UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CÂMPUS DE BOTUCATU

FISIOLOGIA DO PEPINEIRO JAPONÊS, COM E SEM ENXERTIA, TRATADO COM FUNGICIDA BOSCALIDA

LUCHELE FURLAN SIRTOLI

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agronômicas da UNESP – Campus de Botucatu, para obtenção do título de Doutor em Agronomia (Horticultura).

BOTUCATU – SP
Outubro – 2010

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CÂMPUS DE BOTUCATU

FISIOLOGIA DO PEPINEIRO JAPONÊS, COM E SEM ENXERTIA, TRATADO COM FUNGICIDA BOSCALIDA

LUCHELE FURLAN SIRTOLI

Orientador: Prof. Dr. João Domingos Rodrigues

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agronômicas da UNESP – Campus de Botucatu, para obtenção do título de Doutor em Agronomia (Horticultura).

BOTUCATU – SP
Outubro – 2010

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO DA INFORMAÇÃO - SERVIÇO TÉCNICO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - UNESP - FCA - LAGEADO - BOTUCATU (SP)

Sirtoli, Luchele Furlan, 1981-
S621f Fisiologia do pepineiro japonês, com e sem enxertia, tratado com fungicida boscalida / Luchele Furlan Sirtoli. - Botucatu : [s.n.], 2010
xvi, 104 f. : il. color., gráfs., tabs., fots. color.

Tese (Doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agronômicas, Botucatu, 2010
Orientador: João Domingos Rodrigues
Inclui bibliografia

1. *Cucumis sativus* L. 2. Efeitos fisiológicos. 3. Trocas gasosas. 4. Enzimas de estresse. 5. Produção. I. Rodrigues, João Domingos. II. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (Campus de Botucatu). Faculdade de Ciências Agronômicas. III. Título.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO"

FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS

CAMPUS DE BOTUCATU

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: **"FISIOLOGIA DO PEPINEIRO JAPONÊS, COM E SEM ENXERTIA, TRATADO COM FUNGICIDA BOSCALIDA"**

ALUNA: LUCHELE FURLAN SIRTOLI

ORIENTADOR: PROF. DR. JOÃO DOMINGOS RODRIGUES

Aprovado pela Comissão Examinadora

PROF. DR. JOÃO DOMINGOS RODRIGUES

PROF. DR. ELIZABETH ORIKA ONO

PROF. DR. RUMY GOTO

PROF. DR. JULIANO TADEU VILELA DE RESENDE

PROF. DR. RERISON CATARINO DA HORA

Data da Realização: 13 de dezembro de 2010.

DEDICATÓRIA

Aos meus pais ***VALDECIR E ANGÉLICA*** *e ao meu irmão* ***RENATO*** *pelo exemplo de vida, amor e apoio incondicional em todos os momentos da minha vida e em mais esta etapa.*

AGRADECIMENTOS

À Faculdade de Ciências Agronômicas - UNESP – Departamento de Produção Vegetal/Horticultura pela oportunidade de cursar o Doutorado.

Ao Prof. Dr. João Domingos Rodrigues pela orientação, incentivo, dedicação, confiança, companheirismo, amizade e pela sua incansável dedicação à Fisiologia Vegetal.

Ao CNPq pela concessão da bolsa de estudos no período do curso.

Aos Professores da banca: Elizabeth O. Ono, Juliano Resende, Rerison C. da Hora e Rumy Goto, pelas valiosas sugestões apresentadas.

Na pessoa da Prof. Dr$^{a.}$ Rumy Goto agradeço a todos os Professores da Pós-Graduação que contribuíram para minha formação profissional.

À Prof. Dr$^{a.}$ Ana Catarina Catâneo pelos seus ensinamentos e amizade durante o tempo de convivência e de docência na UNESP;

Em nome do Chefe da Fazenda Experimental de Ensino, Pesquisa e Produção de São Manuel, Nilton Aparecido de Morais, agradeço a todos os funcionários pela dedicação, trabalho e, principalmente, pela amizade e respeito dedicados durante o tempo de convivência.

Aos amigos pela colaboração neste trabalho, em especial: Murilo, Reginaldo, Nelson, Idiana, Camila, Luiza, Amanda, Ítalo e Adriana Queiroz.

Aos demais colegas do Programa de Pós-Graduação em que muitos momentos juntos foram compartilhados: Suenon, Mari, Danila, Felipe, Ângela, Luiz Vitor, Elizeu, Douglas, Valdir, Ana Claudia, Karine, Caio, Deivison ...

Aos funcionários da Seção de Pós Graduação e da Biblioteca da FCA pela colaboração;

À BASF pela doação dos produtos utilizados.

A todos que contribuíram de uma forma ou de outra para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS VIII
LISTA DE FIGURAS XI
RESUMO XIII
ABSTRACT XV
1 INTRODUÇÃO 17
2 REVISÃO DE LITERATURA 20
2.1 A cultura do pepino 20
2.2 Enxertia em hortaliças 22
2.3 Resultados de efeitos fisiológicos de fungicidas 25
2.4 Enzimas relacionadas ao estresse 29
3 MATERIAL E MÉTODOS 32
3.1 Caracterização da área experimental 32
3.2 Caracterização do experimento 33
3.3 Características dos genótipos 34
3.4 Instalação e condução do experimento 35
3.5 Avaliações realizadas 38
3.5.1 Trocas gasosas 38
3.5.2 Teor SPAD de clorofila 39
3.5.3 Análises bioquímicas 39
3.5.3.1 Determinação do teor de proteínas solúveis 40
3.5.3.2 Atividade da enzima Peroxidase (POD) (EC 1.11.1.7) 40
3.5.3.3 Atividade da enzima Catalase (CAT) (EC 1.11.1.6) 40
3.5.3.4 Atividade da enzima Superóxido Dismutase (SOD) (EC 1.15.1.1) 41
3.5.3.5 Atividade da enzima Nitrato Redutase (NR) (EC 1.6.6.1) 41
3.5.4 Características fitotécnicas 42
3.5.4.1 Área foliar 42
3.5.4.2 Massa fresca e massa seca 42
3.5.5 Produção 42
3.6 Análise dos dados 44
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO 45

4.1 Trocas gasosas 45
4.1.1 Assimilação de CO_2 (*A*) 45
4.1.2 Transpiração (*E*) 48
4.1.3 Eficiência do uso da água (EUA) 49
4.1.4 Condutância estomática (g_s) 52
4.1.5 Concentração interna de CO_2 na câmara subestomática (C_i) 54
4.1.6 Eficiência de carboxilação *in vivo* da Rubisco 57
4.2 Teor SPAD de clorofila 59
4.3 Proteína solúvel total e atividade enzimática 61
4.4.1 Proteína solúvel total 61
4.4.2 Atividade da enzima Superóxido Dismutase (SOD) 64
4.4.3 Atividade da enzima Catalase (CAT) 67
4.3.4 Atividade da enzima Peroxidase (POD) 70
4.4.4 Atividade da enzima Nitrato Redutase (NR) 74
4.3 Características fitotécnicas 78
4.3.1 Área foliar, massa fresca e massa seca da parte aérea 78
4.4 Produção 84
4.4.1 Número de frutos comerciais, não comerciais e total de frutos/m^2 84
4.4.2 Produção comercial, não comercial e total/m^2 88
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS 93
6 CONCLUSÕES 95
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 96

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Resultados da análise química do solo da área do ambiente protegido, na camada 0-20 cm. FCA/UNESP – Botucatu – SP, 2009. 33

Tabela 2. Descrição dos tratamentos utilizados com a cultura do pepineiro híbrido Tsuyataro, enxertado e não enxertado e as diferentes doses de boscalida. FCA/UNESP – Botucatu, SP, 2010. 34

Tabela 3. Resumo da análise de variância da taxa de assimilação de CO_2 (fotossíntese) aos 39 e 73 dias após o transplante (D.A.T.), de pepineiro híbrido Tsuyataro, enxertado e não enxertado em função de doses de boscalida. FCA/UNESP – Botucatu, SP, 2010. 46

Tabela 4. Valores médios da taxa de assimilação de CO_2 (µmol m^{-2} s^{-1}) aos 39 e 73 dias após o transplante (D.A.T.), de pepineiro híbrido Tsuyataro, enxertado e não enxertado em função de doses de boscalida. FCA/UNESP – Botucatu-SP, 2010. 47

Tabela 5. Resumo da análise de variância da taxa de transpiração aos 39 e 73 dias após o transplante (D.A.T.), de pepineiro híbrido Tsuyataro, enxertado e não enxertado em função de doses de boscalida. FCA/UNESP – Botucatu-SP, 2010. 48

Tabela 6. Valores médios da taxa de transpiração (*E*, mmol m^{-2} s^{-1}) aos 39 e 73 dias após o transplante (D.A.T.), de pepineiro híbrido Tsuyataro, enxertado e não enxertado em função de doses de boscalida. FCA/UNESP – Botucatu-SP, 2010. 49

Tabela 7. Resumo da análise de variância da eficiência do uso da água (Assimilação de CO_2/transpiração) aos 39 e 73 dias após o transplante (D.A.T), de pepineiro híbrido Tsuyataro, enxertado e não enxertado em função de doses de boscalida. FCA/UNESP – Botucatu-SP, 2010. 50

Tabela 8. Valores médios da eficiência do uso da água (Assimilação de CO_2/transpiração, µmol CO_2 (mmol H_2O))$^{-1}$ aos 39 e 73 dias após o transplante (D.A.T.), de pepineiro híbrido Tsuyataro, enxertado e não enxertado em função de doses de boscalida. FCA/UNESP – Botucatu-SP, 2010. 52

Tabela 9. Resumo da análise de variância da condutância estomática (g_s) aos 39 e 73 dias após o transplante (D.A.T.), de pepineiro híbrido Tsuyataro, enxertado e não enxertado em função de doses de boscalida. FCA/UNESP – Botucatu-SP, 2010. 53

Tabela 10. Condutância estomática (g_s, mol m^{-2} s^{-1}) aos 39 e 73 dias após o transplante (D.A.T.), de pepineiro híbrido Tsuyataro, enxertado e não enxertado em função de doses de boscalida. FCA/UNESP – Botucatu-SP, 2010. 54

Tabela 11. Resumo da análise de variância da concentração interna de CO_2 na câmara subestomática aos 39 e 73 dias após o transplante (D.A.T.), de pepineiro híbrido Tsuyataro, enxertado e não enxertado em função de doses de boscalida. FCA/UNESP – Botucatu-SP, 2010. 55

Tabela 12. Valores médios da concentração interna de CO_2 na câmara subestomática (µmol mol^{-1}) aos 39 e 73 dias após o transplante (D.A.T.), de pepineiro híbrido Tsuyataro,

enxertado e não enxertadas em função de doses de boscalida. FCA/UNESP – Botucatu-SP, 2010. 57

Tabela 13. Resumo da análise de variância da eficiência de carboxilação *in vivo* da Rubisco aos 39 e 73 dias após o transplante (D.A.T.), de pepineiro híbrido Tsuyataro, enxertado e não enxertado em função de doses de boscalida. FCA/UNESP – Botucatu-SP, 2010. 58

Tabela 14. Eficiência de carboxilação *in vivo* da rubisco (µmol m^{-2} s^{-1} µmol mol^{-1}) aos 39 e 73 dias após o transplante (D.A.T.), de pepineiro híbrido Tsuyataro, enxertado não enxertadas. FCA/UNESP – Botucatu-SP, 2010. 59

Tabela 15. Resumo da análise de variância para teor SPAD de clorofila avaliados aos 25, 52 e 81 dias após o transplante (D.A.T.) de pepineiro híbrido Tsuyataro, enxertado e não enxertado em função de doses de boscalida. FCA/UNESP – Botucatu-SP, 2010. 60

Tabela 16. Teor SPAD de clorofila, avaliados aos 25, 52 e 81 D.A.T., de pepineiro híbrido Tsuyataro, enxertado e não enxertado em função de doses de boscalida. FCA/UNESP – Botucatu-SP, 2010. 61

Tabela 17. Resumo da análise de variância da proteína total solúvel (µg g M.F.$^{-1}$) aos 40, 47 e 81 dias após o transplante (D.A.T.) de pepineiro híbrido Tsuyataro, enxertado e não enxertado em função de doses de boscalida. FCA/UNESP – Botucatu-SP, 2010. 62

Tabela 18. Concentração de proteína solúvel total aos 40, 47 e 81 dias após o transplante (D.A.T.) de pepineiro híbrido Tsuyataro, enxertado e não enxertado em função de doses de boscalida. FCA/UNESP – Botucatu-SP, 2010. 62

Tabela 19. Concentração de proteína solúvel total (µg g M.F.$^{-1}$) aos 40, 47 e 81 dias após o transplante (D.A.T.) de pepineiro híbrido Tsuyataro, enxertado e não enxertadas em função de doses de boscalida. FCA/UNESP – Botucatu-SP, 2010. 64

Tabela 20. Resumo da análise de variância da atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) aos 40, 47 e 81 D.A.T., de pepineiro híbrido Tsuyataro, enxertado e não enxertado em função de doses de boscalida. FCA/UNESP – Botucatu-SP, 2010. 65

Tabela 21. Atividade da enzima superóxido dismutase (U µg proteína^{-1}) aos 40, 47 e 81 D.A.T., de pepineiro híbrido Tsuyataro, enxertado e não enxertado. FCA/UNESP – Botucatu-SP, 2010. 66

Tabela 22. Resumo da análise de variância da atividade da enzima catalase aos 40, 47 e 81 dias após o transplante (D.A.T.), de pepineiro híbrido Tsuyataro, enxertado e não enxertado em função de doses de boscalida. FCA/UNESP – Botucatu-SP, 2010. 68

Tabela 23. Atividade da enzima catalase (mKat µg^{-1} de proteína) aos 40, 47 e 81 dias após o transplante (D.A.T.), de pepineiro híbrido Tsuyataro, enxertado e não enxertado em função de doses de boscalida. FCA/UNESP – Botucatu-SP, 2010. 69

Tabela 24. Resumo da análise de variância da atividade enzima peroxidase aos 40, 47 e 81 dias após o transplante (D.A.T.), de pepineiro enxertado e não enxertadas submetido a doses de boscalida. FCA/UNESP – Botucatu-SP, 2010. 71

Tabela 25. Atividade da enzima peroxidase (µmol H_2O_2 mg proteína^{-1} min^{-1}) aos 40, 47 e 81 D.A.T., de pepineiro híbrido Tsuyataro, enxertado e não enxertado. FCA/UNESP – Botucatu-SP, 2010. 72

Tabela 26. Resumo na análise de variância da atividade enzima nitrato redutase aos 40, 47 e 81 dias após o transplante (D.A.T.), de pepineiro enxertado e não enxertado submetido a doses de boscalida. FCA/UNESP – Botucatu-SP, 2010. 75

Tabela 27. Atividade da enzima nitrato redutase (µmol de NO_2 g M.F.$^{-1}$ h^{-1}) aos 40, 47 e 81 D.A.T., de pepineiro híbrido Tsuyataro, enxertado e não enxertado. FCA/UNESP – Botucatu-SP, 2010. 76

Tabela 28. Atividade da enzima nitrato redutase (µmol de NO_2 g M.F.$^{-1}$ h^{-1}) aos 47 dias após o transplante (D.A.T.), de pepineiro híbrido Tsuyataro, enxertado e não enxertadas em função de doses de boscalida. FCA/UNESP – Botucatu-SP, 2010. 77

Tabela 29. Resumo na análise de variância da área foliar (AF), massa fresca (MF) e massa seca da parte aérea (MS) avaliados no final do ciclo de plantas de pepineiro, híbrido Tsuyataro, enxertado e não enxertado em função de doses de boscalida. FCA/UNESP, Botucatu-SP, 2010. 79

Tabela 30. Área foliar de pepineiro (cm^2), híbrido Tsuyataro, enxertado e não enxertado em função de doses de boscalida. FCA/UNESP, Botucatu-SP, 2010. 80

Tabela 31. Massa seca da parte aérea de plantas de pepineiro, híbrido Tsuyataro, enxertado e não enxertado em função de doses de boscalida. FCA/UNESP, Botucatu-SP, 2010. 83

Tabela 32. Resumo da análise de variância do número de frutos comerciais/m^2 (NFC), número de frutos não comerciais/m^2 (NFNC) e número total de frutos/m^2 (NFT) de pepineiro, híbrido Tsuyataro, enxertado e não enxertado em função de doses de boscalida. FCA/UNESP, Botucatu-SP, 2010. 85

Tabela 33. Número de frutos comerciais, não comerciais e total de frutos/m^2 de pepineiro, híbrido Tsuyataro, enxertado e não enxertado. FCA/UNESP, Botucatu-SP, 2010.86

Tabela 34. Número total de frutos de pepineiro, híbrido Tsuyataro, enxertado e não enxertado em função de doses de boscalida. FCA/UNESP, Botucatu-SP, 2010. 86

Tabela 35. Resumo na análise de variância da produção comercial (PC), produção não comercial (PNC), produção total (PT) e produtividade (PROD) de pepineiro, híbrido Tsuyataro, enxertado e não enxertado em função de doses de boscalida. FCA/UNESP, Botucatu-SP, 2010. 88

Tabela 36. Produção comercial, não comercial e total de pepineiro, híbrido Tsuyataro, enxertado e não enxertado em função de doses de boscalida. FCA/UNESP, Botucatu-SP, 2010. 89

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Fórmula estrutural do boscalida. Fórmula bruta: C_{18} H_{12} C_{l2} N_2 O.....28

Figura 2. Método de enxertia por encostia para Cucurbitáceas. Fonte: Oda (1995), adaptado por Cañizares e Goto (2002).....35

Figura 3. Valores médios semanais de temperaturas máximas, médias e mínimas do ambiente protegido com a cultura do pepino. FCA/UNESP, São Manuel – SP, 2010.....37

Figura 4. Valores médios semanais de umidades relativas máximas, médias e mínimas do ambiente protegido com a cultura do pepino. FCA/UNESP, São Manuel – SP, 2010. 37

Figura 5. Distância mais curta entre a base e o ápice do pepino (a) e o lado externo do fruto (b), para obtenção do grau de tortuosidade dos frutos (Foto: SIRTOLI, 2010). ...43

Figura 6. Classificação comercial do pepino "japonês", de acordo com a tortuosidade. A= retos; B= médios/intermediários e C= tortos e muito tortos (Foto: SIRTOLI, 2010). 43

Figura 7. Concentração interna de CO_2 na câmara subestomática (µmol mol^{-1}) aos 39 D.A.T. de pepineiro híbrido Tsuyataro, enxertado e não enxertado em função de doses de boscalida. FCA/UNESP – Botucatu-SP, 2010. 56

Figura 10. Concentração de proteína solúvel total (µg g $M.F.^{-1}$) aos 81 D.A.T., de pepineiro híbrido Tsuyataro, enxertado e não enxertado em função de doses de boscalida. FCA/UNESP – Botucatu-SP, 2010. 63

Figura 12. Atividade da enzima superóxido dismutase (U µg $proteína^{-1}$) aos 81 D.A.T., de pepineiro híbrido Tsuyataro, enxertado e não enxertadas em função de doses de boscalida. FCA/UNESP – Botucatu-SP, 2010. 67

Figura 13. Atividade da enzima catalase (mKat $µg^{-1}$ de proteína) aos 81 D.A.T., de pepineiro híbrido Tsuyataro, em função de doses de boscalida. FCA/UNESP – Botucatu-SP, 2010. 70

Figura 15. Atividade da enzima peroxidase (µmol H_2O_2 mg $proteína^{-1}$ min^{-1}) aos 40 D.A.T., de pepineiro híbrido Tsuyataro, em função de doses de boscalida. FCA/UNESP – Botucatu-SP, 2010. 73

Figura 16. Atividade da enzima peroxidase (µmol H_2O_2 mg $proteína^{-1}$ min^{-1}) aos 81 D.A.T., de pepineiro híbrido Tsuyataro, em função de doses de boscalida. FCA/UNESP – Botucatu-SP, 2010. 74

Figura 17. Atividade da enzima nitrato redutase (µmol de NO_2 g $M.F.^{-1}$ h^{-1}) aos 40, 47 e 81 D.A.T., de pepineiro híbrido Tsuyataro, enxertado e não enxertado. FCA/UNESP – Botucatu-SP, 2010. 76

Figura 18. Atividade da enzima nitrato redutase (µmol de NO_2 g $M.F.^{-1}$ h^{-1}) aos e 81 D.A.T., de pepineiro híbrido Tsuyataro, em função de doses de boscalida. FCA/UNESP – Botucatu-SP, 2010. 78

Figura 19. Área foliar de pepineiro no final da produção, híbrido Tsuyataro, em função de doses de boscalida. FCA/UNESP, Botucatu-SP, 2010.....81

Figura 20. Massa fresca da parte aérea de pepineiro, híbrido Tsuyataro, em função de doses de boscalida. FCA/UNESP, Botucatu-SP, 2010. 82

Figura 22. Massa seca da parte aérea de pepineiro, híbrido Tsuyataro, em função de doses de boscalida avaliada aos 84 D.A.T. FCA/UNESP, Botucatu-SP, 2010. 84

Figura 24. Número de frutos comerciais/m^2 (A), não comerciais/m^2 (B) e total de frutos/m^2 (C) de pepineiro, híbrido Tsuyataro, em função de doses de boscalida. FCA/UNESP, Botucatu-SP, 2010. 87

Figura 25. Produção comercial (A), não comercial (B) e total/m^2 (C) de pepineiro, híbrido Tsuyataro, em função de doses de boscalida. FCA/UNESP, Botucatu-SP, 2010. 90

Figura 26. Produtividade de pepineiro, híbrido Tsuyataro, em função de doses de boscalida. FCA/UNESP, Botucatu-SP, 2010. 91

Figura 27. Retorno econômico de um hectare de pepineiro, híbrido Tsuyataro, em função de doses de boscalida. FCA/UNESP, Botucatu-SP, 2010.....92

RESUMO

Com o objetivo de estudar os efeitos fisiológicos do fungicida à base de boscalida sobre as características fitotécnicas, fisiológicas e bioquímicas de pepino "japonês" enxertado e não enxertado o experimento foi conduzido em cultivo protegido na Fazenda Experimental São Manuel, da FCA/UNESP, Campus de Botucatu-SP. Utilizou-se o híbrido de pepino Tsuyataro enxertado em abóbora, 'Excite Ikky' e plantas pé franco, as quais foram submetidas a diferentes doses de boscalida (0, 25, 50, 75 e 100 g i.a. ha^{-1}) do fungicida Cantus® em intervalos semanais por meio de aplicação foliar. O delineamento experimental foi de blocos ao acaso, em esquema fatorial 5 x 2 com quatro repetições e seis plantas por parcela, sendo consideradas as quatro plantas centrais para as avaliações. Observou-se maior assimilação de CO_2 e eficiência no uso da água e menor concentração interna de CO_2 nas plantas enxertadas aos 39 DAT. As doses de 75 e 100 g i.a. ha^{-1} favoreceram a assimilação de CO_2 em plantas enxertadas e resultaram em menor concentração interna de CO_2 na câmara subestomática. As plantas enxertadas apresentaram maior concentração de proteína solúvel total e aos 81 DAT houve resposta linear para as doses de boscalida. A atividade da SOD e CAT foi maior em plantas não enxertadas enquanto que as maiores doses de boscalida, principalmente 100 g i.a. ha^{-1}, resultaram em diminuição da atividade dessas duas enzimas. A POD foi maior em plantas enxertadas e menor com o aumento das doses. Maior atividade da nitrato redutase foi observada em plantas enxertadas e houve resposta linear em função das doses aos 81 DAT. Também houve efeito linear em função das doses para área foliar e massa seca de plantas e não houve diferença entre tipos de plantas. Para o número de frutos comerciais, não comerciais e total/m^2 não houve diferenças significativas entre os tipos de plantas, enquanto que as menores doses juntamente com o tratamento sem boscalida apresentaram o menor número total de frutos, assim como o menor número de frutos comerciais e não comerciais. Já as duas maiores doses proporcionaram aumento no número de frutos, tanto os comerciais, não comercias e totais. Quanto à produção, as plantas enxertadas apresentaram maior produção não comercial, mas não diferiram quanto à produção comercial e total. As menores doses juntamente com o tratamento sem boscalida apresentaram as menores produtividades. Já as duas maiores doses, proporcionaram aumento nas

produtividades comercial, não comercial e total, bem como, o maior retorno econômico com aumento de 15,90 e 62,37% em relação ao tratamento sem boscalida. Conclui-se que o efeito fisiológico do boscalida tanto em pepineiro enxertado como em plantas não enxertadas, foi obtido com as doses de 75 e 100 g i.a. ha^{-1}.

Palavras-chave: *Cucumis sativus* L., efeitos fisiológicos, trocas gasosas, enzimas de estresse, cultivo protegido, produção.

PHYSIOLOGY OF JAPANESE CUCUMBER, WITH OR WITHOUT GRAFT, TREATED WITH FUNGICIDE BOSCALIDA. Botucatu, 2010. 103 p. Tese (Doutorado em Agronomia/Horticultura) - Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista.

Author: LUCHELE FURLAN SIRTOLI

Adviser: JOÃO DOMINGOS RODRIGUES

ABSTRACT

The present study aimed to evaluate physiological effects of the boscalida-based fungicide on phytotechnical, physiological and biochemical aspects of grafted and ungrafted Japanese cucumber plants. The experiment was carried out under protected cultivation at São Manuel Experimental Farm, Faculty of Agronomical Sciences (FCA), São Paulo State University (UNESP), Botucatu Campus, São Paulo State, Brazil. Both the cucumber hybrid 'Tsuyataro' grafted onto the pumpkin 'Excite Ikky' and ungrafted plants were subjected to different levels (0, 25, 50, 75 and 100 g a.i. ha^{-1}) of the boscalida fungicide through leaf application at weekly intervals. Experimental design was in randomized blocks, in a 5x2 factorial arrangement, with four replicates and six plants per plot, so that the four central plants were considered in the evaluation. Higher CO_2 assimilation and water use efficiency and lower internal CO_2 concentration were observed in grafted plants at 39 DAT. The levels 75 and 100 g a.i. ha^{-1} favored CO_2 assimilation in grafted plants and led to lower internal CO_2 concentration in the substomatal chamber. Grafted plants had higher total soluble protein concentration and a linear response to boscalida levels at 81 D.A.T. SOD and CAT activities were higher in ungrafted plants, whereas the highest boscalida levels, especially 100 g a.i. ha^{-1}, led to a decrease in the activity of both enzymes. POD activity was higher in grafted plants and decreased as the fungicide levels increased. Higher activity of nitrate reductase was

observed in grafted plants and a linear response according to the fungicide level was detected at 81 D.A.T. There was also a linear effect according to the fungicide level for leaf area and plant dry matter and there was no difference between plant types. As to the number of commercial and non-commercial fruits and the total number of fruits per m^2, there were no significant differences between plant types, whereas the lowest levels together with the treatment without boscalida led to the lowest total number of fruits, as well as to the lowest number of commercial and non-commercial fruits. On the other hand, the two highest levels led to increased number of commercial, non-commercial and total fruits. Grafted plants had higher non-commercial production, but with no difference relative to commercial and total production. The lowest levels together with the treatment without boscalida had the lowest productivities. Conversely, the two highest levels led to an increase in commercial, non-commercial and total productivities, as well as to higher economic return, with increases of 15.90 and 62.37% relative to the treatment without boscalida. In conclusion, the physiological effect of boscalida was obtained by using the levels 75 and 100 g a.i. ha^{-1} in both grafted and ungrafted cucumber plants.

Keywords: *Cucumis sativus* L., physiological effects, gas exchange, enzymes, protected cultivation, production.

1 INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, o pepineiro (*Cucumis sativus* L.) tem crescido em importância na comercialização de hortaliças, sendo bastante apreciado e consumido em todo o Brasil, principalmente, por se tratar de uma hortaliça consumida *in natura*, em saladas ou em forma de pickles. Além disso, tem se destacado na indústria farmacêutica para a fabricação de máscaras faciais, cremes, loções, xampus entre outros cosméticos, sendo mais uma opção de comercialização para o produtor.

Somente na Companhia de Entrepostos e Armazéns Gerais de São Paulo (CEAGESP), no ano de 2008, foram comercializadas aproximadamente 46.043 toneladas de pepino com preço médio de venda de R$ 0,53/kg (AGRIANUAL, 2010).

Por ser uma planta de origem subtropical, baixas temperaturas, inferiores a 20°C afetam a absorção de água e nutrientes pelo sistema radicial. Por esse fato, destaca-se o cultivo em ambiente protegido, que permite total ou parcial controle da velocidade do vento, umidade relativa e temperatura-ambiente, podendo proteger a cultura de pragas, proporcionando aumento na produtividade e qualidade dos produtos e produção no

período de entressafra. Nesse tipo de cultivo, o pepino se encontra entre as principais hortaliças, ocupando o segundo lugar, após o tomate (CAÑIZARES, 1998).

Há vários fatores que podem ocasionar a redução da produção de pepino dentre os quais estão os fatores abióticos e os bióticos. A ocorrência de doenças está entre os fatores bióticos que podem levar à perda total desta cultura, por causarem danos tanto na parte aérea quanto no sistema radicial.

Como consequência desta ação de micro-organismos, o homem se obriga a ações que neutralizem este efeito negativo, associando às demais técnicas disponíveis os fungicidas. Até recentemente, os fungicidas tinham como foco o controle de fitopatógenos visando exclusivamente a redução do inóculo. Atualmente, o conceito de controle ganha novas perspectivas, principalmente considerando as vantagens obtidas pela ação de efeitos fisiológicos positivos de alguns fungicidas sobre as plantas (VENÂNCIO et al., 2003).

Durante a última década, grande número de pesquisadores tem concentrado esforços avaliando os efeitos benéficos de diferentes fungicidas sobre o rendimento das culturas, sendo realizados vários trabalhos com diferentes culturas, onde os fungicidas do grupo das estrobilurinas marcaram o início desse processo, por demonstrarem influência no desenvolvimento das plantas culminando com maior produtividade final.

A classe de fungicidas pertencentes ao grupo químico das estrobilurinas compreende uma variedade de compostos que além de protegerem a planta contra atividades fúngicas possuem propriedades atuantes na fisiologia que elevam a qualidade e rendimento da colheita (KOEHLE et al., 2002). Dentre as alterações fisiológicas promovidas pelas estrobilurinas pode-se citar o aumento da atividade da enzima nitrato redutase, níveis de clorofila que proporcionam aumento da tonalidade da cor verde das folhas, atraso da senescência pela diminuição da produção de etileno, elevação na concentração de proteínas e biomassa, diminuição na respiração celular e maior fotossíntese líquida.

A maior parte das informações de efeitos fisiológicos de fungicidas se referem às moléculas de estrobilurinas. Os resultados de ensaios experimentais apresentados visam fornecer uma base para o estudo do efeito fisiológico do boscalida na cultura do pepineiro.

O boscalida é um fungicida pertencente à família das carboxamidas e ao grupo químico das anilidas que, aparentemente, proporciona os mesmos efeitos fisiológicos

das estrobilurinas, além de fornecer a proteção antifúngica à planta. No entanto, ainda são poucos os trabalhos científicos que referendam essa hipótese.

Esta linha de pesquisa que avalia os efeitos fisiológicos de fungicidas parece estar só no começo, pois levando em consideração as buscas constantes de aumento de produtividade das culturas, os benefícios proporcionados por esses fungicidas podem trazer contribuições significativas para toda a sociedade.

Dentro deste contexto, o presente trabalho objetivou avaliar os efeitos fisiológicos do fungicida à base de boscalida em pepino "japonês", híbrido Tsuyataro, com e sem enxertia conduzido sob condições de cultivo protegido, procurando caracterizar o seu efeito na qualidade e produtividade final, através de medidas fitotécnicas, fisiológicas e bioquímicas.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 A cultura do pepino

Originário da Ásia, o pepineiro (*Cucumis sativus* L.), pertence à família das cucurbitáceas e vem sendo cultivado na Índia há mais de 3000 anos. É uma planta que apresenta resposta intermediária entre as condições tropical e temperada, podendo ser cultivada em ambiente protegido e no campo. O fruto pode ser destinado para mesa ou salada e para a indústria. Pepino para indústria refere-se ao fruto destinado ao processamento na forma de pickles (FONTES; PUIATTI, 2005).

A planta é herbácea, anual e com hastes longas. O hábito de crescimento é indeterminado e a planta desenvolve-se no sentido vertical ou prostrado, dependendo da presença ou ausência de suporte. As hastes apresentam gavinhas, que se fixam a qualquer tipo de suporte (FILGUEIRA, 2008).

O fruto de pepino japonês é tipicamente afilado, alongado, com 20-30 cm de comprimento, de coloração verde escura, triloculares e com acúleos brancos. O sabor é típico e agradável, sendo os frutos preferidos em mercados exigentes (FILGUEIRA, 2008).

Caracteristicamente não há formação de sementes, já que os híbridos são ginóico-paternocárpicos.

A maioria dos híbridos de pepino do tipo japonês e holandês são partenocárpicos, por isso podem ser cultivados em ambiente protegido o ano todo (CARDOSO; SILVA, 2003). A partenocarpia viabiliza a tecnologia de produção de pepino em estufa garantindo a produtividade e a qualidade de frutos na ausência de insetos polinizadores (GODOY, 2009).

Embora o fator genético seja o mais importante na expressão sexual, esta também é influenciada pelo meio ambiente (CAÑIZARES, 1998). O fotoperíodo de dias longos e elevadas temperaturas favorecem a formação de flores masculinas; o aumento na adubação nitrogenada induz ao aparecimento de maior número de flores masculinas e o uso de reguladores vegetais pode modificar a expressão do sexo.

A taxa de crescimento de frutos é influenciada pelo tamanho e número de frutos velhos que se desenvolvem simultaneamente na planta, pela presença ou ausência de sementes nos frutos em desenvolvimento e pela desfolha (MACEDO JUNIOR, 1998).

De acordo com Filgueira (2008) a cultura adapta-se melhor em solos de textura média, leves, embora tolere solos argilosos. A faixa de pH 5,5 a 6,8 é a mais favorável. Por meio de calagem eleva-se a saturação por bases para 70% procurando atingir pH 6,0. A adubação orgânica e a fosfatagem efetuadas semanas antes da semeadura ou do transplante, favorecem a produtividade.

É muito importante realizar adubação orgânica, mas deve-se considerar o seu teor obtido na análise de solo. De acordo com essa análise, a quantidade a utilizar pode variar entre 20 e 40 t ha^{-1} de esterco de curral curtido ou de 5 a 10 t ha^{-1} de esterco de galinha, incorporado 30 dias antes do transplante (TRANI et al., 1996 Apud CAÑIZARES, 1998).

As plantas de cultivares de pepino destinado ao consumo *in natura*, geralmente, são tutoradas. Isso evita o contato direto dos frutos com o solo, diminuindo as doenças de hastes, folhas e frutos e evita a mancha de encosto dos frutos, além de facilitar a colheita e os tratos culturais (FONTES; PUIATTI, 2005). Busca-se também, com o tutoramento maximizar a interceptação de luz solar por maior número de folhas; todavia, apesar dessas vantagens, impossibilita ou inviabiliza operações mecanizadas na cultura.

No que se refere às doenças, segundo Fontes & Puiatti (2005) as que causam maiores danos são: mancha zonada ou leandria (*Leandria momordicae*); sarna (*Cladosporium cucumerinum*); mancha-angular (*Pseudomonas syringae pv. Lanchrymans*); oídio (*Sphaerotheca fuliginea*); antracnose (*Colletotrichum orbiculare*); míldio (*Pseudoperonospora cubensis*); crestamento gomoso (*Didymella bryoniae*); mancha-das-folhas (*Alternaria cucumerina*), além de vírus e nematóides.

Devido a ação desses micro-organismos são necessárias medidas preventivas como o uso de sementes sadias, cultivares resistentes, adequado manejo de adubação e irrigação, rotação de culturas e monitoramento da incidência de pragas e patógenos. Associados a essas técnicas preventivas, muitos produtores tem realizado aplicações de fungicidas que podem atuar de forma preventiva e/ou curativa. Até alguns anos atrás, os fungicidas tinham como único foco o controle de patógenos visando, exclusivamente, a rápida ação sobre o micro-organismo provocando a morte. No entanto, esse conceito está plantando, pois alguns fungicidas além da ação sobre os micro-organismos, promovem a otimização de processos fisiológicos e bioquímicos da planta que elevam o rendimento e a produtividade final das lavouras.

2.2 Enxertia em hortaliças

Enxertar é unir duas porções de tecidos vegetais vivos visando ao crescimento e desenvolvimento de uma única planta e seu sucesso é representado pela união morfológica e fisiológica dessas duas partes. Nas hortaliças, esse processo de união pode ser visível um dia após a enxertia e termina entre uma a três semanas depois, com a completa conexão do sistema vascular, floema e xilema. De três a sete dias pode ser observada a formação do calo (CAÑIZARES, 2003).

Conforme Goto et al. (2003) é comum obter excelente porcentagem de sobrevivência de planta de hortaliças enxertadas, porém também é comum obter resultados desalentadores. O sucesso ou insucesso estão relacionados estreitamente com diversos fatores que podem influenciar a cicatrização da união do enxerto, como o nível de incompatibilidade

entre enxerto e porta-enxerto, temperatura e umidade do ar durante e após a enxertia e ainda o tamanho da superfície de contato.

No Brasil há indícios de que a enxertia começou na década de 80 no cultivo de pepino, com o objetivo de controlar nematóides, obter frutos sem cerosidade e aumentar a tolerância da planta às baixas temperaturas do solo (CAÑIZARES, 1997). Já Santos (2003) cita que os primeiros estudos de enxertia com hortaliças em nível de pesquisa no Brasil foram com trabalhos relacionados à resistência/tolerância a doenças e efeitos da enxertia na qualidade e produtividade de frutos.

No Japão, França, Espanha, Itália, Coréia e em outros países da Ásia e Europa utilizam-se a enxertia em hortaliças, principalmente, em solanáceas e cucurbitáceas. No Japão, de acordo com Oda (1995) em 93% da área total cultivada com melancia, as plantas são enxertadas. O mesmo é válido para 72% da área de pepino, 50% de berinjela, 32% de tomate e 30% para todos os tipos de melão. Na Coréia, Lee (1994) relatou que as estimativas do uso de plantas enxertadas são semelhantes às do Japão. Segundo Miguel (1997) o cultivo de hortaliças enxertadas tem crescido muito na Espanha, sendo que em Almeria 95% e em Valência 60 a 70% das plantas de melancia são enxertadas.

Em trabalho realizado com pimentão, Kobori (1994) observou níveis de resistência entre diferentes porta-enxertos a *Verticillium dahliae*. Em 1999 este mesmo pesquisador estudou a viabilidade do uso de porta-enxertos de *Capsicum annuum* resistentes a *Phytophthora capsici* no controle da murcha de fitóftora em pimentão. Santos (2001) confirmou a estabilidade de resistência destes porta-enxertos e a capacidade produtiva das plantas enxertadas. Também na cultura do pimentão, Sirtoli (2007) trabalhando com planta enxertadas em diferentes porta-enxertos e planta não enxertadas observou maior resistência à *Ralstonia solanacearum* em plantas enxertas, bem como, melhoria na qualidade de frutos.

Outro ganho significativo com o uso da enxertia em hortaliças está na eficiência de alguns porta-enxertos no incremento de produtividade em áreas com presença de patógenos de solo, nematóides e com distúrbios nutricionais e fisiológicos, principalmente, ocorridos em áreas de cultivo protegido. Esses fatores levaram à valorização do uso da enxertia, bem como, à adoção da técnica (ODA, 1995), principalmente, devido à rapidez no controle alternativo das doenças de solo, além das vantagens de se manter as características

dos genótipos utilizados como enxerto (KOBORI, 1994) em sua maioria suscetíveis aos patógenos de solo.

Quanto a tolerância à salinidade em ambientes protegidos, Blanco (1999) observou que o nível de salinidade fez reduzir o número de frutos comerciais, quando avaliou a interação entre enxertia e ambiente de cultivo em plantas de pepino enxertadas.

Também, a enxertia em hortaliças de frutos cultivada consecutivamente é utilizada para suplementar o crescimento das plantas em condições de baixas ou altas temperaturas. Liebig (1986) apud Blanco (1999) estudando os efeitos da temperatura no pepino, concluiu que a enxertia pode ser recomendada como forma de conferir tolerância às plantas a períodos curtos de frio. As plantas enxertadas sobreviveram à temperatura de 10°C, enquanto que a temperatura mínima suportada pelas plantas não enxertadas foi de 14°C.

Macedo Junior (1998) e Goto et al. (1999) observaram aumento da produção em plantas de pepino enxertadas em função do porta-enxerto utilizado e do uso da fertirrigação. Quanto à qualidade de frutos de pepino, Cañizares e Goto (1998) afirmaram que os frutos de plantas enxertadas em porta-enxertos específicos, perderam a cerosidade, ganhando brilho característico e, consequentemente, valor comercial diferenciado.

Avaliando dois híbridos de pepino (Tsuyataro e Natsuhikari) com e sem enxertia e cinco ambientes (quatro, com diferentes materiais de cobertura e fechamento lateral e campo aberto), Hora (2006) observou que as medidas de crescimento, bem como, a produção e número de frutos total e comerciável sofreram interferência dos ambientes, sendo que as plantas cultivadas em campo aberto apresentaram os menores valores. O híbrido Tsuyataro apresentou maiores índices de produtividade, porém, a enxertia não favoreceu esta característica, independentemente, do híbrido utilizado.

A produção e assimilação de CO_2 de pepino japonês enxertado e não enxertado sob o efeito da aplicação de diferentes bioestimulantes vegetais foi avaliado por Macedo et al. (2009) os quais concluíram que plantas não enxertadas apresentaram valores superiores nas características analisadas. Resultado diferente foi encontrado por Brandão Filho et al. (2003) que comparando os efeitos da enxertia nas trocas gasosas de dois híbridos de berinjela em pé franco e enxertado, concluíram que a enxertia não afetou a capacidade fotossintética dos híbridos, porém, esta resultou em menores valores de transpiração e

condutância estomática nos dois híbridos, levando à maior eficiência de uso de água (EUA), efeito este que na prática pode resultar em menor demanda de água pelas plantas para uma mesma produtividade.

2.3 Resultados de efeitos fisiológicos de fungicidas

Durante a última década de pesquisa sobre propriedades fungicidas de estrobilurinas, foram intensificadas as evidências sobre influências diretas em processos fisiológicos de plantas não infectadas ou ameaçadas por patógenos. A essa atividade denominou-se "efeito fisiológico". Os efeitos fisiológicos das estrobilurinas foram revisados sob diversos níveis de complexidade, desde o efeito verdejante (*greening*), frequentemente mencionado e melhoria de fatores estressantes em campo e sob condições controladas, até influências de regulação hormonal e assimilação de carbono e nitrogênio pela planta (VENÂNCIO et al., 2003).

As estrobilurinas representam uma classe relativamente nova de compostos naturais produzidos por fungos da ordem Basidiomicetos pertencentes à espécie *Strobilurus tenacellus* (PARREIRA et al., 2009). Os mesmos autores citam que as estrobilurinas mais comuns são a azoxistrobina, metil-cresoxima, picoxistrobina, fluoxastrobina, orizastrobina, dimoxistrobina, piraclostrobina e trifloxistrobina. A descoberta do poder fungicida das estrobilurinas representou um significativo desenvolvimento na produção de fungicidas baseados em compostos derivados de fungos.

Há duas hipóteses para explicar o aumento da produtividade em plantas tratadas com estrobilurinas (VENANCIO et al., 2004). Na primeira, o aumento da produtividade seria decorrente da alteração de processos fisiológicos incluindo: o ponto de compensação de dióxido de carbono, a senescência foliar, a enzima ácido 1-carboxílico1-aminociclopropano sintase (ACC-sintase) e, desta forma, a biossíntese de etileno, o conteúdo de clorofila, a atividade fotossintética, a abertura dos estômatos, o consumo de água, a atividade de enzimas antioxidantes, os níveis de ácido abscísico e outros hormônios vegetais e, ainda, a atividade da enzima nitrato redutase (KÖEHLE et al., 2002). A segunda hipótese é de que a molécula de estrobilurina preveniria a germinação de esporos de fungos patogênicos, não patogênicos e saprófitos intResíduompendo assim, os elicitores que demandam perdas de

energia em resposta à defesa do hospedeiro (BERGMANN et al., 1999; VENANCIO et al., 2004).

Estudando os aspectos fisiológicos das estrobilurinas sobre plantas de trigo e cevada, submetidas a três aplicações, Michael (2002) observou incremento no rendimento de 7% quando comparados com tratamentos à base de fungicidas azóis e azóis/morfolinas. Na taxa fotossintética o incremento foi de 19% e de 15% na taxa de transporte de elétrons. Observou ainda, melhoria na eficiência de uso da água e redução de 40% na formação de etileno em plantas tratadas com estrobilurinas.

Fagan (2007) avaliou o efeito fisiológico de fungicida à base de piraclostrobina na cultura de soja e os resultados obtidos em casa-de-vegetação revelaram que a aplicação da estrobilurina piraclostrobina aumentou a taxa fotossintética e atividade da enzima nitrato redutase até sete dias após a aplicação (DAA), com valores máximos aos sete DAA para a fotossíntese e ao zero DAA para a atividade da enzima nitrato redutase. A condutância estomática e a transpiração aumentaram até três DAA, momento onde verificou maior efeito. O decréscimo na taxa respiratória manteve-se até os sete DAA, enquanto que a biossíntese de etileno foi inibida até os 18 DAA. O autor concluiu que a aplicação da piraclostrobina em soja causou aumento da atividade fisiológica ocasionando incremento da produtividade de grãos.

Avaliando os reflexos do controle da requeima na produção do tomateiro Töfoli & Domingues (2007) relatam que nos tratamentos onde foram pulverizados fungicidas pertencentes ao grupo das estrobilurinas (piraclostrobina e azoxistrobina) sempre foi verificada tendência para maiores números de frutos sadios, massa fresca de frutos e produção comercial.

Pesquisando sobre diversas moléculas de fungicidas do grupo das estrobilurinas quanto ao metabolismo de nitrogênio e a concentração de proteínas no grão, Clark (2003) constatou melhor aproveitamento para trifloxistrobina. O autor demonstrou que as estrobilurinas apresentam incidência positiva sobre a enzima nitrato redutase e por conseqüência, melhor aproveitamento da fertilização nitrogenada em plantas de trigo.

O incremento de biomassa também requer maior assimilação de nitrogênio, sendo que a atividade da enzima nitrato redutase, que catalisa o primeiro passo na assimilação de nitrato, é considerada como a causa para o efeito de maior produção

proporcionado pela piraclostrobina (KÖHLE et al., 2002). Os mesmos autores observaram incremento na atividade desta enzima durante a noite em plantas tratadas com piraclostrobina, cujo efeito persistiu por três noites após uma única aplicação do produto.

Em um sistema modelo simples, com discos foliares de espinafre em soluções contendo estrobilurina, foi verificado que houve efeito significativo de metil-cresoxima na ativação da enzima nitrato redutase em um período curto de tempo e completa inibição da inativação, normalmente, observada durante a noite (GLAAB; KAISER, 1999 apud BRACHTVOGEL, 2010).

Para Töfoli (2002), além de ação fúngica, as moléculas de estrobilurinas atuam de forma positiva sobre a fisiologia das plantas, através de aumentos da atividade da enzima nitrato redutase, níveis de clorofila e da redução da produção de etileno. Seu efeito é também correlacionado com maior tolerância da planta a estresses abióticos devido a sua ação no metabolismo do ácido abscísico e de enzimas antioxidantes (GROSSMANN et al., 1999). Tais benefícios contribuem diretamente para que as plantas sofram menos estresse no campo, assegurando maior qualidade e rendimento das colheitas.

O boscalida é um fungicida pertencente à família das carboxamidas e ao grupo químico das anilidas e, aparentemente, possui os mesmos efeitos fisiológicos das estrobilurinas, além de fornecer proteção antifúngica preventiva da planta (VENTURE, 2006). Possui ação protetora e sistêmica, atua sobre a germinação de esporos, alongamento do tubo germinativo, crescimento micelial e esporulação. Boscalida também é classificado como um inibidor da respiração na célula fúngica, porém atua sobre o complexo II (TÖFOLI; DOMINGUES, 2007). Seu modo de ação é através da inibição da respiração celular nas mitocôndrias, interferindo no transporte de elétrons no complexo bc2, inibindo a formação de ATP, essencial nos processos metabólicos dos fungos (BASF, 2010).

O fungicida Cantus® contém em sua composição 500g/kg (50% m/m) de Boscalida (N^{o}. CAS: 188425-85-6) (2-Chloro-N-(4`-chlorobiphenyl-2-yl) nicotinamide), cuja fórmula estrutural se encontra na Figura 1. Pertence ao grupo químico das piridianilidas com formulação de granulado dispersível e classe toxicológica III – medianamente tóxico (BASF, 2010). Entre as culturas registradas estão as hortaliças (tomate, alho, cebola e cenoura), além de café e batata.

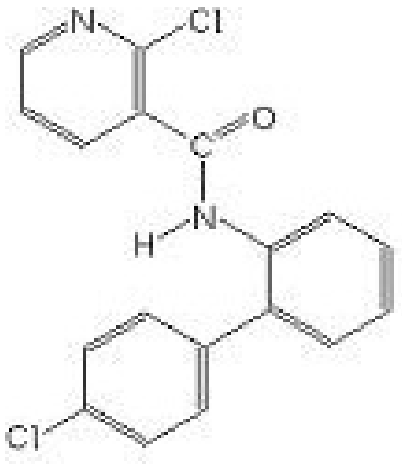

Figura 1. Fórmula estrutural do boscalida. Fórmula bruta: C_{18} H_{12} C_{l2} N_2 O.

Amaro et al. (2009) avaliando o efeito da aplicação de estrobilurinas e boscalida em pepino japonês (*Cucumis sativus* L.) enxertado e não enxertado, em condições de ambiente protegido, observaram que a mistura boscalida+piraclostrobina aumentou a taxa de assimilação de CO_2 e a eficiência do uso da água, assim como aumentou a qualidade dos frutos. As plantas não enxertadas, tratadas com boscalida, também apresentaram ganho de produtividade. Assim, concluíram que, provavelmente, o boscalida também cause efeitos fisiológicos nas plantas, resultantes da maior taxa de assimilação líquida de CO_2, assim como as estrobilurinas (azoxistrobina e piraclostrobina).

Ainda de acordo com Amaro et al. (2009) quanto às trocas gasosas, observaram que as plantas enxertadas e não enxertadas apresentaram desempenho semelhantes com relação aos tratamentos e não diferiram estatisticamente entre si, exceto as testemunhas, nas quais as enxertadas apresentaram menores taxas de assimilação de CO_2.

No entanto, ainda não se tem dados específicos sobre os efeitos fisiológicos do boscalida e sua ação no metabolismo da planta, tanto no aspecto fisiológico quanto bioquímico. Tais dados são importantes, pois podem fornecer informações sobre a contribuição do boscalida no incremento metabólico da planta e, principalmente, no estádio em que a planta mais necessita de energia, como é caso do período de produção, onde boa parte da energia produzida está direcionada para a formação dos frutos.

2.4 Enzimas relacionadas ao estresse

O estresse oxidativo é um tipo de resposta fisiológica/bioquímica da planta após o reconhecimento do patógeno, podendo resultar em sintomas nas plantas dependendo da sensibilidade do hospedeiro.

As espécies reativas de oxigênio ("Reactive Oxygen Species" - ROS), como superóxido ($O_2^{\cdot}$), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e radical hidroxila (OH^-) são produzidas constantemente como subprodutos de várias vias metabólicas localizadas em diferentes compartimentos celulares (APEL; HIRT, 2004). Elas são uma decorrência normal do metabolismo do oxigênio, de modo que, na célula viva há um delicado balanço entre a produção de ROS e a atividade do sistema oxidante, que as neutraliza.

Em células vegetais as ROS, principalmente o H_2O_2, são geradas no citosol, cloroplastos, mitocôndrias, peroxissomas e espaço apoplástico (NAVROT et al., 2007). As espécies reativas de oxigênio ocorrem normalmente no metabolismo celular, porém, quando acumuladas tornam-se tóxicas (QUAN et al., 2008), podendo causar danos aos constituintes celulares, como membranas e ácidos nucléicos (DIAS et al., 2007), lipídios das membranas, proteínas, pigmentos dos cloroplastos e enzimas (VERMA et al., 2003). Recentes investigações têm revelado que as ROS, especialmente o H_2O_2, são componentes centrais de sinais de transdução em cascata, envolvidos em adaptações a plantanças ambientais (NEILL et al., 2002b), as quais ocorrem sob vários estresses bióticos e abióticos (NEILL et al., 2002a).

Para minimizar os efeitos do estresse oxidativo, as plantas possuem um complexo sistema de defesa aos danos oxidativos que envolvem constituintes não enzimáticos como o α-tocoferol, ascorbato e glutationa redutase e enzimas como a catalase (CAT, EC 1.11.1.6), peroxidases (POD, EC 1.11.1.7) e superóxido dismutase (SOD, EC 1.15.1.1) que retiram, neutralizam ou eliminam as espécies reativas de oxigênio (SHAH et al., 2001). Essas enzimas removedoras de ROS (*scavenging*) estão presentes em diversos compartimentos celulares, como peroxissomas e glioxissomas (BUCHANAN et al., 2000), cloroplastos, parede celular, citosol e vacúolo (ASADA, 1992).

Broetto et al. (2002) citam que em várias espécies vegetais observou-se super expressão da atividade da enzima superóxido dismutase em respostas a diversos fatores estressantes. Consideradas importantes na tolerância ao estresse, as superóxido

dismutases (E.C 1.15.1.1, SOD) atuam na defesa da planta contra a toxicidade causada pelas espécies reativas de oxigênio, catalisando a dismutação de radicais superóxido (O_2^-) em peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e oxigênio (O_2), representando assim, um dos principais mecanismos de defesa contra o estresse oxidativo celular (HASSAN, 1988). Segundo Bowler et al. (1992) o peróxido de hidrogênio formado nessa reação é a seguir, reduzido à água pelas peroxidases na presença de ácido ascórbico.

Há três classes de SODs diferenciadas de acordo com o metal presente em seu sítio ativo: cobre/zinco (Cu/Zn-SODs), fResíduo (Fe-SODs) e manganês (Mn-SODs). As enzimas Fe-SODs estão presentes nos cloroplastos, enquanto que as Mn-SODs situam-se na matriz mitocondrial e as Cu/Zn-SODs são normalmente encontradas no citosol, sendo que algumas plantas contem uma isoforma nos cloroplastos (TSANG et al., 1991).

As catalases (E.C 1.11.1.6, CAT) são enzimas que convertem o H_2O_2 em H_2O e O_2 em plantas e estão presentes nos peroxissomas e glioxissomas (DEL RÍO et al., 1998). É uma das enzimas chave envolvida na remoção de peróxidos tóxicos nas células quando estes estão em concentrações altas, pois apresenta baixa afinidade pelo H_2O_2 (MITTLER, 2002).

A CAT apresenta função combinada com as SODs, sendo que a CAT converte o H_2O_2 originado pela atividade da SOD, em H_2O e O_2 (CATANEO, 2008). Esta enzima é sensível a luz, a qual pode ocasionar sua inativação, assim como situações de estresse promovidas por baixas ou altas temperaturas e condições que suprimem a síntese protéica também causam sua inativação.

As peroxidases também atuam na prevenção e redução dos efeitos deletérios causados por radicais livres e pela peroxidação dos lipídios (CHANG et al., 1998). Participam de inúmeros processos fisiológicos como lignificação, suberização, catabolismo de auxina, tolerância à salinidade e mecanismos de defesa contra patógenos (HIRAGA et al., 2001). Assim, aumento na atividade da enzima peroxidase pode ser considerado uma ação protetora, pois quebrariam as espécies reativas de oxigênio em água e oxigênio molecular, evitando a peroxidação dos lipídios.

O grupo das peroxidases inclui enzimas capazes de catalisar a transferência do hidrogênio de um doador para o H_2O_2, sendo que em plantas esse grupo de enzimas constitui uma proteção antioxidante (ROSSI et al., 1997). Gaspar (1986) afirma que a

peroxidase parece ser a molécula chave de adaptação das plantas, ou de algum de seus órgãos separadamente, às plantanças do meio ambiente.

A peroxidase (POD) está envolvida em muitas das reações metabólicas e processos fisiológicos dos tecidos vegetais. Essa enzima participa no processo de lignificação e a presença de numerosas isoperoxidases podem ter funções específicas na biossíntese da lignina (GÜLEN et al., 2005). Segundo Rodrigues et al. (2001), a peroxidase é uma substância de grande importância na união entre o enxerto e porta-enxerto, podendo influenciar nas respostas do processo de enxertia .

Para se obter o funcionamento do sistema vascular na união do enxerto, é necessário serem similares as peroxidases, tanto no enxerto como no porta-enxerto, para que ocorra a produção de correlatas ligninas (SANTAMOUR, 1992). Nas plantas que possuem semelhanças de peroxidases, raramente se encontra problemas de incompatibilidade.

Essas enzimas, relacionadas ao estresse oxidativo, reduzem de forma eficiente as espécies reativas de oxigênio quando submetidas em condições normais. Porém, se a redução completa não ocorrer, devido a produção excessiva de ROS ou a inibição da atividade das defesas antioxidantes, o resultado pode ser um estresse oxidativo levando a oxidação de biomoléculas como lipídios, proteínas e DNA. Além disso, a oxidação e a inativação dos componentes celulares podem desencadear o processo de morte da célula (BUCKNER et al., 2000).

Assim, como plantas tratadas com estrobilurinas, acredita-se que o boscalida também esteja correlacionado com a maior tolerância da planta a estresses devido à ação de enzimas antioxidantes; no entanto, ainda não há dados concretos de resposta do boscalida sobre a ação dessas enzimas.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Caracterização da área experimental

O ensaio foi desenvolvido em cultivo protegido na Fazenda Experimental São Manuel, da Faculdade de Ciências Agronômicas/UNESP, Campus de Botucatu - SP, com longitude 48º 34' W GR; latitude 22º 44'S e altitude de 750 m, localizada no Município de São Manuel – SP e as análises de laboratório foram desenvolvidas no Departamento de Botânica do Instituto de Biociências - UNESP, Botucatu-SP.

O clima da região caracteriza-se como subtropical úmido, com estiagens no período de inverno, média anual de temperatura em torno de 21°C e precipitação média anual de 1534 mm. O solo do local do experimento é classificado como Latossolo Vermelho Amarelo fase arenosa, cujos resultados da análise química (camada 0-20 cm) encontram-se na Tabela 01.

O ambiente protegido possuía as dimensões de 7,0 x 40,0 m e pé direito com 3 m de altura, teto em arco de aço galvanizado coberto com filme de polietileno de baixa densidade (PEBD) de 150 µm com tela escura de sombreamento (30%) nas laterais.

Tabela 1. Resultados da análise química do solo da área do ambiente protegido, na camada 0-20 cm. FCA/UNESP – Botucatu – SP, 2009.

P	MO	pH $CaCl_2$	H+Al	Al^{3+}	K^+	Ca^{2+}	Mg^{2+}	SB	CTC	V
(mg dm^{-3})	(g dm^{-3})	(0,01mol L^{-1})	(mmol$_c$. dm^{-3})							%
193	8	6,8	10	-	1,6	84	6	92	102	90
mg dm^3										
Boro		Cobre	FResíduo			Manganês			Zinco	
0,29		2,4	27			12,3			3,0	

Fonte: laboratório de fertilidade do solo, FCA-UNESP, Botucatu – SP.

3.2 Caracterização do experimento

Para a formação de planta foram utilizados como enxerto o híbrido de pepino Tsuyataro (Takii®) e como porta-enxerto a abóbora (*Cucurbita* sp.) 'Excite Ikky' (Sakata Seeds®).

O delineamento experimental foi de blocos ao acaso, em esquema fatorial 5 x 2 com quatro repetições e seis plantas por parcela, sendo utilizadas as quatro plantas centrais para as avaliações. Foram utilizadas cinco doses de boscalida (Cantus®) (0, 25, 50, 75 e 100 g i.a. ha^{-1}) em pepino enxertado e não enxertado (pé franco), conforme a descrição dos tratamentos na Tabela 2.

Tabela 2. Descrição dos tratamentos utilizados com a cultura do pepineiro híbrido Tsuyataro, enxertado e não enxertado e as diferentes doses de boscalida. FCA/UNESP – Botucatu, SP, 2010.

Tratamentos	**Tipo da planta**	**Dose (g i.a. ha^{-1})**
T1	Não enxertado	0
T2	Não enxertado	25
T3	Não enxertado	50
T4	Não enxertado	75
T5	Não enxertado	100
T6	Enxertado	0
T7	Enxertado	25
T8	Enxertado	50
T9	Enxertado	75
T10	Enxertado	100

3.3 Características dos genótipos

- Pepino 'Tsuyataro': híbrido tipo japonês de ciclo médio, com resistência ao míldio (*Pseudoperonospora cubensis*) e ao oídio (*Sphaerotheca fuliginea*). Os frutos possuem 21-22 cm de comprimento e 2,5 a 3,0 cm de diâmetro com coloração verde escura brilhante. Apresenta alta tolerância ao frio, podendo ser cultivado o ano todo (TAKII SEED, 2010).
- Porta-enxerto 'Excite Ikky' (SAKATA SEED): porta-enxerto de pepino para todas as estações. A principal vantagem deste material é que apresenta tolerância a nematóides e a temperaturas extremas, além de conferir brilho aos frutos. É o porta-enxerto mais utilizado entre os produtores paulistas (CAÑIZARES, 2001).

3.4 Instalação e condução do experimento

As planta foram adquiridas do viveiro Comercial do Eng. Agrônomo Ernesto Naoki Abuno, localizado no município de Pilar do Sul – SP. A semeadura do enxerto e do pé-franco foi realizada no dia 25/08/2009 e do porta-enxerto quatro dias após a do enxerto (29/08/2009). A enxertia foi realizada no dia 08/09/2009, o transplante para os copinhos plásticos no dia 12/09/2009 e o transplante para o local definitivo (cultivo protegido) no dia 22/09/2009. A colheita teve início aos 33 dias após o transplante (24/10/2009) e se estendeu até os 84 DAT (18/12/2009).

Nas plantas enxertadas, o método utilizado foi o da encostia (Figura 2), que consiste na união do enxerto e do porta-enxerto, por meio de um pequeno corte lateral feito no caule das plantas e união com auxílio de um grampo, preservando-se ambos os sistemas radiciais até a perfeita conexão entre os vasos condutores. Após essa fase, realiza-se a "desmama", prática que se refere ao desligamento do sistema radicial do pepineiro.

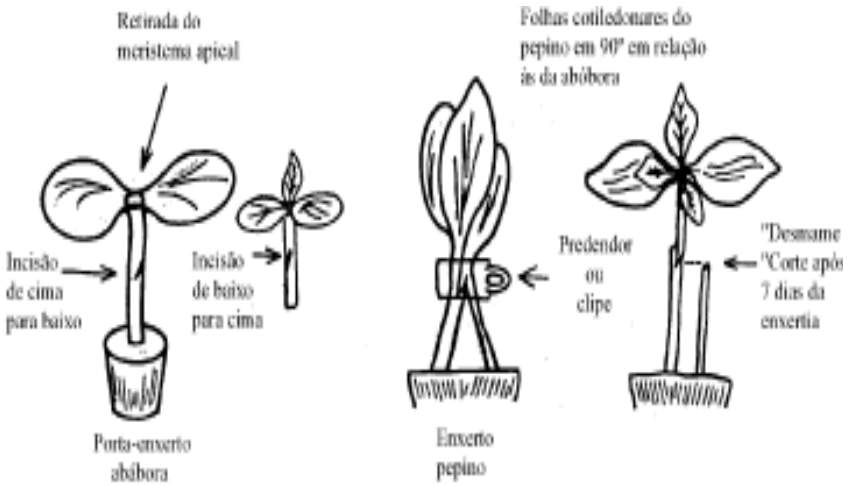

Figura 2. Método de enxertia por encostia para Cucurbitáceas. Fonte: Oda (1995), adaptado por Cañizares e Goto (2002).

Conforme dados da análise de solo apresentados na Tabela 01, este encontrava-se com boa fertilidade, sendo que não foi necessária a realização de calagem pois, a saturação de bases de 80% é considerada ideal para o bom desenvolvimento da cultura. Os valores dos demais nutrientes como N, P e K também encontravam-se adequados para a cultura.

Para a adubação de base foram colocados somente 1 kg m^2 de cama de frango, conforme recomendação de Fontes e Puiatti (2005). As fertirrigações foram realizadas manualmente e iniciaram-se na fase reprodutiva da planta, no início da frutificação, sendo feitas ao todo quatro fertirrigações, com 1,45 g de nitrato de cálcio, 1,07 g de MAP e 0,95 g de KCl em 100 mL de água por planta.

O sistema de irrigação foi composto por uma linha de fita gotejadora para cada canteiro, com um gotejador para cada planta com vazão de 4 L h^{-1} por gotejador, sendo irrigados de acordo com as necessidades da cultura, de uma a duas vezes por dia, caso estivesse baixa a umidade relativa e alta a temperatura.

O espaçamento de plantio utilizado foi de 1,2 m x 0,50 m entre plantas.

As plantas foram tutoradas verticalmente com auxílio de fitilho plástico grampeado a um bambu. Todas as brotações laterais e frutos formados até o 5º nó foram retirados, objetivando a sustentação e formação do sistema radicial. As plantas foram conduzidas até o 22º nó, deixando-se as ramificações secundárias, as quais foram despontadas com dois a três internós.

No interior do cultivo protegido foi instalado medidor digital temperaturas máximas e mínimas, sendo que os valores se encontram nas Figuras 03 e 04.

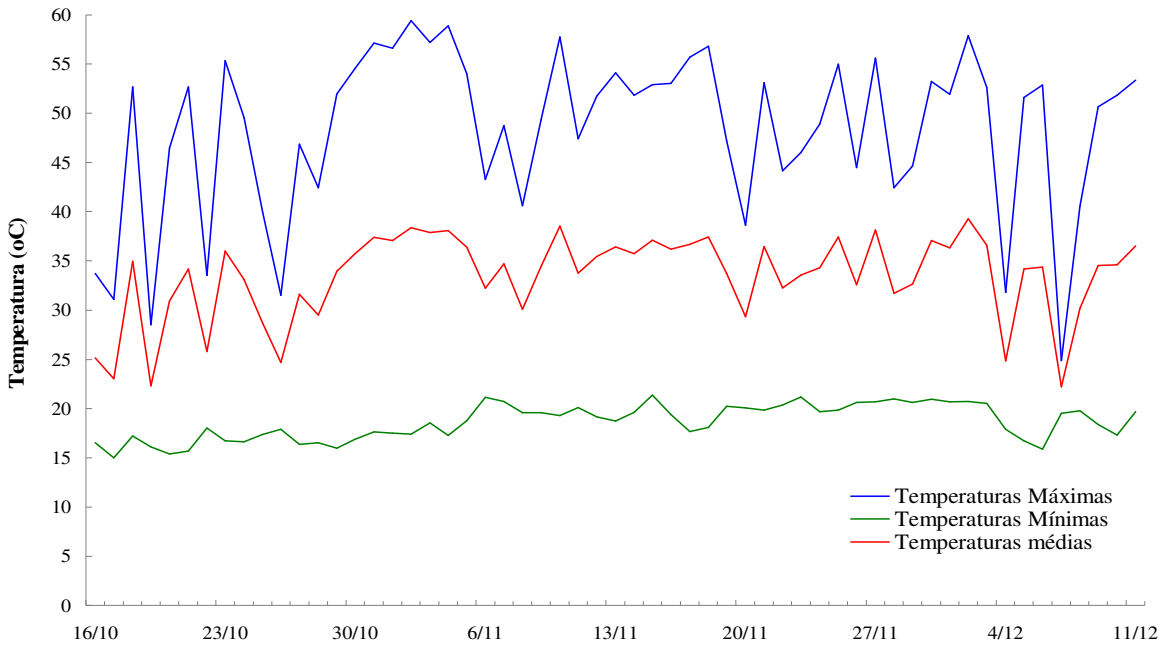

Figura 3. Valores médios semanais de temperaturas máximas, médias e mínimas do ambiente protegido com a cultura do pepino. FCA/UNESP, São Manuel – SP, 2010.

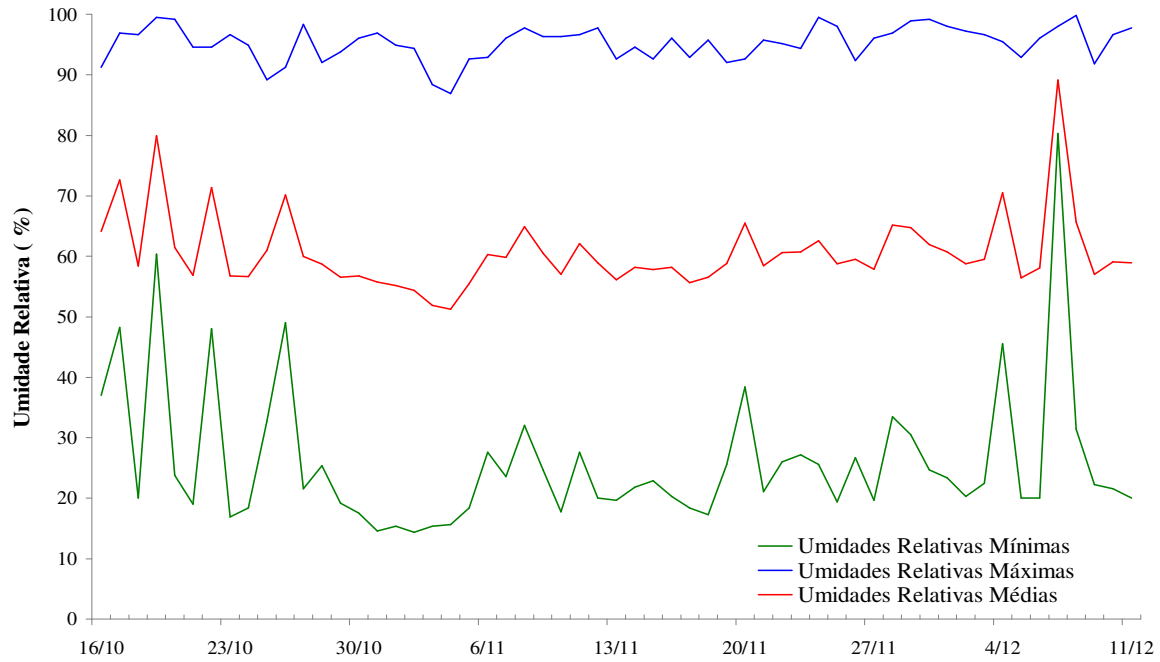

Figura 4. Valores médios semanais de umidades relativas máximas, médias e mínimas do ambiente protegido com a cultura do pepino. FCA/UNESP, São Manuel – SP, 2010.

Foi realizado preventivamente o controle periódico contra pragas aplicando-se semanalmente inseticida com o princípio ativo acetamiprido do grupo químico dos neonicotinóides na dose de 25 g p.c. 100 L^{-1} de água.

Para o controle do oídio foram aplicados quinzenalmente 200g p.c. de "Kumulus" (BASF S/A) (enxofre 80%) alternado com 0,5 L ha^{-1} de Fenpropimorfe que proporcionaram controle eficaz.

O controle de plantas daninhas foi feito manualmente através de capinas e catação manual, sempre que necessário.

As aplicações do fungicida à base de boscalida iniciaram-se 23 dias após o transplante (D.A.T.) totalizando nove aplicações em intervalos semanais (dias 14/10; 22/10; 29/10; 05/11; 13/11; 21/11; 27/11; 03/12 e 10/12/2009). Para as aplicações utilizou-se pulverizador costal pressurizado com CO_2 e pressão de 3 kgf cm^{-2} com dois bicos tipo leque. Para evitar contaminação de parcelas vizinhas foi utilizada cortina plástica.

3.5 Avaliações realizadas

3.5.1 Trocas gasosas

Devido a indisponibilidade do aparelho IRGA, foram realizadas apenas duas avaliações de trocas gasosas. AS medidas foram realizadas com equipamento de sistema aberto portátil de fotossíntese com analisador de CO_2 por radiação infravermelha (Infra Red Gas Analyser – IRGA modelo Li6400, LI-COR), sempre na região mediana de folhas novas, completamente expandidas, totalmente expostas à radiação solar, em um dia com ausência de nebulosidade, em uma planta por parcela, totalizando quatro plantas por tratamento. Determinações de assimilação líquida de CO_2 (*A*), condutância estomática (*Gs*), transpiração (*E*), concentração interna de CO_2 (*Ci*) foram feitas das 09:00 às 11:00 horas para comparação dos híbridos em pé-franco e enxertados aos 39 e 73 D.A.T.. Da relação entre a quantidade de CO_2 assimilado por unidade de água perdida por transpiração foi obtida a eficiência do uso de água (EUA) e da relação entre a quantidade de CO_2 assimilado por

concentração interna de CO_2 foi obtido a eficiência de carboxilação *in vivo* da Rubisco. Para tais medidas foi estabelecido 1700 µmol m^{-2} s^{-1} de radiação fotossinteticamente ativa (PAR).

3.5.2 Teor SPAD de clorofila

O índice SPAD foi determinado na 2ª, 3ª e 4ª folhas completamente expandidas a partir do ápice, das quatro plantas centrais da parcela, por meio de um medidor portátil de clorofila SPAD 502 (soil-plant analysis development), sendo realizadas avaliações a cada 15 dias. O aparelho possui diodos que emitem feixes de luz a 650 nm (vermelho) e 940 nm (infravermelho) através da folha e dois detectores que medem a transmitância da luz através da mesma. O comprimento de onda de 650 nm situa-se entre os dois comprimentos de onda associados com a clorofila (645 e 663 nm). O comprimento de onda de 940 nm atua como um padrão interno, a fim de compensar as diferenças existentes quanto à espessura da folha, estado de turgescência e outros fatores. Assim, o aparelho mede a diferença entre a atenuação da luz a 650 e 940 nm, como um índice do tom da coloração verde ou da concentração de clorofila, as quais são expressas em Unidades SPAD (MINOLTA CÂMERA CO, citados por CAÑIZARES, 2001).

3.5.3 Análises bioquímicas

Para as análises bioquímicas foram coletadas amostras da 2ª folha completamente expandida a partir do ápice da planta. As coletas foram realizadas durante a madrugada em três épocas diferentes: no início, no pico e no final da produção, correspondendo aos 40 D.A.T. (31/10), 47 D.A.T. (07/11) e 81 D.A.T. (13/12/2009). Após a coleta, as folhas foram embrulhadas em papel alumínio e sacos plásticos, sendo posteriormente imersas em nitrogênio líquido e armazenadas em ultra *freezer* a -80°C.

A obtenção do extrato bruto se deu através da ressuspensão do material vegetal processado (200 mg) em 2,0 mL de tampão fosfato de potássio 0,1 M com pH 6,8. Após a maceração as amostras foram colocadas para centrifugar por 10 minutos a 10000

rpm, sendo então, o sobrenadante coletado em microtubos e armazenado em ultra *freezer* a -80ºC.

3.5.3.1 Determinação do teor de proteínas solúveis

A determinação, em triplicata, foi realizada de acordo com o método de Bradford (1976) utilizando o extrato obtido para determinação das enzimas. Como padrão utilizou-se a albumina de soro bovino - BSA (1 mg mL^{-1}). A leitura foi feita em 595 nm, sendo o teor de proteínas expresso em mg g massa $fresca^{-1}$ (M.F.).

3.5.3.2 Atividade da enzima Peroxidase (POD) (EC 1.11.1.7)

A atividade da POD foi analisada utilizando o método descrito por Lima et al. (1999) utilizando o mesmo extrato bruto das demais enzimas. Alíquotas de 1,0 mL foram colocadas em tubos de ensaio contendo H_2O_2, aminoantipirina e fenol e mantidas em banho maria a 40º C por 5 minutos. Etanol absoluto (2 mL) foi utilizado para interromper a reação e a leitura foi feita em espectrofotômetro a 505 nm. A atividade da enzima foi expressa em µmoles H_2O_2 decomposto g $M.F.^{-1}$.

3.5.3.3 Atividade da enzima Catalase (CAT) (EC 1.11.1.6)

A determinação da CAT foi realizada por medição em um aparelho de espectrofotômetro a um comprimento de onda de 240 nm pelo monitoramento da variação da absorção do peróxido de hidrogênio, conforme Peixoto et al. (1999). Para o teste, 50 µL de extrato bruto foram adicionados a 950 µL de tampão fosfato de potássio 50 mM pH 7,0, suplementado com peróxido de hidrogênio a uma concentração final de 12,5 mM. A variação da absorção (ΔE) foi calculada em um intervalo de 80 segundos, sendo a atividade da enzima calculada utilizando-se um coeficiente de extinção molar ε=39,4 mM^{-1} cm^{-1}. A atividade específica (µKat µg prot $^{-1}$) da catalase levou em consideração a concentração de proteína solúvel no teste.

3.5.3.4 Atividade da enzima Superóxido Dismutase (SOD) (EC 1.15.1.1)

A determinação da atividade da SOD leva em consideração a capacidade da enzima em inibir a fotorredução do NBT (azul de cloreto de nitrotetrazólio). A atividade foi determinada pela adição de 50 µL de extrato bruto a uma solução contendo 13 mM de metionina, 75 µL de NBT, 100 nM de EDTA e 2 µM de riboflavina em 3,0 mL de tampão fosfato de potássio 50 mM, pH 7,8. A reação iniciou pela iluminação dos tubos, em câmara composta por lâmpadas fluorescentes (15 W), a 25ºC. Após 5 minutos de incubação, o final da catálise foi determinado pela interrupção da luz (GIANNOPOLITIS; RIES, 1977). O composto azul formado (formazana) pela fotorredução do NBT foi determinado pela leitura em espectrofotômetro a 560 nm. Uma unidade de SOD é definida como a atividade da enzima necessária para a inibição de 50% da fotorredução do NBT. Para o cálculo da atividade específica da enzima considera-se a porcentagem de inibição obtida, o volume da amostra e a concentração de proteína na amostra ($\mu g\ \mu L^{-1}$).

3.5.3.5 Atividade da enzima Nitrato Redutase (NR) (EC 1.6.6.1)

A análise da atividade da redutase de nitrato foi efetuado pelo método proposto por Brachtvogel (2010). Foram pesados 200 mg de material vegetal macerado e incubado em tubos de ensaio com 5 mL de solução tampão fosfato (K_2HPO_4 + KH_2PO_4, 0,1 mol L^{-1}), pH 7,0 contendo 0,5 mM de KNO_3 1% de propanol e 0,5 mM de nicotinamida adenina dinucleotídeo na forma reduzida (NADH; Sigma cat. nº N-605). Os tubos foram cobertos com tampa de silicone e as amostras foram submetidas à vácuo por três ciclos de um minuto com intervalo de 30 segundos, para permitir a infiltração da solução de incubação na amostra. Após, foi realizada a incubação das amostras em banho maria a 32ºC por 30 minutos, mantendo as amostras no escuro. Com o término da incubação, pipetou-se uma alíquota de 1 mL da solução de incubação e adicionou-se 1 mL da solução de sulfanilamida a 1% e 1 mL de solução den-naftil a 0,02%, ambas diluídas em solução de HCl a 25%. Após a filtragem em papel filtro qualitativo, procedeu-se a quantificação do produto formado (de cor violeta/púrpura) pela leitura em espectrofotômetro de absorção atômica no comprimento de

onda de 540 nm. A atividade da enzima redutase foi expressa em micromol de nitrito produzido por grama de massa fresca (M.F.) por hora (µmol de NO_2 g $M.F.^{-1}$ h^{-1}).

3.5.4 Características fitotécnicas

Tais medidas foram realizadas uma única vez no final do ciclo da cultura, naquelas plantas em que foram realizadas as colheitas.

3.5.4.1 Área foliar

A área foliar de planta inteira foi determinada por intermédio de um integrador de área, Area Meter modelo Li-3100, da LI-COR e expressa em cm^2.

3.5.4.2 Massa fresca e massa seca

A massa seca da parte aérea foi determinada após a pesagem da massa fresca, sendo as amostras colocadas em estufa com circulação de ar a 72°C onde permaneceram até atingir peso constante. Tanto a massa fresca como a massa seca foram expressas em gramas.

3.5.5 Produção

Diariamente, os frutos que apresentavam comprimento entre 18 e 25 cm e diâmetro entre 2 e 3 cm foram colhidos, pesados individualmente e classificados em reto, médio (intermediário), torto ou muito torto, de acordo com a relação obtida entre a medição da distância mais curta entre a base e o ápice do pepino (a) e o lado externo do fruto (b) (Figura 05), onde: reto – relação a/b maior que 0,98; médio - relação a/b entre 0,95 e 0,98; torto - relação a/b entre 0,94 e 0,84 e muito torto relação a/b menor ou igual a 0,84, conforme mostra a Figura 06.

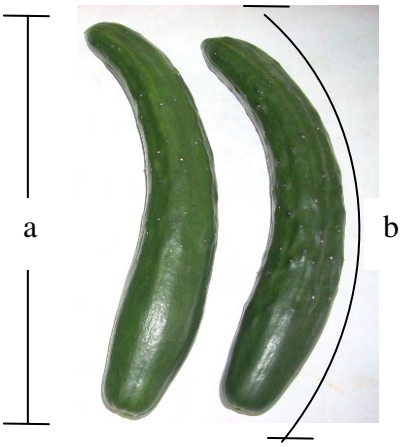

Figura 5. Distância mais curta entre a base e o ápice do pepino (a) e o lado externo do fruto (b), para obtenção do grau de tortuosidade dos frutos (Foto: SIRTOLI, 2010).

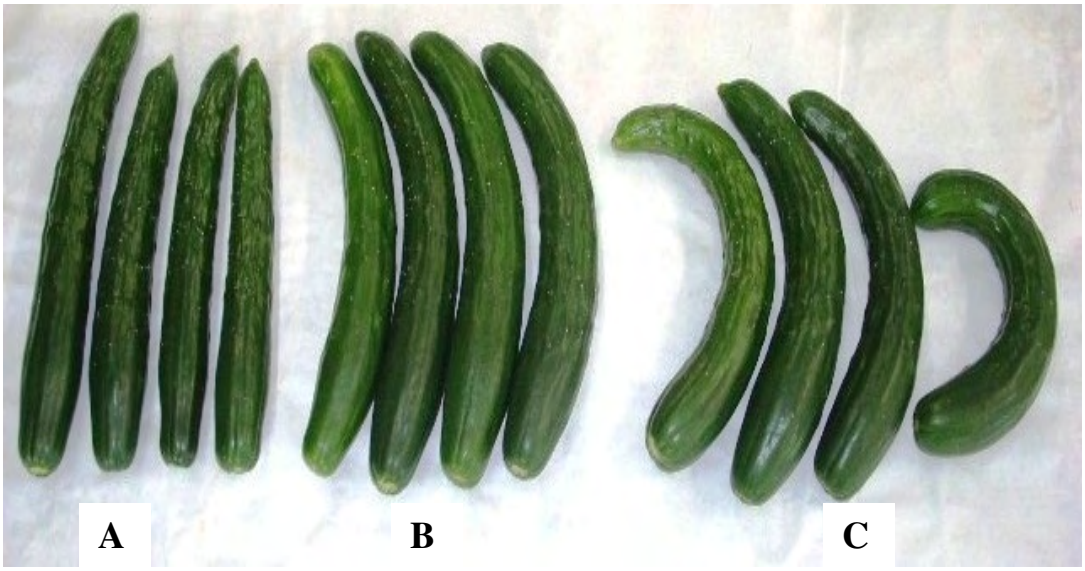

Figura 6. Classificação comercial do pepino "japonês", de acordo com a tortuosidade. A= retos; B= médios/intermediários e C= tortos e muito tortos (Foto: SIRTOLI, 2010).

Posteriormente, os frutos foram classificados em produção comercial, sendo considerados os que se encaixavam nos padrões citados acima. Frutos com relação a/b menor que 0,85 (muito tortos) foram considerados não comerciais. Os frutos que não se encaixavam dentro dos padrões foram somados aos frutos comerciais para a obtenção de

frutos totais. As colheitas foram efetuadas enquanto houve produção de frutos com padrão comercial nos tratamentos instalados, nas quatro plantas centrais da parcela.

3.6 Análise dos dados

Após a tabulação, os dados foram submetidos à análise estatística que constou de teste de normalidade e homogeneidade e variância pelo teste F. Quando significativo, para as doses de boscalida, procedeu-se com a análise de regressão, calculada para equações lineares e quadráticas. Foram consideradas as equações significativas a 1% (**) e 5% (*) de probabilidade pelo teste F; quando ambas foram significativas, foi feita a opção por aquela com maior coeficiente de determinação (R^2). Já para o fator plantas enxertadas e não enxertadas, procedeu-se ao teste de médias através do teste Tukey a 5% de probabilidade. No caso de interação significativa foi feito o desdobramento pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. Utilizou-se o programa de análises estatísticas SISVAR 5.0 (FERREIRA, 2000).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Trocas gasosas

4.1.1 Assimilação de CO_2 (*A*)

Na Tabela 3 estão apresentados os dados referentes ao resumo da análise de variância da taxa de assimilação de CO_2 (fotossíntese) aos 39 e 73 dias após o transplante (D.A.T.). Para esta característica não houve ajuste de equação significativa para as doses; no entanto, o desdobramento entre doses e tipos de plantas mostrou significância.

Tabela 3. Resumo da análise de variância da taxa de assimilação de CO_2 (fotossíntese) aos 39 e 73 dias após o transplante (D.A.T.), de pepineiro híbrido Tsuyataro, enxertado e não enxertado em função de doses de boscalida. FCA/UNESP – Botucatu, SP, 2010.

CV	GL	Quadrado médio	
		39 D.A.T.	**73 D.A.T.**
Modelo	-	ns	ns
Doses	4	$7,81^{ns}$	$14,50^{ns}$
Planta	1	61,18**	$0,17^{ns}$
Bloco	3	22,53*	$22,99^{ns}$
Doses x Planta	4	$8,88^{ns}$	$4,90^{ns}$
Resíduo	27	5,02	12,81
C. V.%	-	13,38	31,55
Média	-	16,74	11,35

ns: não significativo (P> 0,05); *: P (≤0,05); ** P<0,01.

Analisando os dados de assimilação de CO_2 em função do tipo de planta observa-se maiores taxas nas plantas enxertadas (Tabela 4) no início da produção (39 D.A.T.). Esse resultado está de acordo com os obtidos por Hora (2006) que trabalhando com os híbridos de pepino japonês Tsuyataro e Natsuhikari encontrou maior taxa de assimilação de CO_2 em plantas enxertadas do que nos mesmos híbridos não enxertados.

As doses de boscalida de 75 e 100 g i.a. ha^{-1} favoreceram a assimilação de CO_2 em plantas enxertadas, as quais proporcionaram respectivamente, aumento de 8,48 e 9,59%, quando comparadas com a dose zero, no entanto, não diferem das doses de boscalida de 0 e 50 g i.a. ha^{-1}. Já a dose de 25 g i.a. ha^{-1} proporcionou a menor assimilação de CO_2 em plantas enxertadas diferindo das doses de 75 e 100 g i.a. ha^{-1}, demonstrando assim, que o efeito do boscalida na assimilação de CO_2 ocorre nas maiores doses (75 e 100 g i.a. ha^{-1}). As plantas não enxertadas, quanto a taxa de assimilação de CO_2, não responderam às doses de boscalida (Tabela 4).

Tabela 4. Valores médios da taxa de assimilação de CO_2 (µmol m^{-2} s^{-1}) aos 39 e 73 dias após o transplante (D.A.T.), de pepineiro híbrido Tsuyataro, enxertado e não enxertado em função de doses de boscalida. FCA/UNESP – Botucatu-SP, 2010.

Doses	**39 D.A.T.**		**73 D.A.T.**	
(g i.a. ha^{-1})	Pé-franco	Enxertada	Pé-franco	Enxertada
0	15,032 aA	17,975 abA	10,475	8,005
25	15,925 aA	15,200 bA	11,867	12,190
50	15,175 aA	16,525 abA	12,775	12,897
75	15,750 aB	19,500 aA	10,280	11,840
100	15,650 aB	19,700 aA	11,010	12,120
Média	15,506 B	17,980 A	11,281	11,410
C.V. (%)	13,38		31,55	

Médias seguidas de mesma letra minúsculas na coluna e maiúsculas na linha e, não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Durante a fotossíntese, a planta utiliza a energia solar para oxidar a água e para reduzir o dióxido de carbono, liberando consequentemente o oxigênio e, assim, produzindo grandes compostos carbonados, sobretudo açúcares que impulsionam processos celulares na planta e servem como forma de energia (TAIZ; ZEIGER, 2009). Portanto, o aumento na taxa de assimilação de CO_2 especialmente nessa fase da cultura é importante já que os fotoassimilados estão sendo direcionados para a produção dos frutos.

Na avaliação realizada no final do ciclo de produção, aos 73 D.A.T. (a colheita se estendeu até os 84 D.A.T.) não se observou diferenças estatísticas significativas para os valores de assimilação de CO_2 para nenhum dos tratamentos (Tabela 4).

O que pode ser notado é a queda dos valores de assimilação de CO_2 quando comparados com a avaliação do início do ciclo de produção (aos 39 D.A.T.), demonstrando assim, o início da senescência das plantas, pois o desempenho da fotossíntese com a idade da folha acompanha o teor de clorofila, por isso folhas mais jovens apresentam maiores taxas fotossintéticas relativamente às mais velhas (GOMIDE et al., 2002).

4.1.2 Transpiração (*E*)

Os dados referentes ao resumo da análise de variância dos valores de transpiração (mmol m^{-2} s^{-1}) aos 39 e 73 dias após o transplante (D.A.T.) estão apresentados na Tabela 5. Apesar da regressão para as doses não mostrar significância observou-se diferenças estatísticas significativas pelo do teste de médias.

Tabela 5. Resumo da análise de variância da taxa de transpiração aos 39 e 73 dias após o transplante (D.A.T.), de pepineiro híbrido Tsuyataro, enxertado e não enxertado em função de doses de boscalida. FCA/UNESP – Botucatu-SP, 2010.

CV	GL	Quadrado médio	
		39 D.A.T.	73 D.A.T.
Modelo	-	ns	ns
Doses	4	$1,10^{ns}$	$0,78^{**}$
Planta	1	$0,62^{ns}$	$0,01^{ns}$
Bloco	3	11,82**	$0,78^{ns}$
Doses x Planta	4	$0,25^{ns}$	$2,51^{ns}$
Resíduo	27	0,53	2,00
C. V.%	-	8,63	17,90
Média	-	8,43	7,90

ns: não significativo (P> 0,05); *: P (≤0,05); ** P<0,01.

Tanto aos 39 como aos 73 D.A.T. não houve diferenças nos valores de transpiração para as plantas enxertadas e as não enxertadas (Tabela 6), discordando com os resultados obtidos por Brandão Filho et al. (2003) que trabalhando com dois híbridos de berinjela em pé franco e enxertado, concluindo que as plantas quando enxertadas apresentaram menores valores de transpiração.

Com relação às doses de boscalida aos 73 D.A.T. só houve diferenças para as plantas enxertadas, onde a dose de 25 g i.a. ha^{-1} proporcionou maior taxa de transpiração e a dose zero apresentou a menor taxa, sendo que ambos diferiram entre si, mas não diferiram das demais doses.

A transpiração está relacionada com a perda de água na forma de

vapor, portanto, esses resultados podem indicar uma maior perda de água nas doses de 25 a 100 g i.a. ha^{-1}. Segundo Taiz e Zeiger (2009) todas as plantas terrestres enfrentam demandas competitivas de absorverem CO_2 da atmosfera enquanto limitam a perda de água. O ideal são plantas eficientes em moderar a perda de água, ao mesmo tempo que permitem absorção suficiente de CO_2 para a fotossíntese.

Tabela 6. Valores médios da taxa de transpiração (*E*, mmol m^{-2} s^{-1}) aos 39 e 73 dias após o transplante (D.A.T.), de pepineiro híbrido Tsuyataro, enxertado e não enxertado em função de doses de boscalida. FCA/UNESP – Botucatu-SP, 2010.

Doses	**39 D.A.T.**		**73 D.A.T.**	
(g i.a. ha^{-1})	Pé-franco	Enxertada	Pé-franco	Enxertada
0	8,00	8,75	8,26 aA	6,61 bA
25	8,50	8,50	7,72 aA	8,82 aA
50	8,00	8,00	8,10 aA	8,00 abA
75	8,75	9,25	7,91 aA	7,67 abA
100	8,25	8,25	7,43 aA	8,45 abA
Média	8,30	8,55	7,88 A	7,91 A
C.V. (%)	8,63		17,90	

Médias seguidas de mesma letra minúsculas na coluna e maiúsculas na linha e, não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

4.1.3 Eficiência do uso da água (EUA)

Encontram-se na Tabela 7 os dados referentes ao resumo da análise de variância e a significância dos tratamentos utilizados e a interação das médias de eficiência do uso da água (EUA).

Tabela 7. Resumo da análise de variância da eficiência do uso da água (Assimilação de CO_2/transpiração) aos 39 e 73 dias após o transplante (D.A.T), de pepineiro híbrido Tsuyataro, enxertado e não enxertado em função de doses de boscalida. FCA/UNESP – Botucatu-SP, 2010.

CV	GL	Quadrado médio	
		39 DAT	73 DAT
Modelo	-	ns	ns
Doses	4	$0,106^{ns}$	$0,110^{ns}$
Planta	1	0,433*	$0,020^{ns}$
Bloco	3	0,319*	0,423*
Doses x Planta	4	0,093*	$0,028^{ns}$
Resíduo	27	0,075	0,104
C. V.%	-	13,5	22,69
Média	-	2,03	1,42

ns: não significativo (P> 0,05); *: P (≤0,05); ** P<0,01.

As plantas enxertadas apresentaram maior EUA do que as plantas não enxertadas (Tabela 8) no início do ciclo de produção (39 DAT), corroborando com os resultados obtidos por Brandão Filho et al. (2003) que trabalhando com dois híbridos de berinjela em pé franco e enxertado concluíram que as plantas enxertadas são mais eficientes no uso da água do que o pé franco. Ainda segundo os mesmos autores, na prática esse efeito pode resultar em menor demanda de água pelas plantas, também, acredita-se que há maior aproveitamento da água correlacionada com a taxa de assimilação de CO_2 e menor perda de água por transpiração, já que a EUA tem estreita relação com a quantidade de fotossíntese produzida e de água perdida em forma de vapor (transpiração). A maior EUA proporcionada pelas plantas enxertadas pode estar relacionado ao sistema radicular, já que uma das vantagens de se utilizar porta-enxerto é o aumento do vigor e consequentemente maior absorção de água e nutrientes pelo sistema radicular.

Analisando-se isoladamente as doses de boscalida estas não influenciaram as plantas não enxertadas, apenas as enxertadas. A EUA aos 39 D.A.T. foi menor na dose de 25 g i.a. ha^{-1}, o que já era de se esperar, pois essa mesma dose proporcionou

menor taxa de assimilação de CO_2 e maior transpiração e a EUA é o produto dos valores de assimilação de CO_2 pela transpiração. O contrário ocorreu em plantas tratadas com a maior dose de boscalida (100 g i.a. ha^{-1}) que apresentaram maior EUA, no entanto, diferiram estatisticamente apenas da menor dose de boscalida (25 g i.a. ha^{-1}).

Amaro et al. (2009) avaliando a influência de alguns fungicidas nas trocas gasosas de plantas de pepino japonês enxertadas e não enxertadas obtiveram maior EUA com a mistura de boscalida (100 g i.a. ha^{-1}) + piraclostrobina (50 g i.a. ha^{-1}). Também citam, que para as plantas não enxertadas não houve diferenças significativas entre os tratamentos. Tais resultados concordam com os obtidos neste trabalho, comprovando a maior EUA pelo boscalida na dose de (100 g i.a. ha^{-1}) em plantas enxertadas (Tabela 7).

Na avaliação realizada no final do ciclo de produção (73 D.A.T.) não houveram diferenças na EUA para tipos de planta e nem para as doses de boscalida. O que pode ser observado é a diminuição nos valores quando comparados com a avaliação no início da produção, assim como ocorreu com a taxa de assimilação de CO_2 (Tabela 4).

Tabela 8. Valores médios da eficiência do uso da água (Assimilação de CO_2/transpiração, µmol CO_2 (mmol H_2O))$^{-1}$ aos 39 e 73 dias após o transplante (D.A.T.), de pepineiro híbrido Tsuyataro, enxertado e não enxertado em função de doses de boscalida. FCA/UNESP – Botucatu-SP, 2010.

Doses (g i.a. ha^{-1})	**39 D.A.T.**		**73 D.A.T.**	
	Pé-franco	Enxertada	Pé-franco	Enxertada
0	1,988 aA	2,146 abA	1,235	1,273
25	1,942 aA	1,849 bA	1,443	1,376
50	1,933 aA	2,080 abA	1,572	1,596
75	1,778 aA	2,149 abA	1,323	1,566
100	1,970 aB	2,430 aA	1,426	1,415
Média	1,922 B	2,130 A	1,400	1,445
C.V. (%)	13,38		22,69	

Médias seguidas de mesma letra minúsculas na coluna e maiúsculas na linha e, não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

4.1.4 Condutância estomática (g_s)

Os dados referentes ao resumo da análise de variância dos valores de condutância estomática (mol m^{-2} s^{-1}) aos 39 e 73 dias após o transplante estão apresentados na Tabela 9. Não houve resposta para tipo de plantas nem para as doses de boscalida.

Tabela 9. Resumo da análise de variância da condutância estomática (g_s) aos 39 e 73 dias após o transplante (D.A.T.), de pepineiro híbrido Tsuyataro, enxertado e não enxertado em função de doses de boscalida. FCA/UNESP – Botucatu-SP, 2010.

CV	GL	Quadrado médio	
		39 D.A.T.	73 D.A.T.
Modelo	-	ns	ns
Doses	4	$0{,}0054^{ns}$	$0{,}0349^{ns}$
Planta	1	$0{,}0009^{ns}$	$0{,}0002^{ns}$
Bloco	3	0,0220**	$0{,}0217^{ns}$
Doses x Planta	4	$0{,}0032^{ns}$	$0{,}0595^{ns}$
Resíduo	27	0,0029	0,0502
C. V.%	-	15,35	42,61
Média	-	0,35	0,53

ns: não significativo (P> 0,05); *: P (≤0,05); ** P<0,01.

Como pode ser observado no resumo da análise de variância e análise de médias (Tabela 10) não houve diferenças significativas para a condutância estomática em função dos tratamentos utilizados.

Em virtude dos valores observados pode-se dizer que os poros estomáticos estavam totalmente abertos. Nessa situação, em que os estômatos estão abertos, favorecem a entrada de CO_2 nos espaços intercelulares e ajudam na manutenção da taxa fotossintética. A abertura e/ou fechamento estomático são muito dependentes das condições do meio em que se encontram como é o caso da intensidade de radiação solar, níveis de salinidade e água do solo, temperatura, etc.

Tabela 10. Condutância estomática (g_s, mol m^{-2} s^{-1}) aos 39 e 73 dias após o transplante (D.A.T.), de pepineiro híbrido Tsuyataro, enxertado e não enxertado em função de doses de boscalida. FCA/UNESP – Botucatu-SP, 2010.

Doses	**39 D.A.T.**		**73 D.A.T.**	
(g i.a. ha^{-1})	Pé-franco	Enxertada	Pé-franco	Enxertada
0	0,314	0,373	0,586	0,319
25	0,377	0,328	0,564	0,663
50	0,324	0,323	0,571	0,530
75	0,387	0,399	0,470	0,464
100	0,326	0,354	0,448	0,639
C.V. (%)	15,35		42,61	

4.1.5 Concentração interna de CO_2 na câmara subestomática (C_i)

Encontram-se na Tabela 11, o resumo da análise de variância e a significância dos tratamentos utilizados e sua interação das médias da concentração interna de CO_2 na câmara subestomática aos 39 e 73 dias após o transplante. Houve resposta somente aos 39 D.A.T. tanto para doses de boscalida quanto para tipos de plantas.

Tabela 11. Resumo da análise de variância da concentração interna de CO_2 na câmara subestomática aos 39 e 73 dias após o transplante (D.A.T.), de pepineiro híbrido Tsuyataro, enxertado e não enxertado em função de doses de boscalida. FCA/UNESP – Botucatu-SP, 2010.

CV	GL	Quadrado médio	
		39 D.A.T.	73 D.A.T.
Modelo	-	Q**	ns
Doses	4	307,75**	$72,91^{ns}$
Planta	1	1199,02*	$152,10^{ns}$
Bloco	3	$238,42^{ns}$	721,267**
Doses x Planta	4	$140,27^{ns}$	$179,0375^{ns}$
Resíduo	27	162,96	131,730
C. V.%	-	4,95	3,68
Média	-	258,13	311,80

ns: não significativo (P> 0,05); *: P (≤0,05); ** P<0,01. Q: equação quadrática.

A concentração interna de CO_2 na câmara subestomática respondeu de forma quadrática em função das doses de boscalida (Figura 7). As doses intermediárias apresentaram maior concentração de CO_2 enquanto as maiores doses, principalmente 100 g i.a. ha^{-1}, mostraram diminuição na quantidade de CO_2 presente na câmara subestomática.

Segundo Awad e Castro (1983), a diminuição de CO_2 na câmara subestomática pode ser resultado da atividade fotossintética, o que de fato ocorreu, já que as duas maiores doses foram as que promoveram maior assimilação de CO_2 em plantas enxertadas.

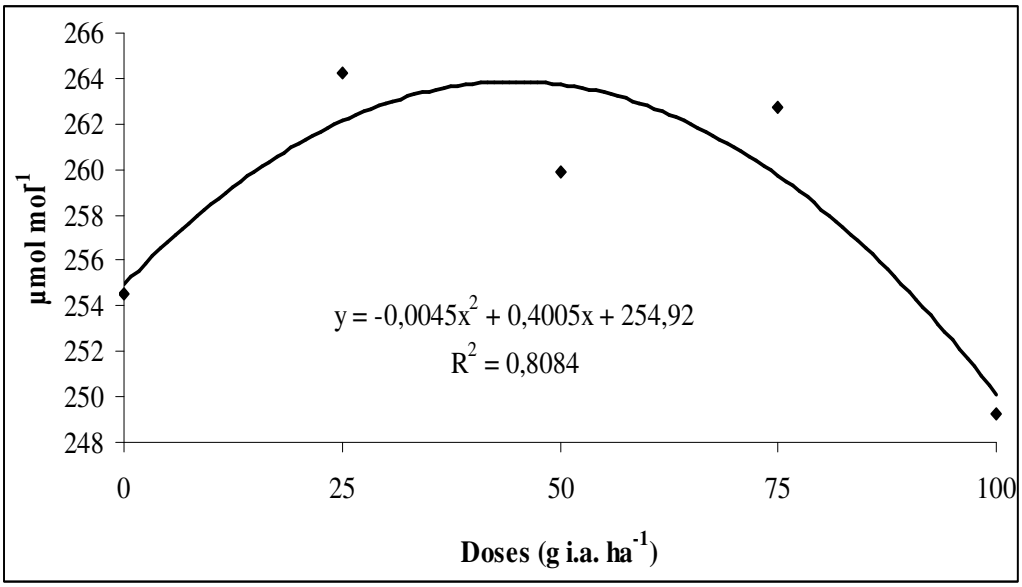

Figura 7. Concentração interna de CO_2 na câmara subestomática (µmol mol^{-1}) aos 39 D.A.T. de pepineiro híbrido Tsuyataro, enxertado e não enxertado em função de doses de boscalida. FCA/UNESP – Botucatu-SP, 2010.

Aos 39 D.A.T. as plantas enxertadas apresentaram menor concentração interna de CO_2 na câmara subestomática do que as plantas não enxertadas (Tabela 12), o que também está relacionado com a maior assimilação de CO_2 já que plantas enxertadas apresentaram maior taxa de assimilação de CO_2 do que as plantas não enxertadas.

Portanto, plantas enxertadas tratadas com maiores doses de boscalida utilizam o CO_2 da câmara subestomática de forma otimizada resultando em maior taxa de assimilação de CO_2 (fotossíntese).

Tabela 12. Valores médios da concentração interna de CO_2 na câmara subestomática (µmol mol^{-1}) aos 39 e 73 dias após o transplante (D.A.T.), de pepineiro híbrido Tsuyataro, enxertado e não enxertadas em função de doses de boscalida. FCA/UNESP – Botucatu-SP, 2010.

Tipo de plantas	39 D.A.T.	73 D.A.T.
Pé-franco	263,60 a	313,75 a
Enxertada	252,65 b	309,85 a
C.V. (%)	4,95	3,68

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

4.1.6 Eficiência de carboxilação *in vivo* da Rubisco

Encontram-se na Tabela 13, os dados referentes ao resumo da análise de variância da eficiência de carboxilação *in vivo* da Rubisco aos 39 e 73 dias após o transplante (D.A.T.), de pepineiro híbrido Tsuyataro, enxertado e não enxertado em função de doses de boscalida. Nota-se significância apenas para o tipo de plantas aos 39 D.A.T.

Tabela 13. Resumo da análise de variância da eficiência de carboxilação *in vivo* da Rubisco aos 39 e 73 dias após o transplante (D.A.T.), de pepineiro híbrido Tsuyataro, enxertado e não enxertado em função de doses de boscalida. FCA/UNESP – Botucatu-SP, 2010.

CV	GL	Quadrado médio	
		39 D.A.T.	73 D.A.T.
Modelo	-	ns	ns
Doses	4	0,000206 ^{ns}	0,000158 ^{ns}
Planta	1	0,001651*	0,000003 ^{ns}
Bloco	3	0,000378 ^{ns}	0,000150 ^{ns}
Doses x Planta	4	0,000210 ^{ns}	0,000043 ^{ns}
Resíduo	27	0,000117	0,000158
C. V.%	-	16,57	34,26
Média	-	0,065	0,036

ns: não significativo (P> 0,05); *: P (≤0,05); ** P<0,01.

Aos 39 D.A.T. as plantas enxertadas apresentaram maior eficiência de carboxilação da Rubisco do que as plantas não enxertadas (Tabela 14). Isso se deve ao fato de que as plantas enxertadas também apresentaram maior assimilação de CO_2 e menor concentração de CO_2 na câmara subestomática, demonstrando assim, que plantas enxertadas apresentam maior eficiência de carboxilação da Rubisco do que plantas não enxertadas.

A ribulose-1,5-bifosfato carboxilase/oxigenase (Rubisco), enzima chave na fotossíntese, é a proteína mais abundante do planeta e representa até 40% do total das proteínas solúveis na maioria das folhas (TAIZ; ZEIGER, 2009). Fatores do ambiente ou ligado à própria planta, que afetam a fotossíntese, e, portanto, a produtividade biológica, podem ter ação na Rubisco. Segundo Farquhar e Sharkey (1982) a estimativa da eficiência da enzima Rubisco pode correlacionar-se com a capacidade produtiva da planta.

Aos 73 D.A.T. não se observou diferenças estatísticas significativas entre plantas enxertadas e não enxertadas, assim como não houve resposta para as doses de boscalida.

Tabela 14. Eficiência de carboxilação *in vivo* da rubisco (µmol m^{-2} s^{-1} µmol mol^{-1}) aos 39 e 73 dias após o transplante (D.A.T.), de pepineiro híbrido Tsuyataro, enxertado não enxertado. FCA/UNESP – Botucatu-SP, 2010.

Tipo de plantas	**39 D.A.T.**	**73 D.A.T.**
Pé-franco	0,0589 b	0,0364
Enxertada	0,0718 a	0,0369
C.V. (%)	20,16	25,30

Médias seguidas de mesma letra minúsculas na coluna, não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

4.2 Teor SPAD de clorofila

Os dados referentes ao resumo da análise de variância para teor de clorofila, em SPAD, avaliados aos 25, 52 e 81 dias após o transplante, encontram-se na Tabela 15. Houve somente diferenças estatísticas significativas entre plantas enxertadas e não enxertadas.

Tabela 15. Resumo da análise de variância para teor SPAD de clorofila avaliados aos 25, 52 e 81 dias após o transplante (D.A.T.) de pepineiro híbrido Tsuyataro, enxertado e não enxertado em função de doses de boscalida. FCA/UNESP – Botucatu-SP, 2010.

CV	GL	Quadrado médio		
		25 (D.A.T.)	52 (D.A.T.)	81 (D.A.T.)
Modelo	-	ns	ns	ns
Doses	4	4,812^{ns}	4,212^{ns}	64,025^{ns}
Planta	1	18,225*	280,90**	168,10**
Bloco	3	7,758^{ns}	231,667**	36,467^{ns}
Doses x Planta	4	4,787^{ns}	29,212^{ns}	23,725^{ns}
Resíduo	27	3,462	20,00	16,263
C. V.%	-	4,27	9,85	10,50
Média	-	43,63	45,40	38,40

ns: não significativo (P> 0,05); *: P (≤0,05); ** P<0,01.

As plantas enxertadas apresentaram maior teor SPAD de clorofila do que as plantas não enxertadas, em todas as avaliações realizadas (Tabela 16).

Esses dados estão de acordo com os obtidos por Cañizares (2001) que trabalhando com o híbrido do tipo japonês 'Hokuho' enxertado sob abóbora 'Excite Ikky' e pé franco, obteve na fase da produção (início da colheita) menor índice SPAD no pé franco comparados com as plantas enxertadas, indicando que a enxertia teria efeito positivo nessa característica. Cita ainda que, no final do ciclo, as plantas enxertadas apresentaram índices superiores a 50 SPAD, enquanto que as plantas não enxertadas apresentaram 42,75 SPAD. Resultados semelhantes foram encontrados neste trabalho para as plantas não enxertadas aos 25 e 52 D.A.T., já o índice SPAD para as plantas enxertadas foi inferior aos encontrados pelo autor acima citado. No entanto, deve-se levar em consideração a diferença dos híbridos utilizados.

Não houve resposta no teor SPAD de clorofila das plantas enxertadas e pé franco em função das doses de boscalida.

Tabela 16. Teor SPAD de clorofila, avaliados aos 25, 52 e 81 D.A.T., de pepineiro híbrido Tsuyataro, enxertado e não enxertado em função de doses de boscalida. FCA/UNESP – Botucatu-SP, 2010.

Tipo de plantas	25 D.A.T.	52 D.A.T.	81 D.A.T.
Pé-franco	42,95 b	42,75 b	36,35 b
Enxertada	44,30 a	48,05 a	40,45 a
C.V. (%)	4,27	9,85	10,50

Médias seguidas de mesma letra minúsculas na coluna, não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

4.3 Proteína solúvel total e atividade enzimática

4.4.1 Proteína solúvel total

Os dados referentes ao resumo da análise de variância para a proteína solúvel total aos 40, 47 e 81 D.A.T., encontram-se na Tabela 17. Em todas as avaliações houve diferenças entre os tipos de plantas e na última avaliação, nota-se interação significativa entre doses e tipos de plantas.

Tabela 17. Resumo da análise de variância da proteína total solúvel (µg g M.F.$^{-1}$) aos 40, 47 e 81 dias após o transplante (D.A.T.) de pepineiro híbrido Tsuyataro, enxertado e não enxertado em função de doses de boscalida. FCA/UNESP – Botucatu-SP, 2010.

CV	GL	Quadrado médio		
		40 D.A.T.	**47 D.A.T.**	**81 D.A.T.**
Modelo	-	ns	ns	L**
Doses	4	0,3331^{ns}	0,0015^{ns}	0,145**
Planta	1	0,162*	0,129*	0,204**
Bloco	3	0,063^{ns}	0,066^{ns}	0,113*
Doses x Planta	4	0,053^{ns}	0,047^{ns}	0,136**
Resíduo	27	0,034	0,031	0,025
C. V.%	-	20,16	25,30	20,28
Média	-	0,91	0,70	0,77

ns: não significativo (P> 0,05); *: P (≤0,05); ** P<0,01. L: equação linear.

Em todas as avaliações realizadas as plantas enxertadas apresentaram maior concentração de proteína solúvel total do que as plantas não enxertadas (Tabela 18).

Tabela 18. Concentração de proteína solúvel total aos 40, 47 e 81 dias após o transplante (D.A.T.) de pepineiro híbrido Tsuyataro, enxertado e não enxertado em função de doses de boscalida. FCA/UNESP – Botucatu-SP, 2010.

Tipo de plantas	40 D.A.T.	47 D.A.T.	81 D.A.T.
Pé-franco	0,850 b	0,643 b	0,702 b
Enxertada	0,978 a	0,756 a	0,845 a
C.V. (%)	20,16	25,30	20,28

Médias seguidas de mesma letra minúsculas na coluna, não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Com relação às doses de boscalida, aos 81 D.A.T. houve resposta linear, ou seja, aumento no conteúdo de proteínas de acordo com o aumento das doses de boscalida (Figura 8).

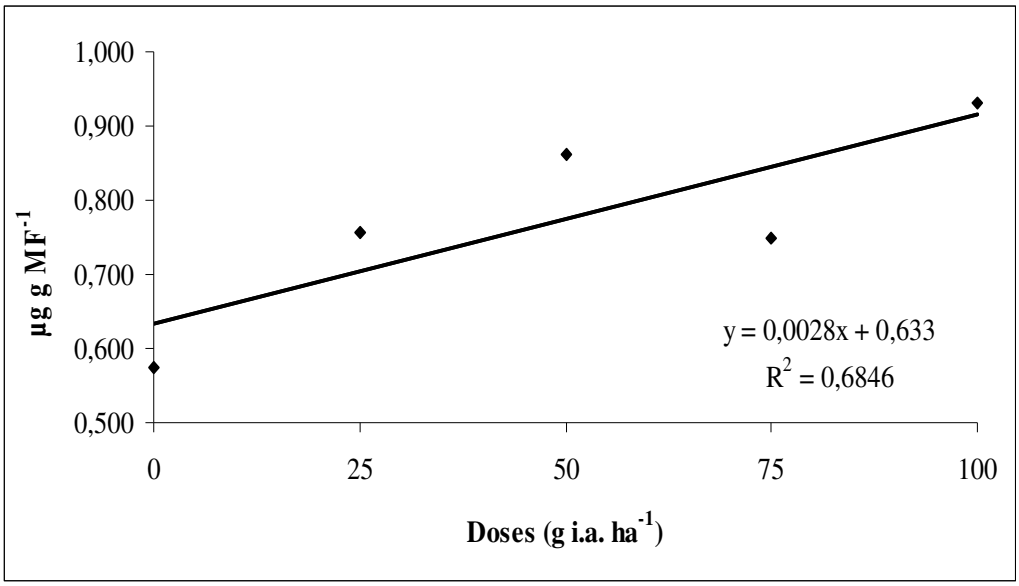

Figura 8. Concentração de proteína solúvel total (µg g M.F.$^{-1}$) aos 81 D.A.T., de pepineiro híbrido Tsuyataro, enxertado e não enxertado em função de doses de boscalida. FCA/UNESP – Botucatu-SP, 2010.

Também houve interação significativa aos 81 D.A.T. entre doses e tipos de planta (Tabela 19), sendo que as plantas enxertadas foram favorecidas com a maior dose de boscalida (100 g i.a. ha^{-1}), enquanto que para as demais doses não houve diferença no conteúdo de proteínas solúvel total entre plantas enxertadas e não enxertadas.

Tabela 19. Concentração de proteína solúvel total (µg g M.F.$^{-1}$) aos 40, 47 e 81 dias após o transplante (D.A.T.) de pepineiro híbrido Tsuyataro, enxertado e não enxertadas em função de doses de boscalida. FCA/UNESP – Botucatu-SP, 2010.

Doses	**81 D.A.T.**	
(g i.a. ha^{-1})	Pé-franco	Enxertada
0	0,630 aA	0,518 aA
25	0,772 aA	0,739 aA
50	0,814 aA	0,907 aA
75	0,644 aA	0,855 aA
100	0,652 bA	1,208 aA
C.V. (%)	20,28	

Médias seguidas de mesma letra minúsculas na coluna e maiúsculas na linha, não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

4.4.2 Atividade da enzima Superóxido Dismutase (SOD)

Os resultados da análise de variância relacionados a atividade da enzima SOD aos 40, 47 e 81 D.A.T. estão apresentados na Tabela 20 e incluem a significância dos tratamentos utilizados e sua interação. Houve diferenças significativas aos 47 e 81 D.A.T. para o tipo de planta e aos 81 D.A.T. para as doses de boscalida.

Tabela 20. Resumo da análise de variância da atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) aos 40, 47 e 81 D.A.T., de pepineiro híbrido Tsuyataro, enxertado e não enxertado em função de doses de boscalida. FCA/UNESP – Botucatu-SP, 2010.

CV	GL	Quadrado médio		
		40 D.A.T.	47 D.A.T.	81 D.A.T.
Modelo	-	ns	ns	Q*
Doses	4	0,145^{ns}	0,0032^{ns}	0,908**
Planta	1	0,269^{ns}	1,568*	1,310*
Bloco	3	0,295*	0,794^{ns}	1,331**
Doses x Planta	4	0,147^{ns}	0,415^{ns}	0,513^{ns}
Resíduo	27	0,095	0,253	0,200
C. V.%	-	20,27	24,76	30,6
Média	-	1,52	2,03	1,46

ns: não significativo (P> 0,05); *: P (≤0,05); ** P<0,01. Q: equação quadrática.

Aos 40 D.A.T. não houve diferenças entre os tratamentos (Tabela 21). Já aos 47 e 81 D.A.T. as plantas não enxertadas apresentaram maior atividade da SOD do que as plantas enxertadas. Levando em consideração que as plantas enxertadas apresentaram maior quantidade de proteína solúvel total e menor atividade da SOD pode-se dizer que estas apresentavam-se menos estressadas do que as plantas não enxertadas.

Em situações de estresse, as plantas apresentam alteração no transporte de elétrons mediado pelos radicais superóxidos formados (O_2^-) que competem com o $NADP^+$ para redução no fotossistema I (REDDY et al., 2004). A diminuição da assimilação de CO_2, redução das atividades fotossintéticas e alteração no sistema de transporte de elétrons aceleram a geração de estresse oxidativo, via cloroplasto (ASADA, 1999), fato que está correlacionado com os dados deste trabalho, pois as plantas não enxertadas apresentaram menor assimilação de CO_2 e maior atividade da SOD, indicando assim, plantas mais estressadas.

Também, segundo Santos e Goto (2003) o uso da enxertia pode aumentar a resistência a adversidades climáticas, como baixas temperaturas, aumentar a

tolerância à seca e salinidade do solo, controlar desordens fisiológicas e aumentar o vigor da planta, diminuindo assim, o ambiente estressante para a planta.

Tabela 21. Atividade da enzima superóxido dismutase (U µg proteína^{-1}) aos 40, 47 e 81 D.A.T., de pepineiro híbrido Tsuyataro, enxertado e não enxertado. FCA/UNESP – Botucatu-SP, 2010.

Tipo de plantas	**40 D.A.T.**	**47 D.A.T.**	**81 D.A.T.**
Pé-franco	1,60	2,23 a	1,64 a
Enxertada	1,44	1,84 b	1,28 b
C.V. (%)	20,27	24,76	30,60

Médias seguidas de mesma letra minúsculas na coluna, não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Quanto às doses de boscalida houve resposta quadrática aos 81 D.A.T., conforme Figura 9. As maiores doses, principalmente 100 g i.a. ha^{-1}, apresentaram menor atividade da SOD do que as doses de 25 e 50 g i.a. ha^{-1}, demonstrando dessa maneira, que plantas tratadas com 100 g i.a. ha^{-1} de boscalida apresentam menor estressse oxidativo. Isso também está correlacionado com a assimilação de CO_2, já que essa mesma dose favoreceu a maior assimilação de CO_2 em plantas de pepineiro enxertadas.

Segundo Broetto et al. (2002) a enzima SOD apresenta aumento de atividade sempre que as plantas são submetidas a um ambiente estressante, como salinidade, altas temperaturas, estresse hídrico, alta intensidade luminosa, ataque fitopatogênico e/ou insetos, entre outros.

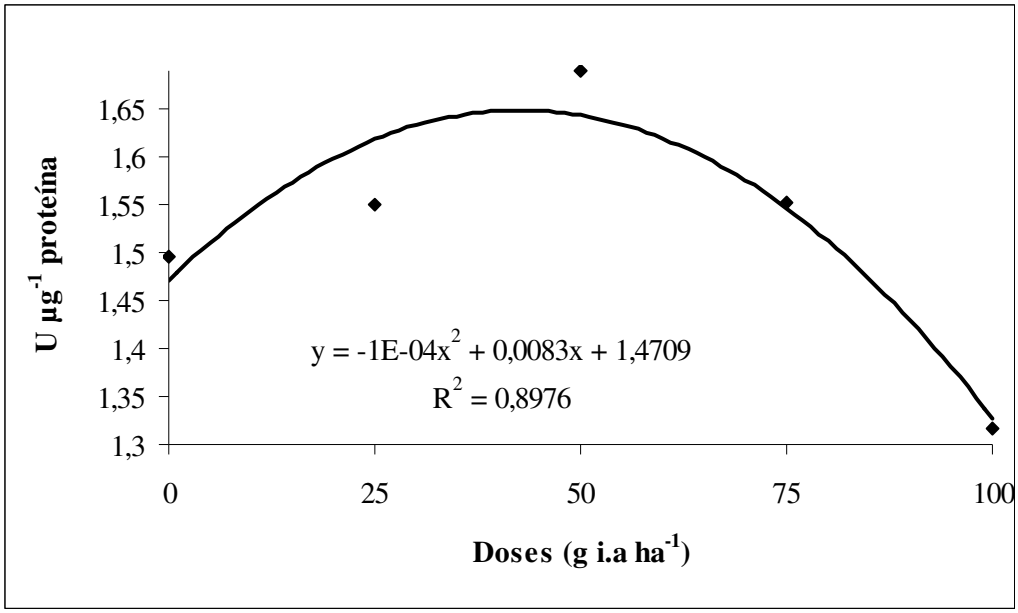

Figura 9. Atividade da enzima superóxido dismutase (U µg proteína^{-1}) aos 81 D.A.T., de pepineiro híbrido Tsuyataro, enxertado e não enxertadas em função de doses de boscalida. FCA/UNESP – Botucatu-SP, 2010.

4.4.3 Atividade da enzima Catalase (CAT)

Encontram-se na Tabela 22, os dados referentes ao resumo da análise de variância da atividade da enzima catalase aos 40, 47 e 81 dias após o transplante (D.A.T.) e incluem a significância dos tratamentos e sua interação. Aos 40 D.A.T. houveram diferenças entre plantas enxertadas e não enxertadas e interação entre elas e as doses de boscalida. Também aos 81 D.A.T. houve interação entre doses e tipos de plantas e resposta linear das doses de boscalida.

Tabela 22. Resumo da análise de variância da atividade da enzima catalase aos 40, 47 e 81 dias após o transplante (D.A.T.), de pepineiro híbrido Tsuyataro, enxertado e não enxertado em função de doses de boscalida. FCA/UNESP – Botucatu-SP, 2010.

CV	GL	Quadrado médio		
		40 D.A.T.	**47 D.A.T.**	**81 D.A.T.**
Modelo	-	ns	ns	L*
Doses	4	0,0001^{ns}	0,00023^{ns}	0,0032*
Planta	1	0,0007*	0,00001^{ns}	0,0000001^{ns}
Bloco	3	0,0003^{ns}	0,00024^{ns}	0,0011^{ns}
Doses x Planta	4	0,0006**	0,00048^{ns}	0,0038*
Resíduo	27	0,0001	0,00026	0,0011
C. V.%	-	45,79	32,98	31,16
Média	-	0,026	0,048	0,107

ns: não significativo (P> 0,05); *: P (≤0,05); ** P<0,01. L: equação linear.

Aos 40 D.A.T. as plantas enxertadas apresentaram menor atividade de CAT do que as plantas não enxertadas, o que pode ser comprovado através da média geral e das médias das plantas sem aplicação de boscalida (dose zero) da Tabela 23. No entanto, o desdobramento mostra que a dose de 50 g i.a. ha^{-1} apresentou menor atividade nas plantas não enxertadas do que enxertadas.

Analisando-se as doses isoladamente, não houve efeito para as plantas não enxertadas. Nas plantas enxertadas a dose de 50 g i.a. ha^{-1} apresentou maior atividade de CAT, a qual não difere da dose de 25 g i.a. ha^{-1}, indicando assim, que as plantas tratadas com essas duas doses estavam mais estressadas, inclusive mais que a testemunha enxertada. As duas maiores doses (75 e 100 g i.a. ha^{-1}) juntamente com a testemunha mostraram menor atividade de CAT.

Tabela 23. Atividade da enzima catalase (mKat μg^{-1} de proteína) aos 40, 47 e 81 dias após o transplante (D.A.T.), de pepineiro híbrido Tsuyataro, enxertado e não enxertado em função de doses de boscalida. FCA/UNESP – Botucatu-SP, 2010.

Doses	**40 D.A.T.**		**47 D.A.T.**		**81 D.A.T.**	
(g i.a. ha^{-1})	Pé-franco	Enxertada	Pé-franco	Enxertada	Pé-franco	Enxertada
0	0,0362 aA	0,0167 bB	0,0457	0,0625	0,138 aA	0,130 aA
25	0,0330 aA	0,0235 aAB	0,0567	0,0482	0,108 aA	0,118 aA
50	0,0192 bA	0,0405 aA	0,0532	0,0300	0,059 bA	0,117 aA
75	0,0262 aA	0,0107 aB	0,0402	0,0487	0,113 aA	0,117 aA
100	0,0357 aA	0,0170 aB	0,0497	0,0502	0,118 aA	0,055 bA
Média	0,030 a	0,021 b	0,049	0,047	0,1076 a	0,1077 a
C.V. (%)	45,79		32,98		31,16	

Médias seguidas de mesma letra minúsculas na coluna e maiúsculas na linha e, não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Aos 47 D.A.T. não houve nenhuma diferença entre os tratamentos. Já aos 81 D.A.T. nota-se efeito das doses de boscalida e interação significativa com as planta. As doses responderam de forma linear inversa, ou seja, diminuição da atividade da CAT com o aumento das doses de boscalida (Figura 10).

Conforme o desdobramento da interação mostrado na Tabela 23, assim como ocorreu aos 40 D.A.T., a dose de 50 g i.a. ha^{-1} apresentou menor atividade nas plantas não enxertadas do que enxertadas aos 81 D.A.T., no entanto, difere apenas do tratamento sem aplicação de boscalida. Já para as plantas enxertadas, a menor atividade da CAT é obtida com a maior dose, a qual também difere apenas do tratamento sem aplicação de boscalida, indicando que o boscalida proporciona plantas com menor estresse oxidativo.

Em experimento com pepino, Zhujun et al. (1994) obtiveram resultados semelhantes, onde com a adição de silício ocorreu redução na atividade da catalase comparado aos tratamentos sem adição de Si.

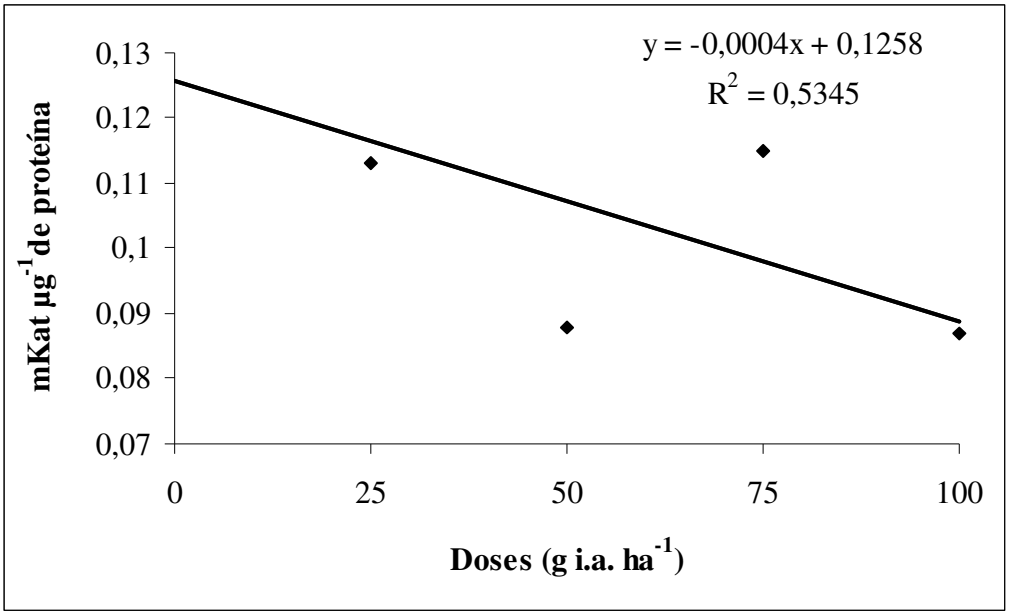

Figura 10. Atividade da enzima catalase (mKat μg^{-1} de proteína) aos 81 D.A.T., de pepineiro híbrido Tsuyataro, em função de doses de boscalida. FCA/UNESP – Botucatu-SP, 2010.

4.3.4 Atividade da enzima Peroxidase (POD)

Encontram-se na Tabela 24, os dados referentes ao resumo da análise de variância e a significância dos tratamentos utilizados e a interação das médias da atividade da enzima peroxidase aos 40, 47 e 81 D.A.T. Houve resposta para doses de boscalida e tipos de plantas aos 40 D.A.T. e resposta quadrática para doses aos 81 D.A.T.

Tabela 24. Resumo da análise de variância da atividade enzima peroxidase aos 40, 47 e 81 dias após o transplante (D.A.T.), de pepineiro enxertado e não enxertadas submetido a doses de boscalida. FCA/UNESP – Botucatu-SP, 2010.

CV	GL	Quadrado médio		
		40 (D.A.T.)	**47 (D.A.T.)**	**81 (D.A.T.)**
Modelo	-	L**	ns	Q*
Doses	4	0,002599*	0,029019 ns	2,517507**
Planta	1	0,030658**	0,015410 ns	0,259285 ns
Bloco	3	0,000581 ns	0,051124*	0,116144 ns
Doses x Planta	4	0,001562 ns	0,082093 ns	0,233480 ns
Resíduo	27	0,001043	0,019376	0,119388 ns
C. V.%	-	37,69	37,34	34,21
Média	-	0,085	0,372	0,781

ns: não significativo (P> 0,05); *: P (≤0,05); ** P<0,01. L: equação linear; Q: equação quadrática.

A atividade da POD aos 40 D.A.T. foi maior em plantas enxertadas do que nas plantas não enxertadas, conforme dados apresentados na Tabela 25. Isso se deve ao processo da enxertia e, consequentemente, a união entre enxerto e porta enxerto, pois, segundo Rodrigues et al. (2001) a POD é uma substância de grande importância na união entre o enxerto e porta-enxerto, podendo influenciar nas respostas do processo de enxertia. Essa enzima participa no processo de lignificação e a presença de numerosas isoperoxidases podem ter funções específicas na biossíntese da lignina (GÜLEN et al., 2005). Nas plantas que possuem semelhanças de PODs, raramente se encontra problemas de incompatibilidade.

Aos 47 e 81 D.A.T. não houve diferenças na atividade da POD entre as plantas enxertadas e não enxertadas, demonstrando assim a completa cicatrização da enxertia.

Tabela 25. Atividade da enzima peroxidase (µmol H_2O_2 mg proteína^{-1} min^{-1}) aos 40, 47 e 81 D.A.T., de pepineiro híbrido Tsuyataro, enxertado e não enxertado. FCA/UNESP – Botucatu-SP, 2010.

Tipo de plantas	**40 D.A.T.**	**47 D.A.T.**	**81 D.A.T.**
Pé-franco	0,058 b	0,353	0,727
Enxertada	0,113 a	0,392	0,835
C.V. (%)	37,69	37,34	44,21

Médias seguidas de mesma letra minúsculas na coluna, não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Quanto às doses de boscalida aos 40 D.A.T. houve resposta linear significativa, de acordo com a Figura 11. O aumento das doses proporcionou diminuição na atividade da POD, demonstrando a menor formação de radicais livres e o menor estressse oxidativo de acordo com o aumento das doses de boscalida.

A produção excessiva de ROS ou a inibição da atividade das defesas antioxidantes pode gerar o estresse oxidativo levando a oxidação de biomoléculas como lipídios, proteínas e DNA. Além disso, a oxidação e a inativação dos componentes celulares podem desencadear o processo de morte da célula (BUCKNER et al., 2000).

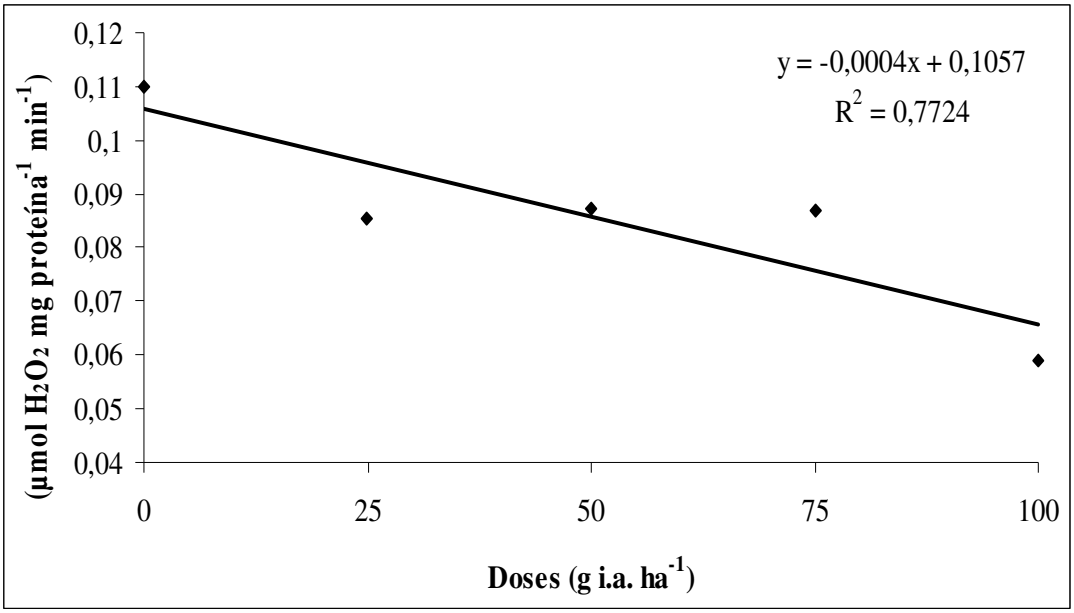

Figura 11. Atividade da enzima peroxidase (µmol H_2O_2 mg proteína^{-1} min^{-1}) aos 40 D.A.T., de pepineiro híbrido Tsuyataro, em função de doses de boscalida. FCA/UNESP – Botucatu-SP, 2010.

Aos 81 D.A.T. houve resposta quadrática para as doses (Figura 12), em que o tratamento sem aplicação de boscalida apresentou maior atividade da POD enquanto que as demais doses apresentaram diminuição da POD.

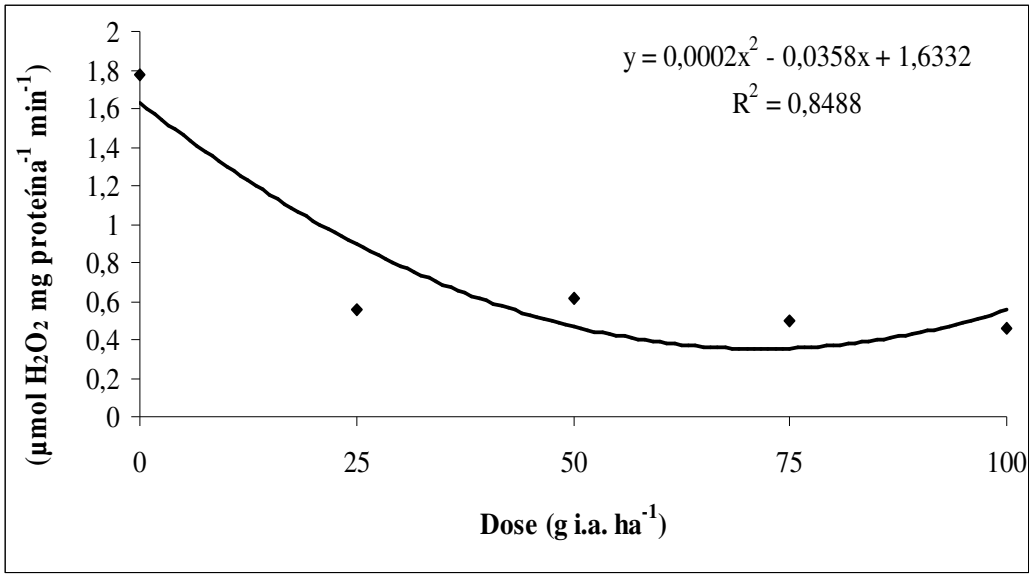

Figura 12. Atividade da enzima peroxidase (µmol H_2O_2 mg proteína^{-1} min^{-1}) aos 81 D.A.T., de pepineiro híbrido Tsuyataro, em função de doses de boscalida. FCA/UNESP – Botucatu-SP, 2010.

4.4.4 Atividade da enzima Nitrato Redutase (NR)

Os dados referentes ao resumo da análise de variância da atividade da NR aos 40, 47 e 81 D.A.T., encontram-se na Tabela 26. Houveram respostas significativas para tipos de planta aos 40 e 47 D.A.T., para doses aos 47 e 81 D.A.T. e interação significativa entre doses e planta aos 47 D.A.T.

Tabela 26. Resumo na análise de variância da atividade enzima nitrato redutase aos 40, 47 e 81 dias após o transplante (D.A.T.), de pepineiro enxertado e não enxertado submetido a doses de boscalida. FCA/UNESP – Botucatu-SP, 2010.

CV	GL	Quadrado médio		
		40 D.A.T.	**47 D.A.T.**	**81 D.A.T.**
Modelo	-	ns	ns	L**
Doses	4	676,544^{ns}	194,984*	682,693*
Planta	1	4689,174**	1313,774**	607,698^{ns}
Bloco	3	1481,516*	86,347 ^{ns}	138,184^{ns}
Doses x Planta	4	642,942^{ns}	399,379 *	173,743^{ns}
Resíduo	27	438,414	69,293	209,093
C. V.%	-	43,25	28,36	25,93
Média	-	48,41	29,35	55,77

ns: não significativo (P> 0,05); *: P (≤0,05); ** P<0,01. L: equação linear.

A atividade da nitrato redutase foi maior nas plantas enxertadas do que nas plantas não enxertadas aos 40 e 47 D.A.T., conforme dados da Figura 17. Esses dados podem ser correlacionados com a quantidade de proteínas solúvel total e a intensidade de cor verde, sugerindo que as plantas enxertadas possuem maior quantidade de compostos orgânicos nitrogenados. Apesar de não ter sido determinado a quantidade de nitrogênio neste experimento, encontram-se na literatura trabalhos que mostram maior quantidade de nitrogênio em plantas enxertadas comparadas com as não enxertadas (CAÑIZARES, 1997; MACEDO JUNIOR, 1998).

As plantas assimilam a maioria do nitrato absorvido por suas raízes em compostos orgânicos nitrogenados. A primeira etapa do processo é a redução do nitrato em nitrito no citoplasma pela enzima nitrato redutase (TAIZ; ZEIGER, 2009). Portanto, pode-se dizer que as plantas enxertadas apresentam maior capacidade de assimilar nitrato devido ao aumento da atividade da NR e, portanto, maior acúmulo de compostos orgânicos nitrogenados.

Tabela 27. Atividade da enzima nitrato redutase (µmol de NO_2 g $M.F.^{-1}$ h^{-1}) aos 40, 47 e 81 D.A.T., de pepineiro híbrido Tsuyataro, enxertado e não enxertado. FCA/UNESP – Botucatu-SP, 2010.

Tipo de plantas	40 D.A.T.	47 D.A.T.	81 D.A.T.
Pé-franco	37,59 b	23,63 b	51,87 a
Enxertada	59,24 a	35,08 a	59,67 a
C.V. (%)	43,25	28,36	25,93

Médias seguidas de mesma letra minúsculas na coluna, não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Aos 47 D.A.T. houve interação significativa entre tipos de planta e doses de boscalida. As doses de 25 e 100 g i.a. ha^{-1} favoreceram somente planta enxertadas, diminuindo a atividade da NR em plantas não enxertadas (Tabela 28). Analisando as doses isoladamente, nota-se respostas diferentes para os tipos de planta, sendo que a dose de 50 g i.a. ha^{-1} proporcionou a maior atividade da NR em plantas não enxertadas, enquanto que para as plantas enxertadas a maior atividade da NR foi obtida com 100 g i.a. ha^{-1}.

Tabela 28. Atividade da enzima nitrato redutase (µmol de NO_2 g M.F.$^{-1}$ h^{-1}) aos 47 dias após o transplante (D.A.T.), de pepineiro híbrido Tsuyataro, enxertado e não enxertadas em função de doses de boscalida. FCA/UNESP – Botucatu-SP, 2010.

Doses	**47 D.A.T.**	
(g i.a. ha^{-1})	Pé-franco	Enxertada
0	19,865 bA	28,862 bA
25	20,045 bB	35,910 bA
50	40,405 aA	31,700 bA
75	20,312 bA	30,877 bA
100	17,48 bB	48,067 aA
C.V. (%)	28,36	

Médias seguidas de mesma letra minúsculas na coluna e maiúsculas na linha e, não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

No final do ciclo (81 D.A.T.) houve resposta linear da atividade da NR em função das doses de boscalida (Figura 13) com aumento em relação à testemunha de 33,34; 44,09; 31,83 e 60,58% da atividade, respectivamente, de acordo com a ordem crescente das doses. Esse resultado pode ser correlacionado com a quantidade de proteína solúvel total, indicando assim, que as plantas tratadas com boscalida favorecem a assimilação de nitrato e promovem maior acúmulo de compostos orgânicos nitrogenados, como é o caso das proteínas que também apresentaram resposta linear aos 81 D.A.T.

Vale ressaltar essa resposta linear aos 81 D.A.T., pois a cultura encontrava-se no final de ciclo e mesmo assim, as doses de boscalida favorecem a atividade da NR, o que pode ser positivo para o incremento da produtividade final.

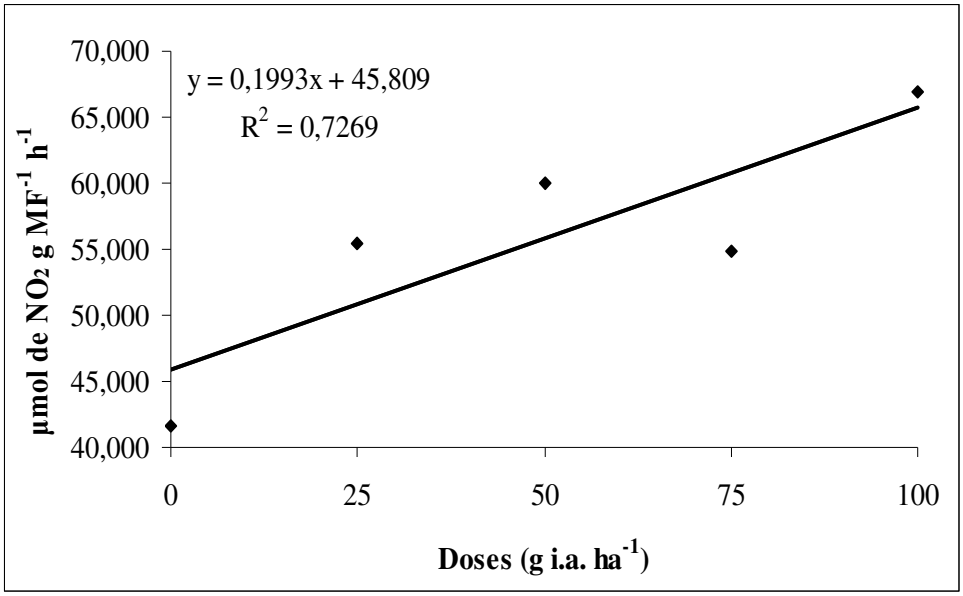

Figura 13. Atividade da enzima nitrato redutase (µmol de NO_2 g M.F.$^{-1}$ h^{-1}) aos e 81 D.A.T., de pepineiro híbrido Tsuyataro, em função de doses de boscalida. FCA/UNESP – Botucatu-SP, 2010.

4.3 Características fitotécnicas

4.3.1 Área foliar, massa fresca e massa seca da parte aérea

Os resultados da análise de variância relacionados às características de área foliar, massa fresca e seca da parte aérea estão apresentados na Tabela 29 e incluem a significância dos tratamentos utilizados e sua interação.

Tabela 29. Resumo na análise de variância da área foliar (AF), massa fresca (MF) e massa seca da parte aérea (MS) avaliados no final do ciclo de plantas de pepineiro, híbrido Tsuyataro, enxertado e não enxertado em função de doses de boscalida. FCA/UNESP, Botucatu-SP, 2010.

CV	GL	Quadrado médio		
		AF	MF	MS
Modelo	-	L**	Q*	L**
Doses	4	6751443,96*	37172,99*	633,62*
Planta	1	321990,72^{ns}	29827,44^{ns}	39,94^{ns}
Bloco	3	10845486,33**	73005,79**	1702,58**
Doses x Planta	4	5706334,54*	32568,02^{ns}	871,05*
Resíduo	27	2065983,44	14080,19	241,73
C. V.%	-	20,33	17,79	10,00
Média	-	7069,14	667,03	155,52

ns: não significativo (P> 0,05); *: P (≤0,05); ** P<0,01. L: equação linear; Q: equação quadrática.

Com relação à área foliar não houve diferenças entre plantas enxertadas e não enxertadas. No entanto, observa-se interação significativa para doses e tipos de planta (Tabela 30), sendo que a dose de 25 g i.a. ha^{-1} favoreceu o aumento da área foliar em plantas enxertadas, enquanto que a dose 50 g i.a. ha^{-1} favoreceu as plantas não enxertadas As demais doses mostram desempenho semelhante tanto para plantas enxertadas como para não enxertadas.

Tabela 30. Área foliar de pepineiro (cm^2), híbrido Tsuyataro, enxertado e não enxertado em função de doses de boscalida. FCA/UNESP, Botucatu-SP, 2010.

Doses	Área foliar	
(g i.a. ha^{-1})	Pé-franco	Enxertada
0	6243,64 aA	6306,56 aA
25	4982,01 bA	7380,89 aA
50	8144,01 aA	5854,27 bA
75	7760,80 aA	7214,70 aA
100	8663,77 aA	8140,67 aA
Média	7158,86 A	6979,42 A
C.V. (%)	20,33	

Médias seguidas de mesma letra minúsculas na linha e maiúsculas na coluna não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Analisando-se as doses separadamente, observa-se efeito linear significativo, ou seja, aumento da área foliar com o aumento da dose de boscalida, conforme dados da Figura 14. Esse fato é interessante, pois, a produção de fotoassimilados pelas folhas é fundamental para a produção de frutos de qualidade em pepino.

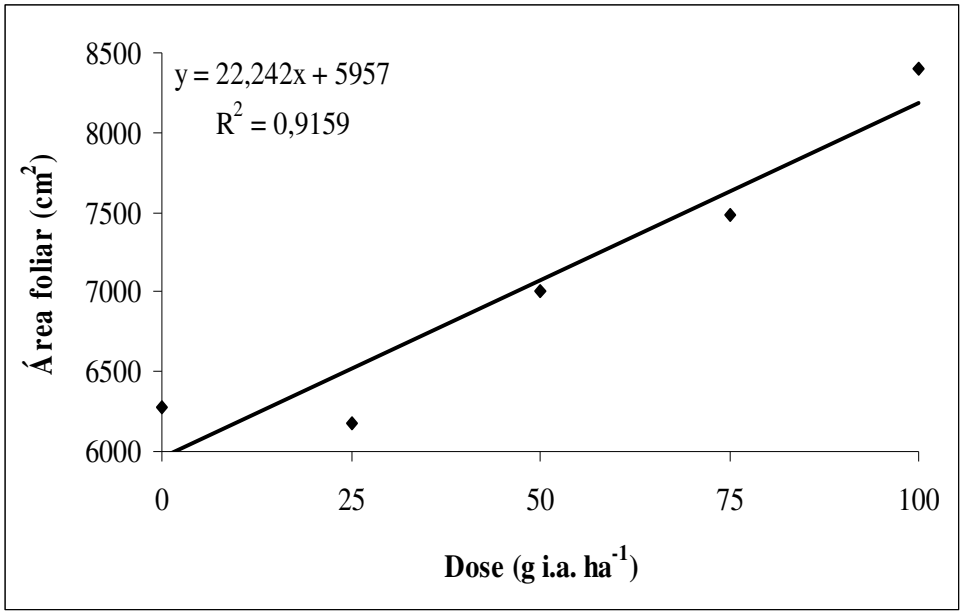

Figura 14. Área foliar de pepineiro no final da produção, híbrido Tsuyataro, em função de doses de boscalida. FCA/UNESP, Botucatu-SP, 2010.

A massa fresca da parte aérea, assim como, a altura de plantas e a área foliar, não foi alterada em função da enxertia, sendo semelhante para plantas enxertadas e não enxertadas.

No entanto, houve efeito significativo para as doses de boscalida com resposta quadrática (Figura 15) na qual a dose de 25 g i.a. ha^{-1} reduziu a massa fresca da parte aérea enquanto que as demais mostraram aumento crescente da massa fresca da planta. A redução da massa fresca da parte aérea com 25 g i.a. ha^{-1} pode ser relacionado com menor assimilação de CO_2, menor EUA e menor área foliar observada nesse tratamento, além do conteúdo de água nos tecidos que podem alterar a massa fresca de plantas.

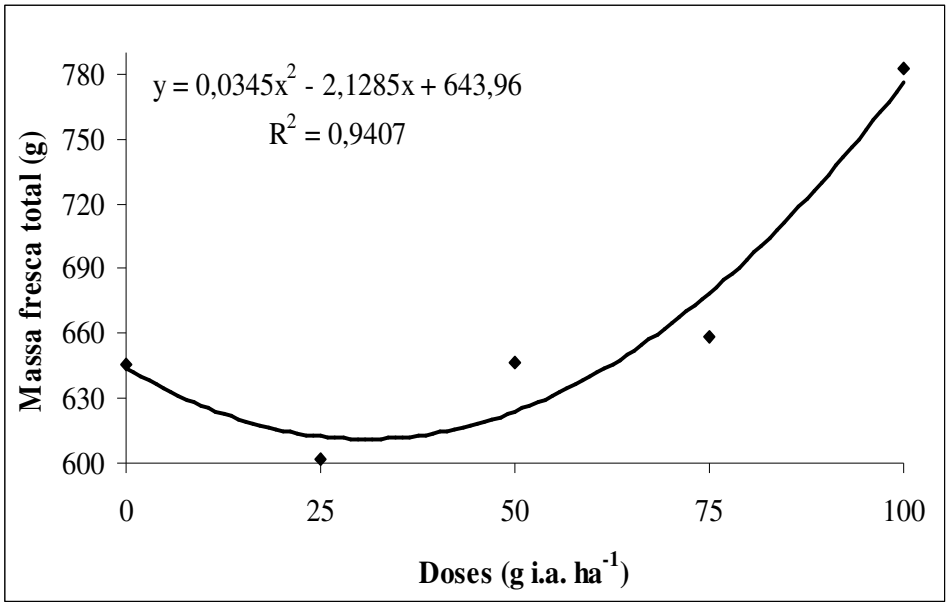

Figura 15. Massa fresca da parte aérea de pepineiro, híbrido Tsuyataro, em função de doses de boscalida. FCA/UNESP, Botucatu-SP, 2010.

A massa seca da parte aérea não sofreu alteração em função dos tipos de planta, sendo semelhante em plantas enxertadas e não enxertadas. Esses resultados foram diferentes dos encontrados por Cañizares (2001) que observou acúmulo de 31% a mais de massa seca da parte aérea em plantas enxertadas.

No entanto, observa-se interação significativa entre doses e tipos de planta, conforme desdobramento apresentado na Tabela 31. Assim como ocorreu para área foliar, a dose de 25 g i.a. ha^{-1} favoreceu somente o acúmulo de massa seca nas plantas enxertadas, enquanto que 50 g i.a. ha^{-1} favoreceu apenas as plantas não enxertadas. Nas demais doses, o desempenho foi semelhante, não havendo diferenças estatísticas significativas.

Tabela 31. Massa seca da parte aérea de plantas de pepineiro, híbrido Tsuyataro, enxertado e não enxertado em função de doses de boscalida. FCA/UNESP, Botucatu-SP, 2010.

Doses	Área foliar	
(g i.a. ha^{-1})	Pé-franco	Enxertada
0	141,10 b	154,94 ab
25	137,14 b	162,64 a
50	167,68 a	137,76 b
75	154,52 ab	158,53 ab
100	171,97 a	168,72 a
Média	154,68	156,52
C.V. (%)	10.00	

Médias seguidas de mesma letra minúsculas na linha e maiúsculas na coluna não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

A massa seca da parte aérea de plantas apresentou resposta linear em função das doses de boscalida (Figura 16), sendo, respectivamente, as porcentagens de aumento em relação à testemunha de 1,26; 3,14; 5,64 e 14,26% de acordo com a ordem crescente das doses.

Esses dados podem ser correlacionados com o aumento da taxa de assimilação de CO_2, quantidade de proteína solúvel total e a atividade da nitrato redutase, as quais na avaliação do final do ciclo (81 D.A.T.), também mostraram aumento de acordo com as doses. Segundo Taiz e Zeiger (2009) as membranas biológicas apresentam organização molecular básica, com a presença de dupla camada de fosfolipídios, nas quais as proteínas estão embebidas, sendo estas responsáveis por cerca da metade da massa da maioria das membranas. Quanto ao nitrogênio (da qual a nitrato redutase faz parte do processo inicial de assimilação) favorece o crescimento vegetativo proporcionando aumento na produção de massa seca (SCHEFFER, 1992).

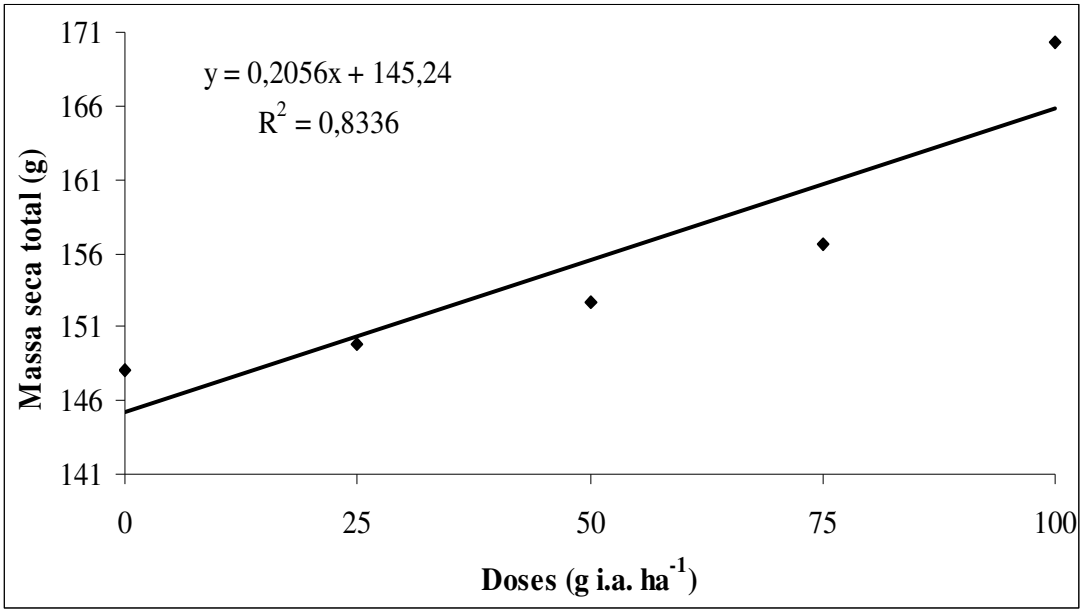

Figura 16. Massa seca da parte aérea de pepineiro, híbrido Tsuyataro, em função de doses de boscalida avaliada aos 84 D.A.T. FCA/UNESP, Botucatu-SP, 2010.

4.4 Produção

4.4.1 Número de frutos comerciais, não comerciais e total de frutos/m^2

Encontram-se na Tabela 32 os dados referentes ao resumo da análise de variância do número de frutos comerciais/m^2, não comerciais/m^2 e total de frutos/m^2 e inclui a significância dos tratamentos e sua interação. Para todas as características houve resposta significativa para as doses de boscalida e interação entre doses e tipos de planta para o número total de frutos.

Tabela 32. Resumo da análise de variância do número de frutos comerciais/m^2 (NFC), número de frutos não comerciais/m^2 (NFNC) e número total de frutos/m^2 (NFT) de pepineiro, híbrido Tsuyataro, enxertado e não enxertado em função de doses de boscalida. FCA/UNESP, Botucatu-SP, 2010.

CV	GL	Quadrado médio		
		NFC	NFNC	NTF
Modelo	-	Q*	Q**	Q**
Doses	4	126,276*	64,602**	393,922**
Planta	1	$4,000^{ns}$	$21,097^{ns}$	$70,411^{ns}$
Bloco	3	240,636**	32,993*	426,091**
Doses x Planta	4	$24,415^{ns}$	$7,715^{ns}$	57,218*
Resíduo	27	910,964	9,196	56,253
C. V.%	-	28,45	26,81	23,58
Média	-	20,41	11,31	31,80

ns: não significativo (P> 0,05); *: P (≤0,05); ** P<0,01. Q: equação quadrática.

Não houveram diferenças significativas entre planta enxertadas e não enxertado para o número de frutos comerciais, não comerciais e total de frutos/m^2 (Tabela 33). Essa semelhança entre os tipos de plantas pode ser atribuída ao uso do boscalida, já que este influenciou no desenvolvimento tanto das plantas enxertadas como das plantas não enxertadas, conforme o desdobramento da Tabela 34.

Tabela 33. Número de frutos comerciais, não comerciais e total de frutos/m^2 de pepineiro, híbrido Tsuyataro, enxertado e não enxertado. FCA/UNESP, Botucatu-SP, 2010.

Tipo de plantas	**Número de frutos comerciais/m^2**	**Número de frutos não comerciais/m^2**	**Número total de frutos/m^2**
Pé-franco	20,23	10,55	30,57
Enxertada	20,73	12,03	33,13
C.V. (%)	28,45	26,81	23,58

Tanto para plantas enxertadas como para as não enxertadas o menor número total de frutos foi observado no tratamento sem aplicação de boscalida (dose zero) e o maior número total de frutos foi obtido com a maior dose (100 g i.a. ha^{-1}), enquanto que as doses de 25 e 50 g i.a. ha^{-1} só diferem da maior dose em plantas enxertadas. A dose de 75 g i.a. ha^{-1} produziu mais frutos que as doses inferiores e menos que a dose superior, mas não diferiu estatisticamente com nenhuma delas para ambos os tipos de plantas (Tabela 34).

Tabela 34. Número total de frutos de pepineiro, híbrido Tsuyataro, enxertado e não enxertado em função de doses de boscalida. FCA/UNESP, Botucatu-SP, 2010.

Doses (g i.a. ha^{-1})	Total de frutos	
	Pé-franco	Enxertada
0	24,54 bA	29,93 bA
25	29,06 abA	29,06 bA
50	29,17 abA	26,49 bA
75	30,83 abA	30,73 abA
100	38,80 aA	49,45 aA
C.V. (%)	30,36	

Médias seguidas de mesma letra maiúsculas na linha e minúsculas na coluna, não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Analisando-se o número de frutos/m^2 em resposta as doses de boscalida observou-se resposta quadrática para os frutos comercias, não comercias e total de frutos, conforme a Figura 17. As menores doses (25 e 50 g i.a. ha^{-1}) juntamente com o tratamento sem aplicação de boscalida apresentaram o menor número total de frutos, assim como o menor número de frutos comerciais e não comercias. Já as duas maiores doses e, principalmente, 100 g i.a. ha^{-1}, proporcionaram aumento no número de frutos, tanto os comercias, não comercias e totais.

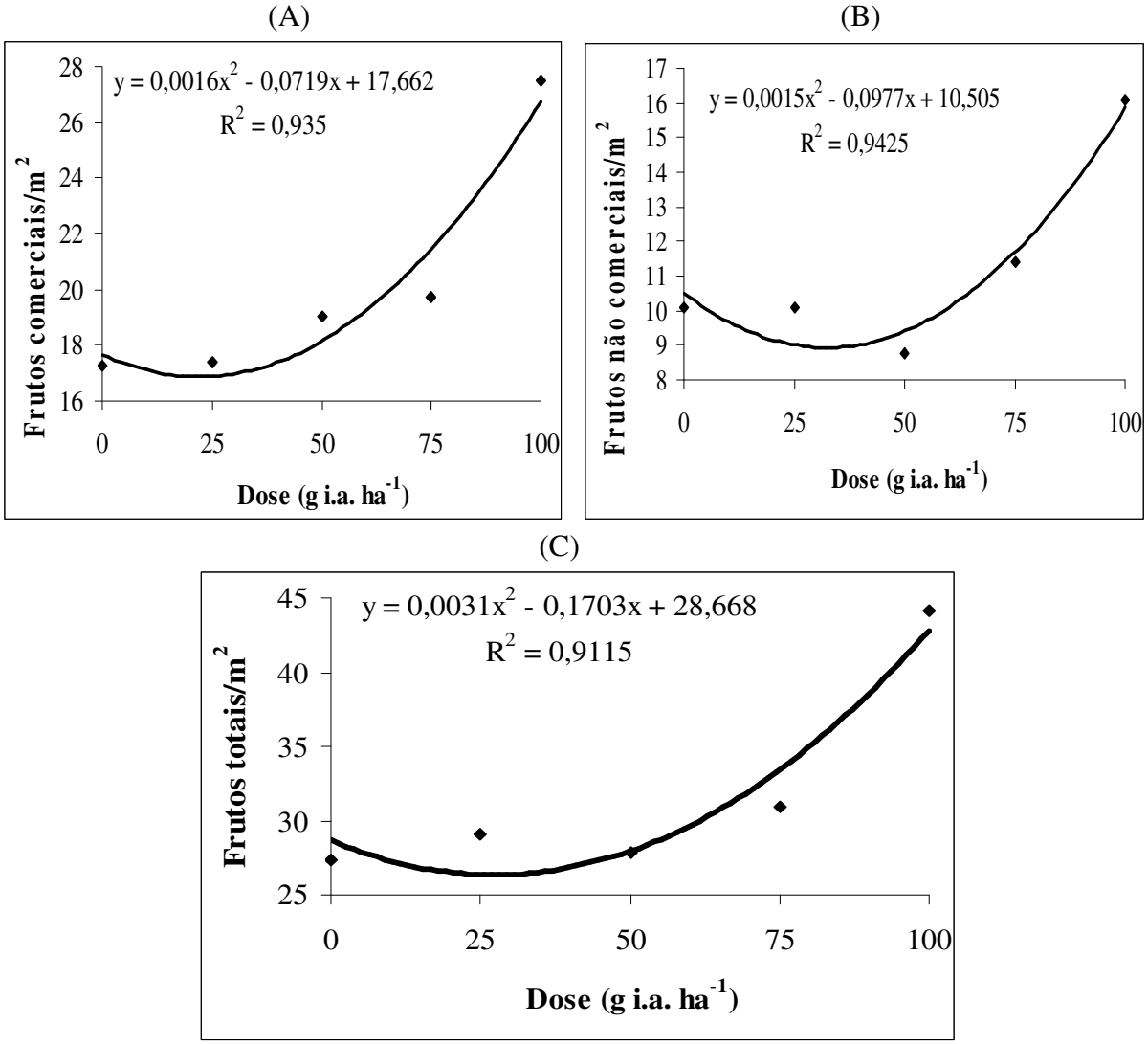

Figura 17. Número de frutos comerciais/m^2 (A), não comerciais/m^2 (B) e total de frutos/m^2 (C) de pepineiro, híbrido Tsuyataro, em função de doses de boscalida. FCA/UNESP, Botucatu-SP, 2010.

4.4.2 Produção comercial, não comercial e total/m^2

O resumo da análise de variância para produção comercial, não comercial e total/m^2 estão apresentados na Tabela 35. Para todas as características houve resposta significativa para doses e para a produtividade não comercial houve diferença para tipos de plantas.

Tabela 35. Resumo na análise de variância da produção comercial (PC), produção não comercial (PNC), produção total (PT) e produtividade (PROD) de pepineiro, híbrido Tsuyataro, enxertado e não enxertado em função de doses de boscalida. FCA/UNESP, Botucatu-SP, 2010.

CV	GL	Quadrado médio		
		PC (m^2)	PNC (m^2)	PT (m^2)
Modelo	-	Q**	Q**	Q**
Doses	4	2485863,64*	1531508,10**	7777196,64**
Planta	1	135966,10^{ns}	1210219,55*	2170271,70^{ns}
Bloco	3	3383810,61**	591157,55*	6776280,20**
Doses x Planta	4	248418,08^{ns}	166034,32^{ns}	676025,84^{ns}
Resíduo	27	70,2438,78	212130,43	1131053,12
C. V.%	-	31,74	28,80	25,08
Média	-	2640,27	1599,25	4240,13

ns: não significativo (P> 0,05); *: P (≤0,05); ** P<0,01. Q: equação quadrática.

As plantas enxertadas apresentaram maior produção não comercial do que as plantas não enxertadas (Tabela 36). O entortamento dos frutos pode ser causado por diversos fatores, como a ocorrência de má polinização, contato do fruto com superfície que prejudique seu crescimento normal, altas temperaturas, redução da área foliar, luminosidade reduzida e competição entre os lóculos por fotoassimilados, pois cada loco pode apresentar uma atividade como dreno diferenciada, os lóculos com maior força de dreno crescem mais, causando o entortamento dos frutos (NOMURA; CARDOSO, 2000).

As características de produção comercial e total não foram diferentes estatisticamente entre plantas enxertadas e não enxertadas, demonstrando assim, que o boscalida expressa o efeito fisiológico tanto em plantas enxertadas como nas plantas não enxertadas. Cañizares (2001) também não observou diferenças significativas de produtividade de pepino híbrido Hokuho, de plantas enxertadas e não enxertadas; no entanto, plantas enxertadas que receberam a fertilização com potássio e magnésio igual à testemunha (planta não enxertada), produziram 7% a mais. Também neste trabalho, onde apesar de não haver diferenças estatísticas significativas, as plantas enxertadas apresentaram produtividade total de 11,58% a mais do que as plantas pé franco.

Tabela 36. Produção comercial, não comercial e total de pepineiro, híbrido Tsuyataro, enxertado e não enxertado em função de doses de boscalida. FCA/UNESP, Botucatu-SP, 2010.

Tipo de plantas	**Produção comercial (kg m^{-2})**	**Produção não comercial (kg m^{-2})**	**Produção total (kg m^{-2})**
Pé-franco	2,582 a	1,425 b	4,007 a
Enxertada	2,698 a	1,773 a	4,471 a
C.V. (%)	31,74	28,80	25,08

Médias seguidas de mesma letra minúsculas na coluna, não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Quanto às doses de boscalida, houve resposta quadrática para as características de produção comercial, não comercial e total, conforme Figura 18. As menores doses (25 e 50 g i.a. ha^{-1}) juntamente com o tratamento sem aplicação de boscalida apresentaram as menores produtividades. Já as duas maiores doses e, principalmente, 100 g i.a. ha^{-1}, proporcionaram aumento nas produtividades comercial, não comercial e total.

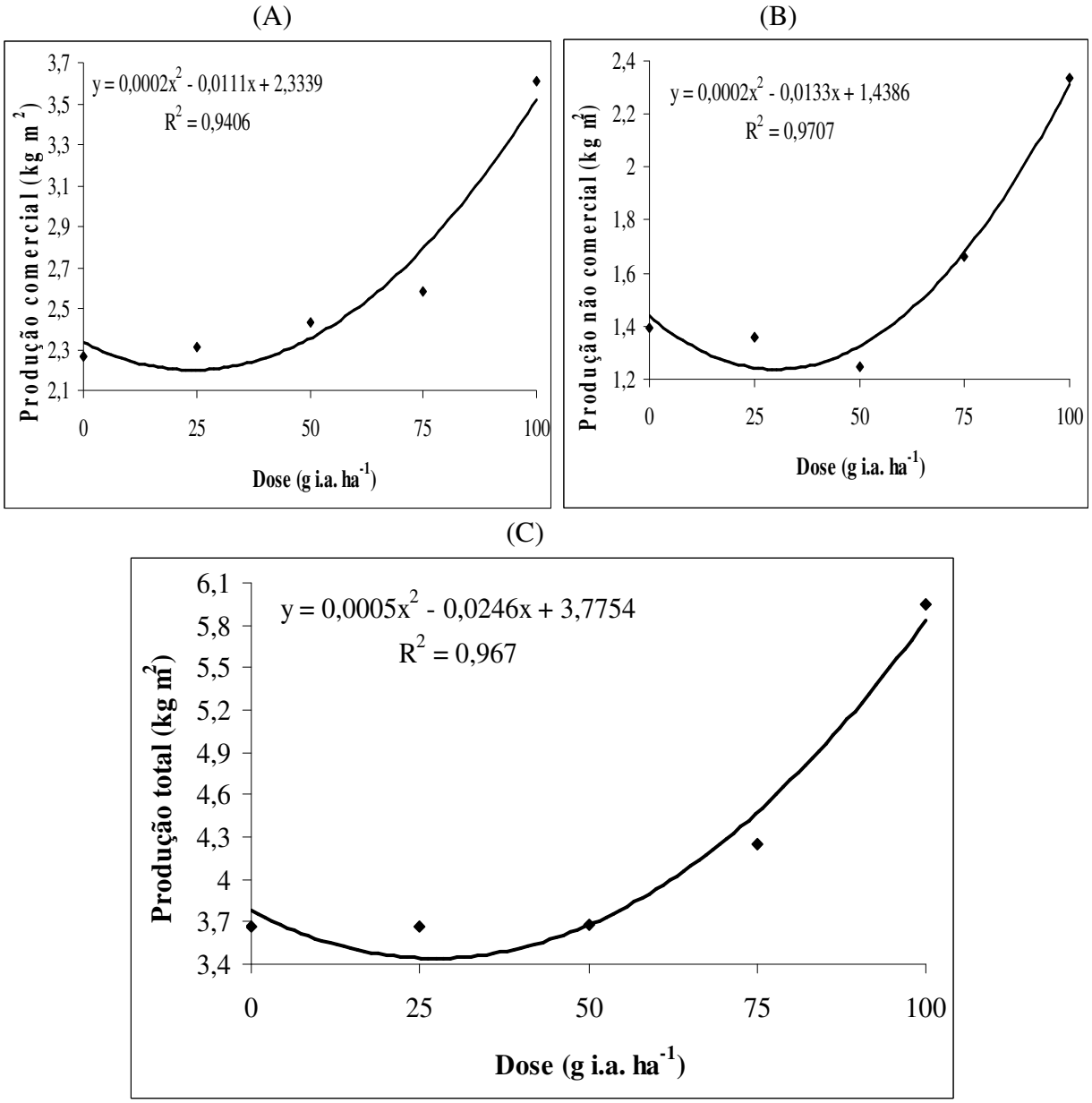

Figura 18. Produção comercial (A), não comercial (B) e total/m^2 (C) de pepineiro, híbrido Tsuyataro, em função de doses de boscalida. FCA/UNESP, Botucatu-SP, 2010.

Na Figura 26 pode ser observada a produtividade expressa em t ha^{-1} em função das doses de boscalida. O maior aumento da produtividade nas doses de 75 e 100 g i.a. ha^{-1} pode ser explicado em função das observações descritas neste trabalho, onde constatou-se o efeito fisiológico através do aumento da assimilação de CO_2, maior aproveitamento da concentração interna de CO_2, aumento na quantidade de proteína solúvel

total, menor estresse oxidativo demonstrado pela menor atividade de enzimas antioxidantes, aumento na atividade da nitrato redutase, maior área foliar, massas fresca e seca, tudo isso resultando em maior número de frutos e maiores produtividades.

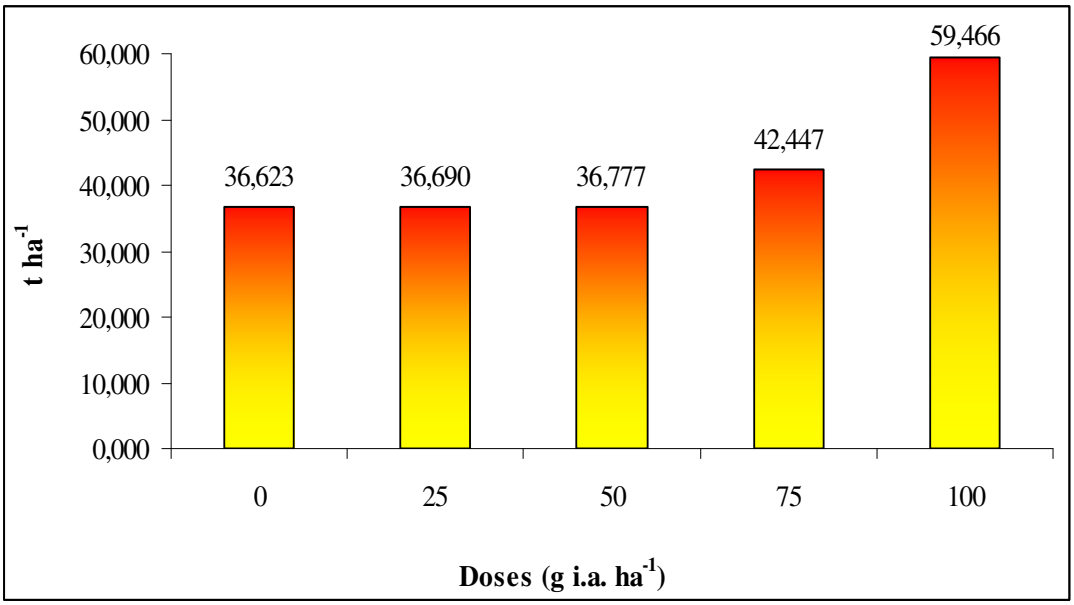

Figura 19. Produtividade de pepineiro, híbrido Tsuyataro, em função de doses de boscalida. FCA/UNESP, Botucatu-SP, 2010.

Na Figura 27 pode ser observado e comparado o retorno econômico/ha com a aplicação de diferentes doses de boscalida, levando-se em consideração o preço de comercialização no CEAGESP-SP de R$ 0,53/kg (AGRIANUAL, 2010). As doses de 25 e 50 g i.a. ha^{-1} apresentaram pequeno aumento, de 0,18 e 0,42 %, respectivamente, em relação ao tratamento sem aplicação de boscalida, enquanto que as maiores, 75 e 100 g i.a. ha^{-1}, proporcionaram o maior retorno, que comparado com o tratamento sem aplicação de boscalida, aumentaram, respectivamente, 15,90 e 62,37%.

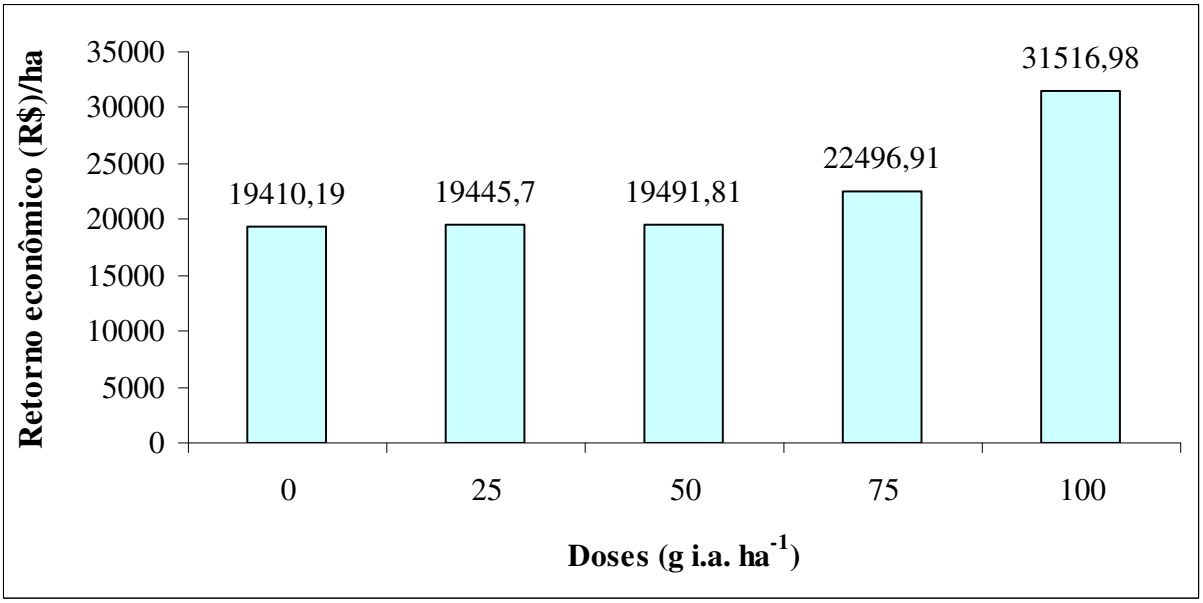

Figura 20. Retorno econômico de um hectare de pepineiro, híbrido Tsuyataro, em função de doses de boscalida. FCA/UNESP, Botucatu-SP, 2010.

Esses resultados demonstram de maneira clara e objetiva que o uso de boscalida pode contribuir positivamente para ganhos em produtividade, maior retorno econômico e ainda cumprir seu papel na ação antifúngica.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Considerando os resultados obtidos com o presente experimento, pode-se dizer que, assim como as estrobilurinas, o boscalida também apresenta efeitos fisiológicos contribuindo para o amento da produtividade e que sua aplicação é viável.

Os resultados de produtividade de plantas enxertadas e pé franco não apresentaram diferenças estatísticas significativas, no entanto, as plantas enxertadas produziram 11,58% a mais do que as plantas não enxertadas, o que na prática, é considerável ao produtor, fazendo diferença no lucro total da área; esse aumento pode ser resultado das maiores taxas de assimilação de CO_2, Eficiência do Uso da Água, Eficiência de Carboxilação da Rubisco, menor concentração interna de CO_2 na câmara subestomática, menor estresse oxidativo, aumento na quantidade de proteínas solúvel total e maior atividade da enzima nitrato redutase.

Algumas características analisadas apresentaram significância estatística entre os blocos, fato que já era de se esperar, pois durante o experimento havia diferença visual, sendo que dois blocos foram favorecidos pelo sistema de irrigação devido à leve declividade que direcionava a água, enquanto que os outros dois blocos também foram desfavorecidos pela maior incidência do sol.

Na área utilizada para a condução do experimento não havia infestação de nematóide, por isso, acredita-se que o porta-enxerto não pode expressar todo o seu potencial produtivo. Caso houvesse infestação por nematóides o porta-enxerto iria produzir mais do que as plantas não enxertadas, devido ao seu sistema radicular mais vigoroso.

Como sugestão para futuros trabalhos, recomenda-se fazer um acompanhamento das atividades enzimáticas, sendo que as coletas devem ser feitas logo após a aplicação (mesmo dia) e em intervalos diários até a nova aplicação, como forma de se monitorar o efeito do boscalida sobre a atividade enzimática, bem como, o pico de maior atividade das enzimas em estudo.

Também, sugere-se, fazer avaliações de eficácia do boscalida no controle de doenças, principalmente o oídio, já que foi a doença mais preocupante durante a condução do presente experimento e visualmente foi verificado o controle pelo funigicida. Tais dados também poderão auxiliar no entendimento da formação de espécies reativas de oxigênio e na atividade das enzimas relacionadas ao estresse oxidativo.

6 CONCLUSÕES

O efeito fisiológico do boscalida tanto em pepineiro enxertado como não enxertado foi obtido com as doses de 75 e 100 g i.a. ha^{-1}.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMARO, A. C. E. et al. Influência de alguns fungicidas nas trocas gasosas e produção de plantas de pepino japonês enxertadas e não enxertadas, em condições de ambiente protegido. **Horticultura Brasileira**, Brasília, DF, v. 27, supl., p. 1964-1970, 2009.

AGRIANUAL 2010: **Anuário da Agricultura Brasileira**. São Paulo: FNP Consultoria & Comércio, 2010. 520 p.

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

ASADA, K. Ascorbate peroxidase: a hydrogen peroxide-scavenging enzyme in plants. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 85, p. 235-241, 1992.

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

BASF. **Cantus fungicida**. Disponível em: <http://www.agro.basf.com.br/UI/Produtos.aspx?CodProduto=13>. Acesso em: 15 ago. 2010.

BLANCO, F. F. **Tolerância do pepino enxertado à salinidade em ambiente protegido e controle da salinização do solo.** 1999. 104 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Irrigação e Drenagem)-Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1999.

BOWLER, C.; MONTAGU, M. V.; INZÉ, D. Superoxide dismutase and stress tolerance. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 43, p. 83-116, 1992.

BRACHTVOGEL, E. **População de plantas e uso de piraclostrobina na cultura do milho:** alterações agronômicas e fisiológicas. 2010. 133 f. Tese (Doutorado em Agronomia)-Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2010.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantifications of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analitycal Biochemistry,** Alexandria, v. 72, p. 248-254, 1976.

BRANDÃO FILHO, J. U. T. et al. Influência da enxertia nas trocas gasosas de dois híbridos de berinjela cultivados em ambiente protegido. **Horticultura Brasileira,** Brasília, v. 21, n. 3, p. 474-477, jul-set. 2003.

BROETTO, F.; LUTTGE, U.; RATAJCZAK, R. Influence of ligth intensity and salt treatment on mode of photosyntesis and enzymes of the antioxidatives response system of Mesembryanthemum crystallium, functional. **Plant Biology,** Victoria, v. 29, p. 13-23, 2002.

BUCHANAN, B. B., GRUISSEM, W.; JONES, R. L. Biochemistry and molecular biology of plants. Rockvile: American Society of Plant Physiologists, 2000. 1406 p.

BUCKNER, B.; JOHAL, G.S.; JANICK-BUCKNER, D. Cell death in maize. **Physiologia Plantarum,** Copenhagen, v. 108, p. 231-239, 2000.

CHANG, C. J.; KAO, C.H. H_2O_2 metabolism during senescence of rice leaves: changes in enzyme activeties in light and darkness. **Plant Growth Regulation**, Dordrecht, v. 25, p. 11-15, 1998.

CHERIF, M.; ASSELIN, A.; BELANGER, R.R. Defense response indeced by soluble silicon in cucumber roots infected by *Pythium* spp. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 84, p. 236-242, 1994.

CLARK, D. C. Agronomic implication of some morphological and biochemical effects of Trifloxistrobin in wheat growing. **Pflanzenschuts-Nachrichten Bayer**, Leverkusen, v. 56, n. 2, p. 281-296, 2003.

CAKMAK, I.; MARSCHNER, H. Enhanced superoxide radical production in roots of zinc deficient plants. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 39, p. 1449-1460, 1988.

CAÑIZARES, K. A. L. **Efeito da enxertia de dois híbridos de pepino (Cucumis sativus) e dois híbridos de abóbora (*Curcubita* sp) sob ambiente protegido.** 1997. 73 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Horticultura)-Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 1997.

CAÑIZARES, K. A. L. A cultura de pepino. In: GOTO, R.; TIVELLI, S.W. (Eds.). **Produção de hortaliças em ambiente protegido**: condições subtropicais. São Paulo: UNESP, 1998. 319 p.

CAÑIZARES, K. A. L. Fisiologia do processo de enxertia. In: GOTO, R.; SANTOS, H. S.; CAÑIZARES, K. A. L. **Enxertia em hortaliças**. São Paulo: UNESP, 2003. p. 25-31.

CAÑIZARES, K. A. L.; GOTO, R. Crescimento e produção de híbridos de pepino em função da enxertia. **Horticultura Brasileira**, Brasília, DF, v. 16, n. 2, p. 110-113, 1998.

CANIZARES, K.A.L.; GOTO, R. Comparação de métodos de enxertia em pepino. **Horticultura Brasileira,** Brasília, DF, v. 20, n. 1, p. 95-99, março 2002.

CARDOSO, A. I. I.; SILVA, N. Avaliação de híbrido de pepino do tipo japonês sob ambiente protegido em duas épocas de cultivo. **Horticultura Brasileira,** Brasília, DF, v. 21, p. 170-175, 2003.

CATANEO, A. C. **Métodos espectrofotométricos para a determinação de enzimas relacionadas ao estresse em material vegetal**. Material didático, 2008. Não paginado.

DEL RÍO, L. A. et al. The activated oxygen role of peroxisomes in senescence. **Plant Physiology**, Minneapolis, v. 116, p. 1195-1200, 1998.

DIAS, A. P. S.; RINALDI, M. C. S.; MORAES, R. M. Alterações bioquímicas associadas a injúrias foliares visíveis em plantas jovens de *Psidium guajava* 'Paluma' mantidas em ambiente contaminado por ozônio. **Hoehnea**, São Paulo, v. 34, n. 2, p. 231-238, 2007.

FAGAN, E. B. **A cultura de soja**: modelo de crescimento e aplicação da estrobilurina Piraclostrobina. 2007. 83 f. Tese (Doutorado em Agronomia)-Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 2007.

FARQUHAR, G. D.; SHARKEY, T.D. Stomatal condutance and photosynthesis. **Annual Review of Plant Physiology**, Palo Alto, v. 33, p. 317-345, 1982.

FERREIRA, D. F. Análise estatística por meio do SISVAR (Sistema para Análise de Variância) para Windows versão 4.0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45., 2000, São Carlos. **Anais...** São Carlos: UFSCar, 2000. p. 255-258.

FILGUEIRA, F. A. R. **Novo manual de olericultura:** agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças. Viçosa: UFV, 2008, 421 p.

FONTES, P. C. R.; PUIATTI, M. Cultura do pepino. In: FONTES, P. C. R. **Olericultura:** teoria e prática. Viçosa: Suprema, 2005. p. 439-455.

GASPAR, T. et al. A two-step control of basic and acidic peroxidases and its significance for growth and development. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 64, p. 418-423, 1986.

GODOY, A. R.; CASTRO, M. M.; CARDOSO, A. I. I. Desempenho produtivo, partenocarpia e expressão sexual de linhagens de pepino caipira em ambiente protegido. **Horticultura Brasileira**, Brasília, DF, v. 27, p. 150-154, 2009.

GOMIDE, C. A. M. et al. Fotossíntese, reservas orgânicas e rebrota do capim-mombaça (*Panicum maximum* Jacq.) sob diferentes intensidades de desfolha do perfilho principal. Revista Brasileira de Zootecnia, Viçosa, v. 31, n. 6, p. 2165-2175, 2002.

GOTO, R.; CAÑIZARES, K. A. L.; STRIPARI, P. C. Fatores que influenciam a enxertia. In: GOTO, R.; SANTOS, H. S.; CAÑIZARES, K. A. L. **Enxertia em hortaliças.** São Paulo: UNESP, 2003. p. 25-31.

GOTO, R. et al. Métodos de enxertia e seu efeito na expressão sexual e na produção de pepino japonês cultivado em ambiente protegido. **Horticultura Brasileira,** Brasília, DF, v. 17, n. 3, p. 291, 1999.

GÜLEN, H. et al. Cambial isoperoxidases related to graft compatibility in pear-quince graft combinations. **The Turkish Journal of Agriculture and Forestry**, Ankara, v. 29, n. 1, p.83-89, 2005.

HASSAN, H.M. Biosynthesis and regulation of superoxide dismutases. **Free Radical Biology & Medicine,** Philadelphia, v. 5, p. 377-385, 1988.

HIRAGA, S. et al. A large family of class III plant peroxidases. **Plant Cell Physiology**, Oxford, v. 42, n. 5, p. 462-468, 2001.

HORA, C. R. **Avaliação de pepineiro enxertado em diferentes ambientes.** 2006. 80 f. Tese (Doutorado em Agronomia/Horticultura)-Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2006.

KOBORI, R. F. **Enxertia em tomateiro como um método alternativo de controle da murcha de *Verticillium* e comportamento de introduções a doença.** 1994. 131 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Proteção de Plantas)-Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 1994.

KOEHLE, H. et al. Physiological effects of the strobirulin fungicide F500 on plants. In: DEHNE, H. W. et al. (Eds). **Modern fungicides and antifungal compounds** III. Bonn: AgroConcept, 2002. S61-74.

LEE, J. M. Cultivation of grafted vegetables I. Current status, grafting methods and benefits. **Horticience**, Alexandria, v. 29, p. 235-239, 1994.

LIMA, G. P. P.; BRASIL, O. G.; OLIVEIRA, A. M. Poliaminas e atividade da peroxidase em feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivado sob estresse salino. **Scientia Agrícola,** Piracicaba, v. 56, p. 21-25, 1999.

LOPES, M. C. **Influência do estádio das plantas e de dois porta-enxertos no desenvolvimento do tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill), híbrido Momotaro.** 2000. 89 f. Tese (Doutorado em Agronomia/Horticultura)-Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2000.

MACEDO, A. C. et al. efeitos de bioestimulantes no desenvolvimento de plantas de pepino japonês enxertadas e não enxertadas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FISIOLOGIA VEGETAL, 13., 2009, Fortaleza. **Resumos...** Fortaleza: CBFV, 2009. p. 262.

MACEDO JUNIOR, E. K. **Crescimento e produtividade de pepino (*Cucumis sativus* L.) enxertado e não enxertado, submetido à adubação convencional em cobertura e fertirrigação, em cultivo protegido.** 1998. 129 f. Tese (Doutorado em Agronomia/Irrigação e Drenagem) Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 1998.

MICHAEL, G. The influence of strobilurin containing fungicides on physiological processes of yield formation in winter wheat varieties. 2002. 288 f. Thesis-Technical University of Munich, Berlin, 2002.

MIGUEL, A. G. **Injerto de hortalizas.** Valencia: Generalitat Valenciana. 1997. 88 p. (Divulgación técnica, 40).

MITTLER, R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. **Trends in Plant Science**, Oxford, v. 7, n. 9, p. 405-410, 2002.

MOTOYAMA, M. M. et al. Indução de fitoalexinas em soja e em sorgo e efeito fungitóxico de extratos cítricos sobre *Colletotrichum lagenarium* e *Fusarium semitectum*. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 25, n. 2, p. 491-496, 2003.

NAKANO, Y.; ASADA, K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbatespecific peroxidase in spinach chloroplasts. **Plant and Cell Physiology,** Oxford, v. 22, n. 5, p. 867-880, 1981.

NAVROT, N. et al. Reactive oxygen species generation and antioxidant systems in plant mitochondria. **Physiologia Plantarum**, Malden, v. 129, p. 253-266, 2007.

NEILL, S. J.; DESIKAN, R.; HANCOCK., J. T. Hydrogen peroxide signaling. **Current Opinion in Plant Biology,** London, v. 5, p. 388-395, 2002b.

NEILL, S. J. et al. Hydrogen peroxide and nitric oxide as signalling molecules in plants. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 53, p. 1237-1247, 2002a.

NOMURA, E. S.; CARDOS, A. I. I. Redução da área foliar e o rendimento do pepino japonês. **Scientia Agricola,** Piracicaba, v. 57, n. 2, p. 257-261, abr./jun. 2000.

ODA, M. New grafting methods for fruit bearing vegetables in Japan. **Japan Agricultural Research Quarterly**, Ibaraki, v. 29, p. 187-94, 1995.

PARREIRA, D. F.; NEVES, W. S.; ZAMBOLIM, L. Resistência de fungos a fungicidas inibidores de quinona. **Revista Trópica**: ciências agrárias e biológicas, Chapadinha, v. 3, n. 2, p. 24-34, 2009.

QUAN, L. J. et al. Hydrogen peroxide in plants: a versatile molecule of the reactive oxygen species network. **Journal of Integrative Plant Biology,** Beijing, v. 50, n. 1, p. 2-18, 2008.

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

RODRIGUES, A. C. et al. Avaliação da compatibilidade da enxertia em *Prunus* sp. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 23, n. 2, p. 359-364, 2000.

ROSSI, C.; LIMA, G. P. P.; HAKVOORT, D. M. R. Atividade de peroxidases (EC 1.11.1.7) e teor de prolina em fejoeiro *Phaseolus vulgaris* L. cultivado em condições de salinidade. **Scientia Agricola,** Piracicaba, v. 54, n. 3, p. 123-127, 1997.

SANTAMOUR JUNIOR, F. S. Predicting graft incompatibility in woody plants. Combined **Proceedings International Plant Propagators' Society**, New York, v. 42, p. 131-134, 1992.

SANTOS, H. S. Histórico da enxertia em hortaliças: utilização e pesquisa. In: GOTO, R.; SANTOS, H. S.; CAÑIZARES, K. A. L. **Enxertia em hortaliças.** São Paulo: UNESP, 2003. p. 11-14.

SANTOS, H. S. **Enxertia em plantas de pimentão (*Capsicum annuum*, L.) no controle da murcha de fitoftora (*Phytophthora capsici*) em ambiente protegido.** 2001. 86 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Horticultura)-Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2001.

SCHEFFER, M. C. Roteiro para estudo de aspectos agronômicos das plantas medicinais selecionadas pela fitoterapia do SUS-PR/CEMPAR. **SOB Informa,** Itajaí, v. 10, n. 2, p. 29-31, 1992.

SHAH, K. et al. Effect of cadmium on lipid peroxidation, superoxide anion generation and activities of antioxidation enzymes in growing rice seedlings. **Plant Science,** Limerick, v. 161, p. 1135-1144, 2001.

SHI, Q. Silicon-mediated alleviation of Mn toxicity in Cucumis sativus in relation to activities of superoxide dismutase and ascorbate peroxidase. **Phytochemistry,** New York, v. 66, n. 13, p. 1551-1559, jul. 2005.

SIRTOLI, L. F. **Influência da enxertia, em relação à murcha bacteriana causada por *Ralstonia solanacearum*, no desenvolvimento e produtividade do pimentão em cultivo protegido.** 2007. 69 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Produção vegetal)-Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Marechal Cândido Rondon, 2007.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal.** Porto Alegre: Artmed, 2009. 819 p.

TSANG, E. W. T. et al. Differential regulation of superoxide dismutase in plants exposed to environmental stress. **Plant Cell**, Rockville, v. 3, p. 783-92, 1991.

TAKII SEED. **Pepino híbrido Tsuyataro**. Disponível em: <http://www.takii.com.br/pepinotsuya.html>. Acesso em 7 set. 2010.

TÖFOLI, J. G. **Ação de acibenzolar-S-methyl e fungicidas no controle da pinta preta do tomateiro.** 2002. 143 f. (Mestrado em Agronomia)-Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2002.

TÖFOLI, J. G.; R. J. DOMINGUES. **Severa pinta preta.** Revista Cultivar HF - 08/09/2007. Disponível em: <http://74.125.93.132/search?q=cache:lD5qocVQ4IwJ:www.biologico.sp.gov.br/artigos_ok.php%3Fid_artigo%3D59+As+estrobilurinas+atuam+como+inibidor+da+respira%C3%A7%C3%A3o+mitocondrial+causando+diversas+altera%C3%A7%C3%B5es+fisiol%C3%B3gicas+nas+plantas&cd=1&hl=pt-BR&ct=clnk&gl=br>. Acesso em: 08 dez. 2009.

VENÂNCIO, W. S. et al. Physiological effects of strobilurin fungicides on plants. **Publicatio UEPG Ciências Exatas e da Terra,** v. 9, n. 3, p. 59-68, 2003

VENTURE can produce a crop that will stand out from the rest. 2006. **Crop Protection** 29. Disponível em: <www.farmersjournal.ie/cp2006/venture.pdf>. Acesso em: 6 abr. 2009.

VERMAS, S.; DUBEY, R. S. Lead toxicity lipid peroxidation and alters the activities of antioxidant enzymes in growing rice plants. **Plant Science,** Limerick, v. 164, p. 645-655, 2003.

WACHOWICZ, C. M.; CARVALHO, R. I. N. **Fisiologia vegetal:** produção e pós-colheita. Curitiba: Champagnat, 2002. 423 p.