

# Qualidade fisiológica, sanitária e enzimática de sementes de arroz irrigado recobertas com silício<sup>1</sup>

Lilian Vanussa Madruga de Tunes<sup>2</sup>, Daniel Ândrei Robe Fonseca<sup>3</sup>, Géri Eduardo Meneghello<sup>4</sup>, Bruna Barreto dos Reis<sup>5</sup>, Veronica Duarte Brasil<sup>6</sup>, Cassyo de Araújo Rufino<sup>3</sup>, Francisco Amaral Villella<sup>7</sup>

<http://dx.doi.org/10.1590/0034-737X201461050011>

## RESUMO

O tratamento de sementes com a utilização de silício em sementes de boa qualidade constitui prática para o aumento da produtividade. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do recobrimento de sementes de arroz com duas fontes de silício, em seus atributos fisiológicos, enzimáticos e sanitários. Empregaram-se os cultivares de arroz Irga 424 e Puitá Inta CL e de duas fontes de silício: silicato de alumínio e casca de arroz carbonizada moída, consistindo nas doses de 0; 30; 60; 90 e 120 g 100 kg<sup>-1</sup> (de cada produto aplicado) de sementes mais polímero e água, totalizando um volume de calda de 1 L 100 kg<sup>-1</sup> de sementes. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, com quatro repetições. A qualidade fisiológica das sementes foi avaliada no (LAS-FAEM\UFPel) pelos testes de germinação, primeira contagem de germinação, comprimento da parte aérea e raiz, teste de frio e emergência em campo. Para diferenciação isoenzimática, as isoenzimas analisadas foram: esterase, glutamato oxalacetato transaminase e peroxidase, para todos os tratamentos. A avaliação da qualidade sanitária das sementes foi realizada pelo método do papel de filtro ou “Blotter Test”. Doses crescentes de casca de arroz carbonizada e de silicato de alumínio, até 120 g 100 kg<sup>-1</sup> de sementes, incrementam o vigor de sementes de arroz, avaliados pelo comprimento de raiz e pela emergência a campo. As fontes casca de arroz carbonizada e caulim controlam a incidência de fungos de solo nas sementes de arroz.

**Palavras-chave:** *Oryza sativa* L., fontes de silício, marcadores bioquímico.

## ABSTRACT

### Physiological, health and enzymatic quality of irrigated rice seeds coated with silicon

Seed treatment using silicon in good quality seeds is a practice for increasing productivity. The objective of this study was to evaluate the effect of coating rice seeds with two sources of silicon on their physiological, enzymatic and sanitary traits. This experiment used two rice cultivars, Irga 424 and Puitá Inta CL, and two sources of silicon, aluminum silicate and carbonized rice husk at doses of 0, 30, 60, 90 and 120g 100 kg<sup>-1</sup> (of each applied product) of seed plus polymer and water, totaling a spray volume of 1L 100 kg<sup>-1</sup> of seeds. The experimental design was completely randomized with four replications. The physiological quality of seeds was evaluated (LAS-FAEM \ UFPel) by

Recebido para publicação em 29/01/2013 e aprovado em 23/01/2014.

<sup>1</sup> Parte do projeto de Pós Doutorado da primeira autora, Bolsista de PNPD em Ciência e Tecnologia de Sementes, Universidade Federal de Pelotas.

<sup>2</sup> Engenheira-Agrônoma, Doutora. Universidade Federal de Pelotas, *Campus* Capão do Leão, Departamento de Fitotecnia, Caixa Postal 354, 96001-970, Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil. [lilianmtunes@yahoo.com.br](mailto:lilianmtunes@yahoo.com.br) (autora para correspondência).

<sup>3</sup> Engenheiro-Agrônomo, Mestre. Universidade Federal de Pelotas, *Campus* Capão do Leão, Departamento de Ciência e Tecnologia de Sementes, Caixa Postal 354, 96001-970, Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil.

<sup>4</sup> Engenheiro-Agrônomo. Universidade Federal de Pelotas, *Campus* Capão do Leão, Departamento de Ciência e Tecnologia de Sementes, Caixa Postal 354, 96001-970, Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil.

[gmeneghello@gmail.com](mailto:gmeneghello@gmail.com)

<sup>5</sup> Graduanda. Universidade da Região da Campanha, Faculdade de Agronomia, *Campus* Bagé, Centro, Bagé, Rio Grande do Sul, Brasil. [brunabarretoreis@hotmail.com](mailto:brunabarretoreis@hotmail.com)

<sup>6</sup> Técnica Agrícola. Instituto Federal Sul Rio Grandense, *Campus* Pelotas, Rua Simões Lopes, 2791, Bairro Arco Íris, 96060-290, Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil. [veronica-brasil@hotmail.com](mailto:veronica-brasil@hotmail.com)

<sup>7</sup> Engenheiro Agrícola, Pós Doutor. Universidade Federal de Pelotas, *Campus* Capão do Leão, Departamento de Ciência e Tecnologia de Sementes, Caixa Postal 354, 96001-970, Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil. [francisco.villella@pesquisador.cnpq.br](mailto:francisco.villella@pesquisador.cnpq.br)

germination, first count, length of shoot and root, cold test and field emergence. For isoenzyme differentiation, the following isoenzymes were analyzed: esterase, glutamate oxaloacetate transaminase and peroxidase, for all treatments. The sanitary quality of seeds was evaluated using the filter paper method or "Blotter Test". Increasing doses of carbonized rice husk and aluminum silicate up to g 100 to 120 kg<sup>-1</sup> seed incremented rice seed vigor assessed by the root length and field emergence. The sources of carbonized rice husk and kaolin control the incidence of soil fungi in rice seeds.

**Key words:** carbonized rice husk, kaolin, *Oryza sativa* L.

## INTRODUÇÃO

O uso de nutrientes minerais e de sementes de boa qualidade constitui prática expressiva para o aumento da produtividade. Dentre as tecnologias que podem ser empregadas para o aumento da produtividade, a nutrição das plantas, especialmente a utilização do silício, por meio do recobrimento de sementes, vem contribuindo para a sustentabilidade do atual sistema de produção de arroz.

Outra consideração, a ser feita, refere-se ao tipo de cultura, pois existem espécies que apresentam maior capacidade de resposta à aplicação de silício, como arroz, cana, trigo, sorgo e *poaceas* em geral. Para essas plantas, a adubação com produtos ricos em silício tem proporcionado benefícios, principalmente se elas estão sujeitas a algum tipo de estresse, seja biótico ou abiótico. Os benefícios associados ao uso de silicatos estão relacionados não apenas com o fornecimento de silício, mas, também, a seu efeito como corretivo de acidez e como fornecedor de cálcio, magnésio e micronutrientes, como cobre, ferro, manganês e outros (Queiroz, 2003). Assim, o fornecimento de produtos ricos em Si, por recobrimento de sementes, pode ser uma forma eficiente e de baixo custo de aumentar sua disponibilidade no estágio inicial de crescimento, no qual o sistema radicular é pouco desenvolvido, o que afeta a absorção de elementos do solo Bonneccarrère *et al.*, (2004). O recobrimento de sementes com produtos ricos em Si vem ganhando cada vez mais adeptos, em função dos benefícios que proporciona às culturas.

Entre os fatores limitantes para o cultivo de arroz irrigado no Brasil, estão, sem dúvida, as doenças. Uma semente de elevada qualidade fisiológica e sanitária é extremamente importante para o estabelecimento e desenvolvimento da cultura no campo. A qualidade sanitária das sementes ainda é negligenciada, apesar de a transmissão de patógenos, por via das sementes, causar sérios danos à cultura subsequente, Frare *et al.*, (2002). Assim, a análise de sementes, voltada para a qualidade sanitária de uma amostra, representa uma ferramenta de grande importância em certificação de sementes, no melhoramento e na diagnose de rotina em laboratórios de análises.

A prática de fornecimento de silício para cultura do arroz pode reduzir o uso de defensivos agrícolas, proporcionando a obtenção de produto de melhor qualidade, além de gerar menor impacto ambiental nos sistemas de produção.

A avaliação do potencial fisiológico, enzimático 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 bom desempenho das sementes.

Na tecnologia de sementes, uma das maiores dificuldades para se avaliar a qualidade de sementes refere-se à metodologia para execução dos testes. Por essa razão, novos testes devem ser desenvolvidos para se obterem 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 com a qualidade fisiológica das sementes mais pesquisadas são a esterase, as transaminases e as 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 peroxidases incluem um grupo capaz de catalisar a transferência do hidrogênio, de um doador para H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Em plantas, a ação constitui uma proteção antioxidativa. São caracterizadas durante a germinação das sementes, assim como, nos estádios de crescimento Menezes *et al.*, (2004).

As crescentes exigências de qualidade do mercado têm levado à opção por um monitoramento das sementes, relacionando tratamento de sementes com micronutrientes, controle rápido e eficaz por meio de avaliações com isoenzimas Tunes *et al.*, (2009). No entanto, não existem informações sobre essas associações (qualidade fisiológica, sanitária e enzimática) e as culturas necessitam de sementes de alta qualidade e da sua preservação.

Diante disto, é cada vez maior a necessidade de aprimoramento dos testes destinados à avaliação da qualidade das sementes, com a finalidade de fornecer informações consistentes, 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. Por essa razão, buscou-se, com esta pesquisa, avaliar, por meio dos atributos fisiológicos, enzimáticos e sanitários a influência do recobrimento de sementes de arroz irrigado com silício.

## 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, dos cultivares Irga 424 e Puitá Inta CL, foram provenientes da empresa Hadler & Hasse, localizada nos municípios de Arroio Grande e de Pelotas, RS, Brasil.

O processo de recobrimento das sementes de arroz foi realizado com duas fontes de silício: silicato de alumínio – 70% de  $\text{SiO}_2$  (caulim) e casca de arroz carbonizada – 95% de  $\text{SiO}_2$ , aplicadas nas sementes. O processo teve por objetivo determinar a máxima quantidade dos produtos, em forma pura (pó), passíveis de serem aderidas às sementes, definindo, assim, as quantidades máximas por meio de apenas uma camada de recobrimento com polímero. A partir da dose máxima possível, procurou-se determinar as demais doses do produto a serem incluídas na pesquisa. Portanto, o tratamento consistiu no recobrimento das sementes de arroz, com duas fontes de silício, nas doses de 0; 30; 60; 90 e 120 g 100  $\text{kg}^{-1}$  de sementes. Logo em seguida, as sementes foram recobertas com polímero da marca comercial Sepiret®, na dose de 300 mL 100  $\text{kg}^{-1}$  de sementes, totalizando um volume de calda de 1 L 100  $\text{kg}^{-1}$  de sementes.

Para cada tratamento, utilizaram-se quatro repetições de recobrimento de sementes, realizados conforme a método descrito por Nunes (2005), utilizando-se o método manual, com sacos de polietileno. Para isso, adotou-se a seguinte ordem de aplicação dos produtos: mistura silicato de alumínio e da casca de arroz carbonizada, colocados no interior do saco, juntamente com as sementes, agitado por três minutos, até o produto ficar completamente aderido à semente; em seguida, colocação do polímero e da água, diretamente no fundo de outro saco plástico, uniformizando-se e espalhando-se o produto até uma altura de aproximadamente 0,15 m. Logo após a colocação de 0,2 kg de sementes no interior do saco plástico, este foi

novamente agitado, por três minutos. Na sequência, os sacos, com cada repetição dos tratamentos, foram abertos e as sementes tratadas colocadas para secar em temperatura ambiente, por 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 da raiz (CR), teste de frio (TF) e teste de emergência em campo (EC).

O teste de germinação (G) foi realizado, utilizando-se quatro repetições de 50 sementes por tratamento, semeadas em rolos de papel, com duas folhas, do tipo *germitest*, umedecidas previamente com água destilada, na proporção de 2,5 vezes o peso do papel. Os rolos foram colocados no germinador, a uma temperatura de  $25 \pm 2$  °C. A avaliação foi realizada ao 14 dias após a semeadura (Brasil, 2009).

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

A avaliação dos comprimentos médios da parte aérea (CPA) e da raiz (CR) foi realizada aos sete dias após a montagem do teste de germinação, sendo as plântulas escolhidas aleatoriamente, obtidas a partir da semeadura de quatro repetições de 30 sementes, no terço superior da folha de papel, conforme determinações descritas por Nakagawa (1999). Determinaram-se os comprimentos da parte aérea e de raiz das plântulas com régua graduada em milímetros.

Na análise do teste de frio (TF), conforme Barros *et al.*, (1999), distribuíram-se uniformemente quatro repetições de 50 sementes em papel do tipo *germitest*, previamente umedecido com água destilada, na proporção de 2,5 vezes o peso do papel seco. Em seguida, os rolos foram colocados em sacos plásticos fechados, permanecendo por sete dias na geladeira, a 10 °C. Em seguida, os rolos foram colocados no germinador a uma temperatura de  $20 \pm 2$  °C e analisados, após sete dias.

O teste de emergência em campo (EC) foi conduzido com quatro repetições de 50 sementes, semeadas em linhas de 1,0 m com espaçamento de 0,15 m. A avaliação foi realizada aos 21 dias após a semeadura, determinando-se as percentagens de emergência de plântulas (Nakagawa, 1994).

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 poli(acrilamida) 7%, colocando-se 20 µL de cada amostra, em orifícios feitos com 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<sup>-1</sup>, 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).

A avaliação da qualidade sanitária das sementes de arroz foi realizada pelo teste de sanidade, pelo método do papel filtro ou "Blotter Test". Utilizaram-se 200 sementes de cada tratamento, divididas em quatro subamostras de 50, colocadas em caixas plásticas do tipo "gerbox", previamente desinfetadas com álcool e hipoclorito de sódio (1%), por um minuto, sob duas folhas de papel de filtro umedecidas com água destilada e esterilizada. As sementes foram incubadas a 25 °C, com 12 horas de regime de luz, durante 24 horas. Em seguida, para a inibição da germinação, as sementes foram submetidas ao método do congelamento por 24 horas. Após esse procedimento, foram então incubadas, a 25 °C, por sete dias, com 12 horas de regime de luz, conforme método proposto por Brasil (2009). As análises foram realizadas com lupa e microscópio óptico, para observação das estruturas morfológicas dos fungos, os quais foram identificados em gênero, com o auxílio da bibliografia especializada de Barnett & Hunter (1998), determinando-se a percentagem de sementes contaminadas por fungos.

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 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 ou ausência, bem como a intensidade de cada uma das bandas eletroforéticas, em cada sistema isoenzimático avaliado.

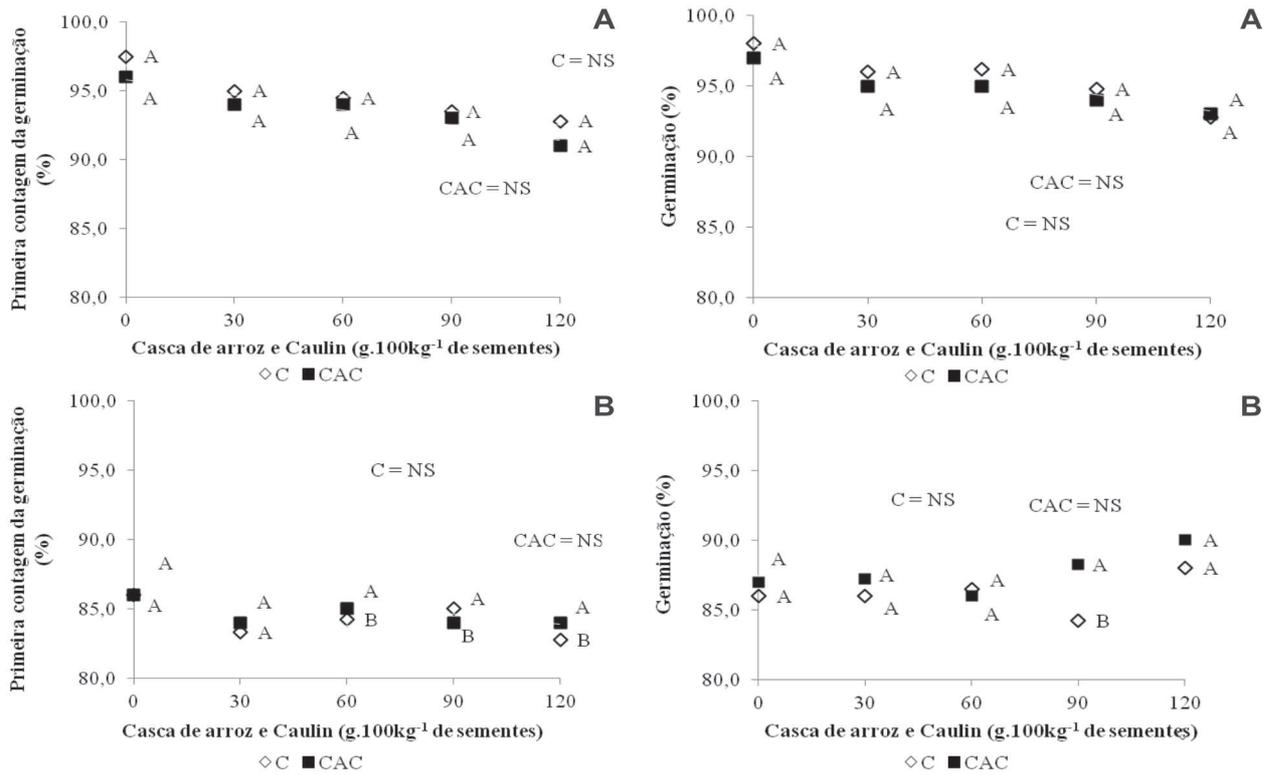
## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Verificou-se que os testes de primeira contagem da germinação e de germinação (Figura 1) não apresentam resultados significativos, relacionados com as diferentes doses dos produtos caulim e casca de arroz carbonizada, para os dois cultivares. Esses dados estão de acordo com os encontrados por Tavares *et al.* (2011), que trabalharam com sementes de trigo, Santos *et al.* (2010), com sementes de brachiaria, e por Toledo *et al.* (2011), com sementes de aveia branca recobertas com silício. No entanto, Pereira *et al.* (2010) e Vieira *et al.* (2011), pesquisando sementes de arroz produzidas no Estado de Minas Gerais, e Matichenkov *et al.* (2005), sementes de trigo encontraram resultados positivos com a adição de silício, maximizando-se a qualidade de sementes.

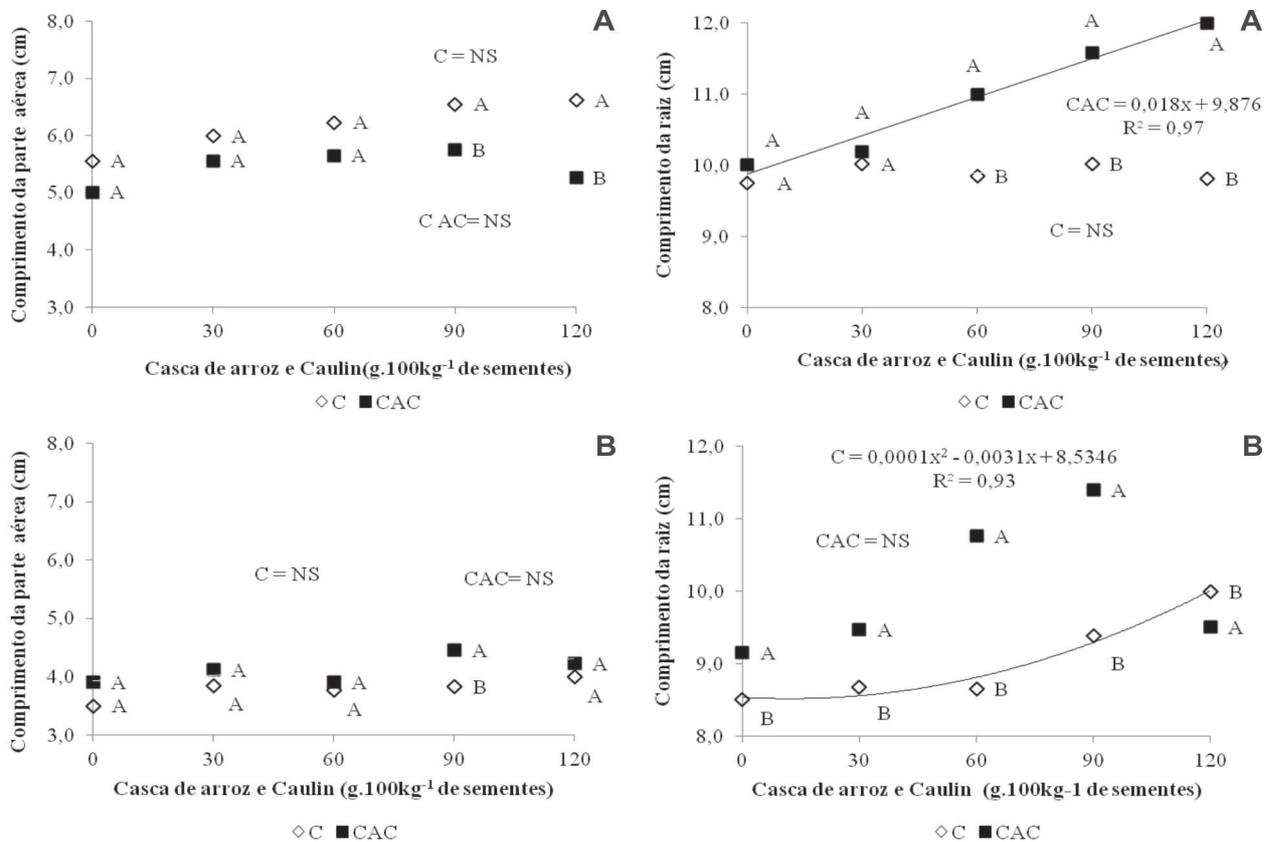
A variável comprimento da parte aérea (figura 2) não apresentou resultados significativos entre as diferentes doses de silício, para as duas fontes e cultivares de arroz analisados. No entanto, para a variável comprimento da raiz, a fonte casca de arroz carbonizada propiciou incremento linear positivo para o cultivar Puitá, à medida que aumentam as doses testadas. A dose mais elevada, ou seja, 120 g 100 kg<sup>-1</sup> de sementes, apresentou um aumento de 20% no comprimento da raiz, em comparação com o resultado da testemunha (sem a presença de silício).

Para o cultivar Irga 424 (Figura 2), a fonte caulim propiciou resultado significativo no comprimento da raiz, com aumento progressivo, à medida que aumentam as doses do produto (0 a 84 g SiO<sub>2</sub> por 100 kg de sementes) e não apresentou resultados diferenciais em relação aos da fonte casca de arroz carbonizada. A fonte de caulim proporcionou um incremento da variável analisada de 17,6%, em comparação com os resultados da testemunha. Observa-se maior diferença no comportamento entre as fontes de silício do que nos cultivares.

Para a variável teste de frio (Figura 3), não foram encontrados resultados significativos para os dois cultivares de arroz e as fontes de silício. Para a variável emergência a campo, Figura 3, foram verificados resultados positivos com as duas fontes de silício. Ocorreu um crescimento linear com o incremento de silício, no tratamento de sementes com casca de arroz carbonizada e caulim, tanto para o cultivar Puitá como para o Irga. Esses resultados estão de acordo com os verificados por Rafi *et al.* (1997), com sementes de trigo, concluindo-se que a presença de silício resulta em aumento da capacidade biológica das sementes e plântulas, para resistirem às condições adversas do ambiente, ou a algum estresse (testes de vigor), como ocorreu nesta pesquisa. Esses resultados também estão de acordo com os encontrados por Toledo *et al.* (2011), que verificaram a ação de fontes de silício em testes de vigor de sementes de aveia.



**Figura 1** – Primeira contagem do teste de germinação (%) e teste de germinação (%) de sementes de dois cultivares de arroz irrigado (Puitá CL e Irga 424) recobertas com duas fontes de silício. C = caulim; CAC = casca de arroz carbonizada. A = cultivar Puitá Inta CL; B = Irga 424.



**Figura 2** – Comprimento da raiz (cm) e da parte aérea (cm) de plântulas de dois cultivares de arroz irrigado (Puitá CL e Irga 424) cujas sementes foram recobertas com duas fontes de silício. C = caulim; CAC = casca de arroz carbonizada. A = cultivar Puitá Inta CL; B = Irga 424.

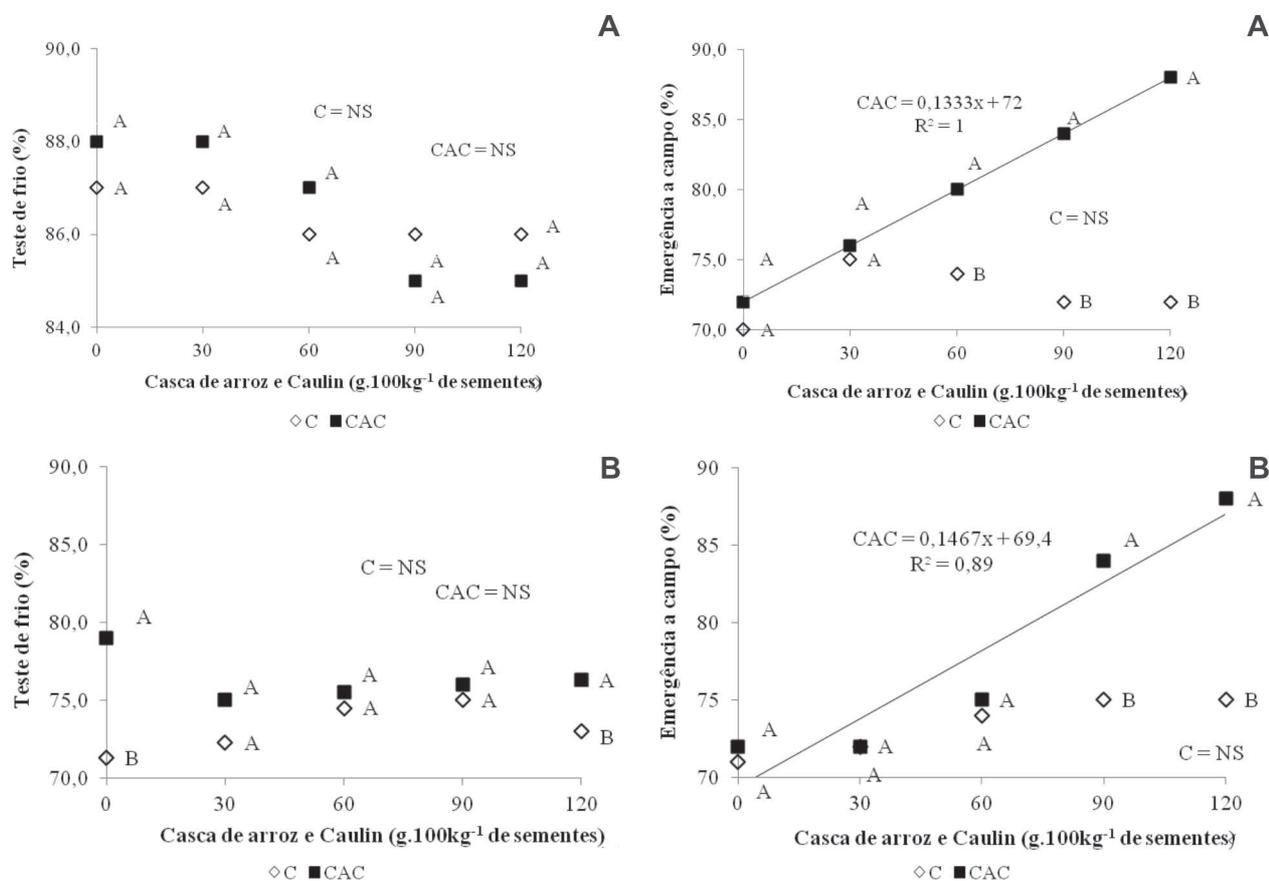
Para o cultivar Puitá, foram detectados fungos, como *Epicocum*, *Alternaria* sp. e *Fusarium* sp. (Figura 4). Para o fungo *Epicocum* não foi verificado controle pela ação das doses de silício aplicadas, tanto para a fonte caulim como para a casca de arroz carbonizada. Ocorreu uma redução da incidência de *Alternaria* sp., de 89%, com a dose mais elevada (108 g SiO<sub>2</sub> por 100 kg de sementes), com o tratamento de sementes com a fonte casca de arroz carbonizada, e de praticamente 100%, com a fonte caulim (84 g SiO<sub>2</sub> por 100 kg). Quanto ao fungo *Fusarium* sp., seu comportamento foi semelhante ao mencionado anteriormente. Apresentou uma redução de 87%, com a casca de arroz carbonizada (108 g SiO<sub>2</sub> por 100 kg), e de 94%, com a fonte caulim (84 g SiO<sub>2</sub> por 100 kg).

Os fungos detectados nas sementes de Irga foram: *Epicocum* sp., *Alternaria* sp., *Phoma* e *Rizoctonia*, (Figura 4). A fonte casca de arroz carbonizada não foi eficiente no controle dos fungos classificados como de campo. Entretanto, a fonte caulim forneceu resultados bem expressivos no controle desses fungos, com exceção de *Fusarium* sp. O controle de *Epicocum* com a dose mais elevada de silício (84 g 100 kg<sup>-1</sup> de sementes) foi de 70%, *Alternaria* sp. 88%, *Phoma* 100% e *Rizoctonia* de 90%, em comparação com os resultados da testemu-

na. O principal método de controle das inúmeras patogenias é o químico. Contudo, uma prática alternativa é manejar a nutrição mineral para aumentar a resistência a doenças (Marschner, 1995). Dentre os nutrientes minerais utilizados, o silício (Si) destaca-se por reduzir a severidade de importantes doenças (Epstein, 1999), como foi verificado neste trabalho.

O silício é classificado por muitos autores como elemento benéfico ou útil, por causa dos efeitos positivos observados, como a maior tolerância ao déficit hídrico, a maior resistência à toxicidade de metais pesados, e a maior resistência a doenças e pragas Pozza *et al.* (2004). Resultados promissores foram encontrados em vários patossistemas, como redução da brusone, da mancha parva e da queima das bainhas, em plantas de arroz, da cercosporiose do cafeeiro, do cancro da haste em plantas de soja e da gomose em citrus e menor incidência de oídio em plantas de aveia, pepino, melão e uva, quando as culturas foram tratadas com silício (Samuel *et al.*, 1991; Bowen *et al.*, 1992; Menzies *et al.*, 1992; Datnoff *et al.*, 1997; Carver *et al.*, 1998; Lima, 1998; Rodrigues, 2000; Faggiani, 2002; Pozza *et al.*, 2004).

Na análise dos três sistemas enzimáticos utilizados, foi possível visualizar variação significativa da intensi-



**Figura 3** – Teste de frio (%) e emergência a campo (%) de plântulas de dois cultivares de arroz irrigado (Puitá CL e Irga 424) cujas sementes foram recobertas com duas fontes de silício. C = caulim; CAC = casca de arroz carbonizada. A = cultivar Puitá Inta CL; B = Irga 424.

dade da expressão isoenzimática, conforme o aumento da concentração de silício das sementes e plântulas (Figuras 5-7), 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 intensas, nas doses mais alta de

silício, no tratamento de sementes de arroz com caulim (Figura 5). Nas plântulas do cultivar Puitá CL, não foram observadas variações com as diferentes doses de silício. Esses resultados contrariam os verificados por Pereira *et al.* (2010), que detectaram aumento de bandas dessa enzima, à medida que aumenta a concentração de silício nas sementes. Afirmaram,

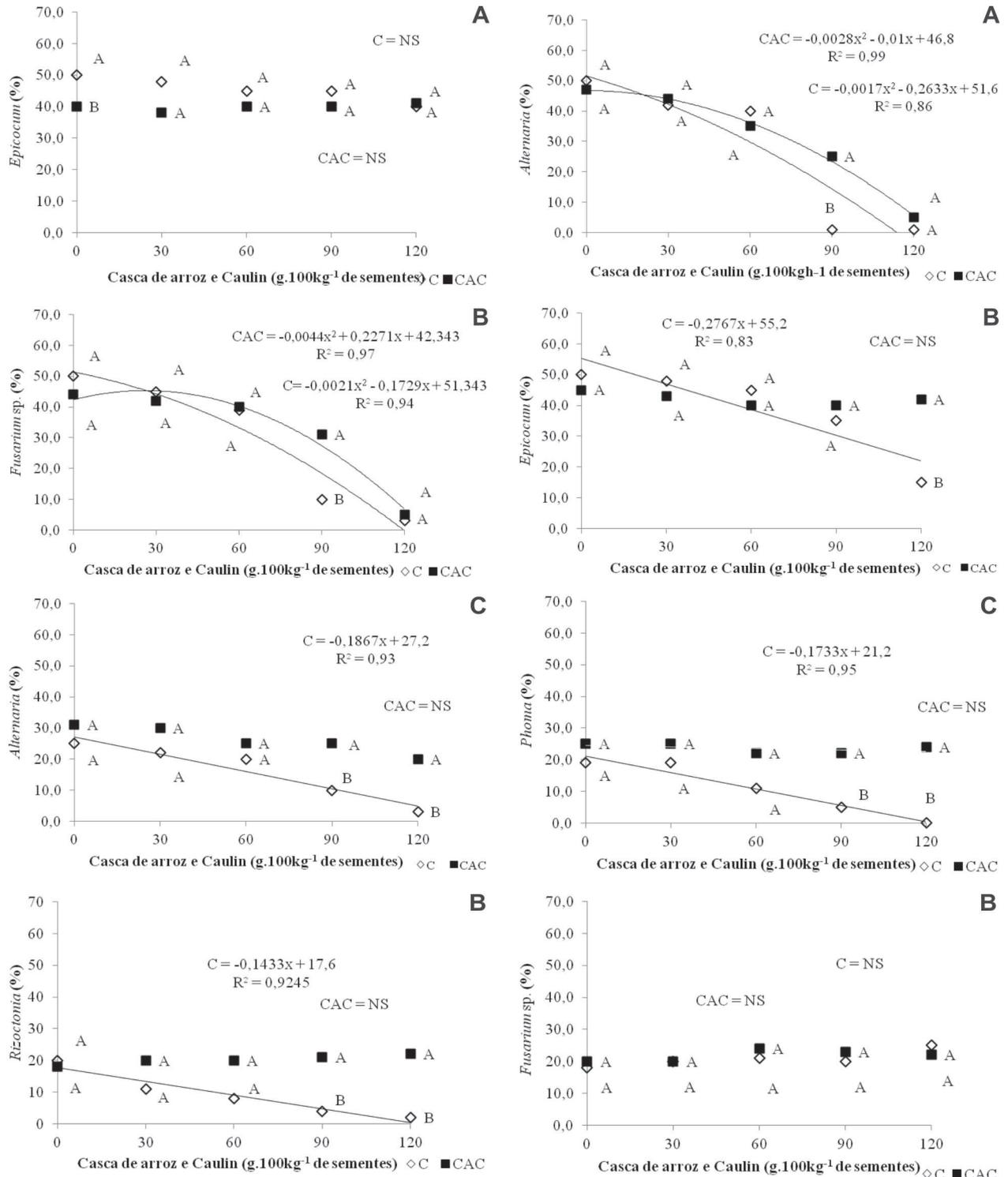
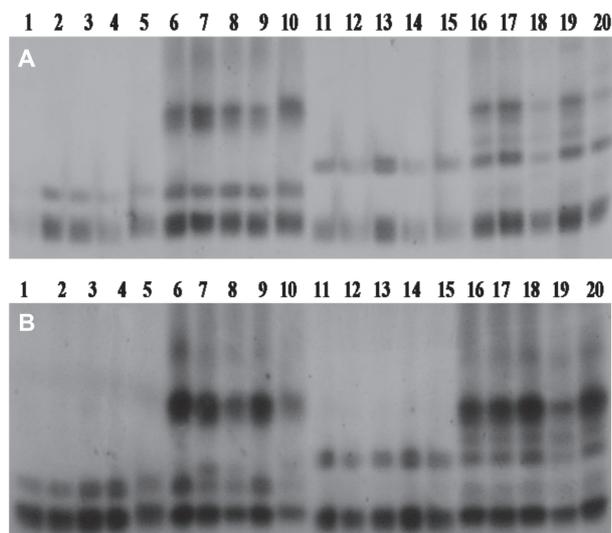


Figura 4 – Teste de sanidade de sementes de dois cultivares de arroz irrigado (Puitá CL e Irga 424) recobertas com duas fontes de silício. C = caulim; CAC = casca de arroz carbonizada. A = cultivar Puitá Inta CL; B = Irga 424.

ainda, que doses mais elevadas desse elemento aumentam a atividade da esterase, com alterações nos padrões isoenzimáticos e evidências de eventos deteriorativos. De acordo com Malone *et al.* (2007), essa variação também pode ser decorrente de metabolismo mais acelerado, sugerindo que a maior parte dos materiais de reserva já haviam sido metabolizados aos sete dias da germinação. Assim, essa alteração não pode ser atribuída apenas ao tratamento de sementes com silício e, sim, também ao período em que foi realizada a coleta das amostras para análise.

A esterase é uma enzima responsável pelo metabolismo de lipídios de membrana, durante a germinação da semente; assim, por esses resultados, observa-se que não houve efeito dos produtos aplicados.



**Figura 5** - Padrão eletroforético obtido com o sistema isoenzimático esterase (EST) em sementes e plântulas de arroz tratadas com 0; 30; 60; 90; 120 g 100 kg<sup>-1</sup> de sementes com duas fontes de silício. 1: sementes não tratadas (Puitá CL); 2: sementes tratadas com 30 g 100 kg<sup>-1</sup> de sementes (Puitá CL); 3: sementes tratadas com 60 g 100 kg<sup>-1</sup> de sementes (Puitá CL); 4: sementes tratadas com 90 g 100 kg<sup>-1</sup> de sementes (Puitá CL); 5: sementes tratadas com 120 g 100 kg<sup>-1</sup> de sementes (Puitá CL); 6: plântulas de sementes não tratadas (Puitá CL); 7: plântulas de sementes tratadas com 30 g 100 kg<sup>-1</sup> de sementes (Puitá CL); 8: plântulas de sementes tratadas com 60 g 100 kg<sup>-1</sup> de sementes (Puitá CL); 9: plântulas de sementes tratadas com 90 g 100 kg<sup>-1</sup> de sementes (Puitá CL); 10: plântulas de sementes tratadas com 120 g 100 kg<sup>-1</sup> de sementes (Puitá CL); 11: sementes não tratadas (Irga); 12: sementes tratadas com 30 g 100 kg<sup>-1</sup> de sementes (Irga); 13: sementes tratadas com 60 g 100 kg<sup>-1</sup> de sementes (Irga); 14: sementes tratadas com 90 g 100 kg<sup>-1</sup> de sementes (Irga); 15: sementes tratadas com 120 g 100 kg<sup>-1</sup> de sementes (Irga); 16: plântulas de sementes não tratadas (Irga); 17: plântulas de sementes tratadas com 30 g 100 kg<sup>-1</sup> de sementes (Irga); 18: plântulas de sementes tratadas com 60 g 100 kg<sup>-1</sup> de sementes (Irga); 19: plântulas de sementes tratadas com 90 g 100 kg<sup>-1</sup> de sementes (Irga) e 20: plântulas de sementes tratadas com 120 g 100 kg<sup>-1</sup> de sementes (Irga). a = caulim; b = casca de arroz carbonizada.

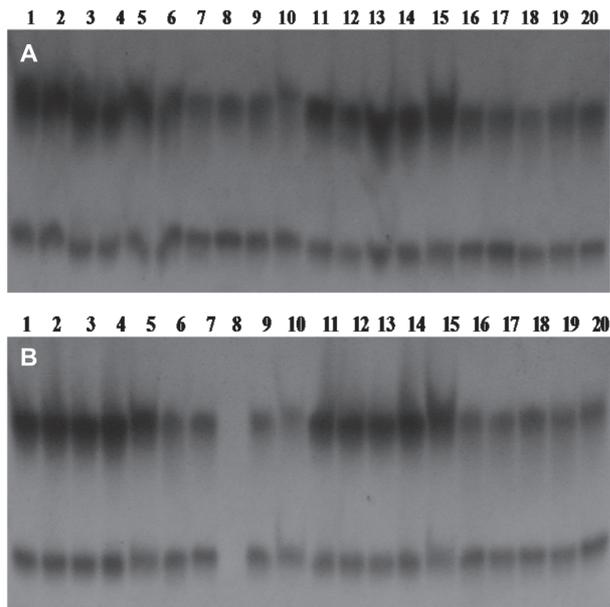
Quanto ao fator recobrimento das sementes com a fonte casca de arroz carbonizada, verificou-se que também não ocorreram variações com a enzima esterase. No entanto, para as plântulas do cultivar Puitá CL, a dose mais elevada no tratamento de sementes acarretou menor expressão dessa enzima. Quanto ao cultivar Irga, não foi observada variação da expressão da enzima entre as diferentes doses. Para os dois cultivares, ocorreu aumento do número de bandas, quando comparada com suas respectivas análises isoenzimáticas das sementes.

Para a enzima glutamato oxalacetato transaminase (GOT), Figura 6, não ocorreram variações da expressão e da intensidade das bandas das sementes e plântulas dos dois cultivares, independentemente da dose e da 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 do 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 progrida 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.

Na Figura 7, está apresentado o sistema isoenzimático peroxidase (PO). A enzima não foi expressa nas sementes recobertas com as diferentes doses de silício, para os dois cultivares e para 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, na pesquisa de Gomes *et al.* (2008), as sementes que foram tratadas com silício apresentaram maior atividade da peroxidase, o mesmo encontrado por Gomes *et al.* (2005), em sementes de trigo atacadas por pulgões. Segundo esses autores, o silício apresenta função importante na expressão das enzimas; em situação de estresse, age como 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, grupos com anéis aromáticos, diaminas, ácido ascórbico, aminoácidos e alguns ácidos inorgânicos (Nkang, 1996). Sua mobilidade eletroforética pode ser alterada consideravelmente por temperatura e pH. A atividade dessa enzima varia com o tipo de tecido e com o estágio de desenvolvimento da planta, sendo sua expressão inversamente proporcional ao crescimento do indivíduo; dessa forma, sua pre-

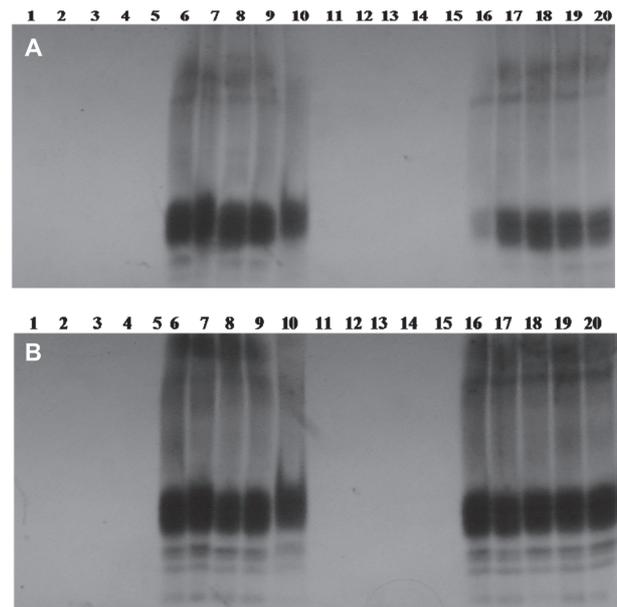


**Figura 6** - Padrão eletroforético obtido com o sistema isoenzimático glutamato oxalacetato transaminase (GOT) em sementes e plântulas de arroz tratadas com 0; 30; 60; 90; 120 g 100 kg<sup>-1</sup> de sementes com duas fontes de silício. 1: sementes não tratadas (Puitá CL); 2: sementes tratadas com 30 g 100 kg<sup>-1</sup> de sementes (Puitá CL); 3: sementes tratadas com 60 g 100 kg<sup>-1</sup> de sementes (Puitá CL); 4: sementes tratadas com 90 g 100 kg<sup>-1</sup> de sementes (Puitá CL); 5: sementes tratadas com 120 g 100 kg<sup>-1</sup> de sementes (Puitá CL); 6: plântulas de sementes não tratadas (Puitá CL); 7: plântulas de sementes tratadas com 30 g 100 kg<sup>-1</sup> de sementes (Puitá CL); 8: plântulas de sementes tratadas com 60 g 100 kg<sup>-1</sup> de sementes (Puitá CL); 9: plântulas de sementes tratadas com 90 g 100 kg<sup>-1</sup> de sementes (Puitá CL); 10: plântulas de sementes tratadas com 120 g 100 kg<sup>-1</sup> de sementes (Puitá CL); 11: sementes não tratadas (Irga); 12: sementes tratadas com 30 g 100 kg<sup>-1</sup> de sementes (Irga); 13: sementes tratadas com 60 g 100 kg<sup>-1</sup> de sementes (Irga); 14: sementes tratadas com 90 g 100 kg<sup>-1</sup> de sementes (Irga); 15: sementes tratadas com 120 g 100 kg<sup>-1</sup> de sementes (Irga); 16: plântulas de sementes não tratadas (Irga); 17: plântulas de sementes tratadas com 30 g 100 kg<sup>-1</sup> de sementes (Irga); 18: plântulas de sementes tratadas com 60 g 100 kg<sup>-1</sup> de sementes (Irga); 19: plântulas de sementes tratadas com 90 g 100 kg<sup>-1</sup> de sementes (Irga) e 20: plântulas de sementes tratadas com 120 g 100 kg<sup>-1</sup> de sementes (Irga).

sença poderia ser observada em outra fase de desenvolvimento do material vegetal analisado, decorrente de sementes tratadas.

A utilização de cinza de casca de arroz como fonte de silício é promissora, pois o material mostrou-se superior ao caulim nos testes de comprimento da raiz e de emergência a campo, sendo uma fonte alternativa e mais acessível economicamente.

Boa nutrição com silício pode reduzir principalmente a incidência de fungos de solo, potencializando a qualidade das sementes para melhor desenvolvimento e resistência no campo.



**Figura 7** - Padrão eletroforético obtido com o sistema isoenzimático peroxidase (PO) em sementes e plântulas de arroz tratadas com 0; 30; 60; 90; 120 g 100 kg<sup>-1</sup> de sementes com duas fontes de silício. 1: sementes não tratadas (Puitá CL); 2: sementes tratadas com 30 g 100 kg<sup>-1</sup> de sementes (Puitá CL); 3: sementes tratadas com 60 g 100 kg<sup>-1</sup> de sementes (Puitá CL); 4: sementes tratadas com 90 g 100 kg<sup>-1</sup> de sementes (Puitá CL); 5: sementes tratadas com 120 g 100 kg<sup>-1</sup> de sementes (Puitá CL); 6: plântulas de sementes não tratadas (Puitá CL); 7: plântulas de sementes tratadas com 30 g 100 kg<sup>-1</sup> de sementes (Puitá CL); 8: plântulas de sementes tratadas com 60 g 100 kg<sup>-1</sup> de sementes (Puitá CL); 9: plântulas de sementes tratadas com 90 g 100 kg<sup>-1</sup> de sementes (Puitá CL); 10: plântulas de sementes tratadas com 120 g 100 kg<sup>-1</sup> de sementes (Puitá CL); 11: sementes não tratadas (Irga); 12: sementes tratadas com 30 g 100 kg<sup>-1</sup> de sementes (Irga); 13: sementes tratadas com 60 g 100 kg<sup>-1</sup> de sementes (Irga); 14: sementes tratadas com 90 g 100 kg<sup>-1</sup> de sementes (Irga); 15: sementes tratadas com 120 g 100 kg<sup>-1</sup> de sementes (Irga); 16: plântulas de sementes não tratadas (Irga); 17: plântulas de sementes tratadas com 30 g 100 kg<sup>-1</sup> de sementes (Irga); 18: plântulas de sementes tratadas com 60 g 100 kg<sup>-1</sup> de sementes (Irga); 19: plântulas de sementes tratadas com 90 g 100 kg<sup>-1</sup> de sementes (Irga) e 20: plântulas de sementes tratadas com 120 g 100 kg<sup>-1</sup> de sementes (Irga). a = caulim; b = casca de arroz carbonizada.

Quanto aos três diferentes sistemas enzimáticos estudados, o da enzima esterase (EST) revelou-se promissor marcador bioquímico para avaliação de qualidade de sementes de arroz, em ocasiões do tratamento com silício. Foram detectadas alterações no perfil eletroforético das plântulas que, submetidas às diferentes doses de silício, evidenciaram variações no grau de qualidade. Ainda, dependendo do sistema enzimático utilizado, existe uma diferenciação de proteínas, e a análise conjunta de vários sistemas isoenzimáticos permite verificar modificações que ocorrem no interior das plantas, quando submetidas a algum tipo de tratamento que influencie a qualidade e a produtividade.

## CONCLUSÃO

Doses crescentes de casca de arroz carbonizada e de silicato de alumínio até 120 g 100 kg<sup>-1</sup> de sementes incrementam o vigor de sementes de arroz, avaliado pelo comprimento de raiz e pela emergência a campo.

As fontes casca de arroz carbonizada e caulim controlam a incidência de fungos de solo nas sementes de arroz.

## REFERÊNCIAS

- Alfenas AC (1998) Eletroforeses de isoenzimas e proteínas afins: fundamentos e aplicações em plantas e microrganismos. Viçosa, Universidade Federal de Viçosa. 574p.
- Barnett HL & Hunter BB (1998) Illustrated genera of imperfect fungi. St Paul, Minnesota: APS Press. 218p.
- Bonnecarrère RAG & Londero FAA, Santos O, Schmidt D, Pilau FG, Manfron PA & Durval Dourado Neto D (2004) Resposta de genótipos de arroz irrigado à aplicação de zinco. Revista da Faculdade de Zootecnia, Veterinária e Agronomia, 10:214-222.
- Bowen P, Menzies J & Ehret D (1992) Soluble silicon sprays inhibit powdery mildew development on grape leaves. Journal of the American Society for Horticultural Science, 117:906-912.
- Barros ASR, Dias MCLL, Cícero SM & Krzyzanowski FC. Testes de frio. In: Krzyzanowski FC, Vieira RD, França Neto JB (1999) Vigor de sementes: conceitos e testes. Londrina, ABRATES. p.1-5.
- Brasil (2009) Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regras para análise de sementes. Brasília: SNDA/DNDV/CLAV. 399p.
- Carver TLW, Thomas BJ, Robbins MP & Zeyen RJ (1998) Phenylalanine ammonia-lyase inhibition, autofluorescence and localized accumulation of silicon, calcium and manganese in oat epidemics attacked by the powdery mildew fungus *Blumeria graminis* (DC) Speer. Physiological and Molecular Plant Pathology, 52:223-243.
- Carvalho MLM, Vieira, MGGC & Pinho, ERV (2000) Técnicas moleculares em sementes. Biotecnologia. Ciência & Desenvolvimento, 17:4-44.
- Conn EC & Stumpf PK (1980) Introdução à bioquímica. São Paulo, Edgard Blücher. 451p.
- Datnoff LE, Deren CW & Snyder, GH (1997) Silicon fertilization for disease management of rice in Florida. Crop Prot, 16:525-531.
- Epstein E (1999) Silicon. Plant Physiology Plant Molecular Biology, 50:641-664.
- Faggiani EP (2002) Silício na defesa de limão rugoso (*Citrus jambhiri*) a *Phytophthora nicotianae* PV. Parasítica. Dissertação (Mestrado). Universidade de São Paulo, Piracicaba. 66p.
- Ferreira DF (2000) Análises estatísticas por meio do SISVAR para Windows versão 4.0. 45ª Reunião Anual da Região Brasileira da Sociedade Internacional de Biometria, São Carlos. Anais, UFSCAR. p.225-258.
- Frare VC, Moura CJF, Togni DAJ, Moraes MHD & Menten JOM (2002) A importância dos testes de sanidade de sementes para a cultura do feijoeiro. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PATOLOGIA DE SEMENTES, 7., Sete Lagoas. Sete Lagoas, EMBRAPA Milho e Sorgo. Resumo 35.
- Gomes FB, Moraes JC, Custódio DS & Antunes CS (2008) Uso de silício como indutor de resistência em batata a *Myzus persicae* (Sulzer) (Hemiptera: Aphididae). Neotropical Entomology, 37:180-190.
- Gomes FB, Moraes CD & Santos MM (2005) Goussain. Resistance induction in wheat plants by silicon and aphids. Scientia Agricola, 62:547-551.
- ISTA - International Seed Testing Association (1992) Handbook of variety testing: electrophoresis testing. Zürich, ISTA. 50p.
- Lima MTG (1998) Interrelação cancro da haste (*Diaporthe phaseolorum* f. sp. Meridionallis), na nodulação (*Bradyrhizobium japonicum*) e silício em soja. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo, Piracicaba. 58p.
- Malone G, Zimmer PD, Meneghello GE, Castro MAS & Peske ST (2007) Expressão diferencial de isoenzimas durante o processo de germinação de sementes de arroz em grandes profundidades de semeadura. Revista Brasileira de Sementes, 29:61-67.
- Marschner H (1995) Mineral Nutrition of higher plants. San Diego, Academic Press. 889p.
- Menezes SM, Tillmann MAA, Dode LB & Vilela FA (2004) Detecção de soja geneticamente modificada tolerante ao glifosato por métodos baseados na atividade de enzimas. Revista Brasileira de Sementes, 26:150-155.
- Menzies J, Bowen & P Ehret, D (1992) Foliar application of potassium silicate reduce severity of powdery mildew development on cucumber, muskmelon and zucchini squash. Journal of the American Society for Horticultural Science, 117: 902-905.
- Matichenkov VV, Kosobrukhov AA, Shabnova NI & Bocharnikova EA (2005) Plant response to silicon fertilizers under salt stress. Agrokhimiya, Rússia, 10: 59-63.
- Mendonça AA, Rufino CA, Fonseca DAR, Lemes ES, Tunes LM & Meneghello GE (2012) Avaliação isoenzimática, germinação e produtividade de sementes de trigo em resposta à adubação silicatada. In: 15º Encontro de Pós-Graduação UFPEL, Pelotas. Anais, UFPEL. p.8-12.
- Nakagawa J Testes de vigor baseados na avaliação das plântulas. In: Vieira, RD & Carvalho NM (1994) Testes de vigor em sementes. Jaboticabal, FUNEP. p.49-85.
- Nakagawa J (1999) Testes de vigor baseado do desempenho das plântulas. In: Krzyzanowski FC, Vieira RD & França Neto JB (Ed.) Vigor de sementes: Conceitos e Testes. Londrina, ABRATES. p.2.1-2.24.
- Nkang A (1996) Effect of cyanide pretreatment on Peroxidase activity in germinating seeds of *Guilfoylia monostylis*. Journal of Plant Physiology, 149:3-8.
- Nunes JC (2005) Tratamento de semente - qualidade e fatores que podem afetar a sua performance em laboratório. Syngenta Proteção de Cultivos Ltda, Londrina. 16p.
- Pereira EM, Vieira AR, Reis MS, Soares AA, Oliveira JA & Guimarães RM (2010) Qualidade fisiológica e enzimática de sementes de arroz de terras altas produzidas com diferentes doses de silício. 19º Congresso de Pós-Graduação UFLA, Lavras - MG. Anais, UFLA. p.22-26.
- Pozza AAA, Alves E, Pozza EA & Botelho DMS (2004) O silício no controle de cercosporiose em três variedades de café. Fitopatologia Brasileira, 29:373-402.
- Queiroz AA (2003) Reação de fontes de silício em quatro solos do cerrado 39f. Monografia. Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia. 39p.
- Rafi MM, Epstein E & Falk RH (1997) Silicon deprivation causes physical abnormalities in wheat (*Triticum aestivum* L.). Journal of Plant Physiology, 151:497-501.
- Rodrigues FA (2000) Fertilização silicatada na severidade da queima das bainhas (*Rhizoctonia solani Kühn*) do arroz. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. 100p
- Samuels AL, Glass ADM, Ehret DL & Menzies JG (1991) Mobility and deposition os silicon in cucumber plants. Plant Cell Environ, 14:485-492.
- Santos CMR, Menezes NL & Vilela FA (2005) Modificações fisiológicas e bioquímicas em sementes de feijão no armazenamento. Revista Brasileira de Sementes, 27:104-114.

- Santos FC, Oliveira JA, Von Pinho EVR, Guimarães RM & Vieira AR (2010) Tratamento químico, revestimento e armazenamento de sementes de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu. *Revista Brasileira de Sementes*, 32:069-078.
- Scandalios JG (1969) Genetic control of multiple molecular forms of enzymes in plants: a review. *Biochemical Genetics*, 3:37-39.
- Tavares LC, Braz HS, Tunes LM, Fonseca DAR & Barros ACSA (2011) Desempenho de sementes de trigo recobertas com silício. In: 20º CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, II Amostra científica, Pelotas. Anais, UFPel. p.12-15.
- Toledo MZ, Garcia RA, Merlina A & Fernandes DM (2011) Seed germination and seedling development of white oat affected by silicon and phosphorus fertilization. *Scientia Agricola*, 68:18-23.
- Tunes LM, Badinelli PG, Barros ACSA & Castro, MAS (2009) Alterações fisiológicas e enzimáticas em sementes de cevada sob diferentes condições de armazenamento. *Magistra*, 21:154-164.
- Vieira AR, Oliveira JA, Guimarães RM, Carvalho ML, Pereira EM & Carvalho BO (2011) Qualidade de sementes de arroz irrigado produzidas com diferentes doses de silício. *Revista Brasileira de Sementes*, 33:490-500.