

QUALIDADE FISIOLÓGICA E ENZIMÁTICA DE SEMENTES DE ARROZ IRRIGADO RECOBERTAS COM SÍLCIO

*José de Souza Abreu Júnior*¹, *Daniel Andrei Robe Fonseca*¹, *Géri Eduardo Meneghelo*², *Bruna Barreto dos Reis*³,
*Veronica Duarte Brasil*⁴, *Cassyo de Araújo Rufino*¹, *Lilian Madruga Tunes*⁵, *Francisco Amaral Vilella*⁵

Palavras-chave: Palavras-chave: *Oryza sativa* L., Caulim[®], casca de arroz carbonizada.

INTRODUÇÃO

O uso de nutrientes minerais e sementes de boa qualidade constituem prática expressiva para o aumento de produtividade. Logo, o uso de tecnologias para o aumento da produtividade, a nutrição das plantas, especialmente a utilização de micronutrientes como o silício, através do recobrimento de sementes, vem contribuindo para a sustentabilidade do atual sistema de produção.

A maioria dos solos contém consideráveis quantidades de silício. Apesar disso, cultivos consecutivos podem reduzir o nível deste elemento até um ponto em que a adubação seja necessária. Plantas que apresentam maior capacidade de resposta à aplicação de silício são o arroz, o trigo, a cana, o sorgo e as gramíneas em geral (QUEIROZ, 2003). Assim, o fornecimento desse micronutriente através do recobrimento de sementes é uma forma eficiente, em virtude das pequenas quantidades exigidas pelas plantas, melhor uniformidade de distribuição, menor custo de aplicação e também garantia de nutrição da planta no estágio inicial de crescimento, no qual o sistema radicular é pouco desenvolvido, afetando a absorção do nutriente no solo (BONECCARRÉRE *et al.*, 2004). Esse método vem ganhando cada vez mais adeptos, em função dos benefícios que proporciona às culturas.

O fornecimento de silício para cultura do arroz pode reduzir o uso de defensivos agrícolas, proporcionando a obtenção de produto de maior qualidade, além de gerar menor impacto ambiental nos sistemas de produção. Entretanto, são necessárias pesquisas que comprovem o efeito da aplicação silicatada na fisiologia e crescimento dessa cultura, uma vez que a maioria dos trabalhos foram realizados em leguminosas (PEREIRA *et al.*, 2004) e enfatizam apenas a maior tolerância da planta a pragas e pouco do seu efeito no controle de doenças e na fisiologia da planta.

A avaliação do potencial fisiológico e sanitário após o recobrimento de sementes é um componente essencial dos programas de controle de qualidade adotados por instituições produtoras, pois permite a adoção de práticas de manejo destinadas à garantia de nível satisfatório de desempenho das sementes.

Na tecnologia de sementes, uma das maiores dificuldades para avaliar a qualidade de sementes refere-se à metodologia para execução dos testes. Dessa forma, novos testes devem ser desenvolvidos para obter resultados efetivos e mais rápidos, na tentativa de prever a qualidade dos lotes que chegam ao laboratório. A eletroforese vem sendo utilizada no estudo de isoenzimas com relação, não apenas às mudanças na qualidade fisiológica de sementes, mas também nas regulações gênica e bioquímica, entre outros (ISTA, 1992).

As enzimas relacionadas à qualidade fisiológica das sementes mais pesquisadas são esterase, transaminases e peroxidases (CARVALHO *et al.*, 2000). A esterase é uma enzima envolvida em reações de hidrólises de ésteres, estando diretamente ligada ao metabolismo dos lipídios, como os fosfolipídios totais de membrana (SANTOS *et al.*, 2005). As enzimas peroxidase incluem um grupo de enzimas capazes de catalisar a transferência do hidrogênio de um doador para H₂O₂, em plantas, a ação constitui numa proteção antioxidativa. São caracterizadas durante a germinação das sementes, assim como, nos estágios de crescimento (MENEZES *et al.*, 2004).

Assim, é necessário pesquisar sobre métodos que auxiliem na maximização da qualidade de sementes destas espécies. As crescentes exigências de qualidade do mercado têm levado à opção por um monitoramento nas sementes, relacionando tratamento de sementes com micronutrientes, controle rápido e eficaz através das avaliações com isoenzimas (TUNES *et al.*, 2009). No entanto, não existem informações sobre essas associações e as culturas necessitam de sementes de alta qualidade e preservação das mesmas.

Diante disto, é cada vez maior a necessidade do aprimoramento dos testes destinados à avaliação da qualidade das sementes, com a finalidade de fornecer informações consistentes e complementares às obtidas no teste de germinação.

Apesar de existirem estudos com silício em alguns países, no Brasil praticamente não há trabalhos demonstrando a sua eficiência na produção de sementes de arroz de alta qualidade. Nesse contexto, buscou-se com a presente pesquisa avaliar a influência da aplicação de doses de silício no desempenho de sementes de arroz irrigado, produzido no estado do Rio Grande do Sul após o tratamento de sementes.

Assim, os objetivos deste trabalho foram avaliar o efeito do recobrimento de sementes de arroz com duas fontes de silício, através dos atributos fisiológicos, enzimáticos e sanitários.

MATERIAL E MÉTODOS:

O trabalho foi desenvolvido no Laboratório Didático de Análise de Sementes (LDAS) Flávio Farias Rocha da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel da Universidade Federal de Pelotas, município de Capão do Leão - RS.

As sementes de arroz (*Oryza sativa* L.) utilizadas, da safra 2012, cultivar Irga 424 e Puitá Inta CL foram provenientes da empresa Hadler & Hasse, localizada no município de Arroio Grande e Pelotas/RS, Brasil.

¹ Doutorandos do Departamento de Ciência e Tecnologia de Sementes, Universidade Federal de Pelotas, Caixa Postal 354, 96001-970 - Pelotas, RS, Brasil. jsajuniorabreu@hotmail.com

² Engenheiro Agrônomo do Departamento de Ciência e Tecnologia de Sementes, Universidade Federal de Pelotas, Caixa Postal 354, CEP: 96001-970 - Pelotas, RS, Brasil.

³ Acadêmica do curso de agronomia da URCAMP-RS, Campus Bagé.

⁴ Técnica agrícola do IFSUL, campus Pelotas-RS.

⁵ Professor Adjunto do Departamento de Ciência e Tecnologia de Sementes, Universidade Federal de Pelotas, Caixa Postal 354, 96001-970 - Pelotas, RS, Brasil.

O processo de recobrimento das sementes de arroz foi realizado com duas fontes de silício, silicato de alumínio – 70% de SiO₂ (Caulim[®]) e casca de arroz carbonizada – 95% de SiO₂, aplicados nas sementes. O tratamento consistiu do recobrimento das sementes de arroz com duas fontes de silício nos níveis de 0; 30; 60; 90 e 120g. 100 kg⁻¹ de sementes. Logo em seguida as sementes foram recobertas com polímero da marca comercial Sepiret[®] na dosagem de 300 mL. 100 kg⁻¹ de sementes, totalizando um volume de calda de 1L. 100 kg⁻¹ de sementes. Para cada tratamento utilizou-se quatro repetições de recobrimento de sementes sendo realizado conforme a metodologia descrita por NUNES (2005), utilizando-se o método manual com sacos de polietileno. Para isso, adotou-se a seguinte ordem de aplicação dos produtos: silicato de alumínio e casca de arroz carbonizada colocado no interior do saco, juntamente com a semente onde foi agitado por 3 minutos até o produto ficar completamente aderido a semente, em seguida colocou-se o polímero e a água diretamente no fundo de outro saco plástico, uniformizando e espalhando até uma altura de aproximadamente 0,15 metros. Logo após foram colocados 0,2 kg de sementes no interior do saco plástico, sendo o mesmo novamente agitado, por 3 minutos. Na sequência, os sacos, com cada repetição dos tratamentos, foram abertos e colocados para secarem em temperatura ambiente por um período 24 horas.

No Laboratório Didático de Análise de Sementes (LDAS), foram avaliados os testes de germinação (G), primeira contagem de germinação (PCG), comprimento da parte aérea (CPA) e raiz (CR), teste de frio (TF) e emergência em Campo (EC).

A primeira contagem da germinação (PCG) foi realizada conjuntamente com o teste de germinação, computando-se as porcentagens médias de plântulas normais, após sete dias da instalação do teste. Os resultados foram expressos em porcentagem de plântulas normais.

Para diferenciação isoenzimática, as isoenzimas analisadas foram: esterase (EST – EC 3.1.1.1), glutamato oxalacetato transaminase (GOT – EC 2.6.1.1) e peroxidase (PO – EC 1.11.1.17), para todos os tratamentos. As sementes foram colocadas para germinar e as plântulas, aos sete dias, foram usadas para a extração. Também foi realizada análise com sementes secas, não germinadas, retiradas do armazenamento e levadas para a extração. Foram analisadas dez sementes e plântulas coletadas aleatoriamente e maceradas em gral de porcelana, para cada tratamento e repetição. De cada uma das amostras, 200 mg do extrato vegetal foram colocados em tubos *eppendorf*, acrescidos de solução extratora (tampão do gel + 0,15% de 2-mercaptoetanol), na proporção 1:2 (p/v). A eletroforese foi realizada em géis de poliacrilamida 7%, colocando-se 20µL de cada amostra, em orifícios feitos com o auxílio de um pente de acrílico. Três aplicações (repetições) para cada uma das amostras foram realizadas. Os padrões enzimáticos foram analisados pelo sistema de tampões, descrito por SCANDALIOS (1969). Os géis foram colocados em cubas eletroforéticas verticais, mantidas em câmara fria, com temperatura entre 4 e 6 °C. As migrações eletroforéticas foram realizadas com uma diferença de potencial de 10 V.cm⁻¹, até que a linha frontal, formada pelo azul de bromofenol, atingisse 9 cm do ponto de aplicação. Os géis foram revelados conforme SCANDALIOS (1969) e ALFENAS (1998). Os géis de eletroforese foram fixados em solução 5-5-1, de água destilada: metanol: ácido acético.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado com quatro repetições. As médias obtidas foram submetidas à análise de regressão. A análise estatística foi realizada com auxílio do pacote estatístico Sisvar (FERREIRA, 2000). A interpretação dos resultados das isoenzimas foi baseada na análise visual dos géis de eletroforese, levando-se em consideração a presença/ausência, bem como a intensidade de cada uma das bandas eletroforéticas, em cada sistema isoenzimático avaliado.

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

Em relação aos resultados encontrados na qualidade fisiológica de sementes de arroz recobertas com silício, podemos verificar que o teste de primeira contagem da germinação (Figura 1) não obteve resultados significativos relacionados às diferentes doses dos produtos caulim e casca de arroz carbonizada para as duas cultivares. Esses dados estão de acordo com os encontrados por SANTOS, *et al.* (2010) em sementes de *brachiaria* e por TOLEDO *et al.* (2011) em sementes de aveia branca recobertas com silício. No entanto, pesquisa de PEREIRA *et al.* (2010) e VIEIRA *et al.* (2011) em sementes de arroz produzidas no estado de Minas Gerais e MATICHENKOV *et al.* (2005) com sementes de trigo, foram encontrados resultados positivos com a adição de silício, maximizando a qualidade de sementes.

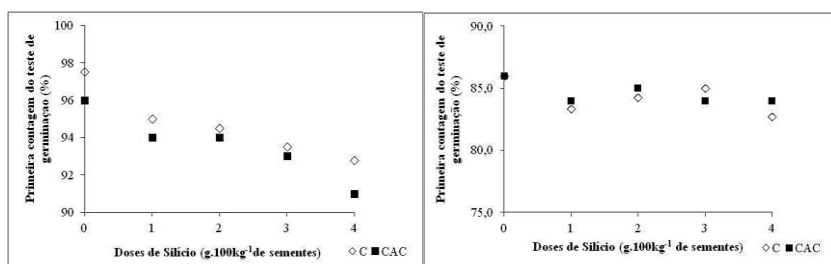


Figura 1 – Primeira contagem do teste de germinação (%) de duas cultivares de arroz irrigado (Puitá CL e Irga 424) recoberto com duas fontes de silício. Pelotas, RS, Brasil, 2012. C = caulim; CAC = casca de arroz carbonizada. A = cultivar Puitá Inta CL; B = Irga 424.

A metodologia das enzimas foi testada para três sistemas isoenzimáticos: esterase, glutamato oxalacetato transaminase e peroxidase. Na análise dos três sistemas enzimáticos utilizados foi possível visualizar que houve variação significativa na intensidade da expressão isoenzimática conforme o aumento da concentração de silício das sementes e plântulas (Figuras 2 - 4), com exceção da enzima glutamato oxalacetato desidrogenase (GOT). Em função dessa variação, cada sistema foi abordado e analisado individualmente.

A expressão da enzima esterase apresentou um padrão de bandas menos intensa nas doses mais alta de silício no tratamento de sementes de arroz com caulim (Figura 2). Nas plântulas da cultivar Puitá CL não foi observado variação com a utilização das diferentes doses de silício. Esses resultados vêm de encontro aos verificados por PEREIRA *et al.* (2010), onde detectaram aumento de bandas dessa enzima à medida que aumenta a concentração de silício nas sementes. Afirmaram ainda que, doses mais elevadas desse elemento aumenta a atividade da esterase com consequência ocorrem alterações nos padrões isoenzimáticos e evidências de eventos deteriorativos. De acordo com MALONE *et al.* (2007), essa variação também pode ser decorrente de um metabolismo mais acelerado, sugerindo que

a maior parte dos materiais de reserva já haviam sido metabolizados aos sete dias da germinação.

O recobrimento nas sementes com a fonte casca de arroz carbonizada verificou-se que também não ocorreram variação da enzima esterase. No entanto, para as plântulas da cultivar Puitá CL a dose mais elevada no tratamento de sementes acarretou em uma menor expressão dessa enzima. Na cultivar Irga não foi observado variação da expressão da enzima entre as diferentes doses. Nas duas cultivares ocorreu aumento do número de bandas quando comparado com suas respectivas análise isoenzimática das sementes.

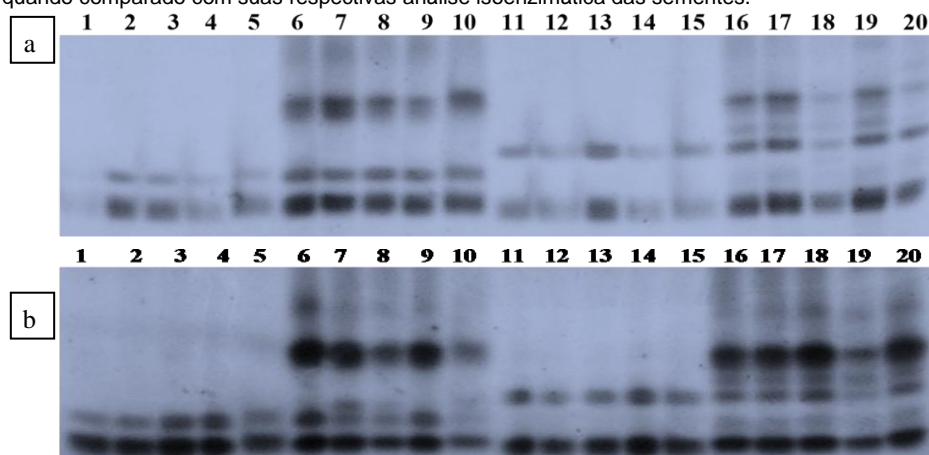


Figura 2 - Padrão eletroforético obtido com o sistema isoenzimático esterase (EST) em sementes e plântulas de arroz tratadas com 0; 30; 60; 90; 120g. 100kg⁻¹ de sementes com duas fontes de silício.

Para a enzima glutamato oxalacetato transaminase (GOT) na Figura 3, não apresentou variação na expressão e intensidade das bandas nas sementes e plântulas nas duas cultivares, independente da dose e fonte de silício testada. Resultados semelhantes foram encontrados por MENDONÇA *et al.* (2012) em sementes de trigo tratadas com silício. Esta é uma enzima que participa no processo de degradação e síntese de aminoácidos (CONN; STUMPF, 1980), com ação fundamental na germinação de sementes, concordando com os resultados obtidos neste trabalho.

Em função de esta enzima estar diretamente envolvida no metabolismo do nitrogênio, é possível que variações ocorram à medida que a síntese e degradação de aminoácidos, durante o processo de germinação e armazenamento. A enzima GOT tem uma participação fundamental no metabolismo proteico, não somente durante a germinação, mas, durante todo o ciclo de vida da planta.

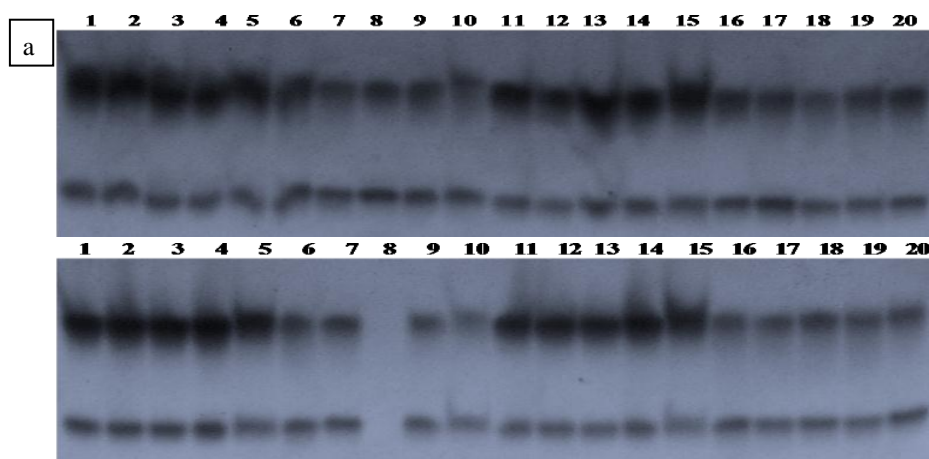


Figura 3 - Padrão eletroforético obtido com o sistema isoenzimático glutamato oxalacetato transaminase (GOT) em sementes e plântulas de arroz tratadas com 0; 30; 60; 90; 120g. 100kg⁻¹ de sementes com duas fontes de silício.

Na Figura 4 está apresentado o sistema isoenzimático peroxidase (PO). A enzima não foi expressa nas sementes recobertas com as diferentes doses de silício nas duas cultivares e ambas as fontes analisadas. Nas plântulas de arroz ocorreu uma diminuição da intensidade da banda dessa enzima com a dose mais elevada de silício. No entanto, a pesquisa de GOMES *et al.* (2008) as sementes que foram tratadas com silício apresentaram uma maior atividade da peroxidase, o mesmo foi encontrado por GOMES *et al.* (2005) em sementes de trigo atacadas por pulgões. Segundo estes autores o silício possui função importante na expressão das enzimas quando é acionada uma situação de estresse, age como um sinalizador e barreira contra o ataque biótico ou abiótico.

A peroxidase utiliza o peróxido de hidrogênio para oxidar uma grande variedade de substâncias doadoras de hidrogênio como fenóis, grupo como anéis aromáticos, diaminas, ácido ascórbico, aminoácidos e alguns ácidos inorgânicos (NKANG, 1996). Sua mobilidade eletroforética pode ser alterada consideravelmente pela temperatura e PH. A atividade dessa enzima varia como tipo de tecido e o estágio de desenvolvimento da planta, sendo sua expressão inversamente proporcional ao crescimento do indivíduo, dessa forma, sua presença poderiam ser observados em outra fase de desenvolvimento do material vegetal analisado decorrente de sementes tratadas.

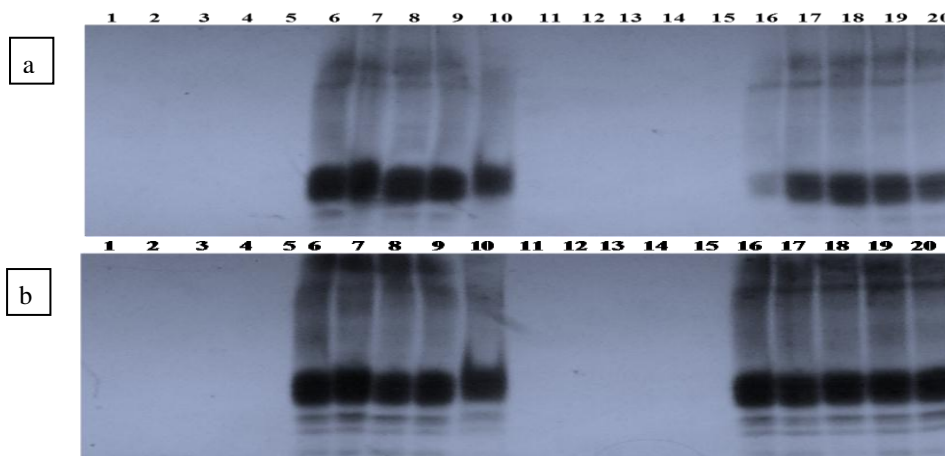


Figura 4 - Padrão eletroforético obtido com o sistema isoenzimático peroxidase (PO) em sementes e plântulas de arroz tratadas com 0; 30; 60; 90; 120g. 100kg⁻¹ de sementes com duas fontes de silício.

A nutrição de plantas determina em grande parte a sua resistência ou susceptibilidade a doenças, sua estrutura morfológica, a função de tecidos para rápida ou lenta patogênese, a virulência e habilidade do patógeno para sobreviver, dessa forma, verificamos que sementes bem nutridas com silício podem reduzir principalmente a incidência de fungos de solo, potencializando a qualidade das sementes para melhor desenvolvimento e resistência no campo.

CONCLUSÃO

A enzima esterase é considerada um bom marcador bioquímico para avaliação da qualidade enzimática de sementes de arroz irrigado tratadas com silício.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALFENAS, A.C. **Eletroforeses de isoenzimas e proteínas afins: fundamentos e aplicações em plantas e microrganismos**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa. 574p. 1998.
- BONNECARRERE, R.A.G. et al. Resposta de genótipos de arroz irrigado á aplicação de zinco. *Revista da Faculdade de Zootecnia, Veterinária e Agronomia*, 10 p.214-222. 2003.
- CARVALHO, MLM, VIEIRA, MGGC, PINHO, VER. Técnicas moleculares em sementes. *Biotecnologia. Ciência & Desenvolvimento*, v.17, p. 4-44. 2000.
- GOMES, F.B. Moraes CD, Santos MM Goussain. Resistance induction in wheat plants by silicon and aphids. *Scientia Agrícola*, v. 62, p. 547-551. 2005.
- MALONE, G, et al. Expressão diferencial de isoenzimas durante o processo de germinação de sementes de arroz em grandes profundidades de semeadura. *Revista Brasileira de Sementes*, v.29, n. 1, p.61-67. 2007.
- MENEZES, S.M. et al. Detecção de soja geneticamente modificada tolerante ao glifosato por métodos baseados na atividade de enzimas. *Revista Brasileira de Sementes*, v.26, p. 150-155, 2004.
- PEREIRA, E.M. et al. Qualidade fisiológica e enzimática de sementes de arroz de terras altas produzidas com diferentes doses de silício. *Anais... XIX CONGRESSO DE PÓS-GRADUAÇÃO UFLA*.
- POZZA, A.A.A. et al. O silício no controle de cercosporiose em três variedades de cafeeiro. *Fitopatologia Brasileira*, v.29, p. 373-402. 2010.
- SANTOS, C.M.R. et al. 2005 Modificações fisiológicas e bioquímicas em sementes de feijão no armazenamento. *Revista Brasileira de Sementes*, v.27, p.104-114. 2005.
- SANTOS, F.C. Tratamento químico, revestimento e armazenamento de sementes de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu. *Revista Brasileira de Sementes*, v. 32, n.3, p. 069-078. 2010.
- SCANDALIOS, J.G. Genetic control of multiple molecular forms of enzymes in plants: a review. *Biochemical Genetics*, v. 3, p.37-39.1969.
- TOLEDO, M.Z. Seed germination and seedling development of white oat affected by silicon and phosphorus fertilization. *Scientia Agrícola*, v.68, n.1, p. 18-23. 2011.
- TUNES, L.M. Alterações fisiológicas e enzimáticas em sementes de cevada sob diferentes condições de armazenamento. *Magistra*, v. 21, n. 3, p. 154-164.2009.
- VIEIRA, A.R. Qualidade de sementes de arroz irrigado produzidas com diferentes doses de silício. *Revista Brasileira de Sementes*, v.33, p.490-500.2011.