effects on agricultural productivity. The objectives of this study were: 1) to observe seasonal changes and evaluate the relationship between nematode communities and parameters of plants in sugarcane; 2) evaluate the seasonal changes and the relationship between fitonematides *Meloidogyne* and *Pratylenchus*, the growth parameters of the plant and changes in the levels of antioxidant enzymes SOD and APX in different densities of plant parasitic nematodes in sugarcane under field conditions; 3) evaluate relations between the spatial-temporal distribution of endoparasites nematodes *Meloidogyne* and *Pratylenchus* and biometric attributes, nutritional and enzymatic of sugarcane (cane plant and ratoon cane). The study was conducted in two areas cultivated with sugarcane in dryland management located at the Olho D'água Plant, in the municipality of Camutanga, Pernambuco / Brazil. The results indicated that abundance of *Meloidogyne* and *Pratylenchus*, plant nutrients and growth parameters in sugarcane plantations respond differently to environmental variation. In general, populations of *Meloidogyne* and *Pratylenchus* were positively associated with growth parameters of sugarcane, suggesting that the varieties planted in both areas were tolerant to these nematodes. The results also suggest that sugar cane infection by *Pratylenchus* and *Meloidogyne* is associated with an increase in the activity of the SOD enzyme, with a protective role to reduce oxidative damage in sugarcane. In area 1, the spatial-temporal distribution patterns of *Meloidogyne* sp. and *Pratylenchus* sp. differed according to the time of sampling, becoming in general more homogeneous over time; The development of sugarcane in area 2 was affected by regions of high population density of *Pratylenchus* sp., which coincided with regions with low levels of K and Mg.

**Keywords:** Oxidative enzymes, mineral nutrition, *Meloidogyne*, *Pratylenchus*, *Saccharum* sp. spatial distribution

## **CAPÍTULO I**

---

### **Introdução Geral**

# DINÂMICA DE FITONEMATOIDES, RESPOSTAS NUTRICIONAIS E ENZIMÁTICAS DA CANA-DE-AÇUCAR

## INTRODUÇÃO GERAL

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

A cana-de-açúcar (*Saccharum* spp. L.) é uma planta semi perene, de clima tropical e subtropical (VIDAL; TREZZI, 2011), pertencente à divisão *Magnoliophyta*, classe *Liliopsida*, subclasse *Commelinidae*, ordem *Cyperales*, família *Poaceae*. Desenvolve-se em forma de touceira, sendo composta por duas partes, a externa formada por colmos, folhas, inflorescências e frutos (DIOLA; SANTOS, 2012), e parte subterrânea onde se encontram raízes e rizoma, essas últimas responsáveis pela constituição dos perfilhos na touceira (MOZAMBANI et al., 2006).

É uma gramínea com desenvolvimento em dois ciclos, o que se inicia com o plantio da muda e se encerra com o primeiro corte é chamado de cana-planta; os demais, que começam após o primeiro corte, são denominados ciclos da soqueira, ou canas-socas. O ciclo da cana-planta dura geralmente de 12 a 18 meses, enquanto o da cana-soca dura 12 meses (CONAB, 2015).

O ciclo da cultura é constituído em quatro estádios. O primeiro estágio, representado pela brotação e estabelecimento da planta, caracteriza-se por ser uma fase de crescimento lento, com ritmo dependente da variação de umidade do solo, podendo levar de 20 a 30 dias para a ocorrência da brotação. O segundo estágio é de perfilhamento, tem início em torno de 40 dias após o plantio, podendo ter duração de até 120 dias. O terceiro estágio, crescimento dos colmos, tem início aos 120 dias após o plantio ou corte e possuindo duração de até 270 dias, em um cultivo de 12 meses. Este é o estágio primordial do cultivo, pois é durante esse período que há acúmulo de 75% da matéria seca total. O quarto estágio, representado pela maturação dos colmos, apresenta reduções nas taxas de crescimento da planta e aumento no acúmulo de sacarose nos colmos, tem início de 270 a 360 dias após o plantio, perdurando por até seis meses (DIOLA; SANTOS, 2012).

A cana-de-açúcar apresenta alta taxa fotossintética e eficiência na utilização do gás carbônico (CO<sub>2</sub>) da atmosfera, caracterizando-se como uma planta de ciclo C<sub>4</sub> (SEGATO et al., 2006). O acúmulo de sacarose nos colmos ocorre, durante o seu desenvolvimento, na fase de maturação. Os mecanismos fisiológicos que ocorrem na planta durante esta fase é de grande

interesse para oferecer ferramentas para a seleção e desenvolvimento de variedades mais produtivas (WATT et al., 2014)

Mundialmente a cana-de-açúcar destaca-se pela relevância no comércio global de produtos agrícolas e, no Brasil, pelo importante papel econômico e social (MORAES et al. 2015), onde tem sido usada para a produção de açúcar e etanol (DIAS et al., 2014). Esse setor produtivo se destaca tanto no mercado interno brasileiro quanto no externo em função da necessidade de alternativas energéticas sustentáveis e de menor impacto sobre as mudanças climáticas (CHEAVEGATTI-GIANOTTO et al., 2011; OCTAVIANO, 2011).

A conscientização para a redução das substâncias responsáveis pelo efeito estufa e o aumento na demanda mundial por energia renovável e menos poluente que o petróleo, tornou necessário diversificar a matriz energética do mundo. Com isso, a cultura canavieira assumiu um papel importante na matriz energética nacional e internacional, já que contribui com uma redução líquida de 46,6 milhões de toneladas de gás carbônico e, conseqüentemente, na redução do efeito estufa (FARINA et al., 2013).

Outro ponto importante a ressaltar é a posição de líder mundial da produção de cana-de-açúcar ocupada pelo Brasil, seguido pela Índia e Austrália. Com cerca de 8,5 milhões de hectares cultivados e produção anual é 642,1 milhões de toneladas, configurando uma produtividade média de 65 t ha<sup>-1</sup>, o Brasil responde por quase um terço da produção mundial total. O Estado de São Paulo é o maior produtor, com 51,7% da área plantada, seguido por Goiás, Minas Gerais, Mato Grosso do Sul, Paraná, Alagoas e Pernambuco, respectivamente (9,8%, 8,9%, 7,5%, 6,8%, 4,3% e 3%). A região Nordeste se destacou com produção de 22,28 milhões de toneladas na safra 2014/15, no entanto, Pernambuco ficou abaixo da média nacional, com produtividade de 52 t ha<sup>-1</sup> (CONAB, 2015).

Vários fatores podem influenciar na redução de produtividade da cultura, destacando-se, entre os fatores abióticos, os distúrbios fisiológicos, ambientais e deficiências nutricionais, e, entre os bióticos, os diferentes grupos de fitopatógenos (fungos, bactérias, vírus e nematoides) (CADET et al., 2004). Outro fator na redução da produtividade são as grandes áreas de produção em monocultivo que podem favorecer ao surgimento de pragas e doenças, levando a níveis de danos consideráveis para a economia (GASSEN, 2010).

## **2. Fitonematoides associados à cultura da cana-de-açúcar**

São várias as espécies de fitonematoides que causam danos potenciais à cultura de cana-de-açúcar (MAQBOOL; HASHMIN, 1987). Dentre as economicamente importantes e consideradas espécies-chave, em função das altas populações e conseqüentes danos, destacam-

se *Meloidogyne javanica* (Treub) Chitwood, *M. incognita* (Kofoid & White) Chitwood e *Pratylenchus zaeae* Graham (DINARDO-MIRANDA, 2010). Quando as variedades plantadas são susceptíveis, as perdas na produtividade variam entre 20 e 40% em cana-planta, e, conseqüentemente, também é reduzido à produtividade da soqueira, interferindo na longevidade do canavial (DINARDO-MIRANDA, 2008). Em áreas de solo com baixo rendimento agrícola, os danos ocasionados por esses fitonematoides são mais severos, podendo aumentar os impactos ambientais em decorrência do uso dos nematicidas, ou inviabilizar o cultivo, provocando o abandono das áreas infestadas (CHAVES et al., 2007).

O sistema de monocultura é um dos principais fatores atribuídos à elevada incidência dos fitonematoides. Nesse sistema, há poucos meses destinados ao pousio (período entre a remoção da soca e o replantio) e, na época de renovação, predominam tanto a ausência de rotação de cultura com outras espécies, como a não retirada dos restos culturais anteriores, o que contribui para o aumento das populações de fitonematoides (CADET; SPAULL, 2005) e, conseqüentemente, redução da produtividade (ROSSI; LIMA, 2007).

A patogenicidade desses organismos é resultante da ação direta sobre a planta hospedeira, que pode ser agravado por fatores bióticos e abióticos (BIRCHFIELD, 1984). Os fitonematoides reduzem a produtividade da cultura ao causar danos às raízes, de onde extraem nutrientes para o seu crescimento e desenvolvimento. Também injetam toxinas no sistema radicular da planta provocando deformações nas raízes, como galhas, tornando-as pouco desenvolvidas e incapazes de realizar normalmente suas funções, como absorção de água e nutrientes, que são essenciais para o ciclo de vida da cultura (DINARDO-MIRANDA, 2010).

Os impactos à economia por incidência de fitonematoides podem mudar em função da espécie; do ciclo da cultura, da velocidade de crescimento das raízes, multiplicação da população do fitonematoides e tolerância da variedade ao estresse hídrico e nutricional, em consequência a doença (MACEDO et al., 2011).

Como os efeitos negativos do parasitismo de fitonematoides em cana-planta aparecem posteriormente nas soqueiras subsequentes, a adoção de medidas que causem redução das populações dos fitonematoides na área, antes do estabelecimento do novo canavial, é de suma importância para o manejo da doença e sucesso no controle (MACEDO et al., 2011). Todavia em face das características inerentes aos fitonematoides, o controle torna-se muito complexo, pois, após a infestação da área, a erradicação é praticamente impossível. Dessa forma, medidas preventivas devem ser tomadas evitando a entrada destes microrganismos em áreas onde ainda não estejam presentes (FERRAZ et al., 2010).

Entre as medidas de controle adotadas para reduzir as populações de fitonematoides em cana-de-açúcar, o uso de variedades resistentes ou tolerantes é o mais prático e econômico (DINARDO-MIRANDA et al., 2008). No entanto, são raras as variedades em cultivos resistentes ou tolerantes a pelo menos uma das espécies de fitonematoides de importância econômica (DIAS-ARIEIRA et al., 2010). Relatos indicaram resistência de SP70-1143 à *M. javanica* (NOVARETTI; NUNES JUNIOR; NELLI, 1981) e de SP89-1115 à *M. incognita* (BARBOSA, 2008); para *Pratylenchus* sp., somente a variedade IAC77-51 foi considerada tolerante, segundo critério de Dropkin e Nelson (1960) (DINARDO-MIRANDA, 2006).

### **2.1 *Meloidogyne* sp.**

Na cultura da cana-de-açúcar, o ataque de fitonematoides compromete o sistema radicular, tornando-as pobres em raízes secundárias e conseqüentemente reduzindo consideravelmente a absorção de água e nutrientes necessários para os seus processos vitais. Essas plantas tornam-se menores, raquíticas, cloróticas, murchas nas horas mais quentes do dia e menos produtivas e em condições de campo, pode ser observado reboleiras de plantas menores e manchas cloróticas entre outras de porte e coloração aparentemente normais (DINARDO-MIRANDA, 2008).

*Meloidogyne javanica* e *M. incognita* são espécies do gênero *Meloidogyne* com destaque entre os fitonematoides responsáveis por baixos rendimentos na canavicultura brasileira (CADET; SPAULL, 2005). Essas espécies completam seu ciclo de vida em três a quatro semanas. As fêmeas colocam cerca de 400 ovos, protegidos por uma massa gelatinosa, que geralmente ficam no interior das raízes, são endoparasitas sedentários e se reproduzem por partenogênese mitótica obrigatória (MACEDO et al, 2011).

Tal condição traz importantes implicações, pois não há necessidade do macho para a formação dos ovos, e isso representa vantagem tanto em função da economia de energia que seria gasta na busca do parceiro sexual, como pela ausência do mesmo. Dessa forma as populações são constituídas normalmente apenas por fêmeas por sucessivas gerações, os machos normais ou sexualmente revertidos aparecem apenas eventualmente, no geral quando sob condições de estresse nutricional (LEROI et al., 1998).

O ciclo de vida inicia-se com um ovo, normalmente no estágio unicelular, depositado pela fêmea que se encontra no interior da raiz. Nesse estágio as fêmeas são brilhantes e globosas, apresentando corpo obeso, aberrante. O desenvolvimento do ovo começa em seu interior até a total formação do juvenil, este período é chamado de primeiro estágio juvenil ou J1. A primeira ecdise ocorre dentro do ovo e o juvenil de segundo estágio, J2, de onde emergem

vermiformes móveis que migram pelo solo até localizar e penetrar a raiz da qual irá se alimentar, sendo esta procura ao acaso, e o J2 é guiado por muitas substâncias exsudadas da raiz do hospedeiro. No interior destas, na periferia do cilindro vascular, eles injetam toxinas que iniciam a formação de um tecido diferenciado, designado nutridor por onde irão se alimentar. Ao se fixar, para iniciar a alimentação, a parede celular é puncionada com o estilete e há a injeção de secreções por suas glândulas esofagianas que causam o alargamento das células do cilindro vascular. Isso leva à constituição das chamadas “células gigantes” devido ao aumento celular (hipertrofia). Também ocorre uma intensa multiplicação celular (hiperplasia) em torno da região do corpo do juvenil. Estas mudanças são acompanhadas, normalmente, pelo engrossamento das raízes, originando distintas galhas. Enquanto as células gigantes e galhas estão se formando, o juvenil vai crescendo e torna-se sedentário. O J2 sofre uma série de transformações, dando origem aos estádios juvenis J3 e J4 e, finalmente, aos adultos macho e fêmea (TIHOHOD, 2000).

Em cana-de-açúcar, as toxinas injetadas pelos juvenis geram reações de hipertrofia e hipertrofia no córtex, das quais resultam típicos engrossamentos nas raízes, referidos como galhas que se estruturam essencialmente nas pontas das raízes ou próximos a elas. Na parte aérea, os sintomas reflexos são o nanismo ou enfezamento das plantas, geralmente associados à clorose foliar. Nos colmos, o comprimento dos internódios apresenta-se menor que o normal. Devido à distribuição irregular dos fitonematoides no solo, esses sintomas ocorrem em áreas delimitadas, conhecidas como “reboleiras” (MACEDO et al., 2011).

## **2.2 *Pratylenchus* sp.**

O gênero *Pratylenchus* possuem espécies polífagas, embora com demasiada preferência por poáceas (gramíneas), está largamente disseminado nos canaviais brasileiros. Quando em condições favoráveis, o ciclo biológico tem duração aproximada de três semanas, a depender de fatores ambientais e da reprodução por partenogênese mitótica obrigatória (machos não são necessários e aparecem raramente). As espécies de *Pratylenchus* apresentam hábito endoparasita migrador, onde as fêmeas depositam seus ovos (em média 50 a 80), geralmente dentro das raízes atacadas (MACEDO et al., 2011). O gênero *Pratylenchus* engloba mais de 60 espécies descritas, e é considerado mundialmente o segundo grupo de fitonematóide mais importante, sendo superado somente por *Meloidogyne*. O fitonematóide *Pratylenchus zae* parasita comumente gramíneas, cultivadas ou invasoras, e é comumente encontrado em cana-de-açúcar (TIHOHOD, 2000).

O ciclo de vida compreende seis estádios: o ovo, quatro estádios juvenis (J1 a J4) e a forma adulta. A primeira ecdise acontece ainda dentro do ovo, e juvenis de segundo estágio J2 eclodem e iniciam a alimentação. Todas as fases de juvenis a adulto são vermiformes e a partir de J2 podem se mover até as raízes, migrando para o solo quando as condições das raízes se tornam desfavoráveis (FERRAZ, 2010).

Os sintomas mais comuns causados por *Pratylenchus* spp. na cultura são lesões necróticas, de tonalidade avermelhada, que após a colonização por fungos de solo ficam enegrecidas (MACEDO et al., 2011). Os sintomas reflexos assemelham-se muito aos do gênero *Meloidogyne* e, com frequência, ocorrem em reboleiras (MACEDO et al., 2011).

### **3. Relação entre fitonematoses e nutrientes minerais da cana-de-açúcar**

A nutrição representa um importante fator na ocorrência de doenças de plantas, entre estas as causadas por fitonematoides. A aplicação de nutrientes pode interferir no ciclo de vida do fitonematoide e aumentar a resistência da planta, dificultando a penetração e o desenvolvimento desses organismos (FERREIRA et al., 2012). Os fertilizantes minerais podem reduzir a população de nematoides por favorecer antagonistas ou liberar substâncias tóxicas, podem atuar de diferentes maneiras sobre os vários grupos de nematoides, dependendo da planta hospedeira, das condições em que é aplicado e ainda da espécie de nematoide envolvido (FERRAZ et al., 2010). A resistência das plantas aos nematoides pode ainda ser favorecida pelo efeito da nutrição mineral sobre as estruturas anatômicas da planta como, por exemplo, modificação da espessura das células epidérmicas e da cutícula, parede celular com maior ou menor grau de salificação, suberização e lignificação (MARSCHNER, 1997).

Os níveis inadequados de nutrientes nas plantas podem ser acarretados pelos danos causados por nematoides no sistema radicular. Por isso, a composição mineral das plantas parasitadas por fitonematoides, em sua maioria, difere da composição de plantas sadias. Essas alterações não seguem um padrão, podendo ocorrer, em alguns casos, a diminuição ou acúmulo ou, ainda, permanecerem inalterados os teores de determinados nutrientes (HUSSEY, 1985), ocorrendo alterações tanto na composição mineral como orgânica dos tecidos das plantas parasitadas (WANG; BERGESON, 1974).

As alterações nas plantas podem manifestar-se tanto em tecidos da parte aérea como em tecidos radiculares (MACDONALD, 1979). Santos (1981) avaliou o efeito de diferentes concentrações de inoculo de *Meloidogyne exigua* Goeldi sobre a absorção de N, P, K, Ca e Mg em mudas de cafeeiro e observou que com o aumento da quantidade de inoculo, a absorção de N e Ca pela planta foi reduzida, enquanto a absorção dos demais nutrientes não foi alterada,

constatando que a presença do nematoide em alta concentração no solo interferiu na absorção de determinados nutrientes pela planta.

Com os estudos destinados a avaliar os efeitos da nutrição de plantas sobre a população dos fitonematoides, pesquisadores têm buscado respostas usando a abordagem oposta, ou seja, avaliando os efeitos de fitonematoides na nutrição de plantas (HEFFES et al., 1992; HURCHANIK et al., 2004). Hurchanik et al. (2004) observaram que a infecção em plantação de café por *Meloidogyne konaensis* Eisenback, reduziu significativamente a absorção de manganês e cobre pelo sistema radicular. De modo geral, quanto melhor o estado nutricional da planta, mais tolerante ela ficará ao parasitismo dos fitonematoides. Em goiabeiras, o parasitismo do *Meloidogyne enterolobii* Yang & Eisenback altera significativamente o estado nutricional da planta, esta absorve menos cálcio e magnésio, acumula manganês e apresenta deficiência acentuada dos nutrientes nitrogênio, fósforo e potássio (GOMES et al., 2008). Em cana-de-açúcar, a severidade da meloidoginose em solos arenosos, causada por *M. incognita* raca 1, diminuiu significativamente com a maior disponibilidade de macronutrientes (ASANO, MOURA, 1995).

Sintomas de deficiência nutricional em plantas é a expressão de distúrbios metabólicos resultantes do suprimento insuficiente de um ou mais elementos essenciais. Tais perturbações estão relacionadas às funções desempenhadas pelos nutrientes no metabolismo e no funcionamento normal da planta (TAIZ; ZEIGER, 2013). Esses nutrientes podem ter maior importância sobre algumas doenças em relações a outras, dessa maneira, um determinado nutriente é capaz de ter diferentes impactos sobre diversas doenças em ambientes distintos (ZAMBOLIM; VENTURA, 2012).

Quando ocorre a fertilização com solos infestados com fitonematoides, a planta hospedeira pode aumentar sua resistência, dificultando a penetração e o desenvolvimento dos nematoides (ZAMBOLIM et al., 2005). Muitas vezes a fertilização além da função de nutrir a planta hospedeira, parece compensar, de algum modo, a ação parasítica dos nematoides, os quais, geralmente, tendem a agravar os sintomas de carência nutricional (BONETI et al., 1982).

Entre os nutrientes, o Cálcio (Ca) é essencial nos processos vitais em plantas. Em termos quantitativos, este é o nutriente predominante no apoplasto, onde tem a função de interligar cadeias de pectina conferindo-lhes sua estabilidade. É um elemento essencial para a integridade da membrana plasmática da célula de plantas (EPSTEIN; BLOOM, 2004). Assim como os outros nutrientes, o Ca deve estar presente em quantidade suficiente no solo, uma vez que, plantas deficientes de Ca são mais suscetíveis ao ataque de fitonematoides (HURCHANIK et al., 2003).

Estudos mostram a eficiência do nutriente na redução de populações de fitonematoides. Segundo Mohamed e Youssef (2009), a aplicação de carboneto de cálcio (CaC<sub>2</sub>) foi eficaz na redução do número de galhas, massas de ovos e juvenis de *M. incognita* em abobrinha (*Cucurbita pepo* var. Melopepo), e independente da concentração usada, aumentou o rendimento da cultura. Oliveira et al. (2012) ao avaliar o efeito de diferentes doses de silicato de cálcio e magnésio sobre a reprodução de *M. javanica* e sobre o desenvolvimento de mudas de bananeira Prata-Anã, observaram que a reprodução do fitonematoide foi afetada com as aplicações das diferentes doses e ainda proporcionou um incremento na matéria seca do rizoma.

No entanto, a forma na qual o Ca é o mais amplamente usado consiste de calagem que está diretamente ligado para o pH do solo. Rocha et al. (2006) avaliaram o efeito de doses de Ca sobre a população de *Heterodera glycines* em raízes de soja e descobriram que o número de fêmeas caiu quando as doses de cálcio foram aumentadas até 3.039 t/ha<sup>-1</sup>. Os autores concluíram que o aumento da oferta de cálcio impulsionou a resistência das células, reduzindo a infecção da raiz pelo nematoide. Dutra et al. (2004) também relataram uma redução no número de galhas e ovos de uma série de espécies de *Meloidogyne* em feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L), tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.) e cafeeiro (*Coffea* sp.) tratado com silicato de cálcio.

O fósforo (P) é essencial para o crescimento das plantas e também pode influenciar nas doenças causadas por fitonematoides (FERRAZ et al., 2010). As plantas com níveis elevados de fósforo liberam menos exsudatos de raízes e, dessa forma, são menos atraentes para fitonematoides, diminuindo a incidência da doença (MARSCHNER, 1997). Além disso, quando em níveis adequados de fósforo (ZAMBOLIM et al., 2005), o aumento na síntese de proteínas, a melhor atividade de células e a produção mais intensa de polifenóis e peroxidase (WANG; BERGESON, 1974) resultam em plantas mais resistentes aos nematoides.

Alguns estudos também demonstram a eficiência da aplicação de fontes de fósforo. Em um estudo realizado por Dias-Arieira et al. (2012), fosfito de potássio foi eficaz na redução da população de *P. brachyurus* em milho. Neste caso, a sua eficácia foi relacionada com a sua capacidade de estimular os mecanismos de defesa da planta, tal como a produção de fitoalexinas (DERKS; CREASY, 1989). De forma semelhante, Oka et al. (2007), também estudou os efeitos do fósforo, ao testar o fosfito de potássio, concluiu que ao aplicá-lo na parte aérea esse foi eficaz no controle *Heterodera avenae* Wollenweber e *M. maryland* Jepson e Goldi tanto para o trigo e quanto para a aveia. Este resultado é atribuível a capacidade para translocar fosfito ao longo do xilema e floema da planta (QUIMETTE; COFFEY, 1990).

O potássio (K) é o mineral mais abundante nas plantas e está presente em concentrações elevadas no citosol e vacúolo, como um íon livre (K<sup>+</sup>). Além de ter um papel importante na

ativação enzimática (mais de 60 enzimas), K também participa da neutralização de ânions e possui potencial de manutenção de membrana (EPSTEIN; BLOOM, 2004).

É provável que a nutrição adequada de plantas com K ajude a reduzir a incidência da doença devido a um aumento da resistência à penetração e o desenvolvimento de agentes patogênicos (HUBER; ARNY, 1985; PERRENOUD, 1990). Além disso, é considerado o nutriente que tem a maior influência sobre as doenças (PERRENOUD, 1990). O aumento na resistência da planta na presença de fontes abundantes de K é devido, principalmente, ao aumento da espessura da parede das células epidérmicas, levando ao aumento da rigidez estrutural de tecidos e desempenhando um papel essencial em muitas reações metabólicas em plantas, que regulam o funcionamento estomático e promove a rápida recuperação do tecido lesado, por causa da acumulação de fitoalexinas e fenóis em torno do local da infecção (HUBER; ARNY, 1985).

Os efeitos do K sobre as doenças de plantas são muito variáveis, e podem ser afetados em decorrência de alguns fatores como: a quantidade e fonte de K do agente fitopatogênico envolvido (WANG et al., 2013), a sua disponibilidade no solo, a interação com outros nutrientes, as condições ambientais e a suscetibilidade da planta. Por isso, nem sempre ele deve ser associado à redução da intensidade de doenças de plantas. Por outro lado, mesmo na presença de fitopatógenos, o K pode aumentar a produção de plantas infestadas com doenças causadas por fitonematoides (PERRENOUD et al., 1990).

Quando a concentração de K aumenta na planta, diminui a competição interna dos agentes fitopatogênicos por recursos nutricionais, conforme Holzmueller et al. (2007). Este estado nutricional permite que as plantas aloquem mais recursos no desenvolvimento de paredes celulares mais fortes para a prevenção da infecção pelo patógeno e para obter mais nutrientes a serem utilizados na sua defesa e reparação de danos (MENGEL, 2001).

O K pode influenciar a taxa de eclosão dos nematoides, podendo ser inibida a eclosão de juvenis. Pesquisadores afirmaram que, sob condições de campo, determinados íons presentes na solução do solo podem influenciar a eclosão de juvenis de nematoides (CLARK; SHEPHERD, 1966). Salgado et al. (1997), observaram que silicato de potássio ( $K_2SiO_4$ ) apresentou efeito prejudicial à eclosão de juvenis de *M. exigua*.

A carência de K no solo pode levar as plantas a uma maior suscetibilidade ao ataque de nematoides. Barbosa et al. (2010) avaliaram o uso de fertilizantes de K (doses simples e múltiplas) sobre as populações de *H. glycines* em cultivares de soja resistentes e suscetíveis e observaram que o aumento das doses de potássio reduziu o número de fêmeas no sistema radicular e o fator de reprodução do nematoide no cultivar suscetível. Da mesma forma, em

trabalho realizado por Pinheiro et al. (2009), doses de K influenciaram significativamente o número de cistos, ovos e fêmeas por sistema radicular e o fator de reprodução de *H. glycines* em soja. Esta redução pode ser resultado da interferência do K na recepção do sinal pela membrana celular, gerando a diminuição no número de sincícios (BARBOSA et al., 2010).

Fertilizantes a base de K também reduziram a multiplicação de *M. exigua* em *Coffea arabica* L. (SANTOS, 1978). Por outro lado, este tipo de fertilizante impulsionou o aumento populações de *Tylenchulus semipenetrans* Cobb em *Citrus aurantium* L. (BADRA; YOUSIF, 1979), e *Rotylenchulus reniformis* Linford & Oliveira em algodão (PETTIGREW et al., 2005), esse resultado foi atribuído ao crescimento mais forte do sistema radicular da planta.

A aplicação equilibrada de macro e micronutrientes ao solo é a melhor forma de garantir que a cultura suporte os danos causados por fitonematoides. A adubação por si só, não controla os fitopatógenos, no entanto, os fertilizantes devem ser usados inicialmente para nutrir a planta, e integrado a métodos mais eficazes de controle (FERRAZ et al., 2010).

Ainda existem poucos estudos sobre a influência da nutrição mineral sobre doenças causadas por fitonematoides e alguns dos estudos existentes não solucionam os mecanismos pelos quais os nutrientes reduzem a população de fitoparasitas. Em algumas interações planta-fitonematoide, o acúmulo de celulose, lignina e outros elementos provocados pela nutrição das plantas conferem resistência do hospedeiro aos fitonematoides. No entanto, há muitos resultados contraditórios e numerosos processos para os quais ainda não temos respostas (SANTANA-GOMES et al., 2013).

De forma geral, os nutrientes podem direta ou indiretamente predispor plantas ao ataque de agentes fitopatogênicos. Eles podem reduzir ou aumentar a gravidade da doença, afetar o meio ambiente para atrair ou impedir patógenos e também induzir a resistência ou tolerância na planta hospedeira (ZAMBOLIM et al., 2001; AGRIOS, 2005). É importante saber que se um nutriente é essencial para uma espécie de planta, ele deve ser fornecido em proporção equilibrada com os outros nutrientes essenciais, pois a deficiência pode agravar a doença (ZAMBOLIM et al., 2001). A aplicação de fertilizantes pode, parcialmente, compensar os danos induzidos pelos fitonematoides, e estimular o desenvolvimento da planta (FERRAZ et al., 2010). Estudos demonstraram que a aplicação de macronutrientes em cana-de-açúcar reduz a gravidade da doença causada por *Meloidogyne* spp., permitindo que a planta se desenvolva normalmente (ASANO; MOURA, 1995).

#### **4. Atividade enzimática das plantas sob estresses bióticos e abióticos**

As plantas passam constantemente por inúmeros estresses ao longo do ciclo de vida, seja em virtude das oscilações severas de temperatura, umidade, radiação solar, seja devido à ataques de patógenos, entre outros. O estresse sofrido estimula diferentes respostas nas plantas, desde alterações na expressão gênica e metabolismo celular até variações na taxa de crescimento e produção de biomassa (TAIZ; ZEIGER, 2013).

No entanto, as plantas articulam respostas de defesa de forma a superar tais estresses e retornar ao seu metabolismo normal, modificam a constituição de compostos moleculares, como um mecanismo de resposta, onde muitas dessas alterações podem estar relacionadas diretamente com a defesa e proteção da planta. Essas condições são vistas como uma capacidade adquirida ao longo do processo evolutivo, quando os vegetais desenvolveram mecanismos de resposta contra danos e doenças que ao serem demandados, reconhecem a agressão (DE WIT, 2007).

Esses mecanismos de defesa podem ser de natureza passiva ou pré-existente e ativa ou induzida. Os mecanismos de natureza passiva envolvem barreiras estruturais ou reservatórios de compostos antimicrobianos estrategicamente posicionados que previnem a colonização dos tecidos como cutícula, tricomas e estômatos. O mecanismo de defesa induzida inclui a resposta de hipersensibilidade (RH); a produção de fitoalexinas e proteínas, relacionadas à patogênese (PR); a reativa de nitrogênio (ERN), conhecido como “explosão oxidativa”; a lignificação, fortalecimento da parede celular através da deposição de proteína; a caloses e produção de espécies reativas de oxigênio (ERO) (ALMAGRO et al., 2009; AMORIM et al., 2011).

As EROs são formas reduzidas de oxigênio atmosférico e estão presentes na maioria dos sistemas biológicos. A sua ocorrência verifica-se de forma natural em grande parte das células eucarióticas porque o metabolismo energético é dependente do uso de oxigênio secundário provenientes da fotossíntese e da respiração (ÉAUX; TOLEDANO, 2007).

As plantas têm a capacidade de produzir as espécies reativas de oxigênio (EROs) resultante do seu metabolismo aeróbico. A exposição das plantas a condições ambientais desfavoráveis aumenta à produção de espécies reativas de oxigênio, causando o estresse oxidativo (MOLLER; SWEETLOVE, 2010). O estresse oxidativo é consequência de um desequilíbrio entre a produção e retirada de EROs. As EROs são moléculas extremamente reativas e podem causar danos metabólicos irreversíveis, como a peroxidação de lipídios, os danos nas membranas celulares e a degradação de proteínas, que podem acarretar a inviabilidade celular e causar danos drásticos ao desempenho e produtividade vegetal (FOYER;

NOCTOR, 2009). A produção dos EROs é uma das principais respostas bioquímicas das células a estresses bióticos e abióticos, conforme Nguyen et al. (2009).

Espécies de plantas e cultivares dentro de uma espécie são diferentes em sua resposta ao ambiente estressante. As plantas com altos níveis de antioxidantes, constitutiva ou induzida, têm uma maior resistência ao dano oxidativo, de acordo com Siringam et al. (2011). Trabalhos sugerem que a extensão de dano celular oxidativo em plantas expostas ao estresse é controlado pela capacidade de seus sistemas antioxidantes (BHATTACHARJEE, 2010).

Espécies reativas de oxigênio, como o radical superóxido ( $O_2^-$ ), peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) e radical hidroxila (OH), ocorrem no metabolismo celular. No entanto, quando a planta é submetida a condições de estresse, de natureza biótica, após o reconhecimento de um patógeno pela planta (TORRES; DANGL, 2005) ou abiótica, a produção destes radicais se eleva e, quando isso ocorre, tornam-se citotóxicos ao reagirem com outras moléculas, podendo ocasionar danos ao metabolismo normal, pois são capazes de causar danos oxidativos a lipídios, proteínas e ácidos nucleicos. Essa reação acarreta mudanças na permeabilidade seletiva de biomembranas (DE GARA et al., 2003) e alterações na atividade de enzimas relacionadas à membrana (DEL RÍO et al., 2006).

O estresse oxidativo provoca a biossíntese de componentes antioxidantes e eleva a atividade de enzimas que evitam a oxidação, com isso, quando a planta é submetida ao estresse, pode ocorrer a supressão de algumas atividades antioxidantes, auxiliando para um aumento de EROs (FOYER; NOCTOR, 2009). Para sua própria proteção contra estes efeitos tóxicos intermediários de oxigênio, as células das plantas e suas organelas, como cloroplastos, mitocôndrias e peroxissomos utilizam um sistema de defesa antioxidante, que são as enzimas e outras moléculas não enzimáticas como carotenoides, ácido ascórbico, vitamina E, flavonóides, prolina, glutathiona, entre outras (DAVAR et al., 2013).

As enzimas que têm a função de proteger as células vegetais dos efeitos citotóxicos das EROs, também influenciam várias reações que estão relacionadas a sinalização de defesa das plantas. Suas atividades estão diretamente implicadas aos processos fisiológicos, que estão envolvidos em mecanismos de sinalização celular na sua própria defesa ou no estresse oxidativo (SOARES; MACHADO, 2007).

A proteção das células com o auxílio de um complexo enzimático atua em sincronia, e são denominadas enzimas antioxidantes, como por exemplo, a superóxido dismutase (SOD) e ascorbato peroxidase (APX) (INZÉ; MONTAGU, 1995; MITTLER, 2002). Estas enzimas respondem ao processo oxidativo decorrente de qualquer estresse da planta, seja biótico ou abiótico. E, conseqüentemente, as plantas passam a reduzir os efeitos citotóxicos das EROs pela

ação destas enzimas (KIM; KWAK, 2010; DINAKARA et al., 2012). Dessa forma, esses mecanismos são essenciais para compreender os processos metabólicos oxidação-redução das plantas, além das relações entre o crescimento e desenvolvimento da homeostase celular (FOYER; NOCTOR, 2009).

A produção excessiva de EROs aumenta logo após ao reconhecimento pela planta da existência do patógeno (LINCOLN, ZEIGER, 2009). Esta resposta é variável e depende do tipo de planta e do estresse envolvido (PANDA; CHOUDHURY, 2005). Segundo Abdel Abdel-Latef e Chaoxing (2011), plantas que aumentam a produção de enzimas antioxidativas mostram-se mais tolerantes a diferentes tipos de estresses.

SOD é uma enzima antioxidante presente em todos os organismos aeróbicos e compartimentos subcelulares sujeito a uma explosão oxidativa devido a um estresse abiótico ou biótico. É uma das enzimas mais eficientes nesse processo de proteção da planta e fornece a primeira linha de defesa contra os efeitos tóxicos dos níveis elevados das espécies reativas de oxigênio (GILL; TUTEJA, 2010).

A SOD pode interferir na concentração de  $H_2O_2$ , sendo ela a responsável pelo mecanismo de defesa central dos organismos vivos. Dessa forma, quando a atividade da enzima se eleva dar-se a indução de disfunções e morte celular, essa situação assinala que a planta limita o local de ataque do patógeno, o que acarreta a morte elevada, ao redor da lesão (RESENDE et al., 2003), minimizando os efeitos tóxicos destes compostos (LEE; LEE, 2000).

A APX é outra enzima com papel importante na defesa vegetal contra estresses bióticos e abióticos. Pode ser encontrada em diferentes formas nos compartimentos celulares, como citosol, peroxissomos, cloroplastos e mitocôndria com função na detoxificação do  $H_2O_2$ , no qual reduz a  $H_2O$  em plantas, agindo na prevenção de danos celulares oxidativos nos vegetais (FOYER; NOCTOR, 2009; FERNANDEZ-GARCIA et al., 2010).

Além da APX atuar como antioxidante secundário, pode ainda atuar na manutenção do estado reduzido do  $\alpha$ -tocoferol. Esse um importante antioxidante não enzimático solúvel em lipídio, capaz de interagir com as EROs e impedir as reações finais que causam peroxidação de lipídios no interior dos diferentes sistemas de membranas da célula vegetal (ŚLESIAK et al., 2007). Nas células das plantas, o ciclo desta enzima representa um mecanismo de detoxificação alternativo contra  $H_2O_2$ , gerado no cloroplasto e citosol, onde o  $H_2O_2$  é removido em várias reações enzimáticas que envolvem enzimas como a redutase da glutatona (GR) e a APX (CAKMAK et al., 1993).

Como a APX tem a capacidade de reduzir a oxidação, esta se correlaciona de forma positiva, como mecanismo de defesa da planta (PEIXOTO et al., 1999). Trabalhos realizados

sobre APXs em plantas têm mostrado uma alteração da expressão destas enzimas em resposta aos diferentes estresses, como seca, salinidade, alta e baixa temperatura, intensidade luminosa e ataque de patógenos (SHIGEOKA et al., 2002; AGRAWAL et al., 2003; FRYER et al., 2003; MENEZES et al., 2004; TEIXEIRA et al., 2006).

Assim, é essencial o papel destas enzimas na defesa dos vegetais contra fatores desfavoráveis do ambiente, uma vez que estas se encontram em grande quantidade na célula vegetal (CONKLIN; BARTH, 2004).

#### **4.1 Atividade enzimática da cana-de-açúcar sob estresses bióticos e abióticos**

A atividade enzimática da cana de açúcar é de grande relevância para entender os mecanismos de defesa envolvidos sobre condições adversas. Pesquisas sobre a importância das enzimas antioxidantes no sistema de defesa em cana-de-açúcar sob diferentes condições de estresses, têm recebido atenção de vários pesquisadores na busca da melhor compreensão da atuação dessas enzimas contra o estresse oxidativo.

Em trabalho realizado por Gomathi; Rakkiyapan (2011), sobre estresse salino em folhas de cana-de-açúcar, evidenciaram na cultivar tolerante aumento das enzimas SOD, CAT, APX e glutatona redutase (GR), e maior estabilidade de membrana, de clorofilas e de carotenóides, enquanto na sensível houve reduções das enzimas e degradação de membranas e pigmentos fotossintéticos, com isso, os autores sugeriram que a maior estabilidade de membrana e a concentração de pigmentos, estão relacionadas com altos níveis de atividade de enzimas antioxidantes. Cia et al. (2012), estudando cultivares tolerantes e sensíveis à deficiência hídrica, verificaram que as atividades das enzimas antioxidantes como SOD, CAT, APX, guaiacol peroxidase (GPOX) e GR nas folhas, variaram de acordo com a cultivar e a intensidade do estresse, no entanto, na cultivar tolerante manteve-se altas taxas de CAT e APX e redução de peroxidação de lipídeos ao longo do estudo. Srivastava et al. (2012) estudando cultivares de cana-de-açúcar sob estresses térmicos observaram que altas temperaturas induziram alterações na atividade de CAT e APX e suas isoenzimas, correspondendo ao nível de tolerância das cultivares. Maiores taxas das enzimas foram relacionadas a menores lesões pelo calor e com isso os autores sugeriram que essas enzimas antioxidantes podem ser utilizadas para identificar populações de plântulas e germoplasma de tolerância à temperatura elevada em cana-de-açúcar.

Não há estudos sobre atividade enzimática da cana-de-açúcar em respostas ao ataque de fitonematoides, fazendo-se necessários pesquisas que busquem entender esses efeitos como futuras fontes promissoras de resistência dessa planta.

Estudos envolvendo outras espécies vegetais foram realizados por alguns pesquisadores. HURA et al. (2013), avaliando a resposta bioquímica de plântulas de colza (*Brassica napus* L.) após inoculação de esporos do fungo *Phoma lingam* (*Leptosphaeria maculans* (Desmaz.) Ces. & De Not)), observaram que houve aumento na atividade de peroxidase somente 72 horas após a inoculação e que este aumento ocorreu em resposta a alta produção de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> que ativou o sistema de defesa da planta, devido ao ataque do estressor biótico. Jindichová et al. (2011), estudando o papel do peróxido de hidrogênio e sua interação com folhas de colza e *L. maculans* na atividade de catalase e outras enzimas antioxidantes, observaram que quando era manipulado o conteúdo de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e catalase nos cotilédones de colza havia formação de necroses típicas da infecção do fungo a partir de 10 dias após a inoculação (DAI) nas plantas controle infiltradas com água ou H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. A aplicação da enzima catalase prolongou o período assintomático até 9 DAI e diminuiu significativamente o desenvolvimento da necrose de 20% em comparação com as plantas controle e que H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> infiltrado não impediu o crescimento do fungo e o desenvolvimento da lesão.

Diante do exposto, o objetivo desse trabalho foi avaliar a dinâmica espaço-temporal dos fitonematoides *Meloydogyne* e *Pratylenchus*, respostas enzimáticas (ascorbato peroxidase e superóxido dismutase) e nutricionais da cana-de-açúcar

## 5. Referências Bibliográficas

- ABDEL-LATEF, A. A. H.; CHAOXING, H. Effect of arbuscular mycorrhizal fungi on growth, mineral nutrition, antioxidant enzymes activity and fruit yield of tomato grown under salinity stress. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 127, p. 228-233, 2011.
- AGRAWAL, G. K.; JWA, N. S.; IWAHASHI, H.; RAKWAL, R. Importance of ascorbate peroxidases OsAPX1 and OsAPX2 in the rice pathogen response pathways and growth and reproduction revealed by their transcriptional profiling. **Gene**, Amsterdam, v. 322, p.93-103, 2003.
- AGRIOS G.N. **Plant Pathology**. 5ª ed. London: Elsevier Academic Press. 2005, p.922.
- ALMAGRO, L.; GÓMEZ-ROS, L.V.; BELCHI-NAVARRO, S.; BRU, R.; ROS-BARCELO, A.; PEDREÑO, M.A. Class III peroxidases in plant defence reactions. **Journal of Experimental Botany**, Alemanha, v. 60, p. 377-390, 2009.
- AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A. **Manual de Fitopatologia: Princípios e Conceitos**. 4. ed., Piracicaba, SP: Ceres, 2011.1 704p.
- ASANO, S.; MOURA, R. M. Efeitos dos macro e micronutrientes na severidade da meloidoginose da cana-de-açúcar. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v.19, p.15-20, 1995.
- BADRA, T.; YOUSIF, G. M. Comparative effects of potassium levels on growth and mineral composition of intact and nematized cowpea and sour orange seedlings. **Nematologia Mediterrânea**. Bari, v.7, p21-27,1979.
- BARBOSA, B. F. F. **Estudo das inter-relações patógeno-hospedeiro de *Meloidogyne incognita*, *M. javanica* e *Pratylenchus brachyurus* em cana-de-açúcar**.2008. 50 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia – Entomologia Agrícola) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.
- BARBOSA, K. A. G.; GARCIA, R. A.; SANTOS, L. C.; TEIXEIRA, R. A.; ARAÚJO, F. G.; ROCHA, M. R.; LIMA, F. S. O. Avaliação da adubação potássica sobre populações de *Heterodera glycines* em cultivares de soja resistente e suscetível. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 34, p.150-157, 2010.

- BHATTACHARJEE, S. Sites of generation and physicochemical basis of formation of reactive oxygen species in plant cell. eds . In: GUPTA, S. D. **Reactive oxygen species and antioxidants in higher plants**. Enfi eld: Science Publishers, 2010. p.1-30
- BIRCHFIELD, W. Nematode Parasites of Sugar-Cane. Eds. In: NICKLE, W. R. **Plant and insect nematodes**. New York, Marcel. Decker, USA. 1984, p.571-588.
- BONETI, J. I. S.; FERRAZ, S.; BRAGA, J. M.; OLIVEIRA, L. M. Influência do parasitismo de *Meloidogyne exigua* sobre a absorção de 8 micronutrientes (Zn, Cu, Fe, Mn e B) e sobre o vigor de mudas de cafeeiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 7, p.197-206, 1982
- CADET, P.; GUICHAOUA, L.; SPAULL, V.W. Nematodes, bacterial activity, soil characteristics and plant growth associated with termitaria in a sugarcane field in South Africa. **Applied Soil Ecology**. Amsterdam, v. 25, p.193-206, 2004.
- CADET, P.; SPALL, V. W. Nematodes parasites of sugarcane. In: LUC; M.; SIKORA , R. A.; BRIDGE, J. eds. **Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture**. Wallingford: CABI International, Wallingford, CT. 2005, p. 645-674.
- CHAVES, A.; MELO, L. J. O. T.; SIMÕES NETO, D. E.; COSTA, I. G.; PEDROSA, E. M. R. Declínio severo do desenvolvimento da cana-de-açúcar em tabuleiros costeiros do estado de Pernambuco. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 31, p.93-95, 2007.
- CAKMAK, I.; STRBAC, D.; MARSCHNER, H. Activities of hydrogen peroxide- scavenging enzymes in germination wheat seeds. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 44, p. 127-132, 1993.
- CHEAVEGATTI-GIANOTTO, A.; DE ABREU, H. M. C.; ARRUDA, P.; BESPALHOK FILHO, J. C.; BURNQUIST, W. L.; CRESTE, S.; DI CIERO, L.; FERRO, J. A.; OLIVEIRA FIGUEIRA, A. V.; SOUSA FILGUEIRAS, T. Sugarcane (*Saccharum X officinarum*): A reference study for the regulation of genetically modified cultivars in Brazil. **Tropical Plant Biology**, Berlin, v. 4, p. 62–89. 2011.
- CIA, M. C.; GUIMARÃES, A. C. R.; MEDICI, L. O.; CHABREGAS, S.M.; AZEVEDO, R. A. Antioxidant responses to water deficit by drought-tolerant and -sensitive sugarcane varieties. **Annals of Applied Biology**, Malden, v.161, p.313-324, 2012.

CLARKE, A. J.; SHEPHERD, A. M. Inorganic ions and hatching of *Heterodera* spp. **Annals of Applied Biology**, London, v. 58, p.497-508, 1966.

CONAB. **Companhia Nacional de Abastecimento. Acompanhamento de safra brasileira: cana-de-açúcar, terceiro levantamento, janeiro/2015**. Brasília, DF, 2015. Disponível em:<[http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/15\\_04\\_13\\_09\\_39\\_02\\_boletim\\_cana\\_portugues\\_-\\_1o\\_lev\\_-\\_15-16.pdf](http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/15_04_13_09_39_02_boletim_cana_portugues_-_1o_lev_-_15-16.pdf)>. Acesso em: 22 de abril. 2015.

CONKLIN, P. L.; BARTH, C. Ascorbic acid, a familiar small molecule intertwined in the response of plants to ozone, pathogens, and the onset of senescence. **Plant, Cell and Environment**, Oxford, v. 27, n.959–970, 2004.

DAVAR, R.; DARVISHZADEH, R.; MAJD, A. Changes in antioxidant systems in sunflower partial resistant and susceptible lines as affected by *Sclerotinia sclerotiorum*. **Biologia**, Beltsville, v.68, p. 821-829, 2013.

DE GARA, L.; PINTO, M. C.; TOMMASI, F. The antioxidant systems vis-a-vis reactive oxygen species during plant-pathogen interaction. **Plant Physiology and Biochemistry**, Amsterdam, v. 41, p.863-870, 2003.

DEL RIO, L. A.; SANDALIO, L. M.; CORPAS, F. J.; PALMA, J. M.; BARROSO J. B. Reactive oxygen species and reactive nitrogen species in peroxisomes. Production, scavenging, and role in cell signaling. **Plant Physiology**, Washington, v.141, p.330-335, 2006.

DERKS, W.; CREASY, L. L. Influence of foseetyl-Al on phytoalexin accumulation in the *Plasmopara viticola* grapevine interaction. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v. 3, p.203-213, 1989.

DE WIT, P. J. How plants recognize pathogens and defend themselves. **Cellular and Molecular Life Science**, Switzerland, v. 64, p. 2726-2732, 2007.

DIAS, M. O. S.; CAVALETT, O.; MACIEL, R.; BONOMI, A. Integrated first and second generation ethanol production from sugarcane. **Chemical Engineering Transactions\_Roma**, v. 37, p.445–450, 2014.

DIAS-ARIEIRA, C. R.; CUNHA, T. P. L.; CHIAMOLERA, F. M.; PUERARI, H. H.; BIELA, F.; SANTANA, S. M. Reaction of vegetables and aromatic plants to *Meloidogyne javanica* and *M. incognita*. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 30, p.322-326, 2012.

DIAS-ARIEIRA, C. R.; SANTOS, D. A.; SOUTO, E. R.; BIELA, F.; CHIAMOLERA, F. M., CUNHA, T. P. L., SNATNA, S. M., PUERARI, H. H. Reação de Variedades de Cana-de-açúcar aos Nematoides-das-galhas. **Nematologia Brasileira**. Piracicaba, v. 34, p. 198- 203, 2010.

DINAKARA, C.; DJILIANOV, D.; BARTELS, D. Photosynthesis in desiccation tolerant plants: Energy metabolism and antioxidative stress defense. **Plant Science**, Limerick, v. 182, p. 29-41, 2012.

DINARDO MIRANDA, L. L. Nematoides e pragas de solo em cana-de-açúcar. In: **Encarte Do Informações Agronômicas**. Ribeirão Preto, 2010. Disponível em: <http://www.potafos.org/ppiweb/brazil.nsf/87cb8a98bf72572b8525693e0053ea70>. Acesso em: 25 Fev. 2016.

DINARDO-MIRANDA, L. L. **Manejo de nematoides e pragas de solo em cana-de-açúcar**. Eds. In: CAMPOS, A. P.; VALE, D.W.; ARAÚJO, E. S.; CORRADI, M. M.; YAMAUTI, M.S.; FERNANDES, O. A.; FREITAS, S. **Manejo Integrado de Pragas**. FUNEP, Jaboticabal (SP), 2006. p. 59-80.

DINARDO-MIRANDA, L.L. **Nematoides**. Eds. In: DINARDO-MIRANDA, L.L.; VASCONCELOS, A.C.M.; LANDELL, M.G.A. **Cana-de-açúcar**. Instituto Agronômico, Campinas. 2008, p. 405-422.

DINARDO-MIRANDA, L. L.; GIL, M. A. Efeito da rotação com *Crotalaria juncea* na produtividade da cana-de-açúcar, tratada ou não com nematicidas no plantio. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 29, 2005.

DIOLA, V.; SANTOS, F. Fisiologia. In: SANTOS, F.; BORÉM, A.; CALDAS, C. **Cana-de-açúcar: bioenergia, açúcar e álcool - tecnologia e perspectivas**. Viçosa: UFV, 2012. p.24-49.

DROPKIN, V. H.; NELSON, P. E. The histopathology of root-knot nematode infections in soybeans. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 50, p.442-447, 1960.

DUTRA, M. R.; GARCIA, A. L. A.; PAIVA, B. R.T. L.; ROCHA, F. S.; CAMPOS, V. P. Efeito do Silício aplicado na semeadura do feijoeiro no controle de nematoide de galha. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 29, p.172, 2004.

- ÉAUX, B.; TOLEDANO, M. B. Ros as signalling molecules: mechanisms that generate specificity in ROS homeostasis. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, London, v. 8, p. 813- 824, 2007.
- EPSTEIN, E.; BLOOM, A. **Mineral Nutrition of Plants**. Sunderland: Sinauer Associates. 2004.p. 380.
- FARINA, E.; RODRIGUES, L.; SOUSA, E. L. A política de petróleo e a indústria de etanol no Brasil. **Interesse Nacional**, São Paulo, v. 3, p.64-75, 2013.
- FERREIRA, P. A.; FERRAZ, S.; FREITAS, L. G. Sintomas causados por nematoides. Eds. In: ZAMBOLIM, L.; JÚNIOR, W. C.J.; PEREIRA, O.L. (Ed.). **O essencial da fitopatologia, agentes causais**. vol. 1. Visconde do Rio Branco: Suprema Editora, 2012. p. 203-222.
- FERNANDEZ-GARCIA, N.; GARMA, J. G.; OLMOS, E. **ROS as biomarkers in hyperhydricity**. Eds. In: GUPTA, S.D. **Reactive oxygen species and antioxidants in higher plants**. Enfield: Science Publishers, 2010, p. 249-274.
- FERRAZ, S.; FREITAS, L. G.; LOPES, E. A.; DIAS-ARIEIRA, C. R. **Manejo sustentável de fitonematoides**. Viçosa: Editora UFV, 2010, p. 306.
- FOYER, C. H.; NOCTOR, G. Redox Regulation in Photosynthetic Organisms: Signaling, Acclimation, and Practical Implications. **Antioxidants & Redox Signaling**, New York, v. 11, p. 861-905, 2009.
- FRYER, M. J.; BALL, L.; OXBOROUGH, K.; KARPINSKI, S.; MULLINEAUX, P. M.; BAKER, N. R. Control of *Ascorbate Peroxidase 2* expression by hydrogen peroxide and leaf water status during excess light stress reveals a functional organisation of *Arabidopsis* leaves. **Plant Journal**, Germany, v. 33, p.691-705, 2003.
- GASSEN, M.H. **Produção e eficiência de isolados de *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok no controle da cigarrinhadas-raízes da cana-de-açúcar, *Mahanarva fimbriolata* (Stal. 1854) (Hemiptera: Cercopidae)**. 2010. 78p. Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista., Botucatu: UNESP.
- GILL, S. S.; TUTEJA, N. Reactive Oxygen Species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, Paris, v. 48, p.909-930, 2010.

- GOMATHI, R.; RAKKIYAPAN, P. Comparative lipid peroxidation, leaf membrane thermostability, and antioxidant system in four sugarcane genotypes differing in salt tolerance, **International Journal of Plant Physiology and Biochemistry**, Ilhas Vitória, v. 3, p. 67-74, 2011.
- GOMES, V. M.; SOUZA, R. M.; SILVA, M. M.; DOLINSKI, C. Caracterização do Estado Nutricional de Goiabeiras em Declínio Parasitadas por *Meloidogyne mayaguensis*. **Nematologia Brasileira**, Campinas, v. 32, p.154-160, 2008.
- HEFFES, P. T.; COATES-BECKFORD, P. L.; ROBOTHAM, H. Effects of *Meloidogyne incognita* e *Rotylenchulus reniformis* on growth and nutrient content of *Vigna unguiculata* e *Zea mays*. **Nematropica**, Flórida, v. 22, p.139-148, 1992.
- HOLZMUELLER, E. J.; JOSE, S.; JENKINS, M. A. Influence of calcium, potassium, and magnesium on *Cornus florida* L. density and resistance to dogwood anthracnose. **Plant, Soil**, Dordrecht, v. 290, p.189–199, 2007.
- HUBER, D. M.; ARNY, D. C. **Potassium in Agriculture**. Madison: ASA, CSSA, SSA. 1985. p. 467-488.
- HURA, K.; HURA, T.; BĄCZEK-KWINTA, R.; GRZESIAK, M.; PŁĄŻEK, A. Induction of defense mechanisms in seedlings of oilseed winter rape inoculated with *Phoma lingam* (*Leptosphaeriamaculans*). **Phytoparasitica**, Bet Dagan, v. 253, p. 145- 154, 2013.
- HURCHANIK, D.; SCHMITT, D. P.; HUE, N. V. Relationship of *Meloidogyne konaensis* population densities to nutritional status of coffee roots and leaves. **Nematropica**, Flórida, v. 33, p.55-64, 2003.
- HURCHANIK, D.; SCHMITT, D. P.; HUE, N. V.; SIPES, B. S. Plant nutrient partitioning in coffee infected with *Meloidogyne konaensis*. **Journal Nematology**, Saint Paul, v. 36, p.76-84, 2004.
- HUSSEY, R. S. **Host-parasite relationships and associated physiological changes**. Eds. In: SASSER, J. N.; CARTER, C. C. **An advanced treatise on *Meloidogyne*: biology and control**. Raleigh: North Carolina State University, 1985, p.143-153.
- INZÉ, D.; MONTAGU, M. V. Oxidative stress in plants. **Current Opinion in Biotechnology**, London, v. 6, p. 153-158, 1995.

JINDICHOVÁ, B.; FODOR J.; SINDELÁROVÁ, M.; BURKETOVÁ, L.; VALENTOVÁ, O. Role of hydrogen peroxide and antioxidant enzymes in the interaction between a hemibiotrophic fungal pathogen, *Leptosphaeria maculans*, and oilseed rape. **Environmental and Experimental Botany**, Oxford, v. 72, p.149 -156, 2011.

KIM, Y. H.; KWAK, S. S. **The role of antioxidant enzymes during leaf development**. Eds. In: GUPTA, S. D. **Reactive oxygen species and antioxidants in higher plants**. Enfield: Science Publishers, 2010, p. 129-150.

LEE, D.; LEE, C. B. Chilling stress-induced changes of antioxidant enzymes in the leaves of cucumber: in gel enzyme activity assays. **Plant Science**, Shannon, v. 159, p. 75-85, 2000.

LEROI, A. M.; JONES, J. T. **Developmental biology**. In: PERRY, R. N. WRIGHT, D. J. **The physiology and biochemistry of freeliving and plant-parasitic nematodes**. Wallingford: CAB International, 1998. p.55- 180.

LINCOLN, T; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. Artmed, Porto Alegre, 4.ed. 2009, 848p.

MACEDO, N.; MACEDO, D.; CAMPOS, M. B. S.; NOVARETTI, W. R. T.; FERRAZ, L. C. C. **Manejo de Pragas e Nematoides**. Eds. In: SANTOS, F.; BORÉM, A.; CALDAS, C. **Cana-de-açúcar: bioenergia, açúcar e etanol: tecnologia e perspectivas**, Viçosa, 2011. p. 119-160.

MAQBOOL, M. A.; HASHMIN, S. Effect of granular nematicides on nematode populations and sugarcane yield. **Revue de Nématologie**, Paris, v. 10, p. 111-113, 1987.

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. London: Academic Press. 1997. p. 889.

MACDONALD, D. **Some interaction of plant-parasitic nematodes and higher plants**. Eds. In: KRUPA, S. V.; DOMERGUES, Y.R. **Ecology of root pathogens**, Amsterdam. 1979, p. 157-178.

MENEZES, B.; TEIXEIRA, F. K.; KAMEI, C. L.; MARGIS-PINHEIRO, M. Salt stress induces expression of genes encoding antioxidant enzymes in seedlings of a Brazilian indica rice (*Oryza sativa* L.). **Plant Science**, Limerick, v.166, p.323-331, 2004.

- MENGEL, K. **Principles of Plant Nutrition**. 5th eds. Kluwer Academic Publishers; Dordrecht, the Netherlands: 2001. p. 481–509.
- MITTLER, R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. **Trends in Plant in Science**, Oxford, v. 9, p. 405-410, 2002.
- MOHAMED, M. M.; YOUSSEF, M. M. A. Efficacy of calcium carbide for managing *Meloidogyne incognita* infesting squash in Egypt. Int. **Journal Nematology**, Saint Paul, v.19, p.229-231, 2009.
- MOLLER, I. M.; SWEETLOVE, L. J. ROS signaling specificity is required. **Trends in Plant Science**, London, v. 15, p. 370-374, 2010.
- MORAES, M. A.F. D.; OLIVEIRA, F. C. R.; DIAZ-CHAVEZ, R. A. Socio-economic impacts of Brazilian sugarcane industry. **Environmental Development**, London, v. 16. p.16:31–43, 2015.
- MOZAMBANI, A.E.; PINTO, A.S.; SEGATO, S.V.; MATTIUZ, C.F.M. **História e morfologia da cana-de-açúcar**. Eds. In: SEGATO, S. V.; PINTO, A. S.; JENDIROBA, E.; NÓBREGA, J. C. M. **Atualização em produção de cana-de-açúcar**. Piracicaba: ESALQ, 2006. P.11-18.
- NGUYEN, G. N.; HAILSTONES, D. L.; WILKES, M.; SUTTON, B. G. Drought induced oxidative conditions in rice anthers leading to a programmed cell death and pollen abortion. **Journal of Agronomy e Crop Science**, Madison, v. 195, p.157-164,2009.
- NOVARETTI, W. R. T.; NUNES JUNIOR, D.; NELLI, E. J. Comportamento de clones e variedades comerciais em relação aos nematoides *Meloidogyne javanica*. Experimento V. In: REUNIÃO BRASILEIRA DE NEMATOLOGIA, 1981, Londrina. **Resumos**, 1981, p. 27.
- OKA, Y.; TKACHI, N.; MOR.; M. Phosphite inhibits development of the nematode *Heterodera avenae* and *Meloidogyne marylandi* in cereals. **Nematology**, Saint Paul, v.97, p.396-404, 2007.
- OLIVEIRA, R. M., RIBEIRO, R. C. F., XAVIER, A. A., PIMENTA, L., KORNDORFER, G. H. Efeito do silicato de cálcio e magnésio sobre a reprodução de *Meloidogyne javanica* e desenvolvimento de mudas de bananeira prata-anã. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal - SP, v. 34, p. 409-415, 2012.

- OCTAVIANO, C. Mudança de petróleo para biomassa impulsiona a química verde. **Revista Eletrônica de Jornalismo Científico**, Campinas, v. 9, p.63-75, 2011.
- PANDA, S. K.; CHOUDHURY, S. Chromium stress in plants. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Campinas, v. 6, p. 95-102, 2005.
- PEIXOTO, P. H. P.; CAMBRAIA, J.; SANT'ANNA, R.; MOSQUIM, P. R.; MOREIRA, M. A. Aluminum effects on lipid peroxidation and activities of enzymes of oxidative metabolism in sorghum. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Brasília, v. 11, p. 137-143, 1999.
- PERRENOUD, S. **Potassium and Plant Health**, 2nd eds.; International Potash Institute: Bern, Switzerland, 1990; p. 8–10.
- PETTIGREW, W.; T.; MEREDITH JR, W.R.; YOUNG, L. D. Potassium fertilization effects on cotton lint yield, yield components, and reniform nematode populations. **Agronomy Journal**. Madison, v. 97, p.1245-1251, 2005.
- PINHEIRO, J. B.; POZZA, E. A.; POZZA, A. A. A.; MOREIRA, A. S.; CAMPOS, V. P. Estudo da influência do potássio e do cálcio na reprodução do nematoide do cisto da soja. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 33, p.17-27, 2009.
- QUIMETTE, D. G.; COFFEY, M. D. Symplastic entry and phloem translocation of phosphonate. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, Massachusetts, v. 38, p.18-25,1990.
- REZENDE, B.L.A.; CANATO, G.H.D.; CECÍLIO FILHO, A.B. Productivity of lettuce and radish cultivations as a function of spacing and of time of establishment of intercropping cultivation. **Acta Horticulturae**, Leuven, v. 607, p. 97-101, 2003.
- RESENDE, M. L. V.; SALGADO, S. M. L.; CHAVES, Z. M. Espécies reativas de oxigênio na resposta de defesa das plantas a patógenos. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 28, p.123-130, 2003.
- ROCHA, M. R.; CARVALHO, I.; CORRÊA G. C.; CATTINI G. P.; PAOLINI, G. Efeito de doses crescentes de calcário sobre a população de *Heterodera glycines* em soja. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Brasília, v. 36, p. 89-94, 2006.
- ROSSI, C. E.; LIMA, C. B. Controle alternativo de nematoides em cultura orgânica de cana-de-açúcar. **Revista Brasileira de Agroecologia**, Porto Alegre, v. 2, p. 1-4, 2007.

- SRIVASTAVA S.; PATHAK, A. D.; GUPTA, P. S.; SHRIVASTAVA, A. K.;  
SRIVASTAVA, A. K. Hydrogen peroxide-scavenging enzymes impart tolerance to high temperature induced oxidative stress in sugarcane. **Journal of Environmental Biology**. Vikasnagar, v. 33, p.657-661, 2012.
- SALGADO, S. M. L.; RESENDE, M. L.V.; CAMPOS, V. P.Efeito de indutores de resistência sobre *Meloidogyne exigua* do cafeeiro. **Ciência Agrotecnológica**, Lavras, v. 31, p.1007-1013, 2007.
- SANTANA-GOMES, S. M.; DIAS-ARIEIRA, C. L.; ROLDI, M.; DADAZIO, T. S.; MARINI, P. M.; BARIZÃO, D. A. O. Mineral nutrition in the control of nematodes. **African Journal of Agricultural**, Nairobi, v. 8, p. 2413-2420, 2013.
- SANTOS, J. M. **Efeitos de fertilizantes sobre *Meloidogyne exigua* e influência de seu parasitismo sobre a absorção e translocação de nutrientes em mudas de *Coffea arabica* L.** 1978. 73f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia), Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.
- SEGATO, S. V.; MATTIUZ, C. F. M.; MOZAMBANI, A. E. **Aspectos fenológicos da cana-de-açúcar**. In: SEGATO, S. V.; PINTO, A. S.; JENDIROBA, E.; NÓBREGA, J. C. M. **Atualização em produção de cana-de-açúcar**. Piracicaba: cap. 2, 2006. 415p.
- SIRINGAM, K.; JUNTAWONG, N.; CHA-UM, S.; KIRDMANEE, C. Salt stress induced ion accumulation, ion homeostasis, membrane injury and sugar contents in salt-sensitive rice (*Oryza sativa* L. spp. indica) roots under isoosmotic conditions. **African Journal of Biotechnology**, Abraka, v.10, p.1340-134, 2011.
- SOARES, A. M. S.; MACHADO, O. L. T. Defesa de plantas: Sinalização química e espécies reativas de oxigênio. **Ciências Agrárias e Biológicas**, Chapadinha, v. 1, p. 9-19, 2007.
- SHIGEOKA, S.; ISHIKAWA T.; TAMOI, M.; MIYAGAWA, Y.; TAKEDA, T.; YABUTA, Y.; YOSHIMURA, K. Regulation and function of *ascorbate peroxidase* isoenzymes. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 53, p.1305-1319, 2002.

- ŚLESIAK, I.; LIBIK, M.; KARPINSKA, B.; KARPINSKI, S.; MISZALSKI, Z. The role of hydrogen peroxide in regulation of plant metabolism and cellular signalling in response to environmental stresses. **Acta Biochimica**, Polonica, v.54, p39-50, 2007.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. 954p.
- TEIXEIRA, F.K.; MENEZES-BENAVENTE, L.; GALVÃO, V.C.; MARGIS, R.; MARGIS-PINHEIRO, M. Rice ascorbate peroxidase gene family encodes functionally diverse isoforms localized in different subcellular compartments. **Planta**. Berlin, v. 224, p.300–314, 2006.
- TIHOHOD, D. **Nematologia agrícola aplicada**. Jaboticabal: FUNEP, 372 p. 2000.
- TORRES, M. A.; DANGL, J. L. Functions of the respiratory burst oxidase in biotic interactions, abiotic stress and development. **Current Opinion in Plant Biology**, London, v. 8, p. 397–403, 2005.
- VIDAL, R. A.; TREZZI, M. M. **Teoria e prática do manejo de infestantes na cultura da cana-de-açúcar no Brasil**. Porto Alegre: Ribas. Vidal, 2011, 136 p.
- WANG, E. L. H.; BERGESON, G. B. Biochemical changes in root exsudate and xylem sap of tomato plants infected with *Meloidogyne incognita*. **Journal Nematology**, Saint Paul, v. 6, p.194-202, 1974.
- WANG, M.; ZHENG, Q.; SHEN, Q.; GUO, S. The Critical Role of Potassium in Plant Stress Response. **International Journal of Molecular Sciences**. Basel, v. 14, p.7370-7390, 2013.
- WATT, D.A., MCCORMICK, A.J.; CRAMER, M.D. **Source and Sink Physiology**. In MOORE P. H.; BOTHA, F.C. **Sugarcane: Physiology, Biochemistry and Functional Biology**. Oxford: Willey Blackwell, p.483-520, 2014
- ZAMBOLIM, L.; COSTA, H.; VALE, F. X. R. **Efeito da nutrição mineral sobre doenças de plantas causadas por patógenos de solo**. In: ZAMBOLIM, L. **Manejo integrado fitossanidade: cultivo protegido, pivô central e plantio direto**. Viçosa: Editora UFV. 2001. p. 347-408.
- ZAMBOLIM, L.; RODRIGUES, F. A.; CAPUCHO, A. S. Resistência a doenças de plantas induzida pela nutrição mineral. Eds. In: VENZON, M.; JÚNIOR, T. J. P.; PALLINI, A. **Controle alternativo de pragas e doenças**. Viçosa: EPAMIG. 2005. p. 185-219.

ZAMBOLIM, L.; VENTURA, J. A. Mecanismos gerais de atuação dos nutrientes sobre a severidade de doenças de plantas. Eds. In: ZAMBOLIM, L.; VENTURA, J. A.; JUNIOR, L. A. Z. **Efeito da nutrição mineral no controle de doenças de plantas**. Viçosa, 2012, p25-45.

## **CAPÍTULO II**

---

### **Seasonal variation of plant-parasitic nematodes and relationship with nutritional and growth properties of sugarcane plantations**

## **Seasonal variation of plant-parasitic nematodes and relationship with nutritional and growth properties of sugarcane plantations**

Luana Maria Alves da Silva<sup>1</sup>, Elvira Maria Regis Pedrosa<sup>1</sup>, Thais Fernanda da Silva Vicente<sup>2</sup>,  
Mércia Soares de Oliveira Cardoso<sup>2</sup>, Douglas Barbosa Castro<sup>1</sup>, Mario Monteiro Rolim<sup>2</sup>

1. Departamento de Fitossanidade, Universidade Federal Rural de Pernambuco, 52171-900  
Recife, PE, Brazil

2. Departamento de Engenharia Agrícola, Universidade Federal Rural de Pernambuco, 52171-  
900 Recife, PE, Brazil

Autora para correspondência - Elvira Maria Regis Pedrosa: [elvira.pedrosa@ufrpe.br](mailto:elvira.pedrosa@ufrpe.br)

### ***Abstract***

The damage caused by *Meloidogyne* and *Pratylenchus* nematodes is included among the factors that limit growth and sustainability of sugarcane production. The objective of this study was to assess the seasonal changes and relationships between plant-parasitic nematode communities and plant variables (leaf chemical analysis and growth parameters) in sugarcane plantations in Pernambuco State, Brazil. Samples were collected at six, nine, and 12 months after planting in two sugarcane fields (plant cane and ratoon cane). *Meloidogyne* and *Pratylenchus* populations were extracted from sugarcane roots, counted and identified.

Vegetative parameters that determine sugarcane growth pattern included stalk height, stalk diameter, and number of stalks and tillers. Leaf tissue was analyzed for potassium, phosphorus, calcium and magnesium contents. *Meloidogyne* and *Pratylenchus* abundance, plant nutrients and growth parameters in sugarcane plantations responded differently to

environmental variation (i.e., temporal and sugarcane growth stage). *Pratylenchus* abundance decreased with the increase of leaf phosphorus content.

Contrariwise, increases in potassium concentration resulted in high abundance of *Meloidogyne*. A positive association between the abundance of nematodes and sugarcane growth parameters suggest that the varieties planted in both study areas may present tolerance to *Meloidogyne* and *Pratylenchus*.

**Keywords** Management, plant nutrition, RDA

Sugarcane (*Saccharum* L.) plays a significant economic and societal impact for Brazil (Moraes et al. 2015). For many years sugarcane crops have been grown in the tropics and subtropics for production of raw sugar and other traditional sugar-based products. More recently, it has also been used for sugar, ethanol and electricity production (Dias et al. 2014). Sugarcane production is important for global trade of agricultural commodities and its increasing demand is associated with the increasing consumption of sucrose globally. There is a need to continually improve sugarcane yield while reducing production costs and environmental impacts (Manners 2011).

Among the factors affecting growth and sustainability of sugarcane production, plant-parasitic nematodes are important pathogens affecting crop yield (Cadet and Spaull 2003; Moura and Oliveira 2009). Reductions in sugarcane vigor in fields infested with the plant-parasitic nematodes result from changes in the root system (thickening) from feeding, and deleterious effects on absorption and transport of water and nutrients (interference in the plant physiology) (Cadet and Spaull 2005; Ferraz et al. 2010; Taiz and Zeiger 2013).

Previous studies have shown that the application of macronutrients in sugarcane fields decreases the damages caused by *Meloidogyne*, thus allowing normal development of the plant (Asano and Moura 1995). However, studies on the influence of mineral nutrition on diseases caused by nematodes are scarce (Santana-Gomes et al. 2013). Thus, additional

studies are required to elucidate the associations between levels of nutrients on the host plant and the damage caused by plant-parasitic nematodes. The objectives of this study were: (i) to measure changes in plant-parasitic nematode communities and plant parameters in sugarcane plantations over the season; and (ii) to assess the relationship between plant-parasitic nematode communities and plant physiology parameters.

The study was conducted in 2014 at two sugarcane plantations located in Camutanga Municipality, Pernambuco State, Brazil (Table 1; Fig. 1). Root and leaf samples were collected systematically on a regular grid ( $6.0 \times 6.0$  m) that included three sugarcane rows separated by 10-m intervals. Vegetative growth parameters were co-located. Sampling times were six (T1), nine (T2), and 12 (T3) months after planting. For each sampling date and study site, 36 samples were collected. The plant-parasitic nematodes were extracted from sugarcane roots by the sucrose centrifugation method (Coolen and D'Herde 1972). *Meloidogyne* and *Pratylenchus* genera were counted and identified at  $\times 40$  magnifications (Mai et al. 1996). Vegetative growth parameters evaluated included stalk height, stalk diameter, number of stalks and tillers. At each sampling point, three sugarcane leaves (+3) were collected at random for chemical analysis (Malavolta 1992). Leaf tissue was analyzed for potassium, phosphorus, calcium and magnesium contents. Leaf samples were dried at  $65^\circ\text{C}$  for 72 h with forced-air oven and milled in a Wiley-type mill, and its nutrients extracted by nitroperchloric digestion (Nitric acid (65%) and perchloric acid (70%), ratio 2:1). Data was transformed prior to conducting parametric Anova. The relationships between nematode population densities and plant parameters were examined based on redundancy analysis (RDA) using the vegan package in R version 3.2.3 (R Core Team 2016). A permutation test was performed after RDA, in which the rows of the unconstrained matrix are randomized repeatedly across 999 permutations. If the observed relationship is stronger than the randomly permuted relationships (e.g. at  $\alpha = 0.05$ ), then the relationship between plant-parasitic nematodes and plant parameters is significant. Plant parameters were subject to the forward selection

(Blanchet et al. 2008) to select the variables from the RDA that explained most of the variation in plant-parasitic nematodes presence and abundance.

In Area 1 (plant cane), *Meloidogyne* and *Pratylenchus* were the most abundant in T3 ( $P < 0.05$ ; Table 2). Calcium and potassium increased over time; but in contrast, the content of magnesium and phosphorus decreased ( $P < 0.05$ ). Sugarcane height and the number of stalks increased significantly over time whereas stalk diameter did not differ significantly and the number of tillers was highest in T3 ( $P < 0.05$ ). In Area 2 (ratoon cane), the population of *Meloidogyne* did not differ significantly over time whereas *Pratylenchus* population decreased over time ( $P < 0.05$ ; Table 2). Calcium content also decreased over time. However, in contrast, potassium content increased over time. Magnesium and phosphorus content did not differ significantly ( $P < 0.05$ ). Stalk height and number of stalks increased significantly over time whereas the number of tillers decreased significantly in T2 ( $P < 0.05$ ).

Redundancy analysis (RDA) constrained 20% of the plant-parasitic nematodes abundance in relation to the explanatory variables (Fig. 2). The eigenvalues were 0.275 and 0.031 for the first canonical axis and second canonical axis, respectively. The first axis explained 48% of the variation and the second axis explained 31.9% of the variation. RDA indicated the increase in abundance of *Meloidogyne* was associated with higher potassium content. *Pratylenchus* was associated with lower phosphorus contents and larger stalk diameter. A permutation test was performed after RDA, in which an overall test of significance showed that the canonical relationship between matrices plant-parasitic nematodes and plant parameters is significant ( $P = 0.001$ ).

Results showed significant differences over time in the abundance of plant-parasitic nematodes and plant parameters. These differences were associated with both the sugarcane growth stage (Table 2) and the distribution of rainfall (Fig. 1) during the course of the study. Moreover, seasonality can affect plant-parasitic nematodes in agricultural areas due to changes in nutritional status of the host plant, cultural practices, and environmental factors

such as soil water content and air temperature (Wang and McSorley 2005). In the northeast region of Brazil, plant-parasitic nematodes abundance was lower in ratoon cane than in plant cane (Chaves et al. 2003). This may be due to initial population increases after planting (Oliveira et al. 2008). Similarly, harvest of ratoon cane may also influenced the plant-parasitic nematodes populations.

In plant cane, the adverse effects of nematode parasitism are reflected in subsequent ratoon. Thus, the adoption of specific management to reduce the abundance of plant-parasitic nematodes before the establishment of a new sugarcane plantation is essential for disease management (Macedo et al. 2011). However, the control of plant-parasitic nematodes is highly complex because eradication is not feasible. Thus, a preventive management must be taken to avoid the introduction of pathogens in areas where they are absent, as well as an adequate supply of nutrients, since the application of fertilizers may partially compensate for damage induced by plant-parasitic nematodes, stimulating plant growth (Ferraz et al. 2010).

We also found that in Area 1 (plant cane), calcium and potassium increased over time whereas magnesium and phosphorus content decreased. This result demonstrated the differential influence of each nutrient on plant-parasitic nematodes because a specific nutrient can have different effects on plant disease (Zambolim and Ventura 2012). However, some nutrients can compete with each other in absorption by the plant, such as potassium, in which when in excess can compete with calcium and magnesium absorption (Zambolim and Ventura 2012). In contrast, in Area 2 (ratoon cane), calcium decreased over time, while potassium increased whereas magnesium and phosphorus content did not differ. These results may have been influenced by ratoon cane management, which is characterized for frequent harvest and, consequently influences the exportation of nutrients, which are necessary to be replenished to support growth in the subsequent crop cycles (Prado et al. 2002).

In Area 1 (plant cane) stalk height and number of stalks increased significantly over time whereas stalk diameter did not differ significantly and the number of tillers was highest

at the final sampling time. In contrast, in Area 2 (ratoon cane), stalk height and number of stalks increased significantly over time. In plant cane, the growth parameters increased even when plant-parasitic nematode population increased. This may be indicative of some tolerance to these nematodes as plant age increases. Moreover, climate conditions such as rainfall during the crop cycle were favorable to crop development (Fig. 1).

These findings demonstrated that high populations of *Meloidogyne* and *Pratylenchus* spp. may not be associated with reduced yield parameters (Dias-Arieira et al. 2010). Previous studies have shown that sugarcane varieties RB863129 and RB867515 are tolerant to *M. incógnita* (Silva et al. 2012).

There was a positive association between *Meloidogyne* population densities and potassium. The effects of potassium on disease incidence and/or damage can be influenced by the quantity and source of this nutrient (Zambolim and Ventura, 2012), specific pathogens (Wang et al. 2013), availability in the soil (Pinheiro et al. 2008), the interaction with other nutrients (Prabhu et al. 2007), the environmental conditions (Pinheiro et al. 2011) and the susceptibility of the plant (Huber and Thompson 2007). Hence, it should not always be associated with the reduction in the intensity of plant diseases (Pinheiro et al. 2011). Alternatively, potassium can increase the yield of plants affected by plant-parasitic nematodes (Perrenoud 1990), reducing competition for nutritional resources (Holzmueller et al. 2007). This nutritional status allows plants to allocate more resources in the development of stronger cell walls to prevent infection by the pathogen and for more nutrients to be used in defense and damage repair (Mengel 2001).

*Pratylenchus* populations were associated with low phosphorus contents. This nutrient is essential for plant growth, and it can protect the plant of diseases caused by plant-parasitic nematodes (Ferraz et al. 2010). Plants with high phosphorus content release fewer exudates by roots; thus, they are less attractive to plant-parasitic nematodes (Marschner

1997). Moreover, plants with high phosphorus content may become more resistant (Zambolim et al. 2005), as a result of an increase in protein synthesis, cell activity and production of peroxidase and polyphenol (Wang and Bergeson 1974).

Although there was an association between plant-parasitic nematodes population densities and plant parameters, there were several other mechanisms and processes that may be associated with patterns of species distribution due to complex parasitism, as well as the attraction of plant-parasitic nematodes by the plant to the roots (Karssen and Moens 2006).

In summary, *Meloidogyne* and *Pratylenchus* abundance, plant nutrients and growth parameters in sugarcane plantations respond differently to environmental variation. Reduced *Pratylenchus* levels may be associated with high phosphorus content indicating this nutrient may be essential to sugarcane against this nematode; while an increase in potassium concentration potentially was associated with a positive effect on the abundance of *Meloidogyne*. Further research is needed to validate these hypotheses. In general, the populations of *Meloidogyne* and *Pratylenchus* were positively associated with sugarcane growth parameters suggesting that the varieties planted in both areas may be tolerant to these nematodes.

### ***Acknowledgements***

We thank National Council for Scientific and Technological Development – CNPq (Process 140939/2013-0) for financial support for this research.

### ***References***

- Asano S, Moura RM (1995) Efeitos dos macro e micronutrientes na severidade da meloidoginose da cana-de-açúcar. *Nematologia Brasileira* 19:15-20.
- Blanchet FG, Legendre P, Borcard D (2008) Forward selection of explanatory variables. *Ecology* 89:2623-2632.

- Cadet P, Spaul V (2003) Effect of nematodes on the sustained production of sugarcane in South Africa. *Field Crops Research* 83:91-100.
- Cadet P, Spaul V (2005) Nematode parasites of sugarcane. In: Luc M, Sikora RA, Bridge J (Eds.) *Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture*. Egham, UK. CAB International. pp. 645–674.
- Chaves A, Pedrosa EMR, Moura RM (2003) Efeito de terbufós em soqueira sobre fitonematoides ectoparasitas de cana-de-açúcar. *Fitopatologia Brasileira* 28:195-198.
- Dias-Arieira CR, Cunha TPL, Chiamolera FM, Puerari HH, Biela F, Santana SM (2010) Reaction of vegetables and aromatic plants to *Meloidogyne javanica* and *M. incognita*. *Horticultura Brasileira* 30:322-326.
- Dias MOS, Cavalett O, Maciel R, Bonomi A (2014) Integrated first and second generation ethanol production from sugarcane. *Chemical Engineering Transactions* 37:445-450.
- Ferraz S, Freitas LG, Lopes EA, Dias-Arieira CR (2010) *Manejo sustentável de fitonematoides*. 1th Ed. Viçosa, MG. Editora UFV.
- Holzmueller EJ, Jose S, Jenkins MA (2007) Influence of calcium, potassium, and magnesium on *Cornus florida* L. density and resistance to dogwood anthracnose. *Plant Soil* 290:189–199.
- Huber DM, Thompson IA (2007) Nitrogen and plant disease. In: Datnoff LE, Elmer WH, Huber DM (Eds.) *Mineral nutrition and plant disease*. Saint Paul, MN. APS Press. pp. 31-44.
- Karssen G, Moens M (2006) Root-knot nematodes. In: Perry RN, Moens M. *Plant nematology*. Wallingford, UK. CAB Internacional. pp. 59-90
- Macedo N, Macedo D, Campos MBS, Novaretti WRT, Ferraz LCC (2011) Manejo de Pragas e Nematoides. In: Santos F, Borém A, Caldas C. (Eds.) *Cana-de-açúcar: bioenergia, açúcar e etanol: tecnologia e perspectivas*. Viçosa, MG. Editora UFV. pp. 119-160.
- Mai WF, Mullin PG, Lyon HH, Loeffle K (1997) *Plant-parasitic nematodes: a pictorial key to genera*. 5th Ed. Ithaca, NY. Cornell University Press.

- Malavolta E (1992) ABC da análise de solos e folhas. São Paulo, SP. Editora Agronômica Ceres.
- Manners JM (2011) Functional genomics of sugarcane. In: Kader JC, Delseny M (Eds.) Advances in Botanical Research. New York, NY. Academic Press. pp. 89-168.
- Marschner H (1997) Mineral nutrition of higher plants. London, UK. Academic Press.
- Mengel K (2001) Principles of Plant Nutrition. 5th Ed. Dordrecht, The Netherlands. Kluwer Academic Publishers.
- Moraes MAFD, Oliveira FCR, Diaz-Chavez RA (2015) Socio-economic impacts of Brazilian sugarcane industry. Environmental Development 16:31–43.
- Moura RM, Oliveira IS (2009) Controle populacional de *Pratylenchus zaeae* em cana-de-açúcar em dois ambientes edáficos no nordeste do Brasil. Nematologia Brasileira 33:67-73.
- Oliveira ES, Rocha MR, Teixeira RA, Faleiro VO, Soares RAB (2008) Efeito de sistemas de cultivo no manejo de populações de *Pratylenchus* spp. na cultura da cana-de-açúcar. Nematologia Brasileira 32:117-125.
- Perrenoud S (1990) Potassium and Plant Health. 2th Ed. Bern, Switzerland. International Potash Institute.
- Pinheiro JB, Pozza EA, Pozza AAA, Moreira AS, Campos VP (2008) Influência da nutrição mineral na distribuição espacial do nematoide de cisto da soja. Nematologia Brasileira 32:270-278.
- Pinheiro JB, Pozza EA, Pozza AAA, Moreira AS, Alves MC (2011) Severidade da ferrugem da soja em função do suprimento de potássio e cálcio em solução nutritiva. Revista Ceres 58:43-50.
- Prabhu AS, Fageria NK, Huber DM, Rodrigues FA (2007) Potassium and Plant Disease. In: Datnoff LE, Wade H, Huber DM (Eds.) Mineral Nutrition and Plant Disease. Saint Paul, Minn. American Phytopathological Society. pp. 57-78.

Prado RM, Coutinho ELM, Roque CG, Villar MLP (2002) Avaliação da escória de siderurgia e de calcários como corretivos da acidez do solo no cultivo da alface. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 37:539-546.

R Core Team (2016) R: a language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, URL <http://www.R-project.org/>

Santana-Gomes SM, Dias-Arieira CL, Roldi M, Dadazio TS, Marini PM, Barizão DAO (2013) Mineral nutrition in the control of nematodes. *African Journal of Agricultural* 8:2413-2420.

Silva AP, Pedrosa EMR, Chaves A, Maranhão SRVL, Guimarães LMP, Rolim MM (2012) Reação de variedades de cana-de-açúcar ao parasitismo de *Meloidogyne incognita* e *M. enterolobii*. *Revista Brasileira de Ciências Agrárias* 7:814-819.

Taiz L, Zeiger E (2013) *Fisiologia vegetal*. 5th Ed. Porto Alegre, RS. Artmed.

Wang ELH, Bergeson GB (1974) Biochemical changes in root exsudate and xylem sap of tomato plants infected with *Meloidogyne incognita*. *Journal of Nematology*. 6:194-202.

Wang KH, McSorley R (2005) Effects of soil ecosystem management on nematode pests, nutrient cycling, and plant health. Online. APSnet Features. doi: 10.1094/APSnetFeatures/2005-0105.

Wang M, Zheng Q, Shen Q, Guo S (2013) The critical role of potassium in plant stress response. *International Journal of Molecular Sciences* 14:7370-7390.

Zambolim L, Rodrigues FA, Capucho AS (2005) Resistência a doenças de plantas induzida pela nutrição mineral. In: Venzon M, Júnior TJP, Pallini A (Eds.) *Controle alternativo de pragas e doenças*. Viçosa, MG. EPAMIG. pp. 185-219.

Zambolim L, Ventura JA (2012) Mecanismo de ação do cálcio na interação com doenças de plantas. In: Zambolim L, Ventura JA, Junior LAZ (Eds.) *Efeito da nutrição mineral no controle de doenças de plantas*. Viçosa, MG. Editora UFV. pp. 135-164.

Table 1. Metadata associated with two sugarcane study areas in Pernambuco State, Brazil

Label	Area 1	Area 2
Coordinates	25°71'00"S; 91°85'24"W	26°70'54"S; 91°95'12"W
Variety	RB86-7515	RB86-3129
Growth stage	plant cane	ratoon cane
Soil type	red-yellow Ultisol	yellow Ultisol
Sand(%)	68	83
Clay(%)	21	16
Silt(%)	11	1

Table 2. Nematode population and sugarcane leaf chemical analysis and vegetative growth variables measured at 3, 6 and 9 months after planting (MAP) at two plantations conducted under different tillage

Parameters	Area 1			Area 2		
	Mean $\pm$ SD			Mean $\pm$ SD		
	T1	T2	T3	T1	T2	T3
PPNs (indiv. 50g <sup>-1</sup> fresh roots)						
<i>Meloidogyne</i>	81.23 $\pm$ 85.45b	43.77 $\pm$ 50.81b	101.84 $\pm$ 550.65a	59.40 $\pm$ 115.66a	51.27 $\pm$ 42.28a	58.54 $\pm$ 203.52a
<i>Pratylenchus</i>	29.86 $\pm$ 40.55b	0.00 $\pm$ 0.49b	162.90 $\pm$ 1327.53a	30.90 $\pm$ 38.95a	17.65 $\pm$ 29.94a	0.00 $\pm$ 32.12b
Leaf tissue chemical						
Calcium	0.12 $\pm$ 0.07b	0.08 $\pm$ 0.18b	0.27 $\pm$ 0.06a	0.60 $\pm$ 0.14a	0.48 $\pm$ 0.14b	0.43 $\pm$ 0.10b
Magnesium	2.34 $\pm$ 2.93a	1.41 $\pm$ 0.24b	1.55 $\pm$ 1.67ba	1.13 $\pm$ 0.46a	1.04 $\pm$ 1.06a	0.85 $\pm$ 0.25a
Phosphorus	2.48 $\pm$ 1.18a	2.14 $\pm$ 1.72a	1.35 $\pm$ 1.17b	4.37 $\pm$ 1.46a	3.42 $\pm$ 5.65a	4.88 $\pm$ 1.60a
Potassium	6.51 $\pm$ 0.56c	8.06 $\pm$ 1.30b	9.29 $\pm$ 1.20a	3.31 $\pm$ 0.33c	3.92 $\pm$ 0.49b	4.04 $\pm$ 0.33a
Sugarcane growth						
Stalk height	34.50 $\pm$ 8.03c	63.16 $\pm$ 11.20b	163.50 $\pm$ 19.09a	76.33 $\pm$ 17.30b	98.66 $\pm$ 17.70a	102.33 $\pm$ 16.66a
Stalk diameter	2.53 $\pm$ 0.23a	2.55 $\pm$ 0.18a	2.53 $\pm$ 3.30a	2.30 $\pm$ 0.18b	2.35 $\pm$ 0.19a	2.12 $\pm$ 0.23c
Number of tillers	3.66 $\pm$ 1.16b	0.66 $\pm$ 0.46c	5.16 $\pm$ 1.80a	2.33 $\pm$ 1.06a	1.33 $\pm$ 0.57b	2.16 $\pm$ 1.06a
Number of stalks	6.00 $\pm$ 0.97c	11.33 $\pm$ 1.29b	18.00 $\pm$ 2.14a	9.66 $\pm$ 1.56c	11.66 $\pm$ 1.62b	16.00 $\pm$ 1.32a

*PPNs* plant-parasitic nematodes; *Area 1* plant cane; *Area 2* ratoon cane; *SD* standard deviation; *T1* 6 months after planting; *T2* 9 months after planting; *T3* 12 months after planting; Means in a row followed by the same letter are not significantly different according to a Tukey test ( $P < 0.05$ ).

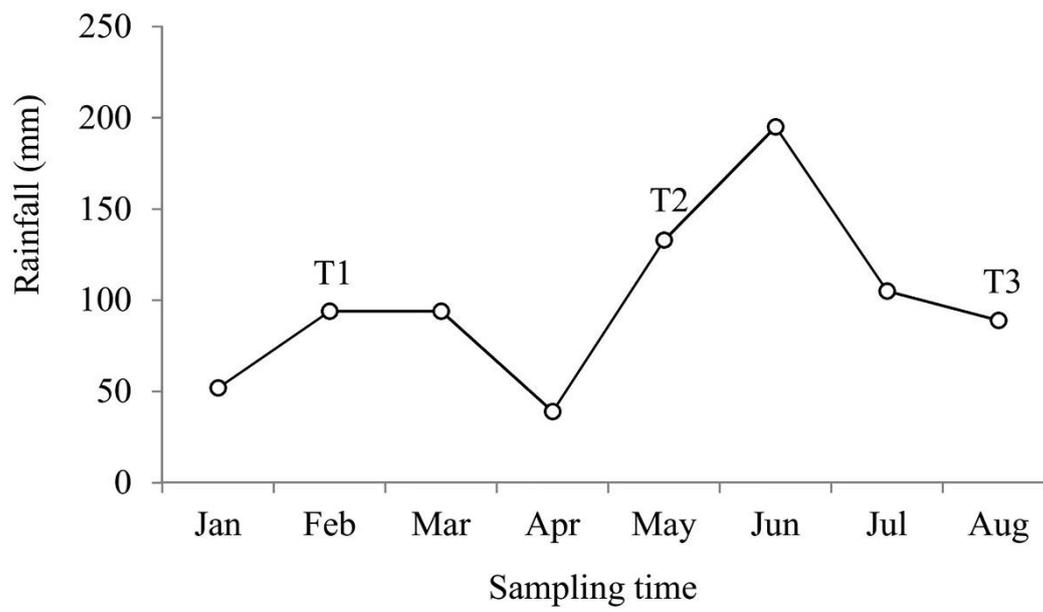


Figure 1. Rainfall at different sampling dates (January to August 2014) in two sugarcane plantations of Pernambuco State, Brazil. T1=6 months after planting; T2 = 9 months after planting; T3 = 12 months after planting

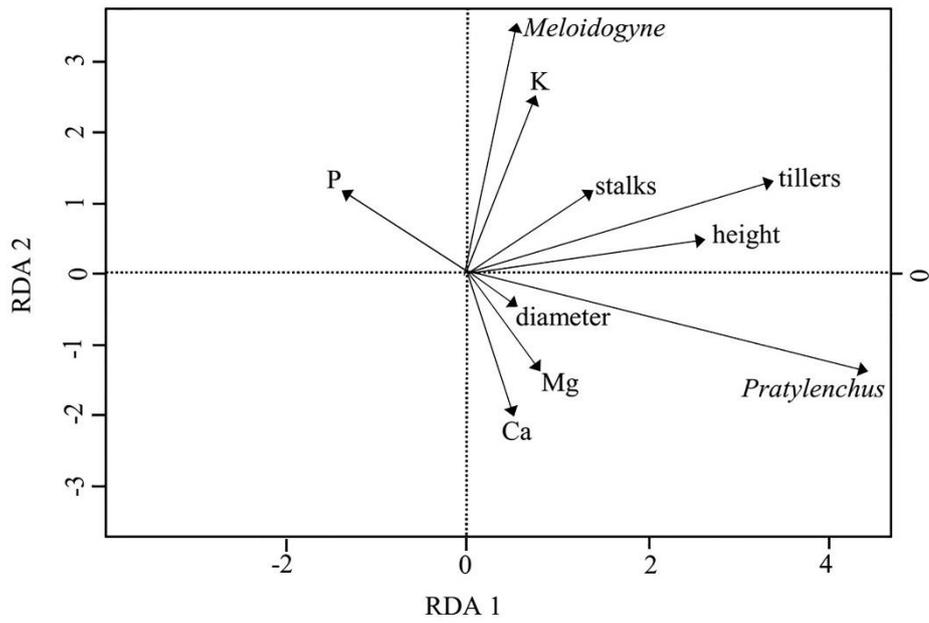


Figure 2. Redundancy analysis ordination biplot for *Meloidogyne* and *Pratylenchus* abundance and plant parameters. Ca = calcium; Mg = magnesium; P = phosphorus; K = potassium

## CAPÍTULO III

---

### **Antioxidant enzyme activity associated to *Meloidogyne* and *Pratylenchus* infection in sugarcane**

\* A ser submetido para European Journal of Plant Pathology

1           **Antioxidant enzyme activity associated to *Meloidogyne* and *Pratylenchus* infection in sugarcane**

2  
3   Luana Maria Alves da Silva<sup>1</sup>, Elvira Maria Regis Pedrosa<sup>1</sup>, Thais Fernanda da Silva Vicente<sup>2</sup>, Mércia Soares de  
4   Oliveira Cardoso<sup>2</sup>, Lilia Gomes Willadino<sup>2</sup>, Mario Monteiro Rolim<sup>2</sup>

5  
6   1. Departamento de Fitossanidade, Universidade Federal Rural de Pernambuco, 52171-900 Recife, PE, Brazil

7   2. Departamento de Engenharia Agrícola, Universidade Federal Rural de Pernambuco, 52171-900 Recife, PE,  
8   Brazil

9   Autora para correspondência - Elvira Maria Regis Pedrosa: elvira.pedrosa@ufrpe.br

10  
11   **Abstract**

12   The plant-parasitic nematodes *Meloidogyne* and *Pratylenchus* are the main nematode pathogens reducing  
13   sugarcane yield worldwide. Despite, defense responses to overcome the pathogen stresses through neutralizing  
14   cytotoxicity of reactive oxygen species (ROS) have been reported for a range of important crops and pathogens,  
15   few studies have been developed for sugarcane under nematode stress. The aim of this study was to evaluate  
16   responses of the antioxidant enzymes superoxide dismutase (SOD) and ascorbate peroxidase (APX) at different  
17   density of *Meloidogyne* and *Pratylenchus* in a sugarcane replant field and in a ratoon crop in Northeastern  
18   Brazil. Evaluations based on nematode densities, plant growth parameters and SOD and APX activity at six (T6)  
19   and nine (T9) months after planting (Area 1) or cutting (Area 2 - ratoon crop). *Pratylenchus* abundance  
20   significantly decreased in Area 1, but not in Area 2. In contrast, *Meloidogyne* abundance increased through time  
21   in Area 1, but decreased in Area 2. In both areas, SOD activity decreased over time, but APX activity did not  
22   present significant fluctuation over time in Area 1, in contrast to the increase over time of APX activity in Area  
23   2. Abundance of both nematodes correlated positively with number of tillers and negatively with height of stalks,  
24   besides the negative correlation between *Pratylenchus* and stalk diameter. This inverse correlation between the  
25   plant-parasitic nematode and stalk number was also demonstrated by the PCA. There was not significant  
26   correlation between the antioxidant enzymes and plant growth parameters or nematode abundance, except the  
27   positive correlation between SOD activity and number of tillers.

28  
29   **Keywords:** defense mechanism; SOD; APX; plant-parasitic nematode, *Saccharum*.

30  
31   **Introduction**

32  
33           Plants regularly undergo numerous stresses throughout the life cycle, such as severe fluctuations in  
34   temperature, moisture, solar radiation and pathogen infection. These stresses stimulate different responses from  
35   changes in gene expression and cellular metabolism to variations in growth rate and biomass production (Taiz  
36   and Zeiger 2013). Concurrently, plants can articulate defense responses to overcome these stresses modifying  
37   molecular compounds formation as a response mode (De Wit 2007) or as enzymatic and non-enzymatic defense  
38   mechanisms neutralizing cytotoxicity of reactive oxygen species (ROS) (Barbosa et al. 2014).

39 As a result from aerobic metabolism (Sikora et al. 2008), ROS occurrence is a natural pathway in most  
40 eukaryotic cells because the energy metabolism is dependent on the use of secondary oxygen from  
41 photosynthesis and respiration (Eaux and Toledano 2007). However, the plant exposure to unfavorable  
42 environmental conditions increases ROS production disturbing cellular compartments (Moller and Sweetlove  
43 2010) and the healthy metabolism, resulting in oxidative damages to lipids, proteins and nucleic acids  
44 (Triantaphylidès and Havaux 2009).

45 The reactions induce changes in the selective permeability of cell membrane (De Gara et al. 2003) and  
46 in the enzyme activity associated to the membrane metabolism (Del Río et al. 2006). Thus, for protection against  
47 these oxygen toxic effects, plant cells and their organelles (i.e., chloroplasts, mitochondria and peroxisomes) use  
48 an antioxidant defense system which are composed of enzymes and other non-enzyme molecules as carotenoids,  
49 ascorbic acid, vitamin E, flavonoids, proline, glutathione, among others (Davar et al. 2013).

50 Enzymes that protect plant cells from cytotoxic effects of ROS are directly related to physiological  
51 processes involved in defense signaling or stress oxidative (Soares and Machado 2007). Overproduction of ROS  
52 increases after plant recognizing the pathogen (Lincoln and Zeiger 2009). This response is variable and depends  
53 on plant species and stress involved (Panda and Choudhury 2005). According to Abdel Latef and Chaoxing  
54 (2011), plants able to increase the antioxidant enzymes production are more tolerant to different kinds of  
55 stresses.

56 The enzymatic complex used by plants operates synchronously and are called antioxidant enzymes such  
57 as superoxide dismutase (SOD) and ascorbate peroxidase (APX) (Inzé and Montagu 1995; Mittler 2002). Once  
58 these enzymes respond to oxidative process, any biotic or abiotic stress on the plant, reduce the cytotoxic effects  
59 of ROS (Kim and Kwak 2010; Dinakara et al. 2012). Therefore, ROS and antioxidant enzymes determine  
60 whether oxidative signaling and damage will occur (Moller et al. 2007).

61 SOD is present in all aerobic organisms and subcellular compartments subject to oxidative burst caused  
62 by an abiotic or biotic stress. It is one of the most efficient enzymes in the plant protection process and provides  
63 the first line of defense against the toxic effects of ROS (Gill and Tuteja 2010). Moreover, SOD can interfere in  
64 the H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> concentration and is responsible for central defense mechanisms of living organisms. Thus, increases in  
65 SOD activity induces cell dysfunction and death which marks the pathogen attack site (Resende et al. 2003).

66 APX is another enzyme that plays an essential role in plant defense against biotic and abiotic stresses. It  
67 is found in different forms in the cell compartments (e.g., cytosol, peroxisome, chloroplast and mitochondria)  
68 and it plays a crucial role in H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> detoxification, reducing to H<sub>2</sub>O, preventing plants against oxidative cellular  
69 damage (Foyer and Noctor 2009; Fernandez-Garcia et al. 2010). Previous studies have demonstrate changes on  
70 APX expression in response to different stresses such as salinity, drought, high and low temperature, light  
71 intensity and pathogen attack (Shigeoka et al. 2002; Agrawal et al. 2003; Fryer et al. 2003; Menezes-Benavente  
72 et al. 2004; Teixeira et al. 2006).

73 On the other hand, nematode diversity in sugarcane is greater than in most other cultivated crops,  
74 although the most frequently species cited as highly pathogenic to this continuous monoculture are *Pratylenchus*  
75 *zeae*, *Meloidogyne incognita* and *M. javanica* (Dinardo-Miranda and Gil, 2005). Despite damage thresholds are  
76 not well defined because environmental factors, nematode community and sugarcane variety affect plant  
77 response to nematode parasitism, these species have been the primary nematode pathogens of sugarcane causing  
78 significant reduction in cane yield worldwide (Cadet; Spaul, 2005).

79 Understanding the plant defense mechanism is relevant to global agriculture because it will enable the  
 80 development of resistant cultivars to various diseases (Nascimento and Barrigossi 2014). However, in spite of  
 81 metabolic processes of oxidation-reduction are essential to plant defense mechanisms (Foyer and Noctor 2009),  
 82 few studies have been developed for sugarcane under nematode stress; therefore, more information is necessary  
 83 to clarify SOD and APX activities in the crop interaction with species of *Meloidogyne* and *Pratylenchus*.

84 The objectives of this study were to evaluate seasonal changes and relationships among the plant-  
 85 parasitic nematode *Meloidogyne* and *Pratylenchus*, growth plant parameters, and variations on the antioxidant  
 86 enzymes SOD and APX levels at different nematode densities on sugarcane under field conditions. Specifically,  
 87 we addressed the following questions: a) what is the relative importance of abundance and presence of plant-  
 88 parasitic nematodes on the antioxidant enzymes activity? b) which are the most influenced sugarcane growth  
 89 parameters by antioxidant enzymes activity?

90

## 91 **Material and Methods**

92

### 93 Study sites Português

94 This study was carried out in two neighbor sites of sugarcane plantations located in Camutanga  
 95 Municipality, Pernambuco State, Brazil (Table 1). The first site (Area 1) was a replanting field while the second  
 96 site (Area 2) consisted in a ratoon crop. The climate of study region is tropical type 'As', characterized by winter  
 97 rainfall and dry summer with average annual temperature of 25°C and average annual rainfall of 1.211 mm  
 98 (Alvares et al. 2013).

99

100 Table 1. General characteristics of the two study sites in Pernambuco State, Brazil.

Label	Area 1	Area 2
Coordinates	25°71'00"S; 91°85'24"W	26°70'54"S; 91°95'12"W
Variety	RB86-7515	RB86-3129
Growth stage	plant cane	ratoon cane
Soil type	red-yellow Ultisol	yellow Ultisol
Sand(%)	68	83
Clay(%)	21	16
Silt(%)	11	1

101

### 102 Sampling design

103 A regular grid (6.0 × 6.0 m) at 10-m intervals, totalizing 36 sample points, was established in each study  
 104 area. Sampling was carried out at six (T6) and nine (T9) months after planting in Area 1 and at six (T6) and nine  
 105 (T9) months after cutting (ratoon crop) in area 2. Growth sugarcane parameters were measured at same points.

106 Sugarcane leaves were collected and enzyme activities were assayed. Root samples were collected for  
107 nematological analysis.

108

109 Nematode analysis

110 Root samples were taken and packaged in labeled plastic bags and immediately transported to the  
111 nematology laboratory at the Federal Rural University of Pernambuco (UFRPE). The plant-parasitic nematodes  
112 were extracted from sugarcane roots by the sucrose centrifugation method (Hussey and Barker 1973).  
113 *Meloidogyne* and *Pratylenchus* genera were counted and identified at  $\times 40$  and  $\times 100$  magnifications using  
114 dichotomous key (Mai et al. 1996).

115

116 Sugarcane growth measurements

117 Sugarcane growth pattern was determined through stalk height, stalk diameter, number of stalks and  
118 tillers. The stalk height was determined from soil to leaf +1 with a tape measure, and stalk diameter was  
119 measured in the middle third of the plant with a calipers.

120

121 Antioxidant enzymes analysis

122 Sugarcane leaves (+3) were collected, involved in aluminum sheet, dipped in liquid nitrogen and  
123 transferred to freezer at  $-26\text{ }^{\circ}\text{C}$ . In order to prepare the enzyme extract, fresh samples (0.1 g) were homogenized  
124 in 4 mL of sodium phosphate buffer  $0.1\text{ mol L}^{-1}$  (pH 6.5) containing 0.5 g of polyvinylpyrrolidone (PVP).  
125 Homogenates were centrifuged at  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  in a refrigerated centrifuge for 10 min at  $10,000 \times g$  (Zeraik et al., 2008).  
126 The supernatant was used for ascorbate peroxidase and superoxide dismutase enzymes assay (Giannopolitis and  
127 Ries 1977). Enzyme activity was expressed in specific activity ( $\text{U mg}^{-1}$ ).

128

129 APX activity

130 The reaction mixture contained 2.7 mL of potassium phosphate buffer 50 mM (pH 6.0), 75  $\mu\text{L}$  of ascorbic  
131 acid 0.8 mM, and 0.1 mL of enzyme extract. APX activity was estimated by measuring the decrease in absorbance  
132 at 290 nm at  $30\text{ }^{\circ}\text{C}$  for 1 minute according to Nakano and Asada (1981).

133

134 SOD activity

135 SOD activity was determined by measuring ability to inhibit photochemical reduction of nitro blue  
136 tetrazolium (NBT) following the method described for Giannopolitis and Ries (1977). Enzyme extract (100  $\mu\text{M}$ )  
137 was transferred to test tubes containing reaction mixture of 50 mM potassium phosphate buffer (pH 7.8), 0.1 mM  
138 EDTA, 13 mM methionine and 75  $\mu\text{M}$  NBT. The reaction was started by addition of 2  $\mu\text{M}$  riboflavin to test tubes  
139 placed under fluorescent light (30W) in closed box for 5 min. Absorbance was recorded at 560 nm. One unit  
140 (U) of SOD activity was defined as the amount of enzyme required to inhibit 50% of NBT reduction in light.

141

142 Statistical Analyses

143 Nematode were categorized in three levels: level 0 (zero especimens); level 1 (1-100 especimens); and  
144 level 2 (100+ especimens) in order to evaluate enzymatic activity response to the presence of nematodes.

145 Nematode abundances were  $\ln(x + 1)$  transformed to achieve normality. The plant growth parameters and  
146 enzymes activity were standardized prior statistical analyses. A two-way analysis of variance (ANOVA)

147 compared the sampling time. Means were compared by t-test at  $P \leq 0.05$ . A principal component analysis (PCA)  
 148 was performed for relationship among plant-parasitic nematodes, growth plant parameters, and antioxidant  
 149 enzyme activities. The two first coordinates (PC1 and PC2) were selected for further interpretation of the results.  
 150 Statistical analyses were performed using Statistica 8.0 software (StatSoft Inc. 2008).

151

## 152 Results

153

154 Seasonal effects on activity of antioxidant enzymes, plant-parasitic nematodes and growth plant parameters

155 Enzymatic activity ranged over time (Table 2). In both areas, SOD activity decreased ( $P < 0.05$ ) over  
 156 time, but APX activity did not show a significant ( $P > 0.05$ ) fluctuation over time in Area 1; in contrast to the  
 157 increase over time ( $P < 0.05$ ) of APX activity in Area 2.

158

159 Table 2. Plant-parasitic nematode abundance, growth plant parameters and antioxidant enzyme activities in  
 160 sugarcane leaves at six and nine months after planting in plant cane (Area 1) and at six and nine months after  
 161 cutting in ratoon crop (Area 2).

Parameters	Area 1		Area 2	
	T6	T9	T6	T9
Antioxidant enzymes				
APX (U mg <sup>-1</sup> )	9608.92±4955.27a	8700±2648.35a	9564.28±3894.28b	11596.43±3993.31a
SOD (U mg <sup>-1</sup> )	259.55±83.13a	188.53±117.17b	298.27±88.74a	239.55±116.85b
PPNs				
<i>Pratylenchus</i>	81.23±85.45a	0.00±0.49b	30.90±38.95a	17.65±29.94a
<i>Meloidogyne</i>	29.86±40.55b	43.77±50.81a	99.40±115.66a	55.27±42.28b
Growth plant				
Number of tillers	3.66±1.16a	0.66±0.46b	2.33±1.06a	1.33±0.57b
Number of stalks	6.00±0.97b	11.33±1.29a	9.66±1.56b	11.66±1.62a
Height of stalks	34.50±8.03b	63.16±11.20a	76.33±17.30b	98.66±17.70a
Diameter of stalks	2.53±0.23a	2.55±0.18a	2.30±0.18b	2.35±0.19a

162 Values are mean ± SD (n=36). *PPNs* plant-parasitic nematodes; *Area 1* plant cane; *Area 2* ratoon cane; *SD* standard  
 163 deviation; *T6* 6 months after planting or cutting; *T9* 9 months after planting or cutting; Within area, means in a  
 164 row followed by the same letter are not significantly different according to a t-test ( $P < 0.05$ ). Nematodes were  
 165 extracted from 50 g of fresh roots.

166

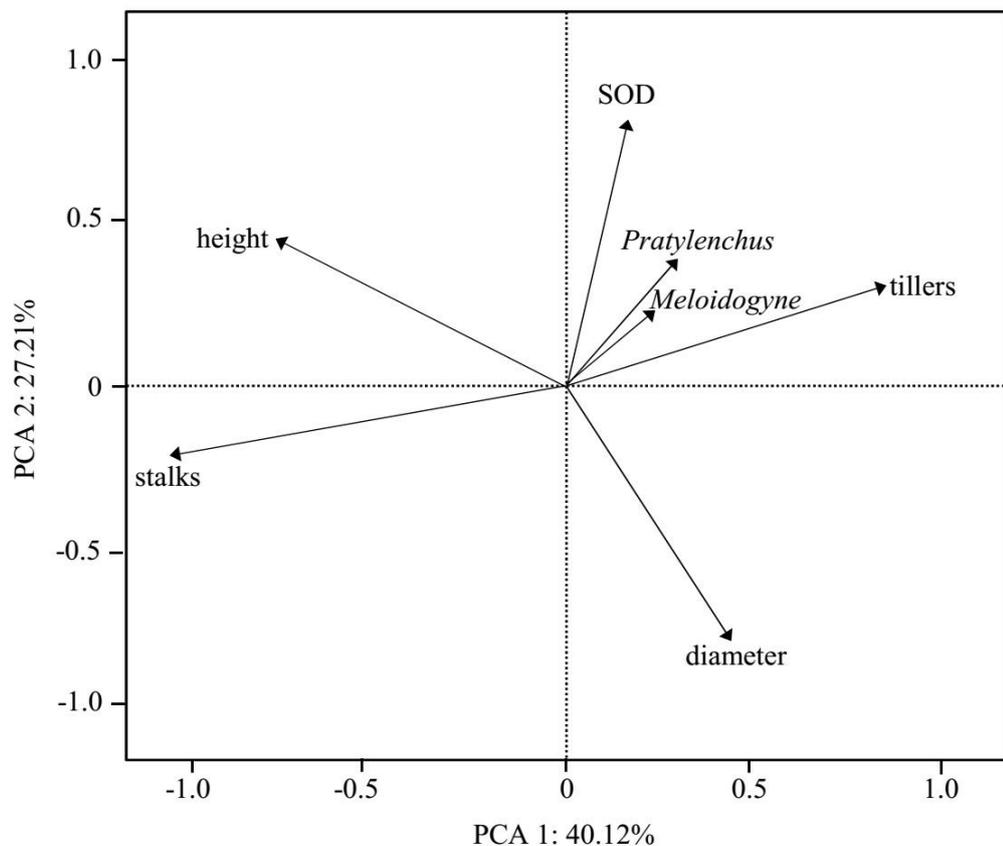
167 Concerning to plant-parasitic nematodes, there was significant variation over time. *Pratylenchus*  
 168 abundance significantly ( $P < 0.05$ ) decreased in Area 1, but not in Area 2. In contrast, *Meloidogyne* abundance  
 169 increased ( $P < 0.05$ ) through time in Area 1, but decreased ( $P < 0.05$ ) in Area 2.

170 In contrast to the significant ( $P < 0.05$ ) increase in number of stalks, the number of tillers and the height  
171 of stalks decreased ( $P < 0.05$ ) over time in both areas, though there was no significant increase in diameter of  
172 stalks in Area 1, but in Area 2.

173

174 Relationship among plant-parasitic nematodes, growth plant parameters and antioxidant enzymes

175 Eigenvalues from the PCA analysis indicate the first two principal components (PC) accounted for  
176 67.33% of the variance of data (PC1: 40.12%; PC2: 27.21%; Figure 1; Table 3). It was observed a positive  
177 relationship among SOD, plant-parasitic nematodes abundance, and number of tillers. PCA also showed an  
178 inverse relationship between plant-parasitic nematodes and number of stalks.



179

180 Figure 1. Principal component analysis ordination biplot for plant-parasitic nematodes abundance, antioxidant  
181 enzymes, and plant growth parameters. *SOD* superoxide dismutase activity.

182

183 Table 3. Principal component analysis parameters.

	Eigenvalue	% Total variance	Cumulative (%)
PC1	2.006086	40.12173	40.1217
PC2	1.360602	27.21205	67.3338
PC3	0.864960	17.29919	84.6330

184

185 There was not significant correlation between the antioxidant enzymes and plant growth parameters or  
 186 nematode abundance, except the positive correlation between SOD activity and number of tillers (Table 4).  
 187 *Meloidogyne* correlated positively with *Pratylenchus*. Both nematodes correlated positively with number of  
 188 tillers and negatively with height of stalks, besides the negative correlation between *Pratylenchus* and stalk  
 189 diameter. The inverse correlation between the plant-parasitic nematodes and stalk number was also demonstrated  
 190 by the PCA (Figure 1).

191

192 Table 4. Pearson correlation for plant-parasitic nematodes abundance, antioxidant enzymes and plant growth  
 193 parameters.

	Stalk Height	Stalk Diameter	Number of Stalks	Number of Tillers	<i>Meloidogyne</i>	<i>Pratylenchus</i>	APX
Diameter	-0.29**						
Stalks	0.66**	0.02 <sup>ns</sup>					
Tillers	-0.15 <sup>ns</sup>	0.07 <sup>ns</sup>	-0.59**				
<i>Meloidogyne</i>	-0.03 <sup>ns</sup>	-0.06 <sup>ns</sup>	-0.22**	0.26**			
<i>Pratylenchus</i>	0.02 <sup>ns</sup>	-0.18*	-0.27**	0.35**	0.41**		
APX	0.15 <sup>ns</sup>	-0.03 <sup>ns</sup>	0.13 <sup>ns</sup>	0.06 <sup>ns</sup>	0.02 <sup>ns</sup>	0.06 <sup>ns</sup>	
SOD	0.16 <sup>ns</sup>	-0.15 <sup>ns</sup>	-0.12 <sup>ns</sup>	0.24**	0.16 <sup>ns</sup>	0.14 <sup>ns</sup>	0.13 <sup>ns</sup>

194 *ns* not significant; \*\*Significant at 0.01; \*Significant at 0.05

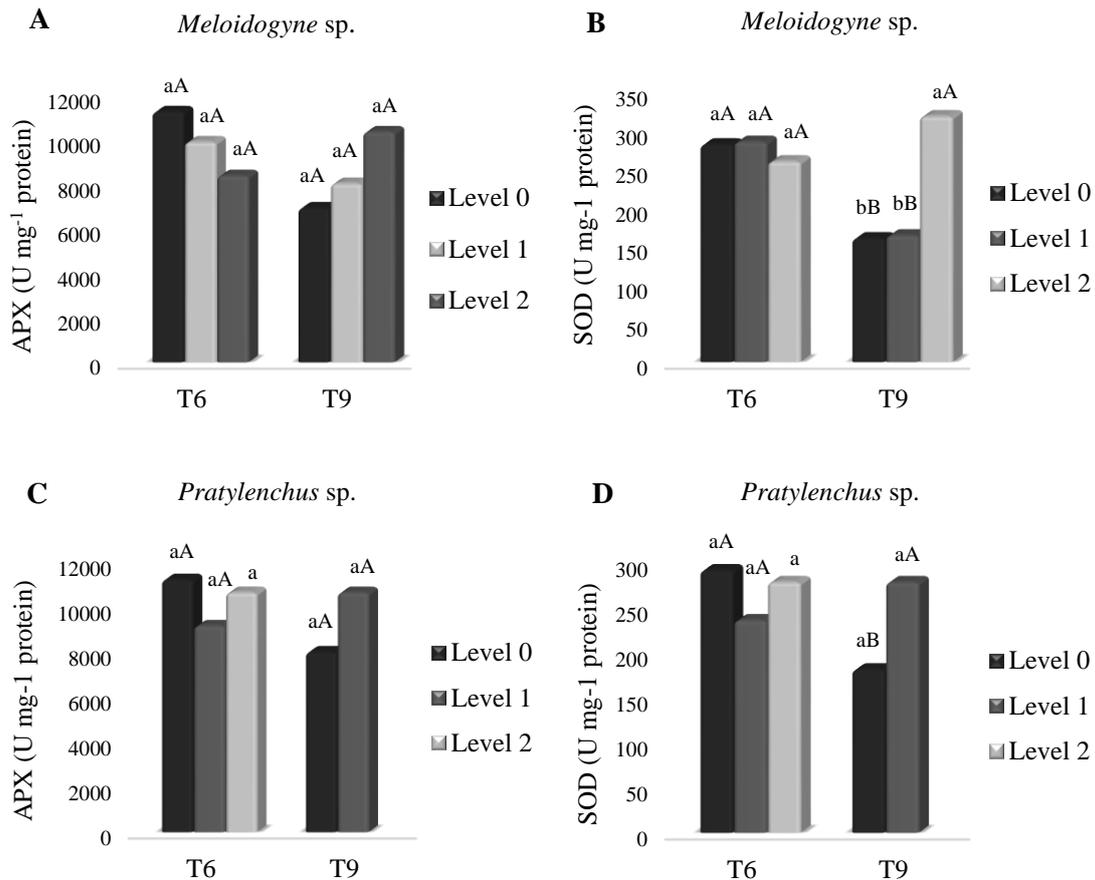
195

196 APX and SOD activity associated to *Pratylenchus* and *Meloidogyne* abundance

197 In Area 1 no significant difference was observed for the association of APX enzyme with *Meloidogyne*  
 198 and *Pratylenchus* at different levels and over time (Figures 2A and 2C). In contrast, for the association of the  
 199 SOD enzyme with *Meloidogyne*, a significant difference was observed at nine months (T9), where the population  
 200 above 100 individuals predominated, it was also possible to verify that Levels 0 and 1 reduced significantly at T9

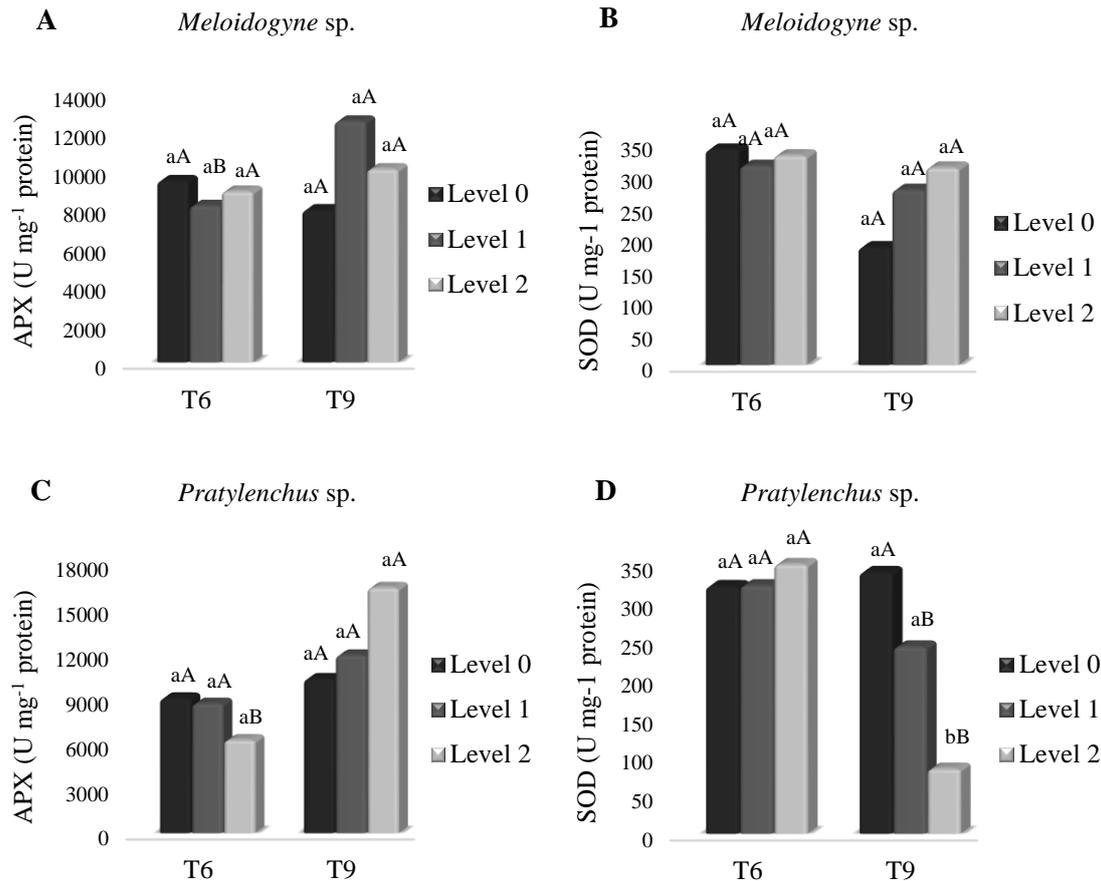
201 (Figure 2B). Similarly, for the association of the SOD enzyme with *Pratylenchus*, a difference was observed at  
 202 Levels 0 and 1, which reduced in T9 (Figure 2D).

203 In Area 2, a significant difference was observed in the association of APX with *Meloidogyne* at T9  
 204 (Figure 3A), in which there is an increase in Level 1. Similarly, there was a significant difference for  
 205 *Pratylenchus* at T9 (Figure 3C), where an increase in Level 2 was observed. *Pratylenchus* in association with  
 206 SOD enzyme showed a difference within levels at T9, where Level 0 differed significantly from Levels 1 and 2  
 207 and at sampling time (Figure 3D).  
 208



210  
 211 Figure 2. Ascorbate peroxidase (APX) and superoxide dismutase (SOD) activity in sugarcane leaf in response to  
 212 *Meloidogyne* (2A; 2B) and *Pratylenchus* (2C; 2D). Level 0 (0 individuals); Level 1 (1-100 individuals); Level 2  
 213 (100+ individuals); T6 plant cane 6 months after planting; T9 plant cane 9 months after planting.

214 Different lowercase letters indicate statistically significant differences between levels according to Fisher's  
 215 protected LSD test ( $P < 0.05$ ); Different uppercase letters indicate statistically significant differences between  
 216 levels in each sampling time (6 and 9 months after planting) according to Fisher's protected LSD test ( $P < 0.05$ )  
 217



218

219

220

221

222

223

224

225

226

227

Figure 3. Ascorbate peroxidase (APX) and superoxide dismutase (SOD) activity in sugarcane leaf in response to *Meloidogyne* (3A; 3B) and *Pratylenchus* (3C; 3D). Level 0 (0 individuals); Level 1 (1-100 individuals); Level 2 (100+ individuals); T6 ratoon cane 6 months after planting; T9 ratoon cane 9 months after planting.

Different lowercase letters indicate statistically significant differences between levels according to Fisher's protected LSD test ( $P < 0.05$ ); Different uppercase letters indicate statistically significant differences between levels in sampling time (6 and 9 months after planting) according to Fisher's protected LSD test ( $P < 0.05$ )

226

227

### Discussion

228

229

230

231

232

233

234

235

236

237

The results indicate significant differences over time of the studied variables. APX activity and plant growth parameters (e.g. stalk height, stalk diameter and number of stalks) did not differ significantly in plant cane, however, it increased over time in ratoon cane. On the contrary, plant-parasitic nematodes populations decreased over time. It is known that plants can protect themselves by synthesizing antioxidant enzymes (SOD and APX). In this study, increase in APX activity demonstrates its efficiency in the rapid elimination of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, acting in the prevention of oxidative cellular damage in plants (Locato et al., 2010). Greater activities of APX decrease H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> levels in the cell, enhancing the response to stress (Gill and Tuteja, 2010). Recent studies also indicate the effectiveness of APX activity in controlling the cellular redox potential and oxidative protection in several vegetal species under stress, such as maize (Mozaffari et al., 2013), cowpea (El-Enany et al., 2013) and soy (Riekert van Heerden and Kruger, 2002).

238

239

A positive relationship among SOD, plant-parasitic nematodes abundance, and number of tillers was observed in this study. Increase in SOD activity have been related to plants under environmental stresses

240 (Sharma and Dubey, 2005; Mishra et al., 2011). Increase in SOD activity often is related to increase in plant  
241 tolerance to stress, thus this criterion can be utilized for indirect selection of resistant plants (Zaefyzadeh et al.,  
242 2009). For instance, Ehsani-Moghaddam et al. (2006) studied association of SOD enzyme with the fungi  
243 *Mycosphaerella fragariae* in three strawberry varieties. And it was observed that increase in SOD activity is  
244 related to *M. fragariae* infection and high levels of SOD were related to resistant plants, suggesting that plant has  
245 strategy to reduce the fungi development through action of antioxidant enzyme.

246 Possibly, increases in SOD activity in sugarcane leaves may be an adaptive response to protect the plant  
247 against biotic and abiotic stresses (Guida et al., 1992). According to Afify et al. (2014), SOD levels can vary due  
248 to host plant, species, and initial density of plant-parasitic nematode. In this study, a negative relationship  
249 between SOD and diameter of stalk may be due to plant-parasitic nematodes since their presence can affect the  
250 optimum crop development (Macedo et al., 2011), in consequence to the root damages (i.e. galls and lesions).  
251 Thus, the roots become poorly developed and unable to perform normally their essential functions, such as water  
252 and nutrients absorption (Dinardo-Miranda and Gil, 2005).

253 Lower abundance of plant-parasitic nematodes was inversely associated to plant growth parameters. In  
254 sugarcane areas with high population of plant-parasitic nematodes, the yield is reduced due to symptoms caused  
255 by these parasites (Dinardo-Miranda, 2008). Also, it was observed an inverse relationship between plant-  
256 parasitic nematodes and number of stalks. This fact can be due to inability of the plant performing its normal  
257 functions in the presence of pathogen (Baldin et al., 2012), resulting internode length less than normal (Macedo  
258 et al., 2011).

259 This study corroborates that as plant growth variables and plant-parasitic nematode populations were  
260 influenced by APX enzyme. However, SOD activity was correlated positively with *Meloidogyne* and  
261 *Pratylenchus*, demonstrating a possible tolerance of studied sugarcane varieties. The number of tillers was  
262 correlated inversely with plant-parasitic nematode populations, indicating interference these nematodes in the  
263 vital processes of the plants. Thus, it is evident the importance of the understanding of the sugarcane defense  
264 mechanism for the development of resistant cultivars (Taiz and Zieger, 2013).

265 Significant associations observed for SOD enzyme in plant cane demonstrates its action in reducing the  
266 biotic damages caused to plants, demonstrating its potential for controlling both *Meloidogyne* and *Pratylenchus*.  
267 With *Meloidogyne* at its highest level at nine months after planting and *Pratylenchus* at six months after  
268 planting. It is known that SOD is an antioxidant enzyme, effective in the protection of the plant against the toxic  
269 effects of high levels of reactive oxygen species (Gill and Tuteja, 2010). Therefore, it is usually associated with  
270 stress tolerant plants, either biotic or abiotic (Zaefyzadeh et al., 2009). Several studies also reported this pattern,  
271 increase in SOD activity in response to infection by pathogens. In tomato crop, for example, was observed that  
272 SOD activity was induced in the initial phase of infection by *Botrytis cinerea* (Kuzniak and Sklodowska, 2005).  
273 In strawberry crop infected by *Mycosphaerella fragariae* also there was increase in SOD activity (Ehsani-  
274 Moghaddam et al., 2006). Ivanov et al. (2005) also showed increase in SOD activity as response to stress  
275 condition in wheat infected by *Puccinia recôndita*. Therefore, it suggests that increase in SOD activity in  
276 sugarcane is related to a possible resistance to biotic factors.

277 On the other hand, APX also is one of the most widely distributed antioxidant enzymes in plant cells  
278 and efficient under plant stress conditions (Sharma et al., 2012). Due to APX has a capacity to reduce oxidation,  
279 it correlates in a positive way, as a plant defense mechanism (Peixoto et al., 1999). Studies regarding APX  
280 activity in plants have shown a changing of expression of these enzymes in response to different stresses, such as

281 drought, salinity, high and low temperatures, light intensity and pathogens attack (Shigeoka et al., 2002; Agrawal  
282 et al., 2003; Fryer et al., 2003; Menezes et al., 2004; Teixeira et al., 2006). In soy roots inoculated with  
283 *Meloidogyne javanica* e *M. incognita* was observed an APX increase after 12 hours (Santana, 2012),  
284 highlighting involvement of the enzyme on plant defense mechanisms against damage caused by oxidative  
285 stress.

286 In summary, this study suggests that sugarcane infection by *Pratylenchus* and *Meloidogyne* is associated  
287 with an increase in SOD and APX activity. Moreover, SOD enzyme also showed association with sugarcane  
288 growth parameters.

289

## 290 **References**

291 Abdel-Latef, A. A. H., Chaoxing, H. (2011). Effect of arbuscular mycorrhizal fungi on growth, mineral nutrition,  
292 antioxidant enzymes activity and fruit yield of tomato grown under salinity stress. *Scientia Horticulturae*, 127(3),  
293 228-233.

294 Afify, A. E. M. M. R., Farahat, A. A., Al-Sayed, A. A., Mahfoud, N. A. M. (2014) Antioxidant enzymes as well  
295 as oxidant activities involved in defense mechanisms against the root-knot, reniform and citrus nematodes in  
296 their host plants. *International Journal of Biotechnology and Food Science* 2(6), 102-111.

297 Agrawal, G. K., JWA, N. S., Iwahashi, H., Rakwal, R. (2003). Importance of ascorbate peroxidases OsAPX1  
298 and OsAPX2 in the rice pathogen response pathways and growth and reproduction revealed by their  
299 transcriptional profiling. *Gene*, 322, 93-103.

300 Alvares, C. A., Stape, J. L., Sentelhas, P. C., Gonçalves, J. L. M. (2013). Sparovek, G. Köppen's climate  
301 classification map for Brazil. *Meteorologische Zeitschrift*, 22(6), 711-728.

302 Baldin, E. L. L., Wilcken, S. R. S., Pannuti, L. E. R., Schlick-Souza, E. C., Vanzei, F. P. (2012). Uso de extratos  
303 vegetais, manipueira e nematicida no controle do nematoide das galhas em cenoura. *Summa Phytopathologica*,  
304 38(1),36-41, 2012.

305 Barbosa, M. R., Silva, M. M.A., Willadino, L., Ulisses, C., Camara, T.R. (2014). Geração e desintoxicação  
306 enzimática de espécies reativas de oxigênio em plantas. *Ciência Rural*, 44(3), 453-460.

307 Cadet, P., Spaul, V. W. (2005). Nematode parasites of sugarcane. In: Luc, M., SIKORA, R. A., BRIDGE, J.  
308 (ed). *Plant Parasitic Nematodes in Subtropical and Tropical Agriculture*. (pp. 645- 674) C.A.B. International  
309 Institute of Parasitology, Wallingford - UK.

310 Davar, R., Darvishzadeh, R., Majd, A. (2013). Changes in antioxidant systems in sunflower partial resistant and  
311 susceptible lines as affected by *Sclerotinia sclerotiorum*. *Biologia*, 68(5), 821-829.

312 De Gara, L., Pinto, M.C., Tommasi, F. (2003). The antioxidant systems vis-a-vis reactive oxygen species during  
313 plant-pathogen interaction. *Plant Physiology and Biochemistry*, 41,863-870.

314 De Wit, P. J. How plants recognize pathogens and defend themselves. (2007). *Cellular and Molecular Life*  
315 *Science*, 64(21), 2726-2732.

- 316 Del Río, L. A., Sandalio, L. M., Corpas, F. J., Palma, J. M, Barroso, J. B. (2006). Reactive oxygen species and  
317 reactive nitrogen species in peroxisomes. Production, scavenging, and role in cell signaling. *Plant Physiology*,  
318 141(2), 330-335.
- 319 Dinakara, C., Djilianov, D., Bartels, D. (2012). Photosynthesis in desiccation tolerant plants: Energy metabolism  
320 and antioxidative stress defense. *Plant Science*, 182, 29-41.
- 321 Dinardo-Miranda, L. L. (2008). Nematoides. In: Dinardo-Miranda, L. L., Vasconcelos, A. C. M., Landell, M. G.  
322 A. (Ed.), *Cana-de-açúcar* (pp. 405-422). Instituto Agronômico, Campinas.
- 323 Dinardo-Miranda, L. L., GIL, M. A. (2005). Efeito da rotação com *Crotalaria juncea* na produtividade da cana-  
324 de-açúcar, tratada ou não com nematicidas no plantio. *Nematologia Brasileira*, 29(1), 63-66.
- 325 Éaux, B., Toledano, M.B. (2007). Ros as signalling molecules: mechanisms that generate specificity in ROS  
326 homeostasis. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 8(10), 813- 824.
- 327 Ehsani-Moghaddam, B., Charles, M. T., Carisse, O., Khanizadeh, S. (2006). Superoxide dismutase responses of  
328 strawberry cultivars to infection by *Mycosphaerella fragariae*. *Journal of Plant Physiology*, 163(2), 147-153.
- 329 El-Enany, A. E., Al-Anazi, A. D., Dief, N., Wafa’A, A. T. (2013). Role of antioxidant enzymes in amelioration  
330 of water déficit and waterlogging stresses on *Vigna sinensis* plants. *Journal of Biology and Earth Sciences*, 3(1),  
331 44-53.
- 332 Fernandez-Garcia, N., Garma, J. G., Olmos, E. (2010). ROS as biomarkers in hyperhydricity. In: Gupta, S. D.  
333 (Ed.), *Reactive oxygen species and antioxidants in higher plants* (pp. 249-274) Enfield: Science Publishers.
- 334 Foyer, C. H., Noctor, G. (2009). Redox Regulation in Photosynthetic Organisms: Signaling, Acclimation, and  
335 Practical Implications. *Antioxidants & Redox Signaling*, 11(4), 861-905.
- 336 Fryer, M. J., Ball, L., Oxborough, K., Karpinski, S., Mullineaux, P. M., Baker, N. R. (2003). Control of  
337 *Ascorbate Peroxidase 2* expression by hydrogen peroxide and leaf water status during excess light stress reveals  
338 a functional organisation of *Arabidopsis* leaves. *Plant Journal*, 33(4), 691-705.
- 339 Giannopolitis, C. N., Reis, S. K. (1997). Superoxide dismutase: I. Occurrence in higher plants. *Plant Physiology*,  
340 59(2), 309-314.
- 341 Gill, S.S., Tuteja, N. (1010). Reactive Oxygen Species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in  
342 crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 48(12), 909-930.
- 343 Guida, G, Zacheo G, Bleve-Zacheo T (1992). Activation of detoxifying enzymes in tomato roots following  
344 paraquat treatment and nematode infection. *Nematologia Mediterranea*, 20(2), 203-209.
- 345 Hussey, R. S., Barker, K. R. (1973). A comparison of methods for colecting inocula of *Meloidogyne* spp.  
346 including a new technique. *Plant Disease repórter*, 57(12), 1025-1028.

- 347 Inzé, D., Montagu, M. V. (1995). Oxidative stress in plants. *Current Opinion in Biotechnology*, 6(2), 153-158,  
348 1995.
- 349 Ivanov, S. (2005). Alterations in some oxidative parameters in susceptible and resistant wheat plants infected  
350 with *Puccinia recondita* f.sp. tritici. *Journal of Plant Physiology*, 162(3), 275- 279.
- 351 Kim, Y. H., Kwak, S. S. (2010). The role of antioxidant enzymes during leaf development. In: GUPTA, S.D.  
352 (Ed.), *Reactive oxygen species and antioxidants in higher plants*. (pp. 129-150), Enfield: Science Publishers.
- 353 Kuzniak, E., Sklodowska, M. (2005). Fungal pathogen-induced changes in the antioxidant systems of leaf  
354 peroxisomes from infected tomato plants. *Planta* 222(1),192-200.
- 355 Lincoln, T. & Zeiger, E. (2009). *Fisiologia Vegetal*, Porto Alegre, Artmed.
- 356 Locato, V., Pinto, M. C., Paradisoand, A., De Gara, L. (2010). Reactive oxygen species and ascorbate-  
357 glutathione interplay in signaling and stress responses. In: Gupta, S. D .*Reactive oxygen species and antioxidants*  
358 *in higher plants*. Enfield: Science Publishers (pp. 45-64).
- 359 Macedo, N., Macedo, D., Campos, M. B. S., Novaretti, W. R. T., Ferraz, L. C. C. (2011). Manejo de Pragas e  
360 Nematoides. In: Santos, F., Borém, A., Caldas, C. (2Ed.) *Cana-de-açúcar: bioenergia, açúcar e etanol: tecnologia*  
361 *e perspectivas*, (pp. 119-160), Viçosa.
- 362 Mai, W. F., Mullin, P. G., Lyon, H. H., Loeffle, K. (1997) *Plant-parasitic nematodes: a pictorial key to genera*.  
363 Ithaca, NY. Cornell University Press.
- 364 Menezes-Benavente, L., Teixeira, F. K., Kamei, C. L. A., Margispinheiro, M. (2004). Salt stress induces altered  
365 expression of genes encoding antioxidant enzymes in seedlings of a brazilian indica rice (*Oryza sativa* L.). *Plant*  
366 *Science*, 166(2), 323-331.
- 367 Mishra, S. Jha, A. A., Dubey, R. S. (2011). Arsenite treatment induces oxidative stress, upregulates antioxidant  
368 system, and causes phytochelatin synthesis in rice seedlings, *Protoplasma*, 248(3), 565–577.
- 369 Mittler, R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. (2002). *Trends in Plant in Science*, 7(9), 405-410.
- 370 Moller, I. M., Jensen, P. E., Hansson, A. (2007). Oxidative modifications to cellular components in plants.  
371 *Annual Review Plant Biology*, 58, 459–481.
- 372 Moller, I.M., Sweetlove, L.J. (2010). ROS signaling specificity is required. *Trends in Plant Science*, 15(7), 370-  
373 374.
- 374 Mozaffari, V., Pakniyat, H., Hasheminasab, H., Anosheh-Pirasteh, H. (2013). Differential antioxidative response  
375 to drought stress and relationship with water use efficiency in maize hybrids. *International Journal of Farming*  
376 *and Allied Sciences*, 2(11), 277-281.
- 377 Nakano, Y., Asada, K. (1981). Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach  
378 chloroplasts. *Plant Cell Physiology*, 22(5), 867- 880.

- 379 Nascimento, J. B., Barrigossi, J. A. F. (2014). O papel das enzimas antioxidantes na defesa das plantas contra  
380 insetos herbívoros e fitopatógenos. *Agrarian Academy*, 1(01), 234-240.
- 381 Panda, S. K., Choudhury, S. (2005). Chromium stress in plants. *Brazilian Journal of Plant Physiology*,  
382 Campinas, 17(1), 95-102.
- 383 Peixoto, P. H. P., Cambraia, J.; Sant'Anna, R., Mosquim, P. R., Moreira. M. A. (1999). Aluminum effects on  
384 lipid peroxidation and activities of enzymes of oxidative metabolism in sorghum. *Revista Brasileira de Fisiologia*  
385 *Vegetal*, Brasília, 11(3), 137-143, 1999.
- 386 Resende, M. L. V., Salgado, S. M. L., Chaves, Z. M. (2003). Espécies reativas de oxigênio na resposta de defesa  
387 das plantas a patógenos. *Fitopatologia Brasileira*, 28,123-130.
- 388 Riekert Van Heerden, P. D., Kruger, G. H. J. (2002) Separately and simultaneously induced dark chilling and  
389 drought stress effects on photosynthesis, proline accumulation and antioxidant metabolism in soybean. *Journal of*  
390 *Plant Physiology*, 159(10), 1077-1086.
- 391 Santana, F. A. Análise proteômica de raízes de soja em resposta à inoculação com nematoides de galha. 2012.  
392 Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento), Universidade Federal de Viçosa, MG.
- 393 Sharma, P., Jha, A. B. Dubey, R. S., Pessarakli, M. (2012). Reactive oxygen species, oxidative damage, and  
394 antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. *Journal of Botany*, 2012(1), 1-26.
- 395 Sharma, P. & Dubey, R. S. (2005) Drought induces oxidative stress and enhances the activities of antioxidant  
396 enzymes in growing rice seedlings. *Plant Growth Regulation*, 46(3), 209–221, 2005.
- 397 Shigeoka, S., Ishikawa, T., Tamoi, M., Miyagawa, Y., Takeda, T., Yabuta, Y., Yoshimura, K. (2002). Regulation  
398 and function of *ascorbate peroxidase* isoenzymes. *Journal of Experimental Botany*, 53(372), 305-1319.
- 399 Sikora, E., Cieslik, E., Leszczynska, T., Filipiak-Florkiwuacz, A.; PISU, Ewski, P. M. (2008). The antioxidant  
400 activity of selected cruciferous vegetables subjected to aquathermal processing. *Food Chemistry*, 107(1), 50-55.
- 401 Soares, A. M. S., Machado, O. L. T. (2007). Defesa de plantas: Sinalização química e espécies reativas de  
402 oxigênio. *Ciências Agrárias e Biológicas*, 1(1), 9-19.
- 403 StatSoft 2008. Statistica (data analysis software system), version 8.0.2 Association at: <http://www.statsoft.com>.  
404 Accessed 25 January 2017.
- 405 Taiz, L., & Zeiger, E. (2013). *Fisiologia vegetal*. Porto Alegre: Artmed.
- 406 Teixeira, F. K., Menezes-Benavente, L., Galvão, V.C., Margis, R., Margis-Pinheiro, M. (2006). Rice ascorbate  
407 peroxidase gene family encodes functionally diverse isoforms localized in different subcellular  
408 compartments. *Planta*, 224(2), 300–314.
- 409 Triantaphylides, C., Havaux, M. (2009). Singlet oxygen in plants: production, detoxification and signaling.  
410 *Trends in Plant Science*, 14(4), 219-229.

- 411 Zaefyzadeh, M., Quliyev, R. A., Babayeva, S. N., Abbasov, M. A. (2009). The effect of the interaction between  
412 genotypes and drought stress on the superoxide dismutase and chlorophyll content in durum wheat landraces.  
413 Turkish Journal of Biology, 33(1), 1-7.
- 414 Zeraik, A. E., Souza, F. S. A., Fatibello-Filho, O., Leite, O. D. (2008). Desenvolvimento de um spot test para o  
415 monitoramento da atividade da peroxidase em um procedimento de purificação. Química Nova, 31(4), 731-734.
- 416

## CAPÍTULO IV

---

### **Relação espaço-temporal de *Meloidogyne* e *Pratylenchus* com atributos biométricos, nutricionais e enzimáticos da cana-de-açúcar**

\* A ser submetido para Nematropica



1 e número de colmos da cana, teores de fósforo, potássio, cálcio e magnésio na folha e  
2 atividade das enzimas ascorbato peroxidase e superóxido dismutase. Os dados foram  
3 submetidos à análise descritiva e geoestatística, gerando mapas de isolinhas por meio de  
4 semivariogramas teóricos ajustados às semivariâncias dos dados. Os modelos esférico e  
5 exponencial foram ajustados à maioria das variáveis avaliadas. Na área 1, os padrões de  
6 distribuição espaço-temporal de *Meloidogyne* e *Pratylenchus* diferiram ao longo do  
7 tempo, tornando-se, no geral, mais homogêneos. O desenvolvimento da cana-soca na área  
8 2 foi prejudicado por regiões de alta densidade populacional de *Pratylenchus*, as quais  
9 coincidiram com regiões de baixos teores de potássio e magnésio.

10 Palavras-chave: fitonematoides, enzima oxidativa, nutrição mineral, geoestatística,  
11 *Saccharum*

## 12 ABSTRACT

13 Silva, L. M. A., E. M. R. Pedrosa, T. F. S. Vicente, D. A. S. Leitão, M. M. Rolim, and L.  
14 M. P. Guimarães. 2017., 2017. Spatio-temporal relationship of *Meloidogyne* and  
15 *Pratylenchus* with biometric, nutritional and enzymatic attributes of sugarcane.  
16 Nematropica 41: 00-00.

17 Two field experiments were carried out in the city of Camutanga, Pernambuco, Brazil, to  
18 evaluate relationships between the plant-parasitic nematodes *Meloidogyne* and  
19 *Pratylenchus* and plant biometric, nutritional and antioxidant enzymes attributes of  
20 sugarcane (plant cane and ratoon). Evaluations, carried out at 6, 9, and 12 months after  
21 planting (Area 1) or ratoon cutting (Area 2), based on the endoparasites population level  
22 in root, stalk height, stalk diameter, number of stalks and tillers, superoxide dismutase  
23 and ascorbate peroxidase activity. Data were submitted to descriptive and geostatistical  
24 analysis, generating isolines maps by means of theoretical semivariograms adjusted to the

1 data semivariance. The spherical and exponential models were adjusted for most  
2 variables evaluated. In Area 1, the spatial-temporal distribution patterns of *Meloidogyne*  
3 and *Pratylenchus* differed over time, running to a more homogeneous trend along the  
4 time. The ratoon development in Area 2 was affected by sites of high population density  
5 of *Pratylenchus*, matching with the lower potassium and magnesium levels.

6 Key-words: plant-parasitic nematode, antioxidant enzyme, mineral nutrition,  
7 Geostatistics, *Saccharum*

8

9

## INTRODUÇÃO

10 A produção de cana-de-açúcar (*Saccharum* L.) desempenha um papel econômico e  
11 social de grande importância para o Brasil (Moraes et al., 2015), com destaque na produção  
12 de açúcar e etanol (Dias et al., 2014). Acrescenta-se, a alta relevância dessa gramínea no  
13 comércio global de produtos agrícolas e o aumento de sua demanda com o consumo global de  
14 sacarose ao longo de várias décadas. Diante dessa tendência nos mercados mundiais, a cana-  
15 de-açúcar precisa continuar a melhorar o rendimento, reduzindo os custos de produção e o  
16 impacto ambiental (Manners, 2011).

17 Embora o Brasil se destaque como o maior produtor mundial de cana-de-açúcar, tendo  
18 colhido cerca de 642 milhões de toneladas com uma produtividade média de 65 toneladas/ha  
19 em 2015 (CONAB, 2015), os canaviais nordestinos apresentam baixa produtividade agrícola,  
20 a exemplo do Estado de Pernambuco que ficou abaixo da média nacional, com 52  
21 toneladas/ha (CONAB, 2015). Esse panorama é consequência do acúmulo de problemas  
22 técnicos de campo, especialmente as fitonematoses, que se destacam por ocasionarem perdas  
23 significativas e pelas limitações das técnicas de controle em reduzir, de forma eficiente, as  
24 populações em áreas infestadas (Novaretti, 2009).

1           A despeito de vários gêneros de nematoides se mostrarem patogênicos à cana-de-  
2   açúcar, *Meloidogyne* e *Pratylenchus* são os responsáveis pela maior parte das perdas na  
3   cultura (Moura; Oliveira, 2009). Essas perdas ocorrem em consequência de mudanças  
4   morfológicas e fisiológicas no sistema radicular, prejudicando a absorção e o transporte de  
5   água e de nutrientes (BARKER et al., 1998).

6           No solo, os nematoides endoparasitas são atraídos até a planta hospedeira por um  
7   gradiente de concentração formado por exsudados radiculares, proporcionando um sinal de  
8   reconhecimento (Ferraz; Monteiro, 2011). No entanto, estudos relacionados com a influência  
9   da nutrição mineral sobre as fitonematoses da cana-de-açúcar são escassos, requerendo  
10  elucidação sobre o papel de nutrientes chaves e sobre as formas pelas quais os nutrientes  
11  podem reduzir a infecção, contribuindo para o adequado manejo populacional (Santana-  
12  Gomes et al., 2013).

13          Estresses bióticos (parasitismo de micro-organismos) e abióticos (flutuações de  
14  temperatura, umidade e radiação solar) sofridos pelas plantas durante o ciclo de vida  
15  estimulam diferentes respostas (De Wit, 2007) e mecanismos de defesa (enzimáticos e não  
16  enzimáticos) (Barbosa et al., 2012). Compreender esses mecanismos é relevante para o  
17  desenvolvimento de variedades resistentes (Nascimento; Barrigossi, 2014) e essencial para  
18  um manejo mais eficiente e duradouro. Contudo, no campo, esses estresses não ocorrem de  
19  forma isolada. Ao contrário, ocorrem associados a vários fatores e em diferentes intensidades,  
20  aumentando a complexidade do problema.

21          A correta identificação das espécies de nematoides presentes e a determinação dos  
22  níveis populacionais são fundamentais para que se defina o manejo adequado. Entretanto,  
23  outros fatores, a exemplo do estado nutricional da cultura, constituem elementos importantes  
24  para o sucesso efetivo do manejo. Além do mais, os nematoides se distribuem no campo de  
25  forma agregada (Barker, 1985) e a geoestatística é a ferramenta mais adequada para dados  
26  com esse tipo de distribuição (Pinheiro et al., 2008). Os mapas de isolinhas criados após a

1 krigagem dos dados auxiliam no controle de nematoides e na melhoria da qualidade do solo,  
2 pois torna mais fácil a identificação de regiões problemáticas para o desenvolvimento da  
3 cultura (Silva et al., 2008).

4 Diante do exposto, objetivou-se avaliar as relações entre a distribuição espaço-  
5 temporal dos nematoides endoparasitas *Meloidogyne* e *Pratylenchus* e atributos biométricos,  
6 nutricionais e enzimáticos da cana-de-açúcar (cana-planta e cana-soca).

## 7 MATERIAL E MÉTODOS

### 8 *Área de Estudo*

9 O estudo foi conduzido em duas áreas cultivadas com cana-de-açúcar, em manejo de  
10 sequeiro, situadas no Município de Camutanga, Pernambuco, Brasil. A área 1 (A1)  
11 (25°71'00"S, 91°85'24"W) era cultivada com cana-planta, variedade RB86-7515, e a área 2  
12 (A2) (26°70'54"S, 91°95'12"W), com cana-soca, variedade RB 86-3129. A seleção das áreas  
13 fundamentou-se no histórico de nematoides fornecido pelas unidades produtoras. A região é  
14 caracterizada por clima tropical com chuvas de inverno e verão seco, tipo As, segundo  
15 Köppen, com temperatura média anual de 25,2 °C e precipitação média de 1.211 mm  
16 (ALVARES et al., 2013). A precipitação no período de amostragem é representada na Figura  
17 1.

18 Os solos das áreas de estudo foram classificados como Argissolo Vermelho-Amarelo,  
19 com composição granulométrica média de 21% de argila, 11% de silte e 68% de areia (A1), e  
20 Argissolo Amarelo distrófico com composição granulométrica média de 16% de argila, 1% de  
21 silte e 83% de areia (A2). O histórico de adubação das áreas é baseado em aplicações de  
22 fertilizantes amoniacais.

23 Inicialmente, realizou-se o georreferenciamento das áreas a partir da demarcação do  
24 seu perímetro, utilizando-se aparelho de GPS de navegação portátil. Posteriormente, uma  
25 malha amostral foi gerada e sobreposta em cada área, com dimensões 6 × 6 m, totalizando 36

1 pontos, distantes entre si de 10 m. As amostras foram coletadas aos 6 (fevereiro de 2014, T6),  
2 9 (maio de 2014, T9) e 12 (agosto de 2014, T12) meses após o plantio da cana (A1) e corte  
3 para renovação da soca (A2).

#### 4 *Análise nematológica*

5 Foram retiradas amostras de raiz, nas malhas amostrais, para as análises  
6 nematológicas. Após a coleta, as amostras de raiz foram acondicionadas em sacos plásticos  
7 devidamente etiquetados e encaminhadas ao Laboratório de Fitonematologia, Departamento  
8 de Agronomia, Universidade Federal Rural de Pernambuco. Os fitonematoides foram  
9 extraídos por trituração rápida em liquidificador, seguido pelo método de flotação centrífuga  
10 em solução de sacarose de acordo com (Hussey and Barker 1973). A identificação dos  
11 gêneros foi efetuada segundo a chave de Mai et al. (1996).

#### 12 *Análise biométrica*

13 Para a análise dos padrões de crescimento da cana-de-açúcar, medições de variáveis  
14 biométricas foram realizadas durante as três amostragens, nas quais foram mensurados altura  
15 do colmo, diâmetro dos colmos no 3º nó, número de colmos e perfilhos. A altura do colmo foi  
16 medida com auxílio de uma fita métrica a partir do solo até o colarinho da folha<sup>+1</sup> e o  
17 diâmetro do colmo dimensionado utilizando um paquímetro no terço médio da planta.

#### 18 *Análise nutricional da planta*

19 A diagnose foliar foi efetuada por amostragens da folha<sup>+3</sup> (Malavolta, 1992), contada  
20 de cima para baixo, sendo cada amostra constituída de 3 folhas, coletadas aleatoriamente em  
21 cada ponto amostrado. As amostras foram submetidas à secagem em estufa com circulação  
22 forçada de ar a 65 °C, moídas em moinho tipo Wiley, e o teor de nutrientes extraído por  
23 digestão nitroperclórica. O potássio foi determinado por fotometria de chama, o cálcio e o

1 magnésio, por espectrofotometria de absorção atômica, e o fósforo foi quantificado por  
2 espectrofotometria (Silva, 2009).

### 3 *Análise enzimática da folha*

4 Foram coletados, aos seis e aos nove meses, folhas de cana-de-açúcar para a análise da  
5 atividade enzimática. Para isto, utilizou-se a 3ª folha (de cima para baixo) de cada planta que,  
6 em seguida, foi envolvida em papel alumínio, mergulhada em nitrogênio líquido e transferida  
7 para freezer a -26 °C, até o momento das análises enzimáticas.

8 O extrato das amostras foi preparado para as análises, pela homogeneização de 0,1 g  
9 de matéria fresca em 4 mL do tampão fosfato de sódio 0,1 M (pH 6,5) adicionado de 0,05 g  
10 de polivinilpirrolidona (PVP). O homogenato foi centrifugado a 10.000 x g a 4 °C por 10  
11 minutos (Zeraik et al., 2008) e coletado o sobrenadante. Com este, foram determinadas as  
12 atividades das enzimas ascorbato peroxidase (APX) e superóxido dismutase (SOD)  
13 (Giannopolitis; Ries, 1997).

14 A atividade da ascorbato peroxidase foi determinada pela adição de 0,1 mL do extrato  
15 ao meio de reação, constituído por 2,7 mL de tampão fosfato de potássio a 50 mM, pH 6,0, e  
16 75 µL de ácido ascórbico 0,8 mM. O consumo de ascorbato foi detectado pelo decréscimo da  
17 absorvância a 290 nm (Nakano; Asada, 1981).

18 A atividade da superóxido dismutase foi determinada de acordo com o método de  
19 Giannopolitis e Ries (1977), tendo como base a capacidade da enzima em inibir a redução do  
20 NBT (nitroblue tetrazolium) por radicais superóxido. Alíquotas de 100 µM do extrato foram  
21 transferidas para tubos de ensaio contendo meio de reação composto por tampão fosfato de  
22 potássio 50 mM (pH 7,8), EDTA 0,1 mM, metionina 13 mM e NBT 75 µM. A reação foi  
23 iniciada pela adição de riboflavina 2 µM, seguido da iluminação do meio de reação com  
24 lâmpadas fluorescentes de 30 W em caixa fechada. Após 5 min, a reação foi interrompida

1 pelo desligamento das luzes e as leituras foram realizadas em espectrofotômetro no  
2 comprimento de onda de 560 nm.

### 3 *Geoestatística*

4 A análise descritiva (média, mediana, desvio padrão, coeficientes de variação,  
5 assimetria e curtose) foi realizada para descrever o comportamento das variáveis durante os  
6 três períodos de amostragem. Também foi realizada a análise de distribuição espacial das  
7 variáveis. Para efetuar esta análise, os dados relativos à nematofauna e à atividade enzimática  
8 foram transformados para  $\log(x+1)$ . O coeficiente de variação foi classificado de acordo com  
9 Warrick e Nielsen (1980) em baixo ( $CV \leq 12\%$ ), médio ( $12 < CV \leq 60\%$ ) e alto ( $CV > 60\%$ ).

10 Os dados foram avaliados quanto à distribuição normal por meio do teste de aderência  
11 à normalidade de Kolmogorov-Smirnov a 5% de significância. A análise geoestatística foi  
12 realizada com os dados obtidos nas diferentes épocas de amostragem, utilizando o programa  
13 GEO-EAS (Geostatistical Environmental Assessment Software) (Englund; Sparks, 1991). A  
14 análise da dependência espacial foi realizada por meio do ajuste do semivariograma clássico  
15 construído a partir da estimativa dos semivariâncias (Equação 1) (Journel; Huijbregts, 1978).

$$16 \quad \hat{\gamma}(h) = \frac{1}{2N(h)} \sum_{i=1}^n [Z(x_i + h) - Z(x_i)]^2 \quad \text{Eq. 1}$$

17 onde:

18  $\hat{\gamma}(h)$  - é o valor da semivariância estimada a partir dos dados experimentais;

19  $Z(x_i + h)$  e  $Z(x_i)$  - São valores observados referentes às variáveis regionalizadas;

20  $N(h)$  - Número de pares dos valores, separados pela distância  $h$ .

21 Verificada a existência de tendência dos dados, uma superfície residual foi construída  
22 pela diferença entre uma superfície polinomial ajustada e os dados originais. Os resíduos  
23 passam a ser a variável regionalizada que possui, localmente, médias iguais a zero (LANDIM,  
24 2006), sendo, assim, ajustados semivariogramas experimentais aos resíduos.

1 Depois de gerados os semivariogramas experimentais, procedeu-se o ajuste dos dados  
2 a um modelo teórico, testando-se os mais comuns: esférico, exponencial e gaussiano, cujas  
3 fórmulas (Equações 2a e 2b, 3 e 4) encontram-se abaixo:

$$4 \quad \hat{\gamma}(h) = C_0 + C_1 \left[ 1.5 * \frac{h}{A} - 0.5 \left( \frac{h}{A} \right)^3 \right] \text{ para } h < A \quad (2a)$$

$$\hat{\gamma}(h) = C_0 + C_1 \quad h \geq A \quad (2b)$$

$$6 \quad \hat{\gamma}(h) = C_0 + C_1 \left[ 1 - \exp\left(-\frac{h}{A}\right) \right] \quad (3)$$

$$7 \quad \hat{\gamma}(h) = C_0 + C_1 \left[ 1 - \exp\left(-\left(\frac{h}{A}\right)^2\right) \right] \quad (4)$$

8 O grau de dependência espacial foi determinado de acordo com Cambardella et al.  
9 (1994), observando a proporção dos efeito pepita ( $C_0$ ) em relação ao patamar ( $C_0+C_1$ ),  
10 considerando grau de dependência forte ( $GDE < 25\%$ ), moderado ( $25 > GDE \leq 75\%$ ) e fraco  
11 ( $GDE > 75\%$ ).

12 Os modelos ajustados foram submetidos à validação cruzada, utilizando-se o teste de  
13 *Jack-Knifing* (Vauclin et al., 1983), observando os valores das médias próximas a zero e do  
14 desvio padrão próximo à unidade. Para a validação dos modelos, também foi observado o  
15 valor do coeficiente de determinação ( $R^2$ ). Os mapas de contorno, que representam a  
16 distribuição espacial das variáveis, foram elaborados com o auxílio do programa Surfer  
17 Software (Golden Software, 1995), com base nos valores estimados por krigagem, realizada  
18 com o programa GEO-EAS. Nos mapas, linhas próximas indicam regiões com maior  
19 variabilidade (heterogeneidade), enquanto linhas mais distantes representam menor  
20 variabilidade, ou seja, maior homogeneidade de certos atributos (Oliveira, 2014).

21

## RESULTADOS

### *Estatística descritiva*

Os resumos estatísticos descritivos para nematoides da raiz, variáveis de crescimento, enzimas e nutrição da cana-planta e cana-soca encontram-se na Tabela 1.

Na A1, aos seis, nove e 12 meses, as variáveis de crescimento apresentaram distribuição normal de acordo com o Teste de Kolmogorov-Smirnov (KS), exceto o número de perfilhos. Com relação às variáveis nematológicas, apenas *Meloidogyne*, aos 12 meses, apresentou distribuição normal. Para variáveis nutricionais da planta, a maior parte das variáveis apresentaram distribuição normal, com exceção de potássio e fósforo aos nove meses. Para as variáveis enzimáticas, o teste KS foi significativo para APX nos dois tempos de coletas (T9 e T12), entretanto, SOD não apresentou distribuição normal em nenhuma das épocas (Tabela 1).

Na A2, dentre as variáveis de crescimento, apenas o diâmetro não apresentou distribuição normal aos seis meses; aos nove meses, apenas a variável número de perfilhos não apresentou distribuição normal, enquanto que, aos 12 meses, as variáveis altura e número de perfilhos não apresentaram distribuição normal. Considerando as variáveis nematológicas, na A2, nenhum fitonematoide apresentou distribuição normal nos períodos de coleta das amostras (Tabela 1).

O coeficiente de variação (CV) indica o grau de homogeneidade ou heterogeneidade de determinada variável na área de estudo. Fundamentado nos limites de CV propostos por Warrick e Nielsen (1980), a variabilidade das variáveis estudadas oscilou de baixa (< 12%) a alta (> 60%), sendo o menor valor atribuído à enzima APX (CV = 3,57%), na A2, aos nove meses, e o maior valor, a *Pratylenchus* (336,51%), aos nove meses, na A1 (Tabela 1).

Para as variáveis nutricionais da cana-de-açúcar, na A1, com exceção de Mg (T6 e T12), Ca (T9) e P (T9 e T12), as variáveis exibiram variabilidade média e baixa. Na A2, a

1 maioria das variáveis também apresentaram variação de baixa a média, exceto as variáveis  
2 nutricionais, aos 12 meses, que se mostraram com alta variabilidade (Tabela 1). As variáveis  
3 de crescimento apresentaram variabilidade média a baixa, em ambas as áreas, com exceção do  
4 diâmetro na A1, no T6. O mesmo ocorreu com as enzimas, que exibiram baixa ou média  
5 variabilidade, nas duas áreas amostradas (Tabela 1).

6 *Estrutura espacial das variáveis nematológicas e de crescimento, de nutrição e de enzimas da*  
7 *cana-de-açúcar*

8 Os resultados da análise geoestatística para os fitonematoides, variáveis de  
9 crescimento, enzimas e nutrição da planta em cana-planta e em cana-soca encontram-se na  
10 Tabela 2. Na A1, *Pratylenchus* apresentou distribuição aleatória (efeito pepita puro) aos seis  
11 meses, o que também foi observado com *Meloidogyne* aos seis e aos 12 meses. Na A2, com  
12 *Pratylenchus* também não apresentou dependência espacial, aos nove meses. Nas demais  
13 épocas, nas duas áreas estudadas, a distribuição espacial dos dois gêneros de nematoides foi  
14 ajustada ao modelo exponencial.

15 Ao longo dos períodos de amostragem, observaram-se mudanças no modelo ajustado  
16 às variáveis nematológicas (Tabelas 2). Na A1, *Meloidoyne* apresentou modelo exponencial  
17 aos seis meses; aos nove, se ajustou ao modelo esférico, e voltou a apresentar dependência  
18 espacial ajustada ao modelo exponencial ao final do experimento. Na A2, o mesmo  
19 comportamento foi observado para *Pratylenchus*, que iniciou ajustado ao modelo exponencial  
20 e, ao fim das coletas, apresentou modelo esférico (Tabela 2).

21 As variáveis de crescimento e de nutrição da cana-de-açúcar, em ambas as áreas,  
22 ajustaram-se ao modelo esférico seguido do exponencial. Na A1, ambas as enzimas se  
23 ajustaram ao modelo esférico aos seis meses; aos nove meses, apenas a enzima APX se  
24 ajustou ao modelo esférico, e a enzima SOD não apresentou dependência espacial aos nove  
25 meses. Na A2, em ambos os períodos amostrados, ocorreu padrão de distribuição aleatório

1 (efeito pepita puro) para as enzimas, ou seja, as amostras não mostraram dependência  
2 espacial.

### 3 *Alcance da dependência espacial e semivariogramas*

4 Os semivariogramas teóricos para os fitonematoides, variáveis de crescimento,  
5 nutrição e enzimas de cana-planta e cana-soca estão representados nas Figuras 2-7. Em  
6 consonância com a Tabela 2, as variáveis que apresentaram dependência espacial foram  
7 ajustadas aos modelos esférico, exponencial ou gaussiano. No entanto, algumas variáveis não  
8 apresentaram dependência espacial, a exemplo da variável *Pratylenchus* aos seis meses na  
9 área 1 (Figura 2D) que mostra efeito pepita puro, o qual é denotado por uma reta paralela ao  
10 eixo das abscissas, com alcance nulo (Shahbazi et al., 2013). Em ambas as áreas (Figuras 2) e  
11 em todas as variáveis nematológicas que apresentaram dependência, o grau de dependência  
12 espacial foi forte ou moderado, conforme Cambardella et al. (1994).

13 O alcance da dependência espacial demonstra a máxima distância que possibilita  
14 identificar o padrão de distribuição espacial de uma dada variável (LIMA et al., 2014). Para  
15 *Meloidogyne*, na A1, o alcance variou de 15,70m a 18 m, aos 12 e aos nove meses,  
16 respectivamente (Figura 2 C, B); na A2, o alcance foi de 9,6 m no T9 (Figura 2-H). Para  
17 *Pratylenchus*, na A1, o alcance variou de 10,15 a 30 m, aos nove e aos 12 meses, de modo  
18 respectivo (Figura 2 E, F) e, na A2, o alcance variou de 8,2 a 12,59 m, para T6 e T12,  
19 respectivamente (Figura 2 J, M).

20 Para as variáveis de crescimento, o menor e o maior alcance foram encontrados para  
21 diâmetro e número de perfilhos, 12,19m (T12) e 47,74 m (T12), respectivamente, na A1  
22 (Figura 3 F, M). Na A2, o menor e o maior alcance foram observados para a variável  
23 diâmetro, com alcance variando de 11,50m (T9) a 23,08 m (T12) (Figura 4 E, F),  
24 respectivamente. Para as variáveis nutricionais, os alcances variaram de 15,95 (T9) a 48,40 m  
25 (T9) na A1, para fósforo e cálcio, respectivamente (Figura 6 B, E), enquanto, na A2, os

1 menores e maiores alcances foram registrados para o cálcio, que variaram de 10,50 (T6) a  
2 25,73 m (T12) (Figura 7 D, F). O alcance para as enzimas, na A1, variou de 11,00 m (T6)  
3 para SOD e 17,93 m (T6) para APX (Figura 5 C, A).

4 Com relação às épocas de amostragem, os alcances de *Meloidogyne* (A1) aumentaram  
5 da primeira para segunda época de amostragem (Figura 2 A, C), como também os de  
6 *Pratylenchus* (A2) (Figura 2 J, M). De forma semelhante, também foi observada maior  
7 homogeneidade das variáveis altura e diâmetro (Figura 4-A, C, D, E) com o aumento do  
8 alcance ao longo do tempo na A2.

### 9 *Mapas das áreas estudadas*

10 Nos mapas de isolinhas, observam-se regiões com maior densidade populacional de  
11 fitonematoides (Figura 8), maior concentração de variáveis de crescimento (Figura 9), de  
12 teores de nutrientes (Figuras 10) e de enzimas (Figura 10) da planta, indicadas por manchas  
13 escuras.

14 A altura e o diâmetro, aos 12 meses na A1 (Figuras 11B e 12C), se concentram nas  
15 regiões de menor densidade de *Meloidogyne* e *Pratylenchus* (Figuras 10C e 10E). Na A2, aos  
16 seis meses, as variáveis diâmetro do colmo (Figura 9 I), número de perfilhos (Figura 9 O) e  
17 número de colmos (Figura 9 M) se concentraram em regiões de menor população de  
18 *Pratylenchus* (Figura 8 G).

19

20

## DISCUSSÃO

21 Apesar de alguns dados não apresentarem normalidade, a análise geoestatística pode  
22 ser realizada, no entanto, os dados que seguem distribuição normal fornecem maior precisão  
23 nas estimativas da krigagem (Isaaks; Srivastva, 1989; Cressie, 1991).

24 Os altos valores de CV das variáveis nematológicas, em ambas áreas estudadas,  
25 podem ser explicados pelas grandes diferenças entre os valores máximos e mínimos em seu

1 conjunto de dados, ou seja, há uma maior dispersão dos dados em relação à média, sugerindo  
2 maior heterogeneidade da variável (Frogbrook et al., 2002).

3 A alta variabilidade é frequentemente relatada em estudos com nematoides (Cardoso  
4 et al., 2012; Oliveira, 2014; Leitão, 2015). Os padrões de distribuição espacial de nematoides  
5 são geridos por macro e microcomponentes, em que o componente macro é influenciado por  
6 variáveis ambientais, de formação do solo e vegetativos; enquanto que o micro está  
7 relacionado ao ciclo de vida, à habilidade de dispersão e ao hábito alimentar do próprio  
8 nematoide (Arieira, 2012). Isso explica a distribuição heterogênea dos fitonematoides no  
9 campo, nos diferentes períodos de amostragem, nas áreas estudadas.

10 Para a maioria das variáveis nutricionais estudadas, observaram-se variabilidades  
11 média e baixa. Esses resultados corroboram com os obtidos por Bernardi et al. (2002),  
12 demonstrando, assim, que os teores foliares de nutrientes para uma mesma espécie vegetal  
13 tendem a se manter dentro de uma determinada faixa de variação.

14 Sugere-se que essa grande variação nas épocas de coletas pode ter ocorrido pelos  
15 fatores abióticos que podem interferir no processo de absorção pela planta. Segundo  
16 Berndtsson e Bahri (1995), as propriedades químicas do solo, tipo de planta, propriedades  
17 genéticas e variáveis do solo (disponibilidade de água, concentração dos solutos, etc.) podem  
18 afetar significativamente a variabilidade química na planta. Camelo et al. (1994) também  
19 relataram a interferência de fatores abióticos na distribuição do fósforo absorvido pelas  
20 plantas. Esses fatores podem ser divididos em externos (disponibilidade do nutriente, aeração,  
21 temperatura, o próprio elemento, interação com outros íons, pH, micorrizas e rizosfera) e  
22 internos (potencialidade genética, estado iônico interno, nível de carboidratos, intensidade  
23 transpiratória, morfologia das raízes) (Malavolta et al., 1997).

24 A distribuição aleatória encontrada nas variáveis nematológicas se deve,  
25 principalmente, à escala de amostragem utilizada (Oliveira, 2014), ou seja, o espaçamento  
26 utilizado não foi satisfatório para caracterizar a distribuição espacial dos nematoides parasitos

1 de planta. Sugere-se, então, a utilização de menor distância entre pontos em trabalhos futuros  
2 para determinar a distribuição espacial. No entanto, ainda não há um espaçamento ótimo para  
3 caracterização da dependência espacial de nematoides, visto que Hua et al. (2008)  
4 evidenciaram efeito pepita puro para nematoides com espaçamento amostral de 2 m. A  
5 distribuição aleatória de nematoides também foi relatada por outros autores (Oliveira, 2014;  
6 Cardoso et al., 2012; Dinardo-Miranda; Fracasso, 2010).

7 Ao longo dos períodos de amostragem, observaram-se mudanças no modelo ajustado  
8 às variáveis nematológicas. Este fenômeno pode ter ocorrido por causa da influência de  
9 fatores abióticos, tais como a pluviosidade, que diferiu nos períodos de nove e 12 meses de  
10 amostragem. No entanto, em ambas as áreas estudadas, padrões de distribuição espacial dos  
11 nematoides foram ajustados, em sua maioria, ao modelo exponencial. Porém, em estudos  
12 geostatísticos, o comportamento de nematoides é melhor ajustado ao modelo esférico  
13 (Oliveira, 2014; Leitão, 2015), que se aplica a atributos com alta continuidade espacial ou  
14 menos erráticos a curtas distâncias (Isaaks; Srivastava, 1989).

15 As variáveis de crescimento e de nutrição da cana-de-açúcar, nas áreas estudadas,  
16 ajustaram-se ao modelo esférico seguido do exponencial. Bernardi et al. (2002) também  
17 encontraram ajustes de semivariogramas a esses dois modelos quando estudaram os teores  
18 foliares de nutrientes em soja, o que evidencia que os modelos esférico e exponencial podem  
19 ser utilizados para explicar a distribuição temporal dessas variáveis.

20 As variáveis nematológicas tiveram significativas variações quanto ao alcance e  
21 dependência espacial ao longo do estudo. Outros estudos também mostram diferenças no  
22 valor do alcance e dependência espacial de nematoides, indicando que o manejo imposto na  
23 área, textura do solo e regime de precipitação local promovem maior ou menor influência para  
24 esses patógenos (Oliveira, 2014; Viketoft, 2013). A variação na ocorrência de chuvas ao  
25 longo do período de amostragem (Figura 1) corrobora essa oscilação dos atributos avaliados.

1 Os alcances de *Meloidogyne* (A1) e de *Pratylenchus* (A2) aumentaram da primeira  
2 para a segunda época de amostragem. Esse comportamento demonstra que os gêneros de  
3 fitonematoides estudados tornaram-se mais homogêneos ao longo dos períodos de  
4 amostragem. O aumento de alcance para ambos os nematoides coincide com o aumento nos  
5 níveis de pluviosidade, provavelmente, criando regiões com melhores condições de  
6 sobrevivência desses fitonematoides durante as segunda e terceira coletas em ambas as áreas.

7 Também foi observada maior homogeneidade das variáveis de crescimento altura e  
8 diâmetro na A2. Infere-se que as boas condições nutricionais e fatores ambientais tenham  
9 favorecido o bom funcionamento da planta. De modo geral, quanto melhor o estado  
10 nutricional da planta, mais tolerante ela ficará ao parasitismo dos fitonematoides e,  
11 conseqüentemente, apresentam melhor desenvolvimento. Essa tolerância pode ainda ser  
12 favorecida pelo efeito da nutrição mineral sobre as estruturas anatômicas da planta como, por  
13 exemplo, modificação da espessura das células epidérmicas e da cutícula, parede celular com  
14 maior ou menor grau de silificação, suberização e lignificação (Marschner, 1997).

15 As variáveis altura e diâmetro dos colmos, na A1, aos 12 meses se concentram nas  
16 regiões de menor densidade de *Meloidogyne* e *Pratylenchus*. Quando na presença de  
17 fitonematoides, as plantas de cana-de-açúcar reduzem suas características biométricas, como  
18 altura da planta, além da queda no número de perfilhos e colmos malformados (Hemaprabha  
19 et al., 2004).

20 As variáveis diâmetro do colmo, número de perfilhos e número de colmos, aos seis  
21 meses na A2, se concentraram em regiões de menor população de *Pratylenchus*, o que sugere  
22 que os nutrientes cálcio e magnésio, presentes nesse mesmo período, influenciaram, de forma  
23 positiva, o desenvolvimento da cultura, e favoreceu a competição contra esses fitopatógenos.

24 Em solos que favoreçam a nutrição equilibrada da planta hospedeira, a resistência e,  
25 ou tolerância da planta pode ser aumentada, dificultando a penetração e o desenvolvimento  
26 dos nematoides (Zambolim et al., 2005). Asano e Moura (1995), estudando a severidade da

1 meloidoginose causada por *M. incognita* raça 1 na cultura da cana-de-açúcar em solos  
2 arenosos, verificaram que, com a redução significativa do fitonematoide, houve maior  
3 disponibilidade de macronutrientes. Oliveira et al. (2012), ao avaliarem o efeito de diferentes  
4 doses de silicato de cálcio e magnésio sobre a reprodução de *M. javanica* e sobre o  
5 desenvolvimento de mudas de bananeira ‘Prata Anã’, observaram que a reprodução do  
6 fitonematoide foi afetada por aplicações de diferentes doses de nutrientes e que estes  
7 proporcionaram incremento na matéria seca do rizoma.

8 Com o presente trabalho, pode-se concluir que os padrões de distribuição espaço-  
9 temporal de *Meloidogyne* e de *Pratylenchus* na A1 diferem com a época de amostragem,  
10 tornando-se mais homogêneos ao longo do tempo. O desenvolvimento da cana-soca foi  
11 prejudicado por regiões de alta densidade populacional de *Pratylenchus*, coincidentes com  
12 regiões de baixos teores de K e Mg.

13 Dentre os nutrientes absorvidos pela planta, o cálcio apresentou maior zona de  
14 influência em ambas as áreas, caracterizada pelos altos valores de alcance. Além disso, a  
15 dependência espacial dos nutrientes, no geral, foi mais representativa na área com cana-soca,  
16 gerando-se mapas durante todo o período experimental. O mapeamento das enzimas APX e  
17 SOD mostra que a pluviosidade exerce influência na expressão das mesmas. Em condições de  
18 baixa pluviosidade, foi possível identificar dependência espacial das enzimas (A1), as quais  
19 foram mais expressivas; contudo, as enzimas não apresentaram dependência espacial na A2,  
20 onde houve maior pluviosidade.

21

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1
- 2 Alvares C. A., J. L. Stape, P. C. Sentelhas, J. L. M. Gonçalves and G. Sparovek 2013.
- 3 Koppen's climate classification map for Brazil. *Meteorologische Zeitschrift* 22:711-728.
- 4 Arieira, G. O. 2012. Diversidade de nematoides em sistemas de culturas e manejo do solo. 98
- 5 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina.
- 6 Asano, S., and R. M. Moura. 1995. Efeitos dos macro e dos micronutrientes na severidade da
- 7 Meloidoginose da cana-de-açúcar. *Nematologia Brasileira* 19:15-20.
- 8 Barbosa, K. A. G. R. A. Garcia, L. C. Santos, R. A. Teixeira, F. G. Araújo, M. R. Rocha, and
- 9 F. S. O. Lima. O. 2012 Avaliação da adubação potássica sobre populações de *Heterodera*
- 10 *glycines* em cultivares de soja resistente e suscetível. *Nematologia Brasileira* 34:50-57.
- 11 Barker, K. R. Sampling nematode communities 1985. Pp. 3-17 *In* Baker, K. R.; C. C. Carter,
- 12 and J. N. Sasser, Ed. An advanced treatise on Meloidogyne: II. Methodology, Raleigh: North
- 13 Caroline State University/USAID.
- 14 Barker, K. R., G. A. Pederson, and G. L. Windham. 1998. Plant and nematode interaction.
- 15 Madison: ASA, CSSA, SSSA, 771p.
- 16 Bernardi, A. C. C., C. A. F. S. Carmo, P. L. O. Machado, C. A. Silva, L. L. O. Valencia, and
- 17 M. S. Meirelles, M. S. 2002. Variabilidade espacial de teores de nutrientes em folhas de soja
- 18 como ferramenta para agricultura de precisão. Rio de Janeiro, Embrapa Solos, 2002. 5p.
- 19 (Comunicado Técnico 17)
- 20 Berndtsson, R. and A. Bahri. 1995. Field variability of element concentrations in wheat and
- 21 soil. *Soil Science* 159:311-320.

- 1 Cambardella, C. A., T. B. Moorman, J. M. Novak, T. B. Parkin, D. L. Karlen, R. F. Turco,  
2 and A. E. Konopka. 1994. Field scale variability of soil properties in Central Iowa soils. *Soil*  
3 *Science Society of America Journal* 58:1501-1511.
- 4 Camelo, L. G. L., J. Sierra, C. Fumagalli, and S. R. Miguez. 1994. Variabilidade espacial de  
5 fosforo en suelo y planta en um Argiudol Típico bajo cultivo de maiz. *Revista de la Facultad*  
6 *de Agronomia* 14:1-18.
- 7 Cardoso, M. O., E. M. R. Pedrosa, M. M. Rolim, E. F. F. Silva, and P. A. Barros. 2012.  
8 Effects of soil mechanical resistance on nematode community structure under conventional  
9 sugarcane and remaining of Atlantic Forest. *Environmental Monitoring and Assessment*  
10 184:3529-3544.
- 11 Conab. 2015. Companhia Nacional de Abastecimento. Acompanhamento de safra brasileira:  
12 cana-de-açúcar, terceiro levantamento, janeiro/2015.  
13 Online.<[http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/15\\_04\\_13\\_09\\_39\\_02\\_boletim](http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/15_04_13_09_39_02_boletim_cana_portugues_-_1o_lev_-_15-16.pdf)  
14 [\\_cana\\_portugues\\_-\\_1o\\_lev\\_-\\_15-16.pdf](http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/15_04_13_09_39_02_boletim_cana_portugues_-_1o_lev_-_15-16.pdf)>.
- 15 Cressie, N. 1991. *Statistics for spatial data*. New York: John Wiley.
- 16 De Wit, P. J. 2007. How plants recognize pathogens and defend themselves. *Cellular and*  
17 *Molecular Life Science*, 64-2726-2732.
- 18 Dias, M. O. S., O.Cavalett, R. Maciel, and A. Bonomi. 2014. Integrated First and Second  
19 Generation Ethanol Production from Sugarcane. *Chemical Engineering Transactions* 37:445-  
20 450.
- 21 Dinardo-Miranda, L. L., and J. V. Fracasso. 2010. Spatial and temporal variability of  
22 plantparasitic nematodes population in sugarcane. *Bragantia* 69:39-52.

- 1 Englund, E. and A. Sparks. 1988. GEO-EAS (Geostatistical Enviromental Assessment  
2 Software): User's Guide. Las Vegas: Enviromental Protection Agency. 192p.
- 3 Ferraz, L. C. C. B., and A. R. Monteiro. 2011. Nematoides. Pp. 277-305 *in* Amorim, L.  
4 Rezende, J. A. M., A. Bergamim Filho. 4ed. Manual de Fitopatologia: Princípios e Conceitos.  
5 São Paulo: Ceres.
- 6 Frogbrook, Z. L., M. A. Oliver, M. SalahI, and R. H. Ellis, R. H. 2002. Exploring the spatial  
7 relations between cereal yield and soil chemical properties and the implications for sampling.  
8 Soil Use and Management 18:01-09.
- 9 Giannopolitis, C. N., and S. K. Ries. 1977. Superoxide dismutases: I., occurrence in higher  
10 plants. Plant Physiology 59:309-314.
- 11 Golden Software. 1995. Surfer for Windows: Surface mapping system. Versão 6.01. Golden.
- 12 Hemaprabha, G., R. Nagarajan, and S. Alarmelu. 2004. Response of sugarcane genotypes to  
13 water défcit stress. Sugar Tech 6:165-168.
- 14 Hua, J., Y. Jiang, and W. Liang. 2008. Effects of vegetation coverage on the spatial  
15 distribution of soil nematode trophic groups. Frontiers of Biology 3:63-67.
- 16 Hussey, R. S., and K. R. Barker, K. R.1973. A comparison of methods for colecting inocula  
17 of *Meloidogyne* spp. including a new technique. Plant Disease repórter, 57:1025-1028.
- 18 Isaaks, E. H. and M. Srivastava.1989. An introduction to applied geostatistics. Oxford New  
19 York: University Press, 600p.
- 20 JourneL, A. C. and C. J. Huijbregts. 1978. Mining geostatistics. Londres: Academic Press,  
21 600p.
- 22 Landim, P. M. B. 2006. Sobre geoestatística e mapas. Terra e Didática 2:19-33.

- 1 Leitão, D. A. H. S. 2015. Dinâmica espaço-temporal da nematofauna, atributos edáficos e  
2 crescimento de goiabeiras sob manejo com torta de nim. 204 f. Dissertação (Mestrado em  
3 Engenharia Agrícola) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife.
- 4 Lima, J. S. S., D. A. O. Bona, N. C. Fiedler, and D. P. Pereira. 2014. Distribuição espacial das  
5 frações granulométricas argila e areia total em um Latossolo Vermelho-Amarelo. Revista  
6 *Árvore* 38:513-521.
- 7 Mai, W. F., P. G. Mullin, H. H. Lyon, and K. Loeffle. 1996. Plant-parasitic nematodes: A  
8 pictorial key to genera. Ithaca, NY: Cornell University Press. 277p.
- 9 Marschner, H. 1997. Mineral nutrition of higher plants. London: Academic Press, 889p.
- 10 Malavolta, E. 1992. ABC da análise de solos e folhas. São Paulo: Ceres.
- 11 Malavolta, E., G. C. Vitti, and S. A. Oliveira. 1997. Avaliação do estado nutricional das  
12 plantas, 319p.
- 13 Manners, J. M. Functional genomics of sugarcane. 2011. Pp. 89-168 *in* Kader, J. C., and M.  
14 Delseny. Eds Advances in Botanical Research. New York, Academic Press
- 15 Moraes, M. A. F. D., F. C. R. Oliveira, and R. A. Diaz-Chavez. 2015. Socio-economic  
16 impacts of Brazilian sugarcane industry. *Environmental Development* 16:31–43.
- 17 Moura, R. M., and I. S. Oliveira. 2009. Controle populacional de *Pratylenchus zae* em cana-  
18 de-açúcar em dois ambientes edáficos no nordeste do Brasil. *Nematologia Brasileira* 33:67-  
19 73.
- 20 Nakano, Y., and K. Asada. 1981. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific  
21 peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant Cell Physiology* 22:867-880.

- 1 Nascimento, J. B., and J. A. F. BARRIGOSI. 2014. O papel das enzimas antioxidantes na defesa  
2 das plantas contra insetos herbívoros e fitopatógenos. *Agrarian Academy* 1:234-240.
- 3 Novaretti, W. R. T. 2009. Nematoides desafiam produção de cana-de-açúcar. *Alfapress*  
4 *Comunicações*. Online. <http://www.agrosoft.org.br/agropag/211003.htm>.
- 5 Oliveira, A.K. S. Crescimento do pimenteiro e variabilidade espacial de nematoides e  
6 atributos do solo após incorporação da torta de nim. 2014. 164 f. Dissertação (Mestrado em  
7 Engenharia Agrícola) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife.
- 8 Oliveira, R. M., R. C. F. Ribeiro, A. A. Xavier, L. Pimenta, and G. H. Korndorfer. 2012.  
9 Efeito do silicato de cálcio e magnésio sobre a reprodução de *Meloidogyne javanica* e  
10 desenvolvimento de mudas de bananeira prata-anã. *Revista Brasileira de Fruticultura* 34:409-  
11 415.
- 12 Pinheiro, J. B., E. A. Pozza, A. A. Alexandre Pozza, A. S. Moreira, M. C. Alves, and V. P.  
13 Campos. 2008. Influência da nutrição mineral na distribuição espacial do nematóide de cisto  
14 da soja. *Nematologia Brasileira* 32:270-278.
- 15 Santana-Gomes, S. M., C. L. Dias-Arieira, M. Roldi, T. S. Dadazio, P. M. Marini, and D. A.  
16 O. Barizão. 2013. Mineral nutrition in the control of nematodes. *African Journal of*  
17 *Agricultural* 8:2413-2420.
- 18 Shahbazi, F., N. Aliasghar zad, S. A. Ebrahimzad, and N. Najafi. 2013. Geostatistical analysis  
19 for predicting soil biological maps under different scenarios of land use. *European Journal of*  
20 *Soil Biology* 55:20-27.
- 21 Silva, F. C. 2009. Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes. Brasília:  
22 Embrapa Informações Tecnológicas. 627p.

- 1 Silva, J. C. T., R. D. L. Oliveira, G. N. Jham, and N. D. C. Aguiar. 2008. Effect of neem seed  
2 extracts on the development of the soybean cysts nematode. *Tropical Plant Pathology* 33:171-  
3 179.
- 4 Vauclin, M., S. R. Vieira, G. Vachaud, and D. R. Nielsen. 1983. The use of cokriging with  
5 limited field soil observations. *Soil Science Society of America Journal* 47:175-184.
- 6 Viketoft, M. 2013. Determinants of small-scale spatial patterns: Importance of space, plants  
7 and factors for soil nematodes. *Soil Biology & Biochemistry* 62:92-98.
- 8 Warrick, A.W., and D. R. Nielsen. 1980. Spatial variability of soil physical properties the  
9 field. Pp. 319-344 *in* Hillel, D. (Ed). *Application of soil physics*. Academic Press: Nova  
10 Iorque.
- 11 Zambolim, L. F. A. Rodrigues, and A. S. Capucho. 2005. Resistência a doenças de plantas  
12 induzida pela nutrição mineral. Pp. 185-219 *in* Venzon, M., T. J. P. Júnior, and A. Pallini.  
13 *Controle alternativo de pragas e doenças*. Viçosa: EPAMIG.
- 14 Zeraik, A. E.; F. S. Souza, O. Fatibello Filho, and O. D. Leite. 2008. Desenvolvimento de um  
15 spot test para o monitoramento da atividade da peroxidase em um procedimento de  
16 purificação. *Química Nova* 31:731-734.

17

1 Tabela 1. Estatística descritiva dos nematoides em raiz, variáveis de crescimento, nutrição e  
 2 enzimas em cana-planta e em cana-soca em diferentes épocas de amostragem

Var	Máx	Mín	Média	Mediana	Curt	Assimetria	CV(%)	DP	KS
Área 1									
T6									
Alt	50,00	17,00	33,12	34,50	-0,51	-0,20	24,26	8,04	*
Diam	3,63	2,20	2,57	2,53	12,21	2,67	9,00	0,23	*
Col	7,67	4,00	5,85	6,00	-0,63	-0,10	16,70	0,98	*
Perf	7,33	1,67	3,69	3,67	1,70	0,91	31,55	1,16	ns
Melo	2,60	0,00	1,68	1,91	1,38	-1,54	44,27	0,74	ns
Praty	2,15	0,00	1,10	1,49	-1,68	-0,42	78,55	0,86	ns
Ca	0,34	0,01	0,14	0,13	0,83	0,93	55,88	0,08	*
Mg	19,75	1,07	2,83	2,34	34,48	5,81	103,68	2,93	*
K	7,81	5,09	6,54	6,52	0,86	-0,33	8,59	0,56	*
P	5,71	1,09	2,82	2,48	0,22	0,89	41,99	1,18	*
APX	4,35	3,04	3,89	3,93	2,23	-1,43	7,09	0,28	*
SOD	2,89	1,74	2,35	2,41	1,04	-1,01	9,58	0,23	ns
T9									
Alt	94,33	43,33	61,99	63,17	0,98	0,70	18,07	11,20	*
Diam	2,87	2,13	2,54	2,55	-0,23	-0,44	7,13	0,18	*
Col	13,67	8,00	11,32	11,33	-0,02	-0,23	11,42	1,29	*
Perf	1,67	0,00	0,64	0,67	-0,35	0,49	73,12	0,47	Ns
Melo	2,34	0,00	1,47	1,65	0,80	-1,29	46,03	0,68	Ns
Praty	0,46	0,00	0,04	0,00	8,42	3,15	336,51	0,12	Ns
Ca	0,57	0,00	0,17	0,09	0,27	1,31	113,92	0,19	*

Mg	2,23	1,05	1,43	1,41	2,44	1,24	17,13	0,24	*
K	9,76	1,64	7,96	8,07	15,60	-3,32	16,44	1,31	ns
P	7,31	0,69	2,81	2,14	0,90	1,21	61,44	1,73	ns
APX	4,34	3,56	3,90	3,89	0,05	-0,19	4,20	0,16	*
SOD	2,60	0,93	2,10	2,04	0,68	-0,59	16,97	0,36	ns

---

T12

---

Alt	197,67	106,33	164,13	163,50	2,80	-1,28	11,63	19,09	*
Diam	22,33	2,10	3,07	2,53	35,73	5,97	107,63	3,31	*
Col	22,33	12,33	17,94	18,00	0,79	-0,69	11,93	2,14	*
Perf	9,67	2,33	5,53	5,17	0,14	0,69	32,60	1,80	ns
Melo	3,40	0,00	1,97	2,01	1,45	-1,07	42,95	0,85	*
Praty	3,88	0,00	2,08	2,21	1,69	-1,05	42,81	0,89	ns
Ca	0,46	0,17	0,30	0,28	-0,47	0,27	22,47	0,07	*
Mg	9,43	0,79	2,22	1,56	9,28	2,71	75,42	1,68	*
K	12,17	6,53	9,27	9,29	-0,07	0,16	13,05	1,21	*
P	4,55	0,10	1,65	1,35	-0,40	0,66	71,30	1,18	*

---

Área 2

---

T6

---

Alt	134,00	68,67	99,07	98,67	-0,57	0,15	17,87	17,70	*
Diam	2,67	1,93	2,27	2,30	-0,58	-0,07	7,97	0,18	ns
Col	12,33	5,67	9,38	9,67	-0,19	-0,55	16,69	1,57	*
Perf	7,33	1,00	2,62	2,33	10,39	2,64	40,81	1,07	*
Melo	2,70	0,00	1,48	1,78	-0,91	-0,79	62,52	0,93	ns
Praty	2,16	0,00	1,13	1,50	-1,56	-0,53	74,24	0,84	ns
Ca	0,89	0,26	0,59	0,61	0,11	-0,22	25,00	0,15	*

Mg	2,53	0,19	1,16	1,13	1,81	0,60	40,47	0,47	*
K	4,18	2,60	3,34	3,31	0,84	0,40	10,12	0,34	*
P	7,67	1,29	4,06	4,38	-0,13	-0,09	36,12	1,47	ns
APX	4,25	3,35	3,91	3,88	0,03	-0,29	5,13	0,20	ns
SOD	2,60	1,77	2,45	2,54	4,35	-2,13	8,24	0,20	ns

---

T9

Alt	118,00	48,67	78,58	76,33	-0,54	0,22	22,02	17,31	*
Diam	2,77	2,03	2,40	2,35	-0,88	0,11	8,24	0,20	*
Col	14,33	7,33	11,72	11,67	0,16	-0,42	13,84	1,62	*
Perf	3,00	0,67	1,40	1,33	0,18	0,76	41,42	0,58	ns
Melo	2,21	0,00	1,46	1,72	0,65	-1,41	48,31	0,71	ns
Praty	2,06	0,00	1,14	1,27	-0,50	-0,83	58,58	0,67	ns
Ca	0,98	0,26	0,48	0,48	2,66	1,16	30,34	0,15	ns
Mg	7,18	0,39	1,17	1,04	31,01	5,38	91,33	1,07	*
K	4,49	2,26	3,78	3,93	2,42	-1,40	13,04	0,49	*
P	36,42	1,67	4,35	3,42	31,69	5,48	130,13	5,66	ns
APX	4,28	3,78	4,06	4,07	-1,17	-0,17	3,57	0,14	*
SOD	2,61	1,73	2,33	2,49	-0,62	-0,92	11,56	0,27	ns

---

T12

Alt	132,00	69,67	99,75	102,33	-0,91	-0,12	127,65	16,66	ns
Diam	2,92	1,70	2,15	2,13	2,26	0,74	92,98	0,23	*
Col	18,00	12,67	15,90	16,00	-0,35	-0,53	113,22	1,33	*
Perf	5,33	0,67	2,31	2,17	0,20	0,62	231,33	1,07	ns
Melo	3,00	0,00	1,66	1,77	1,04	-0,73	181,13	0,70	ns
Praty	2,15	0,00	0,69	0,00	-1,68	0,40	191,17	0,80	ns

Ca	0,72	0,25	0,45	0,43	0,29	0,47	119,37	0,11	ns
Mg	1,56	0,31	0,84	0,86	0,79	0,22	119,38	0,25	ns
K	4,79	3,49	4,08	4,05	-0,79	0,30	112,12	0,33	*
P	8,68	1,97	4,82	4,89	0,07	0,12	86,46	1,60	*

- 1 *Var: Variáveis; Alt: Altura; Diam: Diâmetro; Col: Colmo; Perf: Perfilho; Melo: Meloidogyne sp.;*  
2 *Praty: Pratylenchus sp.; Apx: Ascorbato peroxidase; Sod: Superóxido dismutase; Ca: Cálcio; Mg:*  
3 *Magnésio; K: Potássio; P: Fósforo; Max: máximo; Min: mínimo; Curt: curtose; CV: Coeficiente de*  
4 *Variação; DP: Desvio Padrão; KS: Teste de aderência à normalidade de Kolmogorov-Smirnov com*  
5 *significância a 1%. Os dados de Melo, Praty, Apx e Sod foram transformados em  $\log(x+1)$ .; A1: Área*  
6 *de Livramento (cana-planta); A2: Área de Jatiúca (cana-soca); T6 - aos seis meses, T9 – aos nove*  
7 *meses, T12 – aos doze meses*  
8

- 1 Tabela 2. Parâmetros dos semivariogramas teóricos, grau de dependência espacial (GDE) e  
 2 validação cruzada (Jack-Knifing) das variáveis de crescimento, nutrição e enzimas em cana-de-  
 3 açúcar em duas áreas e diferentes tempos amostrais.

Var	Modelo	C <sub>0</sub>	C <sub>1</sub>	a (m)	R <sup>2</sup>	C <sub>0</sub> /(C <sub>0</sub> +C <sub>1</sub> ) (%)	GDE	Jack-Knifing		
								Média	DP	
Área 1										
T6										
Melo	Exponencial	0,252	0,401	16,591	0,562	38,591	Mod.	0,021	1,071	
Praty	Efeito Pepita Puro									
Alt	Esférico	42,988	21,197	17,11	0,246	66,975	Mod.	-0,025	1,013	
Diam	Efeito Pepita Puro									
Colm	Exponencial	0,713	0,296	14,805	0,787	70,664	Mod.	0,029	0,893	
Perf	Efeito Pepita Puro									
P	Efeito Pepita Puro									
Ca	Efeito Pepita Puro									
Mg	Esférico	0,115	0,066	18	0,404	63,536	Mod.	0,058	0,989	
K	Efeito Pepita Puro									
APX	Esférico	0,047	0,029	17,931	0,026	61,842	Mod.	-0,023	1,143	
SOD	Esférico	0,002	0,049	11	0,028	3,922	Forte	0,003	1,047	
T9										
Melo	Esférico	0,09	0,37	18	0,771	19,565	Forte	0,003	1,025	
Praty	Gaussiano	0,004	0,012	10,158	0,601	25,000	Mod.	0,041	1,044	
Alt	Efeito Pepita Puro									
Diam	Efeito Pepita Puro									
Colm	Efeito Pepita Puro									

Perf	Efeito Pepita Puro								
P	Esférico	1,827	1,249	15,95	0,85	59,395	Mod.	0,001	1,12
Ca	Esférico	0,021	0,021	48,406	0,995	50,000	Mod.	0,024	1,049
Mg	Efeito Pepita Puro								
K	Efeito Pepita Puro								
APX	Esférico	0,014	0,014	14,899	0,34	50,000	Mod.	0,024	0,968
SOD	Efeito Pepita Puro								

---

T12

---

Melo	Exponencial	0,485	0,279	15,707	0,836	63,482	Mod.	0,018	0,92
Praty	Exponencial	0,2	0,735	30	0,711	21,390	Forte	0,019	1,127
Alt	Esférico	213,86	172,48	15,877	0,699	55,356	Mod.	0,008	1,01
Diam	Gaussiano	0,023	0,019	12,193	0,97	54,762	Mod.	0,057	0,914
Colm	Efeito Pepita Puro								
Perf	Esférico	1,756	1,672	47,744	0,95	51,225	Mod.	0,068	1,148
P	Efeito Pepita Puro								
Ca	Efeito Pepita Puro								
Mg	Efeito Pepita Puro								
K	Efeito Pepita Puro								

---

Área 2

---

Var	Modelo	C <sub>0</sub>	C <sub>1</sub>	a (m)	R <sup>2</sup>	C <sub>0</sub> /(C <sub>0</sub> +C <sub>1</sub> ) (%)	GDE	Jack-Knifing Média	DP
-----	--------	----------------	----------------	-------	----------------	--	-----	-----------------------	----

---

T6

---

Melo	Efeito Pepita Puro								
Praty	Exponencial	0,17	0,4	8,265	0,784	29,825	Mod.	-0,016	1,082
Alt	Exponencial	136,08	174,793	12,027	0,953	43,774	Mod.	-0,026	0,883

Diam	Exponencial	0,022	0,014	15,008	0,917	61,111	Mod.	0,008	0,964
Colm	Gaussiano	1,131	1,543	22,319	0,996	42,296	Mod.	-0,018	0,932
Perf	Esférico	0,212	0,322	12,997	0,822	39,700	Mod.	-0,044	1,449
P	Efeito Pepita Puro								
Ca	Esférico	0	0,024	10,5	0,662	0	Forte	-0,044	0,979
Mg	Exponencial	0,071	0,161	10,996	0,864	30,603	Mod.	0,067	1,078
K	Esférico	0,041	0,081	22,908	0,74	33,607	Mod.	0,024	1,193
APX	Efeito Pepita Puro								
SOD	Efeito Pepita Puro								

---

T9

---

Melo	Exponencial	0,092	0,386	9,645	0,917	19,247	Forte	0,04	1,145
Praty	Efeito Pepita Puro								
Alt	Esférico	79,668	209,356	13,918	0,955	27,564	Mod.	-0,045	1,004
Diam	Esférico	0,017	0,023	11,5	0,846	42,500	Mod.	0,07	1,064
Colm	Exponencial	1,793	1,13	20,309	0,958	61,341	Mod.	0,001	0,92
Perf	Efeito Pepita Puro								
P	Efeito Pepita Puro								
Ca	Efeito Pepita Puro								
Mg	Efeito Pepita Puro								
K	Esférico	0,078	0,19	13,501	0,454	29,104	Mod.	0,028	0,998
APX	Efeito Pepita Puro								
SOD	Efeito Pepita Puro								

---

T12

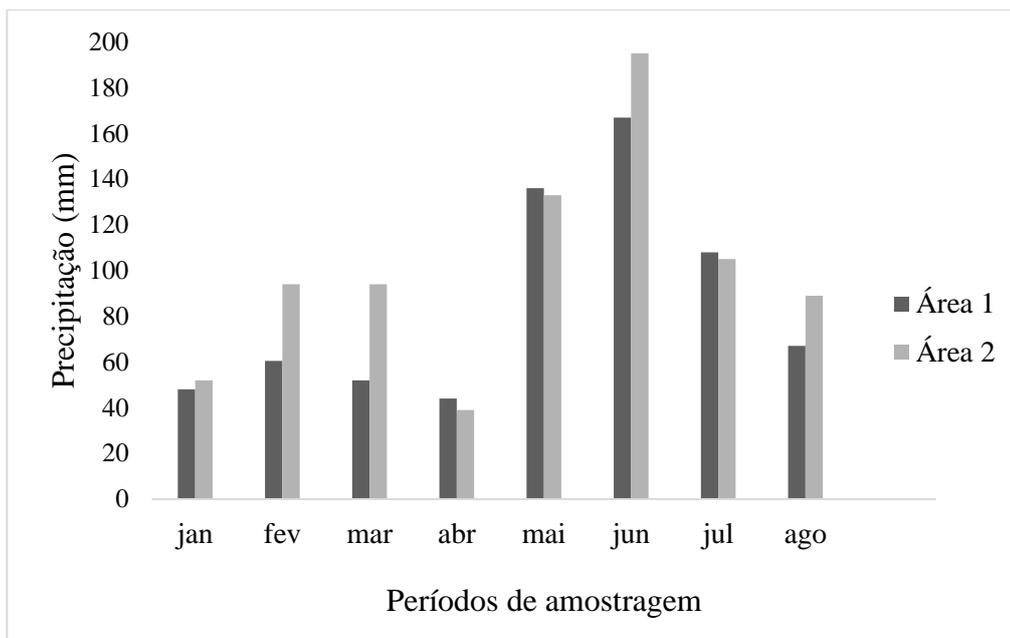
---

Melo	Efeito Pepita Puro								
Praty	Esférico	0,414	0,262	12,595	0,544	61,243	Mod.	0,046	1,013

Alt	Exponencial	120,94	196,785	15,605	0,965	38,059	Mod.	-0,003	0,994
Diam	Esférico	0,016	0,039	23,089	0,947	29,091	Mod.	0,019	1,087
Colm	Efeito Pepita Puro								
Perf	Efeito Pepita Puro								
P	Efeito Pepita Puro								
Ca	Gaussiano	0,009	0,013	25,739	0,961	40,909	Mod.	-0,058	1,087
Mg	Efeito Pepita Puro								
K	Esférico	0,031	0,088	14,107	0,898	26,050	Mod.	-0,008	1,009

1 *Var: variáveis; Melo: Meloidogyne sp.; Praty: Pratylenchus sp.; Alt: Altura; Diam: Diâmetro; Col:*  
2 *Colmo; Perf: Perfilho; Ca: Cálcio; Mg: Magnésio; K: Potássio; P: Fósforo; APX: Ascorbato*  
3 *peroxidase; SOD: Superóxido dismutase; C<sub>0</sub>– Efeito pepita; C<sub>1</sub>– Soleira; a – Alcance; R<sup>2</sup> – Coeficiente*  
4 *de determinação; DP – Desvio padrão. Valores orginais de nematoides e enzimas foram transformados*  
5 *para log(x+1).*

6

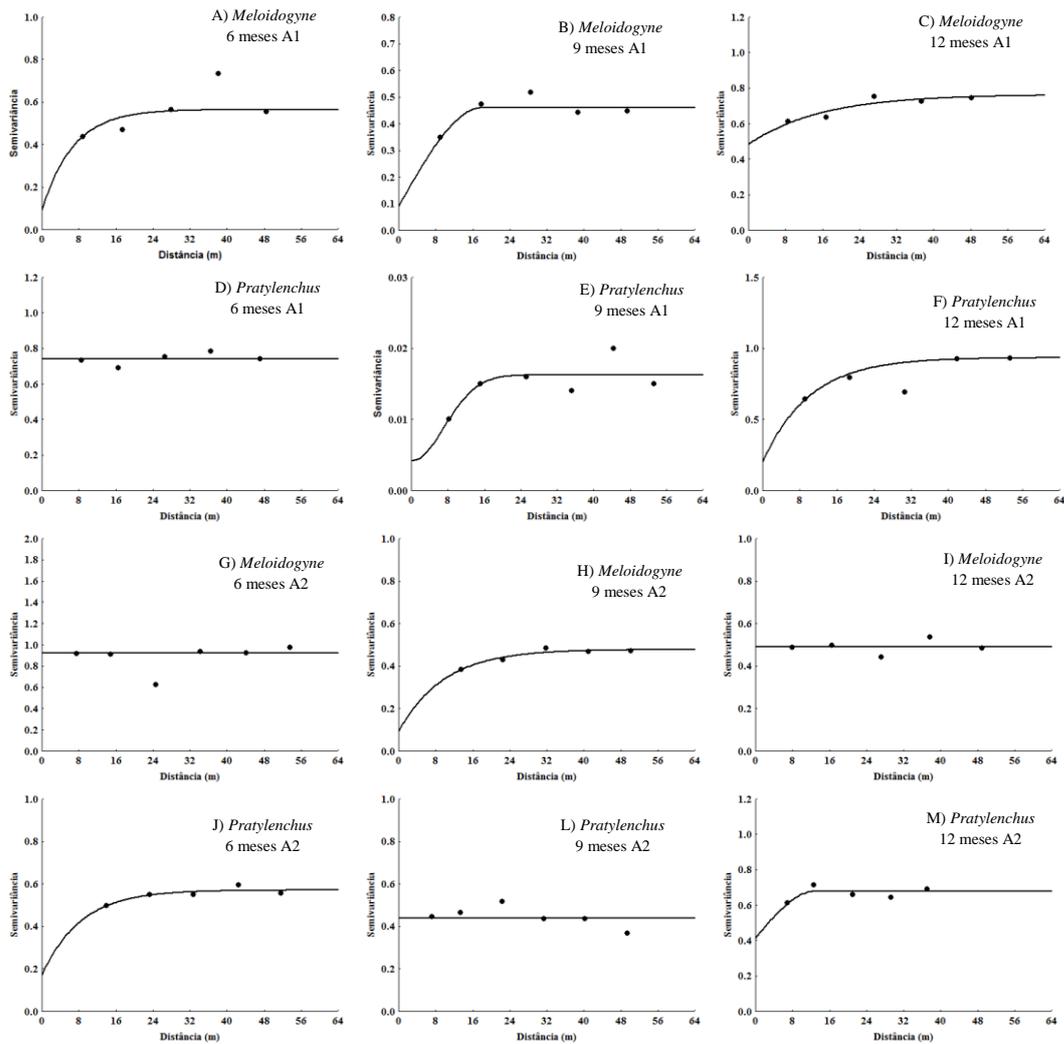


1

2 Figura 1. Distribuição das chuvas nas áreas de cultivo de cana-planta e de cana-soca durante o  
3 período experimental.

4

1



5

6 Figura 2. Semivariogramas teóricos para fitonematoides endoparasitas em cana-de-açúcar na  
7 Área 1, aos seis, nove e 12 meses após o plantio e na Área 2, aos seis, nove e 12 meses após o  
8 corte.

9

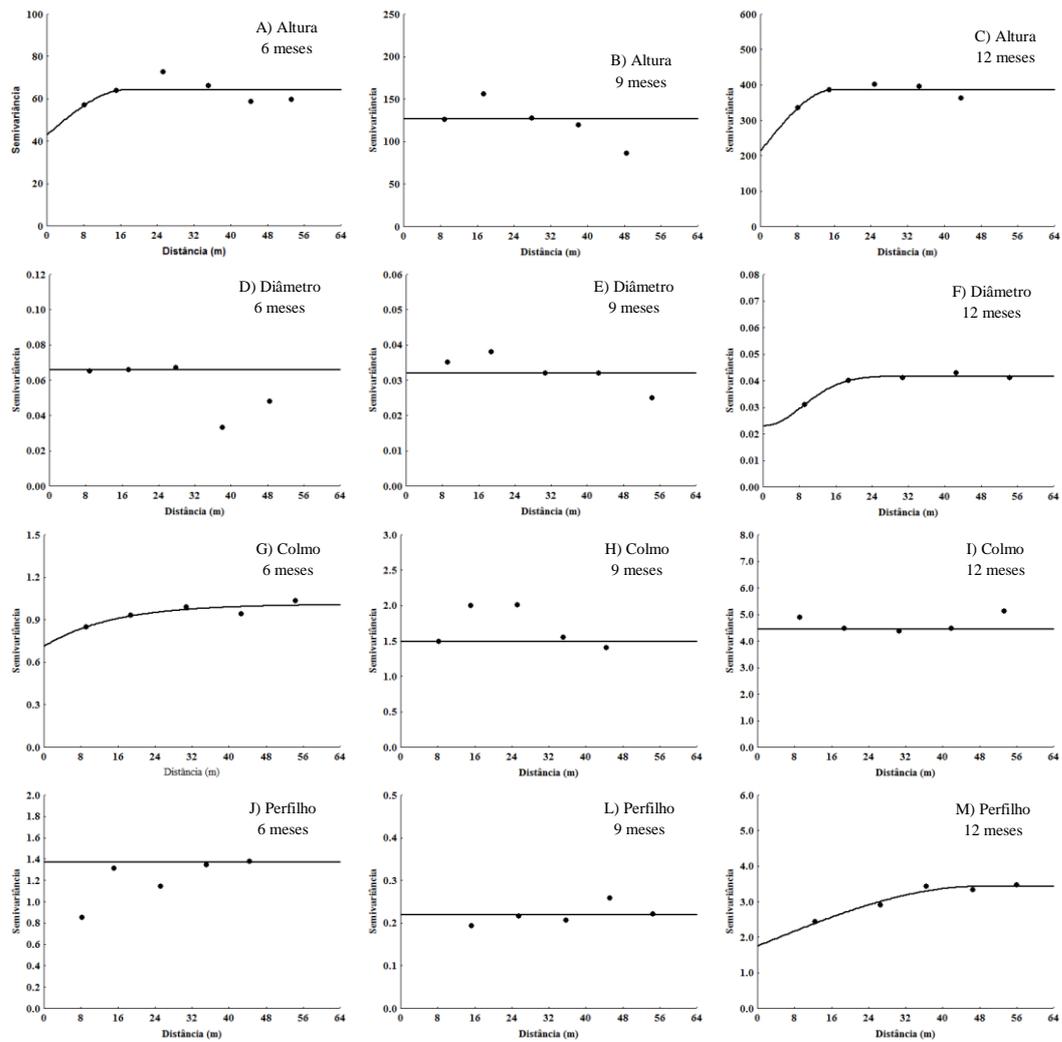
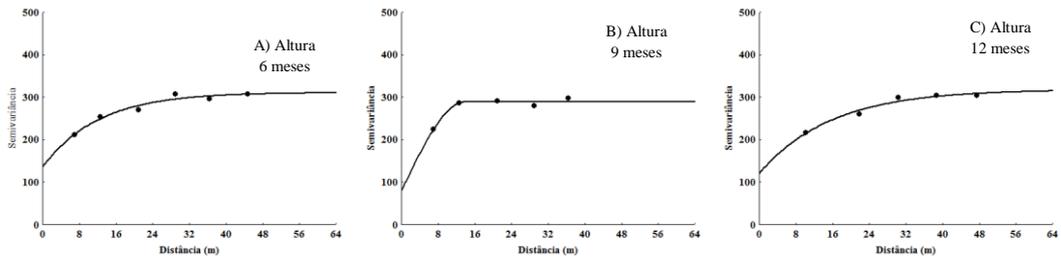
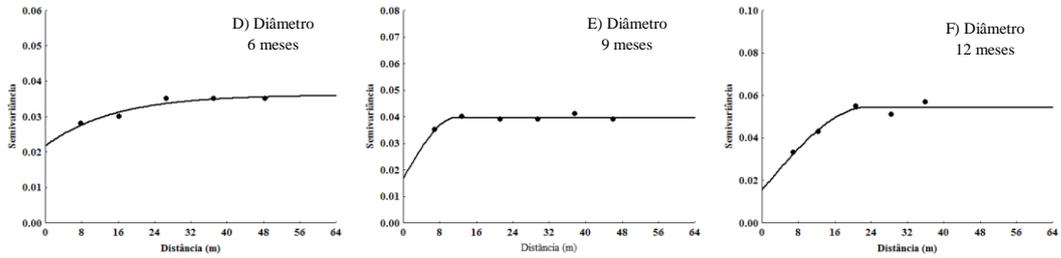


Figura 3. Semivariogramas teóricos para variáveis biométricas em cana de açúcar, na Área 1, aos seis, nove e 12 meses após o plantio.

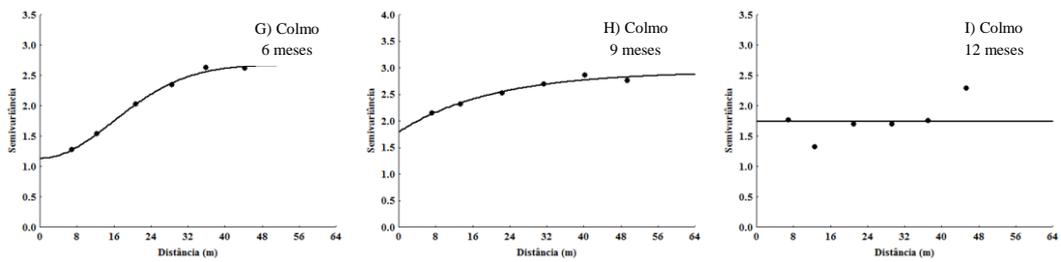
1



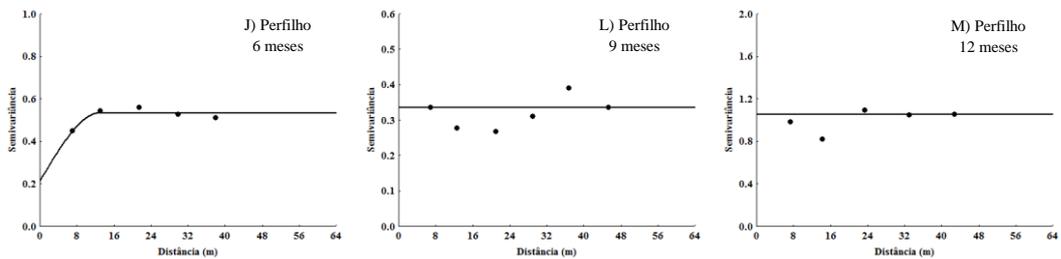
2



3

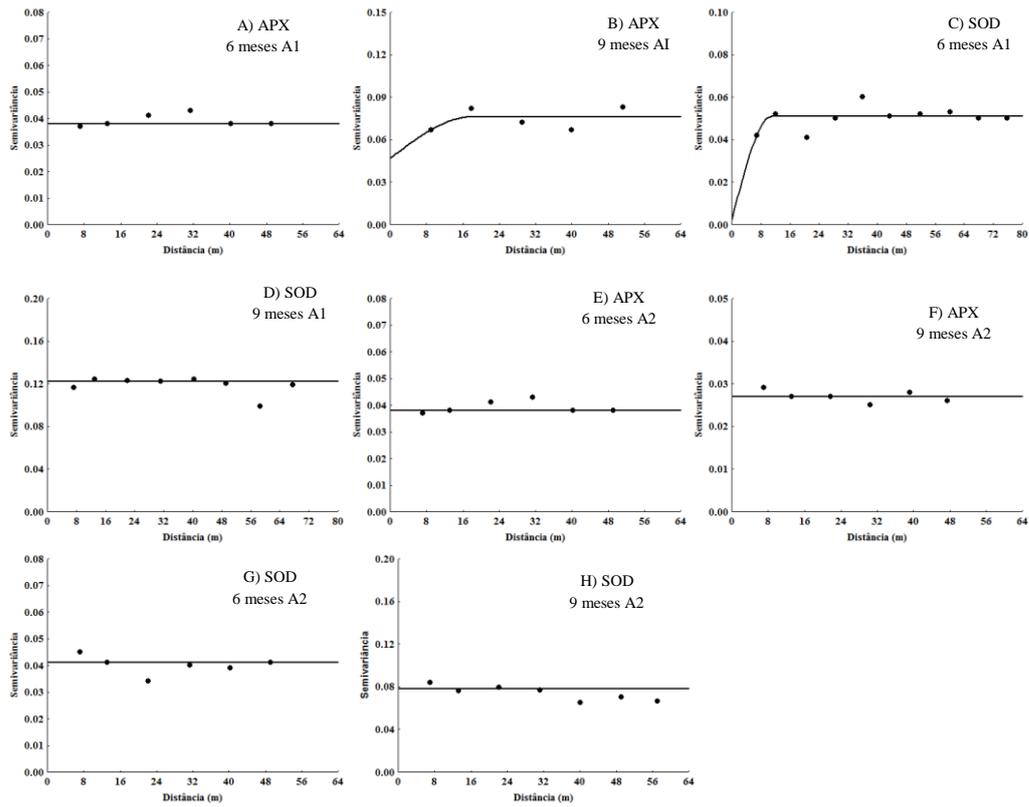


4



5 Figura 4. Semivariogramas teóricos para variáveis biométricas em cana-de-açúcar na Área 2,  
6 aos seis, nove e 12 meses após o corte.

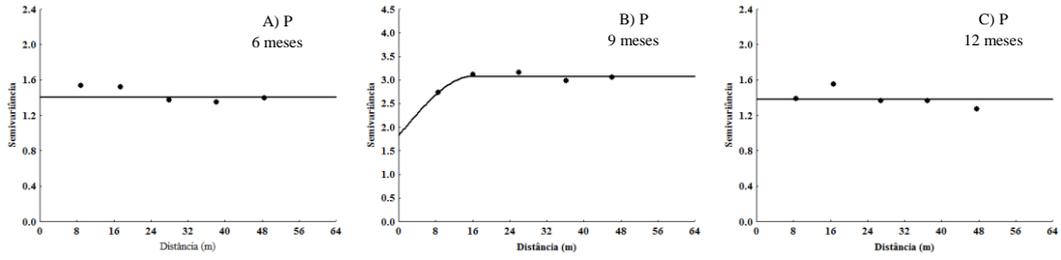
7



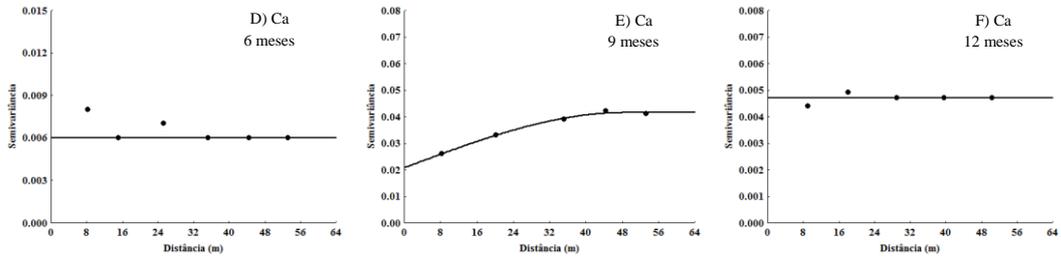
4 Figura 5. Semivariogramas teóricos para as enzimas ascorbato peroxidase (APX) e superóxido  
 5 dismutase SOD) em cana-de-açúcar na Área 1, aos seis e nove meses após o plantio e na Área  
 6 2, aos seis e nove meses após o corte.

7

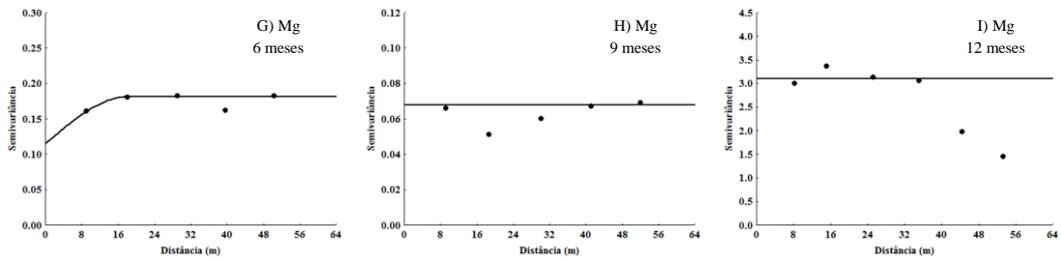
1



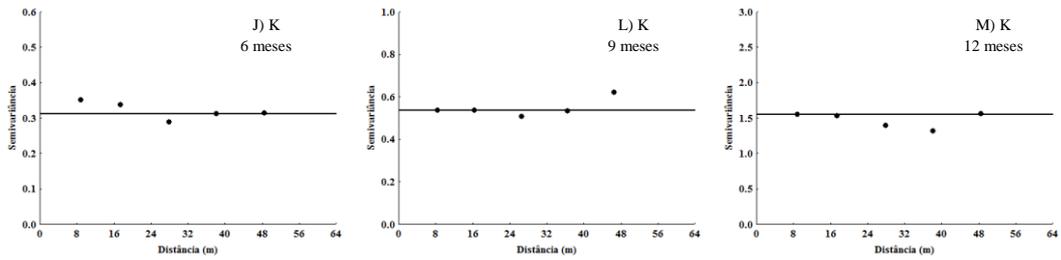
2



3



4



5

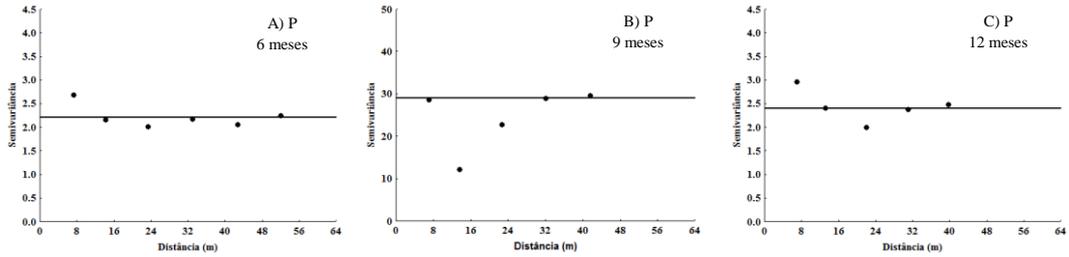
Figura 6. Semivariogramas teóricos para os nutrientes fósforo (P), cálcio (Ca), magnésio (Mg),

6

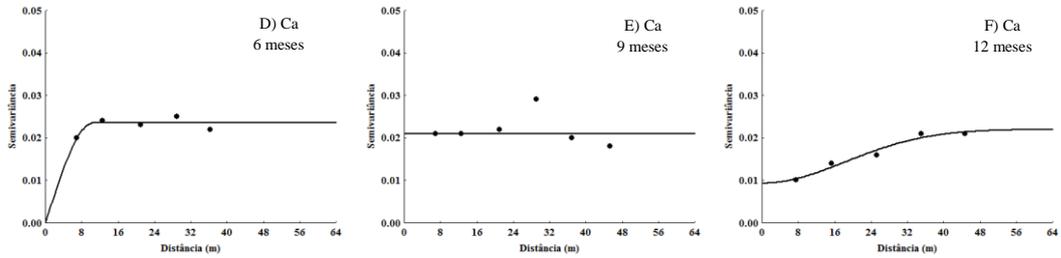
potássio (K) em plantas de cana-de-açúcar na Área 1, aos seis, nove e 12 meses após o plantio.

7

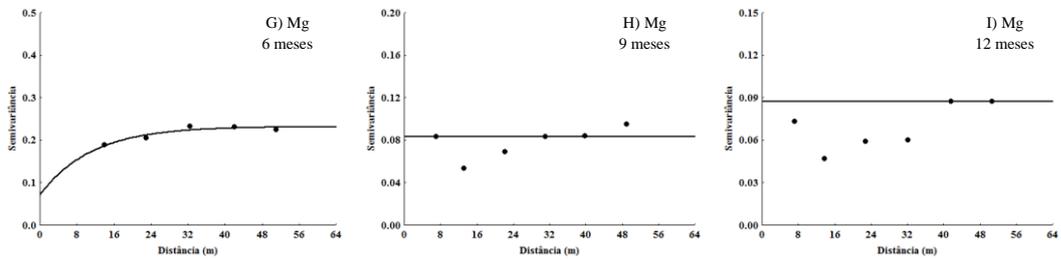
1



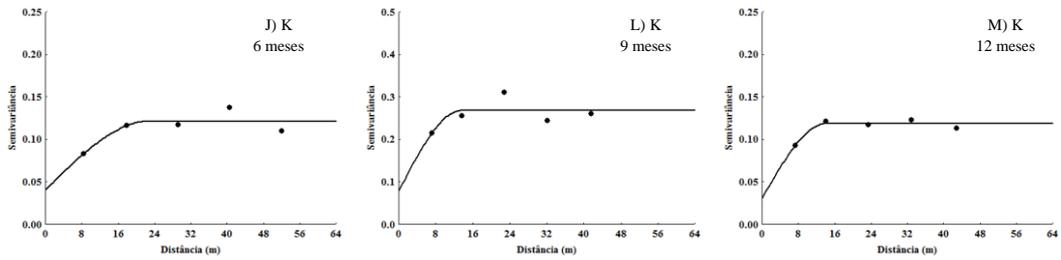
2



3



4



5 Figura 7. Semivariogramas teóricos para os nutrientes Fósforo – P, Cálcio – Ca, Magnésio –  
6 Mg, Potássio – K em plantas de cana de açúcar na Área 2, aos seis, nove e 12 meses após o  
7 corte.

8

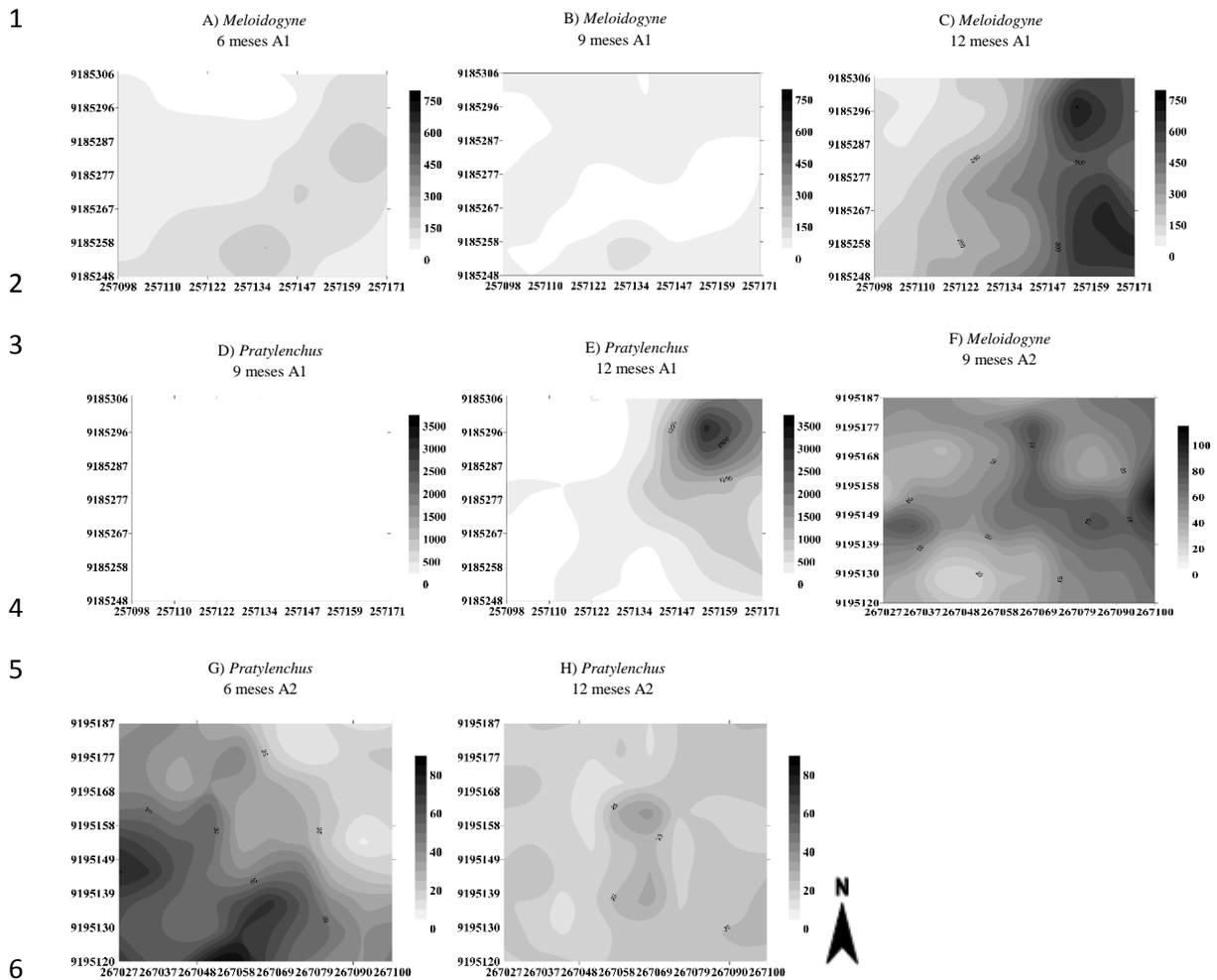
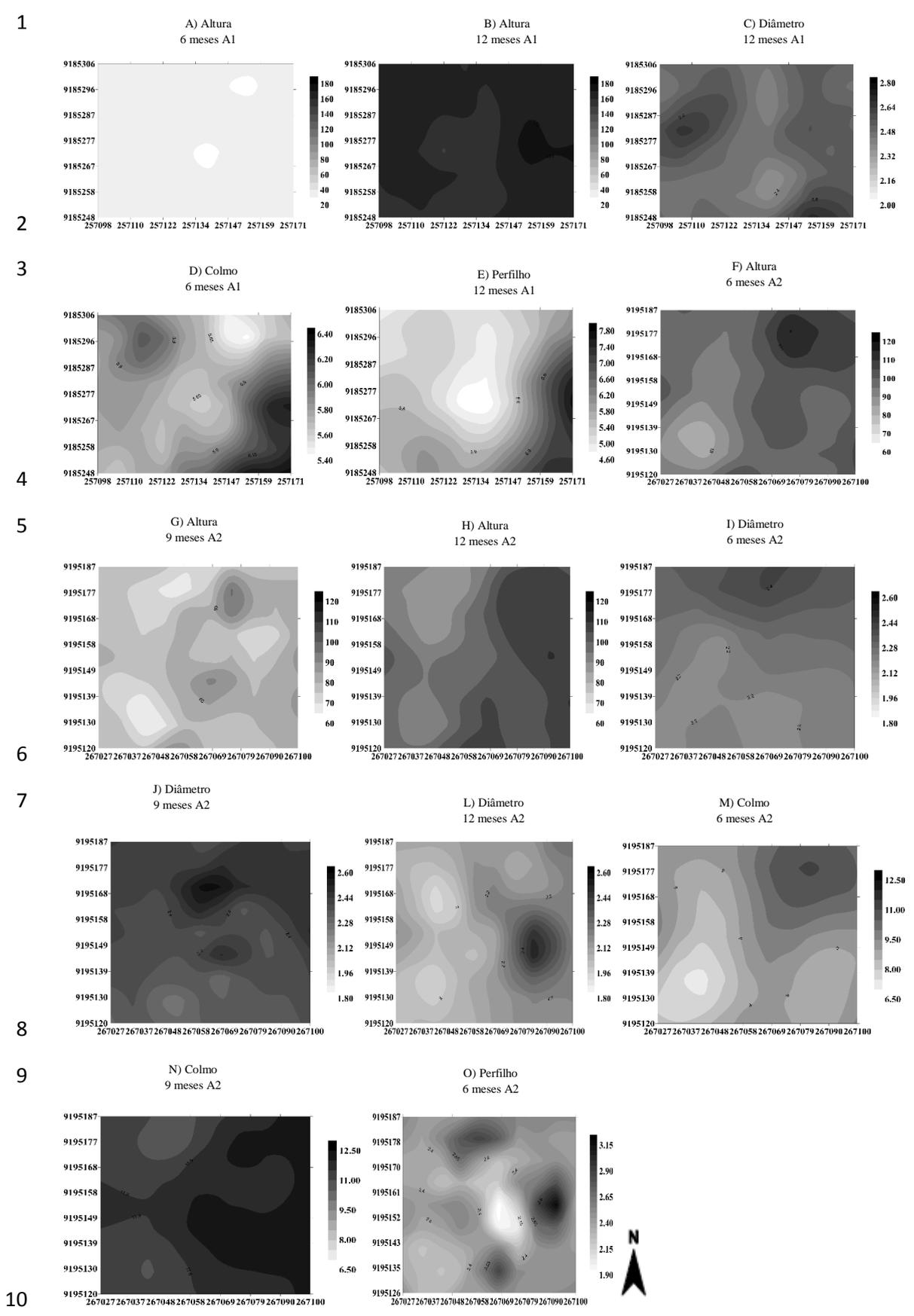


Figura 8. Mapas de isolinhas para fitonematoides endoparasitas em cana-de-açúcar na Área 1 e 2 durante as épocas de amostragem.



11 Figura 9. Mapas de isolinhas para variáveis biométricas em cana-de-açúcar na Área 1 e 2  
 12 durante as épocas de amostragem.

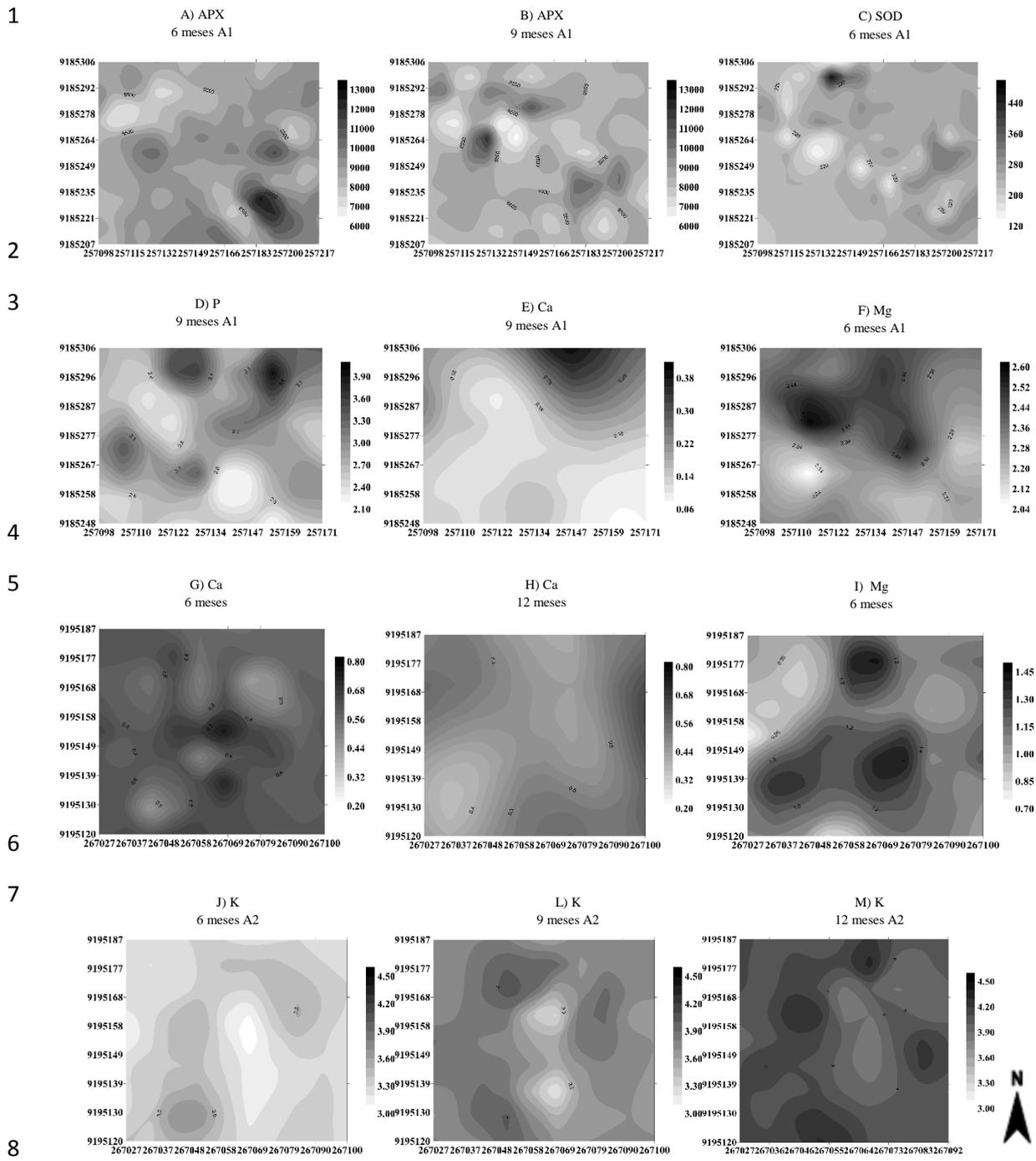


Figura 10. Mapas de isolinhas para as enzimas ascorbato peroxidase (APX), superóxido dismutase (SOD), para os nutrientes fósforo (P), Cálcio – Ca, e Magnésio – Mg na Área 1 e cálcio (Ca) e Potássio – K em plantas de cana-de-açúcar na Área 2 durante as épocas de amostragem.

## **CAPÍTULO V**

---

### **Conclusões Gerais**

## CONCLUSÕES GERAIS

- P, K, Ca e Mg influenciam favoravelmente as plantas de cana-de-açúcar em relação as populações de *Meloidogyne* e *Pratylenchus* as quais se apresentam positivamente associadas aos parâmetros de crescimento da cultura;
- As enzimas SOD e APX afetam a cana-de-açúcar diminuindo o dano oxidativo à planta;
- Os padrões de distribuição espaço-temporal de *Meloidogyne* e *Pratylenchus* na A1 tornam-se mais homogêneos ao longo do tempo;
- O mapeamento de alguns nutrientes na A1, bem como das enzimas APX e SOD em ambas as áreas, foi comprometido pela pluviosidade e outros fatores ambientais não contemplado neste estudo.