

Qualidade fisiológica e atividade enzimática de sementes de alface revestidas com diferentes doses de micronutrientes, aminoácidos e reguladores de crescimento¹

Physiological quality and enzyme activity of coating lettuce seeds with different doses of micronutrients, amino acids and growth regulators.

Kênia Almeida Diniz², Paulo de Albuquerque Silva³, André Delly Veiga², Patrícia Oliveira Alvim⁴
e João Almir Oliveira⁵

Resumo - Este trabalho foi realizado na Universidade Federal de Lavras com o objetivo de avaliar o efeito do revestimento de sementes de alface com diferentes doses de aminoácidos, micronutrientes e reguladores de crescimento. As sementes foram peliculizadas com o polímero L88, adicionando-se micronutrientes, aminoácidos e reguladores de crescimento em quatro diferentes doses (0; 20; 40 e 60 mL.kg⁻¹ de sementes). Após a peliculização as sementes foram secadas em temperatura ambiente, e em seguida avaliadas quanto à porcentagem de germinação, porcentagem de emergência e índice de velocidade de emergência das plântulas e a atividade das enzimas esterase e endo- α -mananase. Concluiu-se que a incorporação de micronutrientes, na dose de 60 mL.kg⁻¹ de sementes, aumenta a porcentagem de germinação e o índice de velocidade de emergência. Os reguladores de crescimento aumentam a porcentagem de germinação de sementes e o índice de velocidade de emergência de plântulas quando incorporados às sementes de alface entre as doses de 20 mL.kg⁻¹ e 30 mL.kg⁻¹ de sementes. O enriquecimento das sementes de alface com aminoácidos não afeta a germinação, a emergência e o índice de velocidade de emergência das plântulas. A atividade da enzima esterase em sementes de alface não é influenciada pelo aporte externo de micronutrientes, aminoácidos e reguladores de crescimento. O revestimento de sementes de alface com micronutrientes, aminoácidos e reguladores de crescimento influencia negativamente na atividade da enzima endo- α -mananase.

Termos para indexação: *Lactuca sativa*, peliculização, germinação, endo- α -mananase, esterase.

Abstract - This work was conducted at Federal University of Lavras with the objective to evaluate the effect of the coating lettuce seeds with different doses of amino acids, micronutrients and growth regulators. The seeds were film-coating with polymer L88, by adding micronutrients, amino acids and growth regulators at four different doses (0; 20; 40; and 60 mL.Kg⁻¹ of seeds). After film-coating, the seeds were dried at room temperature and after that they were evaluated as for germination percentage, emergence percentage and index of emergence speed of the seedlings and activity of the enzymes esterase and endo-b-mannanase. We concluded that the growth regulators increased the seeds' germination percentage and the index of emergence speed of seedlings when incorporated into the lettuce seeds between the doses of 20 mL.kg⁻¹ and 30 mL.kg⁻¹ of the seeds. The coating of lettuce seed with amino acids did not influence in seeds' germination percentage, emergence and the index of emergence speed of seedlings. The activity of the enzyme esterase in lettuce seeds is not influenced by the external contribution of micronutrients, amino acids and growth regulators. The coating of lettuce seeds with micronutrients, amino acids and growth regulators influenced on the activity of the enzyme endo-b-mannanase.

Index terms: *Lactuca sativa*, film-coating, germination, endo-b-mannanase, esterase

¹Recebido para publicação em 24/03/2006; aprovado em 05/08/2007

²Eng. Agrônomo, aluno de doutorado em Fitotecnia; DAG/UFLA, Caixa Postal 3037, CEP:37200-000, Lavras, MG, keniadiniz@hotmail.com, adelly2@yahoo.com.br

³Eng. Agrônomo, D.Sc., pesquisador CPATC/EMBRAPA, pas@cpatc.embrapa.br

⁴Eng. Agrônomo, aluno de mestrado em Fitotecnia; DAG/UFLA, patyoalvim@hotmail.com

⁵Biólogo, D.Sc. Prof. do Dep. de Agricultura, DAG/UFLA, jalmir@ufla.br

Introdução

A comercialização de hortaliças tem se tornado um lucrativo e importante negócio na economia agrícola, apesar do pequeno índice de consumo, da ordem de 40 kg *per* capita/ano. Existe uma expectativa de duplicação deste índice nos próximos anos, fato que depende, em sua maior parte, do aumento do poder aquisitivo da população brasileira e da mudança de hábito alimentar. Nos últimos anos, a velocidade com que as pesquisas aperfeiçoam as técnicas de revestimento para as mais distintas espécies fez com que as informações, tanto sobre os produtos como sobre as técnicas disponíveis na literatura, mudem rapidamente, o que faz com que a obsolescência das técnicas disponibilizadas pela pesquisa ocorra em intervalos cada vez mais curtos (MENDONÇA, 2003).

Entre os objetivos da aplicação da técnica de revestimento, tem-se que as características intrínsecas de cada espécie são os fatores determinantes de seu uso. Como exemplo, pode-se citar o tamanho reduzido das sementes de olerícolas. A peliculização é uma tecnologia que permite, dentre outros usos, a adição de aditivos às sementes, sem mudança no seu tamanho ou forma (SILVA, 1997). Nesse contexto, a incorporação de micronutrientes, aminoácidos e reguladores de crescimento em sementes de hortaliças, uma técnica menos agressiva ao ambiente, tem sido bastante pesquisada com o objetivo de melhorar o desenvolvimento das mudas para a obtenção de maiores produtividades e reduzir no uso de insumos.

O ciclo das plantas hortícolas é geralmente curto, o que é fator relevante, quando se estudam os aspectos referentes à sua nutrição. Alguns trabalhos demonstram que em muitos casos um aporte nutricional externo, mediante a adição localizada de fertilizantes em formulações simples ou combinadas, faz com que as plântulas respondam favoravelmente e cresçam de forma mais rápida e vigorosa. Nos casos específicos de sementes de forrageiras e hortícolas, geralmente de pequeno tamanho, as limitadas quantidades de substâncias de reserva podem ser equilibradas por meio de seu recobrimento com aqueles nutrientes que são essenciais para o seu desenvolvimento inicial (SAMPAIO; SAMPAIO, 1994).

O estudo dos processos enzimáticos é uma das formas de se avaliar a qualidade das sementes. Os marcadores isoenzimáticos têm sido empregados em estudos de viabilidade, pois são eficientes para se conhecerem eventos importantes do tempo de vida, das mudanças deteriorativas e da morte das sementes (BASU, 1995).

Dessa forma, este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da incorporação de diferentes doses de

micronutrientes, aminoácidos e reguladores de crescimento, via técnica de peliculização, na qualidade e no metabolismo de sementes de alface.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido no Laboratório de Análise de Sementes do Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras, Minas Gerais. Para a peliculização das sementes, o polímero L88[®] foi primeiramente diluído em água, em iguais proporções, ou seja, 50 mL do polímero para 50 mL de água. As sementes foram então revestidas com essa mistura na dose de 50 mL kg⁻¹ de sementes e incorporadas com micronutrientes, aminoácidos e reguladores de crescimento. No revestimento das sementes com micronutrientes utilizou-se o produto Starter[®] nas dosagens de 0 mL, 20 mL, 40 mL, e 60 mL por quilo de sementes. O Starter[®] é um fertilizante líquido, quelatizado, indicado para o fornecimento de micronutrientes às sementes e é composto por 5% de zinco, 3% de manganês, 0,3% de cobre, 0,7% de boro e 4% de enxofre. Para o revestimento das sementes com reguladores de crescimento foi utilizado o Stimulate[®], que é um produto composto por uma combinação de giberelinas, citocininas e auxinas. Utilizaram-se as dosagens de 0 mL, 20 mL, 40 mL e 60 mL por quilo de sementes. A formulação do produto utilizado no revestimento das sementes com aminoácidos (Novagro[®]) não foi fornecida pelo fabricante, sendo este utilizado nas doses de 0 mL, 20 mL, 40 mL, e 60 mL por quilo de sementes. Por se tratarem de volumes pequenos de sementes, todos os produtos foram aplicados manualmente, em sacos plásticos de composição química neutra (MACHADO, 2000), com agitação até a completa distribuição do produto nas sementes (RUANO et al., 1989). Após o tratamento das sementes com cada produto, foram realizados os testes descritos a seguir.

Teste de germinação: a semeadura foi realizada em caixas gerbox, sobre papel mata-borrão umedecido com água destilada, em quantidade equivalente a 2,5 vezes o peso do substrato seco. As mesmas foram transferidas para a câmara de germinação (BOD), em regime alternado de luz e escuro (12 horas), a uma temperatura de 20 °C. Utilizaram-se 4 repetições de 100 sementes por tratamento e os resultados foram expressos em porcentagem de plântulas normais, segundo as Regras para Análise de Sementes (RAS) (BRASIL, 1992).

Teste de emergência em condições controladas: a semeadura foi realizada em substrato solo + areia, na proporção 1:2, em bandejas plásticas. A umidade do substrato foi ajustada para 60% da capacidade de retenção. Foram utilizadas 4 repetições de 100 sementes por tratamento. Após a semeadura

ra, as bandejas foram mantidas em câmara de crescimento vegetal, previamente regulada à temperatura de 20 °C, em regime alternado de luz e escuro (12 horas). A partir do início da emergência (48 horas) foram realizadas avaliações diárias, computando-se o número de plântulas emergidas até a estabilização. Foram avaliados a porcentagem de emergência e o índice de velocidade de emergência, determinado segundo fórmula proposta por Maguire (1962).

Extração e quantificação de esterase: sementes de alface embebidas em água por 24 horas foram moídas em recipiente de porcelana contendo nitrogênio líquido e PVP. Em uma amostra de 100 mg desse material adicionou-se o tampão de extração (Tris HCl 0,2M, pH8) na quantidade de 2,5 vezes o peso de cada amostra e 0,1% de b-mercaptoetanol. O material foi colocado em geladeira over night e, em seguida, centrifugado a 14000 rpm por 30 minutos a 4 °C. Do sobrenadante, 40-60 µL foram aplicados no gel de poliacrilamida. Para a revelação da enzima foram preparadas duas soluções. A solução 1 foi composta de 50 mg de α-naftil acetato e 50 mg de β-naftil acetato, dissolvidos em 10 mL de acetona 50%. A solução 2 foi composta de 100 mL de Tris HCl 0,05 M, pH 7,1 e 100 mg de Fast Blue RR. A solução foi filtrada e o seu volume completado para 100 mL com 3 L da solução 1. O gel foi então mergulhado na solução reveladora e mantido a 37 °C até o aparecimento das bandas.

Atividade da enzima endo-b-mananase: Para a extração da enzima endo-b-mananase foram moídas 1,0 grama de sementes embebidas por 24 horas de cada tratamento em nitrogênio líquido. De cada tratamento foram pesados 200 mg de cada material para adição de 600 µL de tampão de extração (0,1 M HEPES/ 0,5M NaCl e ácido ascórbico (5mg de ácido ascórbico por mL de tampão), pH 8,0). Na etapa seguinte as amostras foram centrifugadas por 30 minutos a 10000 rpm e 20 µL do sobrenadante aplicados em gel contendo 6mL de locust bean gum, 24mL de tampão pH 5,0 (1M Ácido Cítrico/ 0,4M de Na₂HPO₄ 2 H₂O). As alíquotas foram aplicados em furos de 2mm feitos no gel com auxílio de um furador. O gel ficou incubado por 21 h e revelado segundo metodologia proposta por Silva (2002). A atividade da enzima endo-b-mananase foi calculada de acordo com Downie et al. (1994). O experimento foi conduzido seguindo o delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 3 x 4, sendo três produtos (micronutrientes, aminoácidos, reguladores de crescimento) e quatro dosagens (0, 20, 40 e 60 mL), com quatro repetições.

As análises estatísticas foram realizadas com o auxílio do programa SANEST (ZONTA; MACHADO, 1984) e os dados foram submetidos à análise de variância. O efeito das doses para cada produto foi avaliado pela análise de regressão polinomial ($p < 0,05$).

Resultados e Discussão

Pelos resultados da análise de variância, observou-se interação significativa entre os tipos de produto e doses de aplicação para as variáveis índice de velocidade de emergência e germinação (Tabela 1). De acordo com o desdobramento realizado para a interação significativa encontrada, não foi observada nenhuma curva significativa na análise de regressão polinomial para as características estudadas com sementes revestidas com aminoácidos. Isto indica que não houve efeito da adição desse produto na emergência, no índice de velocidade de emergência e na germinação das sementes de alface.

Tabela 1 – Resumo da análise de variância dos dados referentes a emergência, índice de velocidade de emergência (IVE) e germinação de sementes de alface revestidas com diferentes materiais. UFLA, Lavras – MG, 2005

	Emergência	IVE	Germinação
Produto	0,0859 ^{ns}	0,0622 ^{ns}	0,5067 ^{ns}
Dose	0,1245 ^{ns}	0,2012 ^{ns}	0,0477 *
Produto*Dose	0,3305 ^{ns}	0,0109 *	0,0353 *
C.V.(%)	2,56	7,42	1,02

* Teste de F significativo ($p < 0,05$); ^{ns} não significativo

Na Figura 1, observa-se um comportamento linear para o índice de velocidade de emergência das plântulas provenientes de sementes revestidas com micronutrientes, sendo que à medida que se aumentou a dose do aditivo, houve um acréscimo nesse índice. Os micronutrientes são elementos constituintes de varias enzimas essenciais para o metabolismo durante a germinação das sementes. O aporte externo desses elementos pode ter acelerado esse processo e, conseqüentemente, aumentado a velocidade de emergência das plântulas. Diniz (2005), estudando a incorporação de micronutrientes em sementes de alface, encontrou resultados semelhantes com relação ao índice de velocidade de emergência, onde houve um comportamento linear e crescente com as doses utilizadas desse aditivo.

Com relação às sementes revestidas com reguladores de crescimento, verificou-se um comportamento quadrático com um ponto de máxima resposta na dose de 28,20 mL kg⁻¹ de sementes. Os reguladores de crescimento são responsáveis por efeitos marcantes no desenvolvimento dos vegetais em concentrações bastante pequenas (TAIZ; ZAIGER, 2004). Provavelmente, a maior dosagem desse produto pode ter causado um efeito inibitório no índice de velocidade de emergência das plântulas.

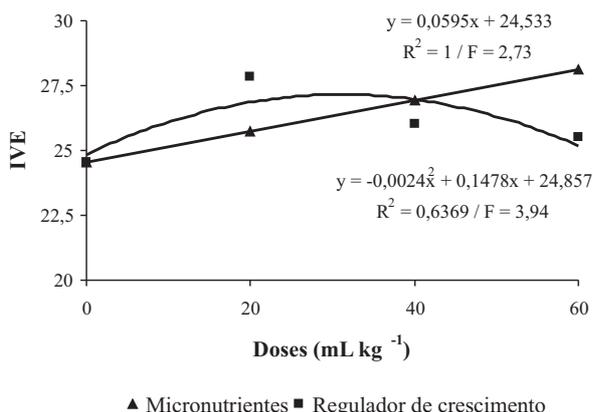


Figura 1 – Índice de velocidade de emergência de plântulas (IVE) de alface oriundas de sementes revestidas com diferentes doses de micronutrientes e reguladores de crescimento. UFLA, Lavras – MG, 2005

Comportamento semelhante foi observado para a porcentagem de germinação das sementes revestidas com reguladores de crescimento (Figura 2), sendo o ponto de máxima germinação na dose de 23,36 mL kg⁻¹ de sementes. Os fitoreguladores influenciam o crescimento e desenvolvimento das plantas e, dependendo da dosagem utilizada pode promover, inibir ou modificar os processos fisiológicos e, assim, controlar as atividades dos meristemas. Cunha e Casali (1989) constataram que a aplicação de citocininas em concentrações crescentes de 35 a 40 mg L⁻¹ de Benziladeína (BA), em sementes de alface cultivares Colatina e Matosinho, promovem aumentos significativos na germinação das sementes. Na Figura 2 também verifica-se um comportamento quadrático para a germinação das sementes revestidas com micronutrientes, em que o ponto de mínima resposta foi observado para a dose de 26,07 mL kg⁻¹ de sementes.

A atividade da enzima esterase no gel de acrilamida apresentou um padrão de bandas semelhante para todos os tratamentos, não alterando o padrão enzimático (Figura 3). 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 negativo dos produtos aplicados. Alterações nos padrões dessa enzima evidenciam a ocorrência de eventos deteriorativos, pois a esterase é uma enzima envolvida em reações de hidrólise de ésteres, estando diretamente ligada ao metabolismo de lipídios (SANTOS et al., 2004).

A maior atividade da enzima endo-β-mananase foi observada quando as sementes não foram tratadas (Figura 4). Independente do produto utilizado no revestimento das sementes de alface, a atividade da enzima apresentou um

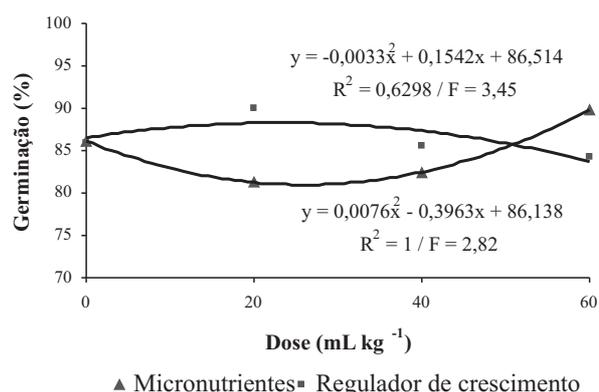


Figura 2 – Germinação de sementes de alface revestidas com diferentes doses de micronutrientes e reguladores de crescimento. UFLA, Lavras – MG, 2005

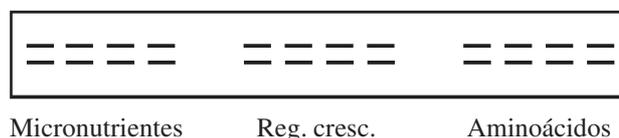


Figura 3 – Atividade da enzima esterase em sementes de alface revestidas com diferentes doses de micronutrientes, reguladores de crescimento e aminoácidos. UFLA, Lavras – MG, 2005

decréscimo na dose de 20 mL kg⁻¹ de sementes, seguido de um aumento na dose de 40 mL kg⁻¹ de sementes e um novo decréscimo com o aumento da dose aplicada.

Esses resultados diferem dos encontrados para o índice de velocidade de emergência, em que as plântulas provenientes de sementes sem tratamento emergiram mais lentamente quando comparadas às revestidas com micronutrientes. Em outros estudos, foi observado que

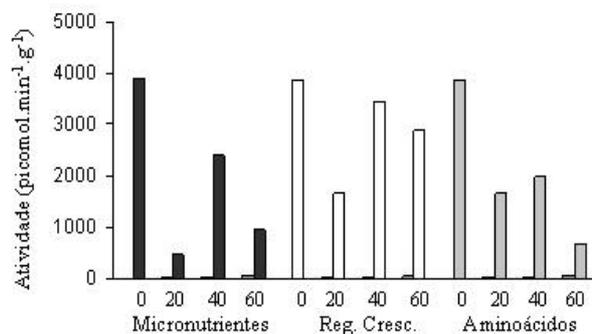


Figura 4 – Atividade da enzima endo-β-mananase em sementes de alface revestidas com diferentes doses de micronutrientes, reguladores de crescimento e aminoácidos. UFLA, Lavras – MG, 2005

apenas a presença dessa enzima não é suficiente para promover a emergência da radícula (TOOROP et al., 1996). Toorop et al. (2000), obtiveram evidências de que a atividade da endo- β -mananase é necessária no momento inicial da germinação, mas requer a presença de outros fatores controlados pelo ácido abscísico, que finalmente conduzem à protrusão da radícula. Silva (2002), trabalhando com sementes de *Coffea arabica* L., observou que o aumento na atividade dessa enzima não está diretamente ligado ao aumento na velocidade de emergência das plântulas, podendo em alguns casos ter efeito alostérico, ou seja, algumas rotas podem ser inibidas pelo excesso de metabólitos produzidos pela ação da enzima.

Conclusões

1. A incorporação de micronutrientes na dose de 60 mL kg⁻¹ de sementes, aumenta a porcentagem de germinação das sementes e o índice de velocidade de emergência das plântulas;
2. Os reguladores de crescimento aumentam o índice de velocidade de emergência de plântulas quando incorporados às sementes de alface entre as doses de 20 mL kg⁻¹ e 30 mL kg⁻¹ de sementes;
3. O enriquecimento das sementes de alface com aminoácidos não afeta a germinação, a emergência e o índice de velocidade de emergência das plântulas;
4. A atividade da enzima esterase em sementes de alface não é influenciada pelo aporte externo de micronutrientes, aminoácidos e reguladores de crescimento; e
5. O aporte externo de micronutrientes, aminoácidos e reguladores de crescimento influencia negativamente na atividade da enzima endo- β -mananase em sementes de alface.

Agradecimentos

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e à Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio.

Referências Bibliográficas

BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. **Regras para análise de sementes**. Brasília, DF, 1992. 365 p.

BASU, R. N. Seed viability. In: BASRA, A. S. **Seed quality: basic mechanisms and agricultural implications**. New York: Haworth, p. 1-42, 1995.

CUNHA, R. e CASALI, W.D. Efeito de substâncias reguladoras de crescimento sobre a germinação de sementes de alface (*Lactuca sativa* L.). **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Londrina, v.1, n.2, p.121-132, 1989.

DINIZ, K.A. **Incorporação de microrganismos, aminoácidos, micronutrientes e reguladores de crescimento em sementes de espécies olerícolas pela técnica de peliculização**. 2005. 71 p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras.

DOWNIE, B.; HILHORST, H. W. M.; BEWLEY, J. D. A new assay for quantifying endo- β -mananase activity using Congo Red dye. **Phytochemistry**, v. 36, p. 829-835, 1994.

MACHADO, J. C. **Tratamento de sementes no controle de doenças**. Lavras: LAPS/UFLA/FAEPE, 2000. 138 p.

MAGUIRRE, J. D. Speed of germination – aid seedling emergence and vigor. **Crop Science**, Madison, v. 2, n. 2, p. 176-177, Mar./Apr. 1962.

RUANO, O.; PIRES, J.R.; ALMEIDA, W.P. de; YAMAOKA, R.S.; COSTA, A.; MARUR, C.J.; TURKIEWICZ; SANTOS, W.J. dos. **Prevenção do tombamento do algodoeiro através do tratamento de sementes com fungicidas**. IAPAR. Informe de Pesquisa, v.13, n.88. Londrina, 1989.

SAMPAIO, T. G.; SAMPAIO, N. V. Recobrimento de sementes. **Informativo ABRATES**, Londrina, v.4, n.3, p. 20-52, dez. 1994.

SANTOS, C. M. R.; MENEZES, N. L.; VILLELA, F. V. Alterações fisiológicas e bioquímicas em sementes de feijão envelhecidas artificialmente **Revista Brasileira de Sementes**, v. 26, n.1, p.110-119, 2004.

SILVA, E. A. A. da. **Coffee (Coffea arabica L., cv. Rubi) seed germination: mechanism and regulation**. 2002. 105 p. Thesis (Ph. D.) - Wageningen University, Wageningen.

SILVA, J. B. C. **Avaliação de métodos e materiais para peletização de sementes**. 1997, 127 p. Tese (Doutorado em Agronomia) – Faculdade de Ciências Agrônomicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. Porto Alegre: Artmed, 2004. 719 p.

TOOROP, P. E.; BEWLEY, J. D.; HILHORST, H. W. M. Endo- β -mananase isoforms are present in the endosperm and embryo of tomato seeds, but are not essentially linked to the completion of germination. **Planta**, v. 200, p. 153-158, 1996.

TOOROP, P. E.; van AELST, A.C.; HILHORST, H. W. M. The second step of the biphasic endosperm cap weakening that mediates tomato (*Lycopersicon esculentum*) seed germination is under control of ABA. **Journal of Experimental Botany**, v. 51, p. 1371-1379, 2000.

ZONTA, E.P.; MACHADO, A.A. Sistema de análise estatística para microcomputadores – Sanest. Pelotas: UFPel, 1984. 109p.