

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO  
CENTRO DE ENERGIA NUCLEAR NA AGRICULTURA**

**LILIAN APARECIDA DE OLIVEIRA**

**Silício em plantas de feijão e arroz:  
absorção, transporte, redistribuição e tolerância ao cádmio**

Piracicaba  
2009

**LILIAN APARECIDA DE OLIVEIRA**

**Silício em plantas de feijão e arroz:  
absorção, transporte, redistribuição e tolerância ao cádmio**

Tese apresentada ao Centro de Energia Nuclear na  
Agricultura, Universidade de São Paulo, para  
obtenção do título de Doutor em Ciências.

Área de Concentração: Energia Nuclear na  
Agricultura e no Ambiente

Orientador: Prof. Dr. Cassio Hamilton Abreu Junior

Piracicaba

2009

---  
AUTORIZO A DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

**Seção Técnica de Biblioteca - CENA/USP**

Oliveira, Lílian Aparecida de

Silício em plantas de feijão e arroz: absorção, transporte, redistribuição e tolerância ao cádmio / Lílian Aparecida de Oliveira; orientador Cassio Hamilton Abreu Junior. - - Piracicaba, 2009.

157f.: fig.

Tese (Doutorado – Programa de Pós-Graduação em Ciências. Área de Concentração: Energia Nuclear na Agricultura e no Ambiente) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo.

***DEDICO***

Aos meus pais, Dolores e José,  
Minha fonte de energia;  
Minha força e meu suporte.

A todos meus queridos  
irmãos... e  
Ao Jackson,  
Pelo apoio, carinho e  
dedicação.

***OFEREÇO***

## AGRADECIMENTOS

A Deus por ter me concedido a dádiva de viver essa parte da minha história de vida em Piracicaba, local onde Ele me encheu de bênçãos.

Ao Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA) da Universidade de São Paulo, pela estrutura oferecida para o desenvolvimento de meus trabalhos.

Ao Prof. Dr. Cassio Hamilton Abreu Junior, meu orientador de tese, que sempre com muita paciência trabalhou junto a mim e enfrentou os desafios encontrados no percurso do trabalho.

A Profa. Dra. Siu Mui Tsai, por ter me ajudado a ingressar no curso de doutorado no CENA e pela sua torcida pelo meu sucesso.

Os desafios dos meus trabalhos de doutorado foram amenizados pela ajuda de alguns verdadeiros anjos: como a Josiane Meire Tolotti Carneiro, minha querida amiga, conselheira e companheira de trabalho, a qual foi responsável, juntamente com o Prof. Dr. José Albertino Bendassolli, pela viabilização do meu trabalho de tese, cedendo seu laboratório laboratório para análises e o composto enriquecido em <sup>30</sup>Si.

Ao Prof. Dr. Antonio Enedi Boaretto, que sempre bem humorado, me ofereceu um bom convívio e ótimos ensinamentos.

A Profa. Dra. Maria Fernanda Giné Rosias, uma cientista completa, que sempre me ofereceu estímulo e ensinamentos para compreender os métodos analíticos envolvendo isótopos.

Ao Prof. Dr. Takashi Muraoka, por disponibilizar as instalações de seu laboratório, conjuntamente com suas laboratoristas, Mara e Sandra.

A Profa. Dra. Neusa Nogueira, pelo carinho, acolhimento e disponibilidade em ajudar. Conjuntamente agradeço à Mônica Lanzoni Rossi, uma pessoa maravilhosa que sempre me ofertou verdadeiras aulas nas práticas de microscopia, com disposição e muita vontade de trabalhar.

Ao Prof. Dr. Elliot W. Kitajima, coordenador do Núcleo de Apoio à Pesquisa-Microscopia Eletrônica Aplicada à Agricultura (NAP-MEPA), da ESALQ/USP, por permitir o uso de seu laboratório e seus equipamentos.

À laboratorista Henriqueta Maria Gimenes Fernandes, pelo companheirismo e ajuda em todos os momentos, agindo como “mãe chefe”.... Muito obrigada pelo carinho. E a laboratorista Cleusa Pereira Cabral, do laboratório de nutrição mineral de plantas, que sempre esteve disposta a ajudar.

Ao Dr. José Lavres Júnior por todas as correções e sugestões feitas na conclusão dos trabalhos; ao Dr. Felipe Alvarez pelas análises no ICP-MS e pelas correções de artigos.

Aos colegas e amigos de laboratório: Ana Coralina, Carlos, Denis, Leila, Milton e Thiago; e as amigas e estagiárias: Adriana, Amanda e Juliana. Muito obrigado pelo companheirismo e ajuda de todos vocês.

Agradeço pela disponibilidade e ajuda dos funcionários do CENA: Suzineide, Neuda, Cláudia, Sônia, Marília, Renata, Francisco (Chiquinho), Celsinho, rapazes da oficina, da garagem e a todos os outros que me ajudaram de forma direta ou indireta na concretização dessa tese.

A Coordenadoria do Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento (CNPq), pela concessão da bolsa de doutorado.

A empresa Ineos do Brasil, que me cedeu gentilmente o silicato de potássio usado em alguns experimentos.

Agradeço aos anjos que surgiram na minha vida e me fizeram mais feliz em Piracicaba:

Aqueles que me acolheram:

Juliana, Lilian, Lúcia e Karina, que me receberam na república e me apoiaram sempre. Vocês sempre estarão presentes em minha vida;

Outros que surgiram no percurso do doutorado e que me encheram de alegria:

Ademir, Adriana, Ana Paula, Barizon, Cristina, Fernanda, João, Jonas, Marta, Melissa, Priscila, Rochane, Victor e mais tantos outros, que não tenho espaço o suficiente para citar todos os nomes..... Muito obrigada pelos momentos de alegria.

Anjos ausentes, mas que emitem energia positiva o tempo todo e fizeram com que eu conseguisse terminar esta etapa.

## RESUMO

OLIVEIRA, L. A. **Silício em plantas de arroz e de feijão: Absorção, transporte, redistribuição e tolerância à toxidez de cádmio**. 2009. 157f. Tese (Doutorado) – Centro de energia nuclear na agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2009.

A maioria das gramíneas possui absorção radicular de silício de forma ativa e são plantas acumuladoras de deste elemento. Já as leguminosas, possuem absorção passiva, são exclusoras de silício e não acumuladoras deste elemento. A maior parte do silício absorvido pelas raízes das plantas é depositada na forma de sílica amorfa combinada a compostos orgânicos como a celulose, podendo tornar o silício um elemento imóvel nas plantas, ou de baixa mobilidade. Os processos que regulam a absorção radicular, o transporte à longa distância a deposição de silício nas plantas podem variar entre as espécies vegetais e são regulados pelo crescimento das plantas ou pelo ambiente em que elas estão. Condições de estresse abiótico, como a contaminação do solo por cádmio, deficiência hídrica etc., podem estimular a absorção, o transporte e até mesmo a mobilização do silício, o que pode levar a sua redistribuição, como forma de resistência ao estresse fisiológico. O objetivo deste trabalho foi avaliar a absorção pelas raízes, o acúmulo e a mobilidade de silício em espécies acumuladoras e não acumuladoras de silício, sob condições ideais de desenvolvimento e em condição de estresse, devido ao excesso de cádmio. Para tal, foram desenvolvidos cinco experimentos em casa de vegetação, utilizando solução nutritiva como meio de cultivo. O primeiro experimento objetivou determinar a época de maior absorção radicular e acúmulo de silício por plantas de arroz, trigo, feijão e soja e a distribuição deste elemento nestas plantas.. Neste estudo, foi evidenciado o incremento da produção de matéria seca pela aplicação de silício, principalmente para as plantas de arroz e feijão. As espécies acumuladoras de silício, neste caso, o arroz e o trigo, apresentam um padrão contínuo e crescente de absorção, proporcional ao período de desenvolvimento. Já as espécies não acumuladoras, como o feijão e a soja, absorveram proporcionalmente mais silício no período inicial de desenvolvimento. A proporção relativa entre o silício acumulado na parte aérea e nas raízes das plantas acumuladoras de silício, arroz e trigo, é muito maior quando comparado com as não acumuladoras, feijão e soja. O segundo experimento objetivou a verificação da possível mobilidade do silício em plantas de arroz e de feijão, por meio de técnica isotópica. Para isso as plantas foram cultivadas em um período com silício na solução nutritiva e depois esse

elemento foi retirado do meio de cultivo. A partir das análises isotópicas do  $^{30}\text{Si}$  nas folhas velhas das plantas (produzidas na presença de silício) e folhas novas (produzidas na ausência de silício), em condições ideais de desenvolvimento das plantas, verificou-se que o silício é um elemento imóvel, pois não ocorreu redistribuição de silício de folhas velhas para folhas novas, quando este elemento foi suprimido da solução nutritiva. O terceiro e o quarto experimento foram desenvolvidos com o objetivo de estudar a interação entre silício e cádmio em plantas de feijão e de arroz. Foi verificado que o em condições de toxidez de cádmio, o silício promoveu a manutenção da produção de matéria seca das plantas, pela diminuição dos efeitos deletérios deste elemento, em ambas as espécies. Os mecanismos desencadeados pelo silício para conferir o aumento da tolerância ao cádmio, foram distintos entre as espécies. O acúmulo de silício em plantas de arroz foi proporcional à concentração de cádmio em solução, já para as plantas de feijão o acúmulo decresceu na maior dose de cádmio, isso foi devido à severa diminuição da produção de matéria seca nesta condição. Em plantas de feijão, o silício promoveu o acúmulo de cádmio nas raízes, o que preveniu o aumento da concentração tóxica deste elemento nos grãos. Nas plantas de arroz, o silício manteve a integridade das paredes celulares, fator que pode promover maior resistência das plantas aos possíveis danos causados pelo excesso de cádmio. O quinto experimento foi realizado para avaliar a redistribuição de silício das folhas velhas para as folhas novas de plantas de arroz e feijão sob condições de excesso de cádmio, pela adição de  $^{30}\text{Si}$  via solução nutritiva. Em plantas arroz, foram constatadas alterações na composição isotópica das folhas novas e velhas, demonstrando que a redistribuição do silício em condições de excesso de cádmio, nesta mesma condição, em plantas de feijão, não ocorreu redistribuição do silício. Pelo exposto, pôde-se concluir que existem diferenças marcantes entre os processos de absorção, transporte e deposição de silício nas plantas acumuladoras e não acumuladoras, em condição da aplicação de silício, e que estes processos estão diretamente relacionados com os benefícios conferidos por este elemento. Em condições de estresse, há redistribuição de silício em plantas de arroz. Tal fato também deve ocorrer nas demais espécies acumuladoras, por apresentarem os mesmos padrões de fotoassimilação de carbono e de absorção radicular, transporte e as mesmas exigências nutricionais, e neste sentido o silício pode estimular o sistema de defesa das plantas. Situação em que o silício promove a supressão do fator de estresse e, dentro de certos limites, mantém o desenvolvimento das plantas.

Palavras chave:  $^{30}\text{Si}$ . Isótopos Estáveis. Estresse Abiótico. Mobilidade

## ABSTRACT

OLIVEIRA, L. A. **Silicon in rice and beans plants: uptake, transport, redistribution and tolerance to cadmium toxicity**. 2009.. 157f. Tese (Doutorado) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2009.

Most grasses have root active uptake of silicon and are considered as silicon accumulator plants. In contrast, legumes have passive uptake of silicon and are considered as non accumulator plants. Most of the silicon that is absorbed by the roots is found in the plants as amorphous silica associated to organic compounds as celluloses that can immobilize silicon inside the plants. Processes that drive absorption by roots, transport and accumulation of silicon in plants may vary among species and are driven by the plant growth or environment. Abiotic stressing conditions, as cadmium contamination and drought stress, might stimulate the uptake, transport or even the mobilization of silicon as a tool of resistance to the physiological stress. The goal of this work was to evaluate the uptake, accumulation and mobility of silicon, comparing species considered accumulators and non accumulators under ideal conditions of development and, under environment stressed by cadmium contamination. Thus, five experiments were carried out in a green house using nutrient solution. The first experiment aimed to establish the period when the silicon absorption of accumulator and non accumulator plants as rice, wheat and soybeans, was highest. This study showed the increase of dry matter yields when the silicon is applied, mainly for rice and bean plants. The silicon accumulator species, rice and wheat, showed a continuous increased of silicon uptake with plant growths. The non accumulator species, as beans and soybeans, had a greater uptake of silicon at the early beginning of their development. The relation among accumulated silicon in the shoots and the roots of accumulator plants is greater than in non accumulators. The second experiment was carried out to verify the mobility of silicon in plants of rice and beans. The analysis of percentage of  $^{30}\text{Si}$  atoms in old leaves (produced with silicon supply) and new leaves (produced without silicon supply) demonstrated that, under ideal conditions of development, silicon had no mobility in the studied species. The third and fourth experiments were carried out to verify the interaction among silicon and cadmium in plants of beans and rice. The accumulation of silicon in plants of beans and rice submitted to cadmium excess and the effect of reduction of cadmium toxicity were evaluated at these experiments. In these experiments, silicon maintained the dry matter production of plants submitted to cadmium

treatment, as the element had diminished the cadmium harmless. As the rates of cadmium got greater, silicon uptake was stimulated for both species. The mechanisms triggered by the silicon for increasing the tolerance to the cadmium, were different for each species. In beans silicon increased the accumulation of cadmium in the roots and reduced the concentration of this element in the grains. The greater cadmium retention in the roots, probably, leads to reduce the toxicity caused by this element to the plants. In rice plants, the maintained of cell walls promoted by the silicon, probably, supported the greater resistance of these plants to the cadmium toxicity. The fifth and last experiment was carried out to evaluate silicon mobility in beans and rice plants under cadmium excess. A silicate with 10% of  $^{30}\text{Si}$  atoms was added to the nutrient solution to demonstrate the mobility of silicon from old leaves to new leaves. An alteration in the isotopic composition in new leaves of rice indicated a redistribution of silicon. The cadmium excess promoted the redistribution of silicon from old to new leaves of rice but not in beans plants. We demonstrate that there are strong differences among the uptake, transport and silicon deposit of plants and these processes are related to the benefits that silicon generates in the plants. The redistribution of silicon occurs in rice plants submitted to stressing conditions where silicon has a relative mobility that could be, even in the future extrapolated to other accumulator species that might require silicon as a stimulator of the plant defense system. The most silicon accumulators species have the same carbon photo assimilation and the same root uptake patterns, therefore the same behavior is expected for silicon, and it can be concluded that silicon mobilization during stress conditions lets to maintain normal plant development, within certain limits.

Keywords:  $^{30}\text{Si}$ . Stable isotopes. Abiotic stress. Mobility.

## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO .....	12
1.1	Hipóteses e justificativa .....	14
1.2	Objetivo de trabalho.....	15
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	16
2.1	Absorção radicular e transporte de silício pelo xilema até parte aérea.....	16
2.2	Distribuição de silício em plantas.....	20
2.3	Silício como elemento benéfico.....	23
2.4	A toxicidade do cádmio para as plantas.....	28
2.5	O cádmio na saúde humana.....	31
2.6	Interação cádmio e silício.....	31
2.7	O uso de isótopos de silício.....	33
3	ABSORÇÃO E ACÚMULO DE SILÍCIO NAS PLANTAS DE ARROZ, TRIGO, FEIJÃO E SOJA.....	36
3.1	Introdução.....	38
3.2	Material e métodos.....	41
3.3	Resultados e discussão .....	43
3.4	Conclusões.....	51
4	MOBILIDADE DE SILÍCIO EM PLANTAS DE ARROZ E DE FEIJÃO .....	52
4.1	Introdução.....	54
4.2	Material e métodos.....	56
4.3	Resultados e discussão .....	60
4.4	Conclusão .....	65
5	INTERAÇÃO SILÍCIO E CÁDMIO EM plantas de FEIJÃO .....	66
5.1	Introdução.....	68
5.2	Material e métodos.....	70
5.3	Resultados e discussão .....	73
5.3.1	Sintomas visuais .....	73
5.3.2	Produção de matéria seca.....	75
5.3.3	Absorção e acúmulo de silício.....	80
5.3.4	Absorção e acúmulo de cádmio.....	84

5.4 Conclusão .....	89
6 INTERAÇÃO SILÍCIO E CÁDMIO nas plantas de arroz.....	90
6.1 Introdução.....	92
6.2 Material e métodos.....	94
6.3 Resultados e discussão .....	97
6.3.1 Sintomas visuais .....	97
6.3.2 Produção de matéria seca.....	98
6.3.3 Absorção e acúmulo de silício.....	102
6.3.4 Absorção de acúmulo de cádmio nas plantas de arroz .....	105
6.3.5 Raízes de arroz em microscopia eletrônica de varredura.....	110
6.4 Conclusões.....	115
7 REDISTRIBUIÇÃO DE SILÍCIO EM PLANTAS De ARROZ E FEIJÃO CULTIVADAS COM EXCESSO DE CÁDMIO.....	116
7.1 Introdução.....	118
7.2 Material e métodos.....	120
7.3 Resultados e discussão .....	126
7.3.1 Produção de matéria seca.....	126
7.3.2 Absorção e acúmulo de silício.....	128
7.3.3 Absorção e acúmulo de cádmio.....	131
7.3.4 Alterações na composição isotópica.....	134
7.4 Conclusões.....	138
8 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	139
Referências .....	140

## 1 INTRODUÇÃO

O silício vem despertando interesse das pesquisas na nutrição mineral de plantas. As pesquisas com este elemento tiveram início em 1840 com Justius von Liebig, pai da nutrição mineral de plantas, sendo o primeiro cientista a desenvolver um trabalho de pesquisa com o elemento em casa de vegetação e sugerir do uso do silício como fertilizante. Desde 1859 são avaliados experimentos com silício e em países asiáticos, principalmente no Japão e na China, nos quais a aplicação de silicatos vem sendo usada para aumentar a produtividade em algumas culturas. O interesse pelo silício está nos inúmeros benefícios que este elemento traz às plantas, incluindo aumentos na produtividade e na resistência a estresses bióticos e abióticos, tais como, doenças e pragas, excesso de metais potencialmente tóxicos, estresse salino, deficiência hídrica, dentre outros. Todos estes benefícios fizeram com que no Brasil, o silício fosse incluído na lista de micronutrientes, embora as pesquisas ainda não tenham demonstrado a essencialidade deste elemento.

O silício é absorvido pelas raízes das plantas como ácido monossilícico ( $H_4SiO_4$ ), na forma passiva ou ativa, por transportadores de membrana específicos para este fim. O transporte do ácido monossilícico é feito via xilema, a favor de um fluxo de transpiração. O transporte e acúmulo de silício podem ser regulados também por um processo ativo, que é desencadeado pelo estímulo à proteção contra doenças, pragas e outras condições de estresse. O principal órgão de depósito de silício são as folhas, onde o silício é depositado na forma de forma sílica amorfa ( $SiO_2 \cdot nH_2O$ ). Na planta, aproximadamente 99% do silício encontra-se depositado na forma de sílica e menos de 1% encontra-se na forma coloidal ou iônica, forma solúvel. Os depósitos de sílica nas plantas proporcionam melhoria na arquitetura foliar e em alguns processos metabólicos, tendo como resultado final o aumento na produção e na qualidade dos produtos.

As espécies vegetais têm diferente capacidade de absorver e acumular silício nos seus tecidos. Durante anos a absorção radicular de silício foi considerada como sendo exclusivamente passiva para todas as espécies vegetais; entretanto, atualmente os processos de absorção ativa já são confirmados para muitas espécies (MA et al., 2007; CHIBA et al., 2009). Em geral, as plantas monocotiledôneas são consideradas acumuladoras de silício, devido ao processo ativo de absorção pelas raízes, possuindo teor foliar acima de  $10,0 \text{ g kg}^{-1}$  de silício. Neste grupo estão inclusas as espécies do arroz (*Oryza sativa* L.) e do trigo (*Triticum aestivum* L.). A maioria das plantas dicotiledôneas tem a absorção radicular de silício de forma passiva e são exclusoras de silício. Nestas o teor foliar não ultrapassa  $5,0 \text{ g}$

kg<sup>-1</sup>, por isso são consideradas não acumuladoras de silício, neste grupo estão inclusas espécies, como o feijão (*Phaseolus Vulgaris* L.) e a soja (*Gycine Max* L. Merr.).

A forma de sílica amorfa (SiO<sub>2</sub>nH<sub>2</sub>O), na qual o silício é depositado nas plantas, levou muitos estudiosos caracterizarem o silício como um elemento pouco móvel ou imóvel nas plantas. Pois a sílica se combina com compostos orgânicos celulares, como celulose e hemicelulose, o que faz com que o silício seja dificilmente mobilizado. Ou seja, os depósitos de silício nas partes velhas das plantas, provavelmente, não podem ser redistribuídos para as partes novas, em uma condição de carência de silício. Entretanto ainda não foi caracterizada a imobilidade de silício de forma conclusiva, podendo ainda ser demonstrada a redistribuição de silício nas plantas. Isso pode ter relevante importância na aplicação do silício como elemento benéfico para várias culturas.

Os isótopos de alguns elementos químicos (mesmo número atômico e diferente número de massa) têm sido usados na fertilidade do solo e na nutrição mineral de plantas para caracterizar fenômenos ligados a reações químicas que podem ocorrer tanto no solo, como nas plantas. O método isotópico pode identificar um determinado isótopo, de um elemento de interesse, em uma mistura contendo os demais isótopos do elemento, possibilitando o acompanhamento qualitativo e quantitativo do elemento nos diferentes compartimentos do sistema em estudo. Para o silício, o emprego desta técnica pode ajudar a elucidar mecanismos fisiológicos da nutrição mineral de plantas, tais como os processos de absorção radicular, acúmulo e redistribuição de silício nas plantas e os mecanismos desencadeados pelo silício no alívio de estresses abióticos.

A imobilidade do silício nas plantas ainda não pode ser considerada um fato comprovado, assim a técnica isotópica pode esclarecer efetivamente o seu padrão de mobilidade pelas alterações do percentual de átomos de <sup>30</sup>Si nas diferentes partes novas e velhas das plantas. Os isótopos de silício são pouco utilizados nas pesquisas de nutrição de plantas relativos a este elemento, sendo que, o silício possui três isótopos estáveis: <sup>28</sup>Si = 92,3%, <sup>29</sup>Si = 4,7% e <sup>30</sup>Si = 3,1%. A utilização de silicato com aumento na porcentagem de átomos de <sup>30</sup>Si em estudos que envolvam a deposição e a redistribuição do silício nas plantas poderá vir a esclarecer de forma conclusiva os padrões de mobilidade do silício. Provavelmente o padrão de mobilidade do silício deverá ocorrer de forma distinta em condições sem e com alguma forma de estresse, haja vista os benefícios do silício na planta em ativar o sistema de defesa e conferir uma maior resistência às plantas, em condição de estresse fisiológico.

## 1.1 Hipóteses e justificativa

A absorção radicular e acúmulo de silício são distintos entre as espécies acumuladoras e não acumuladoras deste elemento, mas ainda não é esclarecido em qual período do ciclo de vida destas plantas que ocorre maior absorção e maior acúmulo. Isto pode levar ao conhecimento do momento adequado para a aplicação de silício, no qual ocorrerá a máxima absorção pelas raízes. O conhecimento detalhado dos processos de absorção radicular de silício é de suma importância para a escolha do momento da adubação silicatada para que o silício possa ter efeito como de elemento benéfico.

Os depósitos de sílica amorfa nas folhas podem fazer com que silício se torne um elemento imóvel nas plantas, não se redistribuindo para as partes novas. A imobilização de silício ocorre para espécies acumuladoras e não acumuladoras? O quanto de silício pode ser aproveitado por estas espécies quando aplicado nas plantas por via radicular? A ferramenta do traçador isotópico, com a aplicação do composto enriquecido no isótopo de menor abundância na natureza ( $^{30}\text{Si}$ ), poderá ajudar a responder a essas questões. Para responder essas questões foram escolhidas uma espécie acumuladora, o arroz e uma não acumuladora, o feijão. Estas espécies foram escolhidas em função de estudos preliminares que as demonstraram como culturas responsivas ao silício, quando comparadas à cultura do trigo e da soja.

Como elemento benéfico, o silício tem sua absorção aumentada em uma condição de estresse, biótico ou abiótico, que é chamada de defesa induzida pelo silício. Nestas condições as plantas requerem mais silício para suportar a condição de estresse fisiológico estabelecido, com isso a absorção deste elemento aumenta. Além disso, pode-se questionar se as plantas podem ser capazes de usar os depósitos de sílica como fonte de silício, se esse não for disponibilizado via absorção radicular? Ou seja, em condição de estresse as plantas poderão promover a redistribuição de silício? O estresse por metal potencialmente tóxico, como o cádmio, pode fazer com as plantas possam responder com uma maior absorção e acúmulo de silício, que por sua vez poderá ser adquirido também dos depósitos de sílica dos órgãos velhos, para que a planta possa suportar essa condição de estresse.

Dentre os metais potencialmente tóxicos, a escolha do cádmio se deu pelo fato de que parece haver interação entre silício e cádmio, com alguns estudos demonstrando o efeito do silício em diminuir a concentração de cádmio em grãos e aliviar o estresse causado por este elemento nas plantas. O cádmio é um dos principais contaminantes ambientais e seu acúmulo em determinados tecidos da planta pode levar a sua ingestão pela alimentação humana,

tornando-se perigoso à saúde humana e ainda fazendo com que o produto agrícola seja proibido para o consumo humano ou animal.

Na presença de silício, os mecanismos que as plantas desenvolvem para minimizar a toxidez de cádmio, ainda são controversos. Estes podem ocorrer por interações no solo ou por fatores relacionados às plantas. Nas quais os depósitos de silício na parede celular podem agir como barreira física, o que protege as células contra os danos causados pelo estresse desencadeado pelo cádmio ou por impedir o transporte de cádmio até a parte aérea. O pode ainda, estimular o sistema de defesa contra o estresse oxidativo conferido pela presença de cádmio. Estes fenômenos ocorrem quando as plantas são supridas com silício, mas se este elemento tiver seu suprimento via radicular cessado, a redistribuição dentro das plantas poderia ocorrer para favorecer algum desses mecanismos ligados às plantas? O silício tem a mesma ação em aumentar a tolerância ao cádmio em plantas acumuladoras e não acumuladoras?

## **1.2 Objetivo de trabalho**

O objetivo deste trabalho foi avaliar a absorção pelas raízes, o acúmulo e a redistribuição de silício em espécies acumuladoras e não acumuladoras de silício, sob condições ideais de desenvolvimento e em condição de estresse, pelo excesso de cádmio. Para cumprir estes objetivos foram desenvolvidos cinco experimentos:

O primeiro visava avaliar em qual período do desenvolvimento das plantas de arroz, trigo, feijão e soja podeira ocorre maior absorção de silício e como ocorre a distribuição deste elemento dentro destas plantas;

O segundo teve como objetivo verificar a mobilidade de silício em plantas de arroz e feijão, em uma condição ideal de desenvolvimento vegetal;

O terceiro e o quarto experimentos foram desenvolvidos para avaliar o efeito do excesso de cádmio no aumento da absorção e acúmulo de silício pelas plantas de feijão e de arroz, e ainda o efeito do silício na redução da toxidez do cádmio nestas plantas;

O quinto e último experimento foi realizado com o objetivo de avaliar a redistribuição de silício em plantas de arroz e feijão, em uma condição de excesso de cádmio.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Absorção radicular e transporte de silício pelo xilema até parte aérea

A principal forma na qual o silício está presente na solução do solo é o silício solúvel ( $\text{H}_4\text{Si}_4^0$  - ácido monossilícico) em concentração média de 0,1 a 0,6  $\text{mmol L}^{-1}$  (EPSTEIN, 1999). O silício solúvel no solo pode ser proveniente da decomposição de resíduos vegetais, da aplicação de fertilizantes silicatados ou da transformação de compostos minerais no solo, sendo a principal forma absorvida pelas plantas (ILER, 1979; JONES; HANDRECK, 1967, DAYANANDAM et al., 1983; POSTEK, 1981). A estabilidade e a solubilidade do ácido monossilícico podem ser influenciadas pelo pH e pela concentração de silício na solução do solo. Em pH acima de 9,0 e concentração acima de 2,0  $\text{mmol L}^{-1}$  de silício ocorre precipitação, pois há combinação de polímeros e de monômeros solúveis de  $\text{H}_4\text{Si}_4^0$  (MCKEAGUE; CLINE, 1963) que formam ácidos polissilícicos os quais possuem dois ou mais átomos de silício e são dificilmente absorvidos pelas plantas (ILER, 1979). Para que o ácido monossilícico permaneça disponível para a planta, em solução, é necessário controle do pH e da concentração de silício. Assim, em estudos da nutrição mineral de plantas envolvendo silício em solução nutritiva, recomenda-se a dose máxima de 1,8  $\text{mmol L}^{-1}$  de silício, acima desse valor ocorre polimerização do silício, tornando-o indisponível para a absorção pelas plantas (KNIGHT; KINRADE, 2001).

O processo de absorção do ácido monossilícico, que possui carga neutra, ocorre pela membrana das células epidérmicas, de um local de alta concentração para baixa concentração, pela dissolução através da membrana, podendo ocorrer por apoplasto ou por simplasto. Como a membrana hidrofóbica não permite entrada de água e conseqüente carregamento do soluto, a passagem do ácido monossilícico para dentro da célula da raiz pode ocorrer por difusão ativa ou por canais de entrada de água (RAVEN, 2001). A absorção ativa já foi demonstrada para algumas Poaceae, Cyperaceae e até mesmo para o gênero *Phaseolus* (leguminosa) (RAVEN, 2001). A absorção pode ocorrer ainda por proteínas (transportadores) específicas para o ácido monossilícico (MA et al., 2004; 2006; 2007). O ácido monossilícico pode passar da solução externa a raiz para dentro das células da epiderme por canais de água ou pelos espaços livres aparentes da membrana, atingindo os espaços intercelulares por simplasto. Estudo da cinética de absorção de silício mostra que a concentração de silício no simplasto aumenta com o aumento da concentração externa, porém nessa forma de transporte pode ocorrer retenção de

silício na endoderme, pela camada de suberina, ou por transportadores de efluxo do silício (RAVEN, 2001; MITANI; MA; IWASHITA, 2005). O transporte por apoplasto pode sofrer retenção, pela saturação dos transportadores de silício responsável pelo influxo e efluxo de silício, essa forma de retenção ocorre com gasto de energia nas células corticais da raiz, limitando o transporte radical de silício (RAVEN, 2001; NIKOLIC et al., 2006). O transporte de silício a longa distância, da raiz até a parte aérea, pode ser feito por simplasto e apoplasto. O transporte de silício nas paredes celulares e espaços intercelulares para lúmen das células e citosol envolvem difusão e fluxo de massa (pelo fluxo de transpiração ou pressão na raiz pelo apoplasto e pelo fluxo do simplasto). Entretanto esse fluxo de massa pequeno e o transporte a longa distância é feito por apoplasto no xilema e simplasto no floema, sendo o soluto transportado essencialmente por fluxo de massa (RAVEN, 2001).

O transporte e acúmulo de silício podem ser regulados pela transpiração, sendo esta a teoria considerada por alguns estudiosos da nutrição de silício em plantas (JONES; HANDRECK, 1967; EPSTEIN, 1999; SANGSTER; HODSON; TUBB, 2001). Porém, tanto nas gramíneas quanto nas dicotiledôneas, inibidores respiratórios como azida sódica, ou desacopladores do transporte eletrônico e da fosforilação oxidativa como dinitrofenol, causam uma redução na absorção de silício sem nenhuma diminuição correspondente na transpiração (RUSSEL, 1976<sup>1</sup> apud MALAVOLTA; 2006 p. 430). Assim, o transporte de silício pode, em parte, ocorrer sem relação alguma com a transpiração. O transporte e acúmulo de silício podem ser regulados por um processo ativo, que é desencadeado pelo estímulo à proteção contra doenças, pragas e outras condições de estresse, sugerindo que o acúmulo de silício na forma de  $\text{SiO}_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$  depende das exigências das plantas para resistirem a uma condição de estresse (BARBER; SHONE, 1966; JARVIS, 1987; MARSCHNER, 1995; BÉLANGER; BENHAMOU; MENZIES, 2003; CURRIE; PERRY, 2007). Motomura et al., (2002) consideram que a relação entre o transporte e acúmulo de silício e as estações do ano pode estar relacionada à transpiração ou também ao fato de que, nestas condições, o estresse climático sofrido pode estimular este acúmulo. Estes mesmos autores demonstraram que, a relação entre a absorção e acúmulo de silício e à produção de matéria seca, seguem um comportamento em curva sigmóide se estabilizando ao longo do desenvolvimento da planta (JONES; HANDRECK, 1967; MAUAD, 2006), podendo ser repetida muitas vezes ao longo da vida de plantas, de acordo com as estações do ano, aumentando assim o acúmulo no verão

---

<sup>1</sup> RUSSEL, E.W. **Soil condition and plant growth**. 10. ed. London: Longman, 1976. 849p.

e primavera e diminuído no inverno, mostrando a relação direta do acúmulo de silício com as condições climáticas e da transpiração.

Nos vasos do xilema, que são responsáveis pelo transporte de silício a longa distância, a alta concentração de silício pode acarretar em deposição deste nas paredes celulares desses vasos, podendo conferir resistência ao colapso dos mesmos quando a transpiração da planta é elevada (MARSCHNER, 1995). O silício é transportado nas células do xilema de plantas de arroz, exclusivamente na forma de ácido monossilícico, não ocorrendo polimerização e/ou formação de organossilicatos (MITANI; MA; IWASHITA, 2005). Nas plantas de trigo, o silício pode ser encontrado em duas formas químicas, o ácido monossilícico e polissilícico ( $H_4SiO_4$  e ácido  $(HO)_3Si(\mu - O)Si(OH)_3^0$  numa relação de aproximadamente 7:1, não tendo formado organossilicatos (CASEY et al., 2003). Para o arroz, o silício é rapidamente liberado no xilema, com absorção mais rápida do que em plantas de pepino e de tomate, o que este relacionado com a participação de transportadores específicos para o silício em arroz e, para estas culturas o transporte é feito por difusão, ou seja, de forma passiva (MITANI; MA, 2005).

O mecanismo de absorção radicular de silício pelas plantas, foi considerado por muito tempo como sendo, exclusivamente, passivo, sendo feito por difusão ou fluxo de massa (JONES; HANDRECK, 1967). O processo de absorção ativa pode ocorrer através da passagem pela membrana em locais específicos, como nos canais protéicos de entrada de água acompanhando a absorção de água ou ainda poderia ser transportado por proteínas específicas, que atuam nesta absorção e transporte de silício (RAVEN, 2001). Atualmente, os mecanismos de absorção de forma mais detalhada são mais bem compreendidos, sendo já caracterizados nas culturas de trigo, de arroz, de milho e de cevada onde o silício é absorvido de forma ativa através de proteínas de membranas específicas para o ácido monossilícico ( $H_4SiO_4$ ). Estudos com o objetivo de caracterizar os transportadores de silício e os genes responsáveis pela sua sinalização, tiveram início com o mapeamento do gene *Lsi1* e, recentemente, o primeiro transportador de ácido monossilícico foi identificado em arroz (MA et al., 2004a; 2006a). Esse gene concentra sua ação principalmente na exoderme e endoderme das raízes e é responsável pelo influxo de silício. Juntamente com o *Lsi1*, foi encontrado o *Lsi2*, que é responsável pela sinalização de um transportador de efluxo de ácido de monossilícico (MA et al., 2007). Em contraste ao *Lsi1*, localizado na posição distal das células, o *Lsi2* é localizado no lado proximal e responsável pelo transporte de ácido monossilícico para fora das células, guiado pelo gradiente de concentração. A distribuição de silício nas folhas é

determinada por um transportador semelhante ao sinalizado pelo *Lsi1*, responsável pelo influxo de silício. Porém, o *Lsi6* está localizado nas folhas e é responsável pelo transporte do silício do xilema para as células das folhas e conseqüentemente pela deposição de silício (YAMAJI; MITANI; MA, 2008).

As plantas de milho possuem dois transportadores de ácido monossilícico já descritos como o gene *ZmLsi1*, responsável pelo influxo de silício, ou seja, pelo transporte de silício da solução externa para as células da raiz e, o gene *ZmLsi6* que atua como transportador de silício das células do córtex da raiz para as células do xilema (MITANI; YAMAJI; MA, 2009). Já em plantas de cevada, nas raízes ativas, o gene *HvLsi1* é localizado na membrana plasmática no lado distal da epiderme, nas células do córtex radicular e em raízes laterais na membrana plasmática da exoderme. O gene *HvLsi1* é um transportador de influxo de silício que está envolvido em transporte radial de silício pela epiderme e camadas de células do córtex das raízes basais de cevada (CHIBA et al., 2009).

O transporte e acúmulo de silício podem ocorrer a favor de um fluxo de transpiração, sendo que o acúmulo pode ser regulado pela produção de matéria seca. A relação entre acúmulo e produção segue assim um comportamento em curva sigmóide (JONES; HANDRECK, 1967; MAUAD, 2006). Esta curva sigmóide pode ser repetida muitas vezes ao longo da vida de plantas, de acordo com as estações do ano, aumentando o acúmulo no verão e primavera e diminuído no inverno, mostrando a relação direta do acúmulo de silício com as condições climáticas e da transpiração (MOTOMURA et al., 2002). A teoria que o transporte e acúmulo de silício podem ser regulados pela transpiração é defendida pela maioria dos estudiosos da nutrição de silício em plantas (EPSTEIN, 1999; MA et al., 2001). Porém o transporte e acúmulo podem ser regulados também por um processo ativo, que é desencadeado pelo estímulo à proteção contra doenças, pragas e outras condições de estresse (MARSCHNER, 1995; BÉLANGER et al., 2004; CURRIE; PERRY, 2007). A sílica pode ser acumulada dependendo de exigência de planta, porque índice de acumulação de sílica em alguma espécie de gramíneas não depende somente da absorção de água (BARBER; SHONE, 1966; JARVIS, 1987), sugerindo que a sílica ( $\text{SiO}_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ ) é depositada de forma ativa e não somente de maneira passiva.

## 2.2 Distribuição de silício em plantas

Após ser absorvido e transportado até a parte aérea o ácido monossilícico passa por transformações deposita-se, na forma de sílica amorfa hidratada inicialmente nos tecidos mais jovens e posteriormente vai acumulando-se rapidamente nas células senescentes, sob a forma de sílica, também chamada de opala biogênica, fitólitos ou simplesmente corpos silicosos (DAYANANDAM; KAUFMAN; FRAKIN, 1983). A deposição foliar de silício ocorre de forma rápida para as gramíneas (RAFI; EPSTEIN, 1999) com a sílica amorfa ( $\text{SiO}_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ ) depositada para 99% do silício total absorvido e menos de 1% na fica na forma coloidal ou iônica (MA et al., 2001). Estes depósitos de sílica ocorrem com maior frequência na epiderme foliar com a sílica combinada às frações de polissacarídeos (celulose e heimiculose) da parede celular, lúmen e espaços intercelulares (EPSTEIN, 1999).

Os depósitos de sílica tornam a planta mais resistente à ação de fungos e insetos e também evita a perda excessiva de água diminuindo assim a taxa transpiração (JONES; HANDRECK, 1967). Na epiderme foliar a sílica é incorporada à matriz celular, principalmente nas paredes exteriores da epiderme adaxial e abaxial e, dentro do lúmen de algumas células, tricomas e nas células buliformes (KAUFMAN et al., 1985). Os depósitos na parede exterior da epiderme fazem com seja formado uma dupla camada com cutícula, o que ajuda na defesa contra insetos e adversidades ambientais (YOSHIDA; OHNISHI; KITAGISHI, 1962; EPSTEIN, 1999; KIM et al., 2002). A concentração de sílica é maior na parte aérea do que na raiz, com maior concentração nas folhas velhas do que nas folhas novas e maiores na parte basal (mais velha) do que na apical (mais nova) em folhas de gramíneas (WIESE; NIKOLIC; RÖMHELD, 2007).

As plantas diferem quanto à capacidade de absorver e acumular silício e podem ser classificadas em três grupos: As acumuladoras de silício, em geral as monocotiledôneas (Gramineae), que tem processo ativo de absorção de silício possuindo teor foliar acima de  $10,0 \text{ g kg}^{-1}$  de silício na matéria seca; as não acumuladoras, em geral leguminosas, que absorvem silício a favor de um fluxo de transpiração de forma mais lenta que a absorção de água e discriminam o silício na absorção por simplasto, estas são exclusoras na absorção de silício com um teor foliar menor que  $5,0 \text{ g kg}^{-1}$  de silício na matéria seca; e as intermediárias na acumulação de silício, têm absorção de silício por simplasto na mesma velocidade que a absorção de água e teor menor que  $10 \text{ g kg}^{-1}$  (TAKAHASHI et al., 1990).

A distribuição de silício dentro da planta depende da espécie, sendo uniforme nas plantas que acumula pouco; noutras há maior proporção nas raízes. Nas culturas

acumuladoras de silício concentração de silício é maior na parte aérea do que na raiz, com maior concentração nas folhas velhas do que nas folhas novas e maiores na parte basal (mais velha) do que na apical (mais nova) em folhas de gramíneas (WIESE; NIKOLIC; RÖMHELD, 2007). Culturas como o trigo e o arroz, absorvem e acumulam silício rapidamente, assim como já relatado para arroz (CASEY et al., 2003; MITANI; MA, 2005).

Ocorre uma variação na concentração de silício na parte aérea descrita pela filogenética. Dentro de angiospermas, as monocotiledôneas de (Poaceae) acumulam substancialmente mais silício na parte aérea que espécie de outra classe de monocotiledônea. (HODSON, et al., 2005). Plantas exclusoras na absorção de silício têm uma distribuição de silício nas raízes, mais de 80% do silício localizado na parede de célula e menos que 10% nas frações de citoplasmática (HEINE et al., 2005).

Em sorgo ocorre maior deposição de silício nas folhas velhas superior à encontrada nas folhas novas, com um aumento da concentração de silício nas raízes (SANGSTER; PARRY, 1999). Assim como ocorre em soja na qual o transporte de silício da raiz para a parte aérea ocorre até a uma concentração de  $30 \text{ mg kg}^{-1}$  de silício, a partir do qual o aumento do acúmulo de silício é observado apenas nas raízes e não mais na parte aérea (GROTHGE-LIMA, 1998). Isto ocorre por estas espécies são exclusora na absorção de silício, retendo o silício na raiz, como a cultura do feijão (MA et al., 2001).

A redistribuição, que quer dizer movimento do elemento de um local de residência para outro qualquer, o local de residência pode ser uma folha, ramo ou a própria raiz, o outro órgão que funciona como dreno pode ser uma folha ou ramo novo ou um fruto ou uma raiz nova (MALAVOLTA, 2006). O processo de redistribuição então tem ligação direta com a mobilidade dos elementos pelo floema, com evidências que sugerem a translocação de solutos, produto final da fotossíntese, pelo floema (HOCKING, 1980), assim como a translocação observada para alguns elementos. Em plantas jovens de trigo se observou a rápida mobilidade da raiz para a parte aérea de Ni e Zn pelo floema, que também foram mobilizados de folhas velhas para folhas novas. Já o Mn é mobilizado da raiz para a parte aérea pelo xilema, aumentado na concentração nas folhas velhas, sendo observado uma forte retenção nas raízes, assim como o Co (PAGE; FELLER, 2005). Estes resultados sugerem que a mobilidade relativa no floema de Ni e Zn em plantas jovens de trigo e em folhas maduras de trigo é mais alto que a mobilidade de Co e Cd, ao passo que a mobilidade de Mn é muito baixa (RIESEN; FELLER, 2005). Ni e Zn também foram redistribuídos em tremoço (*Lupinus albus*), via o floema de folhas mais velhas para mais jovens, enquanto Mn permaneceu nas

folhas mais velhas. As concentrações são altas no começo de desenvolvimento de raiz principal (jovem em estágios imaturos), o amadurecimento de raízes principais continha concentrações reduzidas de Ni, Zn e Cd (PAGE et al., 2006).

A redistribuição de silício tem sido estudada através da análise de silício em diferentes partes e posições das folhas e os resultados obtidos indicaram baixa mobilidade de silício em plantas de arroz e cana de açúcar e imobilidade em pepino (YOSHIDA; OHNISHI; KITAGISHI, 1962; FOX et al., 1969; SAMUELS et al., 2001). Para a cana de açúcar uma maior concentração de silício, total e solúvel, na bainha do que na lamina foliar, e ainda demonstram que o silício solúvel esta presente em folhas totalmente maduras, caracterizando o silício como “quase insolúvel” (FOX et al., 1969). No arroz, assim como em outras plantas acumuladoras de silício, menos de 1% do silício absorvido encontra-se na forma coloidal ou iônica na planta (MA et al., 2001). Para esta cultura também foi observado baixa mobilidade de silício indicando uma baixa concentração na porção terminal da transpiração, indicando ainda a presença de polímeros de silício formados pelo aumento da concentração de silício nas folhas, o que torna o silício insolúvel (YOSHIDA; OHNISHI; KITAGISHI, 1962). A formação de polímeros de silício ocorre em plantas que possuem alta concentração de sílica ( $\text{SiO}_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ ) que é depositada pela polimerização do ácido monossilícico ( $\text{Si}(\text{OH})_4$ ) (KAUFMAN et al., 1985; SANGSTER; HODSON; TUBB, 2001). A redistribuição de silício não deve ocorrer pela forma como é depositado o silício, como sílica amorfa ou opala biogênica ( $\text{SiO}_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ ) impregnada nas paredes celulares ou lúmen das células, por isso fica compartimentalizada e sua redistribuição não deve ocorrer (BALASTRA, et al., 1989; JARVIS, 1987).

O silício depositado nas paredes celulares proporciona efeito defensivo contra ataque de fungos, sendo que o aumento desses depósitos pode ocorrer após a infecção pelos patógenos. Em plantas de pepino, ao cortar o suprimento de silício na solução, as folhas superiores apresentaram concentração de silício menor que as inferiores, indicando baixa redistribuição desse elemento, segundo esses autores. Nestas plantas de pepino previamente cultivadas em meio suplementado com silício, e posteriormente transferidas a meio deficiente nesse elemento (SAMUELS et al., 1991). Essas plantas mantiveram o silício residual na base dos tricomas foliares, mas não desenvolveram silicificação do tecido injuriado em volta de um patógeno invasor (*Sphaerotheca fuliginea*) o que não permitiu à planta resistir à doença. Constatando assim a falta de redistribuição do silício das folhas velhas para as folhas novas.

### 2.3 Silício como elemento benéfico

A deposição e acúmulo de sílica podem estar ligados à capacidade das plantas de combater os danos causados por estresses bióticos ou abióticos. As plantas podem acumular silício de de 1 a 100 g kg<sup>-1</sup> (EPSTEIN, 1999), mesmo nessas concentrações o silício não é considerado um elemento essencial para as plantas. Pois o silício não se enquadra nos critérios de essencialidades estabelecidos por Arnon e Stout (1939) “1 - o elemento é requerido para completar seu ciclo de vida; 2 - o elemento deve estar diretamente envolvido no metabolismo da planta (como constituinte de molécula, participar de uma reação, etc.); 3 - a função do elemento é específica, ou seja, nenhum outro elemento poderá substituí-lo naquela função”. Em Epstein (1999) uma profunda discussão sobre essencialidade foi abordada e este autor considera a silício “quase essencial” para as plantas terrestre e essencial para as Equisetaceae e algumas algas (diatomáceas).

O silício é considerado como elemento benéfico (MARSCHNER, 1995; MALAVOLTA, 2006), é assim definido por conferir às plantas aumento da resistência ao ataque de pragas e doenças, aumento na capacidade fotossintética, do número de folhas, do diâmetro de caules e do tamanho de plantas. O silício favorece a translocação de carbono para panículas e sementes, aumenta eficiência de uso de água, com diminuição da transpiração e passagem mais rápida da fase vegetativa para a reprodutiva de crescimento (EPSTEIN, 1999; SAVANT et al., 1997; CLARK, 2001; ZUCCARINI, 2008) Os benefícios do silício incluem também melhor absorção de fósforo e aumento da tolerância à toxidez por Al, Mn, Fe, entre outros (GALVEZ et al., 1989; TISDALE et al., 1993). Estes benefícios contribuem para o incremento da produtividade principalmente das culturas (RAFI; EPSTEIN, 1999; MA et al., 2001; MA; TAKAHASHI, 2002).

A produção de arroz em ambiente de solução nutritiva a falta total de silício causa a redução da área foliar, a murcha de folhas decorrente do aumento da taxa de transpiração, a diminuição da biomassa e da produção de grãos. Estes sintomas aparecem nos estágios iniciais da cultura e se intensificam na fase reprodutiva e na formação dos cachos (MA; TAKAHASHI, 2002). Isto pode ser observado também em planta não acumuladoras de silício, como a soja, a qual cultivada em sistema de solução nutritiva sem silício foi observada má formação das folhas novas e redução da fertilidade do grão de pólen (MIYAKE; TAKAHASHI, 1985).

Existem alguns mecanismos propostos para a ação do silício na defesa das plantas contra a infestação de pragas e doenças e contra condições de adversidades ambientais. Um

destes, é que silício age como uma barreira física. O silício é depositado junto da cutícula e forma uma camada dupla de sílica e cutícula (KIM et al., 2002) a qual mecanicamente pode impedir penetração por fungos e, assim, obstrui o processo de infecção (VOLK; KAHN; WEINTRAUB, 1958; CARVER; ZEYEN; AHLSTRAND, 1987; EPSTEIN, 1999; PARK et al, 2006; HAYASAKA; FUJII; ISHIGURO, 2008).

Outro mecanismo proposto é a defesa química induzida pelo silício solúvel, o qual age como ativador de resistência ao patógenos na produção de fenóis e fitoalexinas (FAWE et al, 2001; KAUSS et al., 2003; RODRIGUES et al., 2004; HAMMERSCHMIDT et al, 2005; GUÉVEL; MENZIES; BÉLANGER et al, 1995; CÔTÉ-BEAULIEU et al., 2009). O silício, nesse caso, age como ativador de genes e sinalização na biossíntese de compostos de defesa, num processo denominado de resistência sistêmica adquirida (RSA), que sintetiza composto como as fitoalexinas, fenóis, fenilpropanóides, dentre outros (FAWE et al., 2001). O silício age como um modulador influenciando a sinalização e extensão de respostas de defesa de planta como um mensageiro secundário em resistência do sistema de defesa; também pode se ligar a grupos de hidroxila de proteínas estrategicamente envolvidas em tradução de sinais; ou pode interferir como co-fator catiônico das enzimas envolvidas nos eventos da defesa contra patógenos. O silício, portanto pode reagir com vários componentes importantes na resposta da planta para sinalizar os sistemas que levam a resistência induzida. A defesa química conferida pelo silício só é induzidas por silício solúvel, sugerindo que este seja mais importante em aumentar resistência do hospedeiro a doenças (FAUTEUX et al., 2005).

Pode ser considerado o efeito conjunto da defesa mecânica e da química, pois após a infecção por uma patógeno pode ser ativada a deposição de sílica sobre e no interior da parede das células do mesofilo como uma resposta à infecção por patógenos (HEATH, 1980; MENZIES et al., 1991; SNYDER; MATICHENKOV; DATNOFF, 2007), com aumento do conteúdo de silício na parede celular primária e secundária (RANGANATHAN et al., 2006).

Segundo Agarie et al. (1998), o silício estaria envolvido na biossíntese dos componentes da parede celular, como polissacarídeos e polifenóis, o que tem efeito nas propriedades mecânicas e químicas de paredes celulares e tais modificações de arquitetura de parede podem ser responsáveis para o aumento da extensibilidade da parede celular induzida pelo silício (HOSSAIN et al., 2007). Os ácidos fenólicos têm ligação com a síntese de compostos orgânicos, como lignina, carboidratos e polihidróxidos (pectina, tanino, entre outros) (CLARK, 2001), assim o silício estimula síntese desses compostos, que ajudam na defesa das plantas.

Dallagnol et al. (2009) demonstram que a absorção ativa de silício pelas raízes das plantas é de suma importância para a defesa das plantas e que uma pequena quantidade de silício absorvido é requerida para aumentar a resistência aos patógenos. Sendo que a absorção de silício está relacionada a alguma forma de defesa, seja ela contra estresse biótico ou abiótico; assim as plantas absorvem mais silício em condições de estresse e com isso resiste a esse estresse. A absorção radicular de silício é eficiente em conferir resistência em plantas de pepino em contraste com a aplicação foliar de silício, que se mostra ineficiente no controle de doenças e no aumento de produtividade desta cultura. Estes resultados levam à conclusão de que o silício é principalmente, se não exclusivamente, absorvido pelo sistema radicular e que tal absorção pelas raízes é necessária para um efeito profilático ideal do silício para as plantas (GUÉVEL; MENZIES; BÉLANGER, 2003).

A aplicação de silício tem se mostrado eficiente no controle dos danos causados pelas condições de estresses abióticos, e esse tem sido um dos benefícios trazidos pelo uso da aplicação de silicatos na agricultura, atribuído principalmente, pela detoxificação de elementos potencialmente tóxicos (NEUMANN; NIEDEN, 2000; MA, 2004b). Os mecanismos de como se dá esse efeito do silício ainda são pouco conhecidos. O efeito do silício em diminuir a toxidez de metais pode ocorrer dentro da planta, por: estímulo do sistema de antioxidantes, complexação dos íons metais; imobilização destes metais durante o crescimento vegetal; ou compartimentação em vacúolos, citoplasma ou na parede celular (LIANG et al., 2007). Ou o efeito de silício pode ocorrer no solo, pela aplicação de silicatos nos solos, os quais fazem com que os elementos potencialmente tóxicos sejam convertidos de uma fração solúvel para uma fração insolúvel, estabilizando-os nessa forma, assim a sua biodisponibilidade é reduzida. No solo, isto pode ocorrer por processos de precipitação, humidificação, e ainda, reações de redução e adsorção (DIETZEL, 2000; NEUMANN; NIEDEN, 2001; MATICHENKOV; BOCHARNIKOVA, 2001; SOMMER et al., 2006) e retenção dos metais em alocação nas frações de matéria orgânica e óxidos de ferro (CUNHA, NASCIMENTO, SILVA, 2008). Além disso, os ânions silicatos, como aumentam pH do solo e fazem com que a atividade dos elementos tóxicos seja reduzida, precipitando-os em compostos insolúveis, levando a polimerização de compostos silicatados ligados aos elementos tóxicos (DIETZEL, 2000; SOMMER et al., 2006).

O silício promove melhoria na nutrição da planta por afetar a compartimentação de elementos importantes, como manganês e boro (HORST; MARSCHNER, 1978). Além de aumentar a resistência ao excesso de alumínio e promover equilíbrio entre interação de

deficiência de Zn/ toxidez de fósforo (WIESE; NIKOLIC; RÖMHELD, 2007), disponibilizando muitas vezes o fósforo adsorvido na fração argila do solo (MALAVOLTA, 2006). Na cultura do arroz a absorção de silício proporciona aumento da produção de matéria seca, isso foi atribuído à melhoria na utilização de P, atribuída à menor absorção de  $Mn^{+2}$  (MA; TAKAHASHI, 1990) ou ainda por uma melhor nutrição, aumentando produção de carboidratos, teor de clorofila, que levou a um maior número de panícula e produção de grãos (KORNDÖRFER et al., 1999).

O silício pode promover resistência das plantas a condições de estresse salino e falta de água, isso por garantir à integridade e estabilidade de função da membrana celular (LIANG et al., 2003; ZUCCARINI, 2008). Em condição de excesso de sal a integridade da parede celular é garantida pela minimização dos efeitos oxidantes, desencadeados pelo estresse oxidativo, com silício estimulando o sistema de antioxidantes. Como observado em culturas de cevada e algodão, as quais, em solos com excesso salino e com baixa umidade, a aplicação de silício diminuiu as concentrações de  $H_2O_2$  e peroxidação de lipídio e estimulou a atividade da superóxido dismutase e catalase e ascorbato peroxidase, que garantiu a preservação da parede celular. Sugerindo que silício pode estar envolvido em atividades metabólicas ou fisiológicas sob estresse salino e a seca (GUNES et al., 2007; 2008). O mesmo efeito do silício foi verificado em gramíneas, nas quais a aplicação de silício levou ao aumento dos níveis de enzimas antioxidantes, a capacidade fotossintética e o conteúdo de clorofila em grama sob condições de baixa umidade. O maior nível de enzimas antioxidantes em plantas tratadas com silício parece criar condições de tolerância a este tipo de estresse (SCHMIDT et al., 1999).

A presença de silício em plantas de ervilha promoveu aumento de força mecânica de caules, o que levou a suportar o peso inteiro das folhas e estruturas reprodutivas pesadas inclusive desenvolver vagens e sementes. Nessas plantas a concentração aumentada de ácido abscísico ABA em raízes em consequência de nutrição de silício sugere que este elemento talvez seja um elicitador de e/ou da biosíntese de ABA, que então afetou crescimento lateral de raízes neste estudo (DAKORA; NELWAMONDO, 2003).

A aplicação de silício leva ao aumento do uso eficiente da água (NWUGO; HUERTA, 2008a). A acumulação de silício na cultura da cevada foi examinada numa condição de seca como um possível indicador do uso eficiente da água e para sua composição de carbono orgânico  $^{13}C$ . O silício e carbono ( $^{13}C$ ) são indicadores do uso eficiente da água, com entrada na planta de forma distinta e tendências divergentes entre estes dois indicadores sob condições

diferentes de crescimento da planta. Os resultados confirmam que o silício pode ser usado como indicador do uso eficiente da água, tendo uma relação direta com o  $^{13}\text{C}$  (WALKER; LANCE, 1991).

A deposição de silício pode estar relacionada com o metabolismo do carbono nas plantas, sendo que já foi verificada diferenciação entre a deposição nas folhas de gramíneas com metabolismo  $\text{C}_3$  e  $\text{C}_4$ . Estas últimas têm maior frequência de depósito nas células buliformes e células fundamentais da epiderme, ao passo que as gramíneas  $\text{C}_3$  têm frequências mais altas de depósito nos tricomas. Esses depósitos de sílica nas células buliformes funcionam como “janelas” e depósitos nos tricomas como “canos finos” de entrada de luz e comunicação entre a epiderme e o mesófilo com tecido fotossintético, porém a influência disso na fotossíntese não foi estudada (KAUFMAN et al., 1985), sendo que a maior deposição para ambas,  $\text{C}_3$  e  $\text{C}_4$ , ocorre na epiderme superior (LANNING; ELEUTERIUS, 1989).

As plantas  $\text{C}_3$  são plantas que o ciclo de Calvin constitui a única via de fixação de carbono, como o primeiro produto detectável da fixação do  $\text{CO}_2$  é o PGA (3-fosfoglicerato). Nas plantas denominadas  $\text{C}_4$  o dióxido de carbono é inicialmente fixado pelo fosfoenolpiruvato (PEP) para produzir o oxaloacetato, um composto de quatro carbonos, que é convertido em malato ou aspartato através dos quais o  $\text{CO}_2$  é transferido para o RuBP (ribulose 1,5-bisfosfato) no ciclo de Calvin. O ciclo de Calvin das plantas  $\text{C}_3$  ocorre nas células da bainha vascular, enquanto que a via  $\text{C}_4$  ocorre nas células do mesófilo. As plantas  $\text{C}_4$  utilizam mais eficientemente o  $\text{CO}_2$  do que as plantas  $\text{C}_3$ , em parte porque a PEP carboxilase não é inibida pelo oxigênio, possibilitando assim que as plantas  $\text{C}_4$  capturem o  $\text{CO}_2$  com um mínimo de perda de água, chegando a ter 50% mais de eficiência da água do que as  $\text{C}_3$ . Além disso, a fotorrespiração, um processo que consome oxigênio e libera  $\text{CO}_2$  em presença da luz é ativa nas plantas  $\text{C}_3$ , mas quase ausente nas plantas  $\text{C}_4$ . Para que cada molécula de PEP seja regenerada é preciso de dois grupos de fosfato por ATP, assim  $\text{C}_4$  necessitam ao todo de cinco ATPs para fixar uma molécula de  $\text{CO}_2$ , enquanto as  $\text{C}_3$  apenas três. O principal substrato oxidado na fotorrespiração de plantas  $\text{C}_3$  é o glicolato. Isto faz com que o aproveitamento do nitrogênio na produção de matéria seca seja duas vezes maior do que para as  $\text{C}_3$ . Como as plantas  $\text{C}_4$ , evoluíram inicialmente nas regiões tropicais, elas são especialmente adaptadas a condições ambientais caracterizadas por altas intensidades luminosas, temperatura elevada e seca, fazendo fotossíntese de forma mais eficiente mesmo em temperaturas elevadas (FERRI, 1985).

Como as plantas  $C_4$ , evoluíram inicialmente nas regiões tropicais, elas são especialmente adaptadas a condições ambientais caracterizadas por altas intensidades luminosas, temperatura elevada e seca, fazendo fotossíntese de forma mais eficiente mesmo em temperaturas elevadas (FERRI, 1985).

#### **2.4 A toxicidade do cádmio para as plantas**

O cádmio em solos não contaminados, encontra-se em concentrações que variam de 0,06 a 1,1 mg kg<sup>-1</sup> (KABATA-PENDIAS et al., 2007). Essa concentração pode ser incrementada pelas atividades antropogênicas, tais como a aplicação de fertilizantes, principalmente os fosfatados, e águas contaminadas, sendo assim encontrado em solos cultiváveis. O cádmio contido neste tipo de fertilizante fosfatado varia muito, dependendo da origem da rocha fosfatada. Outras fontes de Cd para solos são as atividades envolvendo mineração, produção, consumo e disposição de produtos que utilizam cádmio (baterias de Ni-Cd, pigmentos, estabilizadores de produtos de policloreto de vinila (PVC), recobrimento de produtos ferrosos e não ferrosos, ligas de cádmio e componentes eletrônicos) (World Health Organization - WHO, 2000).

A importância do cádmio fica mais evidente por ser um elemento altamente solúvel em água, com relativa mobilidade no solo e tóxico até mesmo em baixa concentração (WAGNER, 1993; SANITÀ DI TOPPI; GABRIELLI, 1999). Desta forma, uma vez no solo o cádmio é facilmente absorvido pelo sistema radicular das plantas e translocado, via xilema, para a parte aérea, a favor de um fluxo de transpiração (PRASAD, 1995). A absorção de cádmio é feita por apoplasto (CLEMENS, 2006), ou por simplasto, como um cátion oportunista, absorvido por canais seletivos de cátion (KIM; YANG; LEE, 2002; SHI et al., 2005).

Sintomas de toxidez pelo cádmio são, em geral, descritos como redução severa do crescimento, clorose, atrofia foliar, o enrolamento das folhas (BENAVIDES et al., 2005). A necrose e a clorose foliar indicam distúrbios na nutrição mineral, como deficiência de Fe e redução da absorção de magnésio e transporte de água e de vários elementos (Ca, Mg, K e Mn) pelas plantas (SIEDLECKA; KRUPA, 1996; KURDZIEL et al., 2004; BENAVIDES et al., 2005). Nas plantas, a presença de cádmio afeta a absorção, transporte e uso de macroelementos como o enxofre (JIANG et al., 2005) e cálcio, fósforo, potássio, bem como da água (DAS et al., 1997). Outras possíveis causas da clorose podem ser: uma influência direta do cádmio em enzimas relacionadas à biossíntese de clorofilas, uma redução no número

de cloroplastos por célula e uma mudança no tamanho celular das plantas expostas a este metal. Segundo Kurdziel et al., (2004) a clorose está mais relacionada a um decréscimo na replicação do cloroplasto e da divisão celular do que a interação direta entre o cádmio e a biossíntese de clorofila. Os sintomas de toxicidade de cádmio em plantas foram associados a vários fatores; tais como: clorose foliar, inibição de crescimento e a perturbação de processos fisiológicos importantes, como a fotossíntese (DAS et al., 1998).

O efeito do cádmio na fotossíntese é atribuído à inibição da atividade de enzimas-chaves no ciclo de Calvin e em canais de transporte de elétrons. O cádmio induz a inibição da Rubisco em cevada e a alterações provocadas por este elemento nas funções dos estômatos, transporte de elétrons, no Ciclo de Calvin e desordens na estrutura dos grana e na síntese de clorofila, além de ter efeito deletério no potencial de turgor e na plasticidade celular (BARCELÓ et al., 1988; KURDZIEL et al., 2004; KÜPPER et al., 2007; GRATÃO, 2008). Souza et al. (2005) demonstraram severos danos nas células-guarda dos estômatos de milho o que poderia ser o efeito do cádmio nos estômatos, enquanto Perfus-Barbeoch et al. (2002) informou que cádmio inibiu o regulamento de célula-guarda numa maneira ABA independente. Em plantas de ervilha e tomate, análises ultraestruturais das folhas mostraram distúrbios caracterizados pelo aumento do tamanho da célula do mesófilo e redução dos espaços intercelulares (SANDALIO et al., 2001; DJEBALI et al., 2005). Todos esses efeitos do cádmio levam então a uma redução da taxa fotossintética e conseqüente diminuição do desenvolvimento vegetal.

O cádmio pode causar danos radiculares, o aumento de doses de cádmio levou a mudança na estrutura das células apicais das raízes, com o aumento da plasmólise da membrana plasmática, maior número de nucléos e vacúolos. Também, ocorre acumulação de cádmio na forma de elétrons em grânulos densos e cristais, ambos em vacúolos ou aderidos a paredes celulares (BARCELO; VAZQUEZ; POSCHENRIEDER, 1998; DAUD et al., 2009). Um dos mecanismos de tolerância das plantas ao cádmio é o acúmulo deste nas raízes, provocando inibição do crescimento radicular (JURADO, 1989).

As plantas desenvolveram mecanismos de adaptação para reduzir a concentração de cádmio, dentre os quais incluem: exsudação de agentes complexores na rizosfera; ligação do metal na parede celular; prevenção do transporte do metal para partes aéreas; complexação do metal com ligantes; transporte do complexo metal-ligante para vacúolos; estocagem de íons metálicos no vacúolo pela complexação com ligantes vacuolares e ação de enzimas resistentes ao metal para minimizar a injúria interna causada pela toxicidade (HALL, 2002; MCGRATH;

ZHAO, 2003). Dentro da planta pode ocorrer a compartimentalização deste metal em estruturas subcelulares, exclusão e diminuição do transporte através da membrana e a formação de peptídeos ricos em cisteínas, conhecidos como fitoquelatinas, que podem complexar o cádmio (LOZANO-RODRÍGUES et al., 1997). Outro sistema de defesa relatado é a produção de oxidantes defensivos de enzimas antioxidantes capazes de remover, neutralizar ou limpar radical livre e que inclui a superóxido desmutase, catalase e glutatona redutase (SCANDALIOS, 1993). A redução nos níveis de atividade de enzimas antioxidativas causadas pelo cádmio poderia, por si só, explicar a produção de um estresse oxidativo, entretanto, o cádmio pode ainda acentuar este estresse através de sua interferência no sistema de defesa antioxidativo não enzimático, como aquele envolvendo a glutatona reduzida. O aumento dos níveis de radicais oxidantes, quando da presença de níveis tóxicos de cádmio, está associado à peroxidação de lipídeos da membrana (ROMERO-PUERTAS et al., 2006). A consequência desse dano oxidativo é a alteração na permeabilidade da membrana celular (KABATA-PENDIAS; PENDIAS, 2000).

A absorção radicular de cádmio é variável entre as espécies vegetais, sendo as leguminosas mais sensíveis ao cádmio do que gramíneas (SIMONOVA et al., 2007). A cultura do arroz se mostra mais tolerante ao cádmio que a cultura do feijão, para o qual a concentração de  $0,05 \text{ mg kg}^{-1}$  de cádmio na parte aérea já mostra prejuízo no transporte de outros nutrientes, como nitrogênio, potássio, cálcio, magnésio e zinco. O aumento da concentração de cádmio na solução nutritiva afeta o crescimento da parte aérea e das raízes das plantas para ambas as espécies (JURADO, 1989). Além dessa diferença de absorção entre as espécies, os diferentes genótipos também diferem quanto à capacidade de absorver e transportar cádmio (GABRIELLI et al., 1990; CARDOSO, 2000). A diminuição da produção de matéria seca de arroz pelo efeito do cádmio pode ser devido às alterações na atividade do RNA, afetando assim a divisão celular (SHAH; DUBEY, 1995), ou devido à inibição de processos fisiológicos importantes, tais como a fotossíntese e a respiração (BENAVIDES et al., 2005).

Em feijão, o cádmio provocar a redução da massa fresca e da área foliar, com o deslocamento deste metal das raízes para parte aérea, induzindo a síntese de fitoquelatinas (LEITA et al., 1991) e biossíntese de etileno o que aumenta atividade de peroxidases e acúmulo de compostos fenólicos solúveis e insolúveis (FUHRER, 1982), o que leva a peroxidação de lipídio (CHAOUY et al., 1997). Nesta espécie ocorre maior acúmulo de cádmio nas raízes que na parte aérea, e diminui o conteúdo de Zn, Fe e Mn nas raízes,

conteúdo de *oi* significativamente alterado na raiz (NASCIMENTO; PEREIRA, 1997). A diminuição da produção de massa de matéria seca de arroz pelo efeito do cádmio pode ser devido às alterações na atividade do RNA, afetando assim a divisão celular (SHAH; DUBEY, 1995) ou devido à inibição de processos fisiológicos importantes, tais como a fotossíntese e a respiração (BENAVIDES et al., 2005).

## **2.5 O cádmio na saúde humana**

Os efeitos da toxicidade do cádmio muitas vezes não impede que ocorra o desenvolvimento vegetal normal e que essa planta produza alimentos, os quais terão como fim a ingestão animal. Sendo esta a principal entrada de cádmio na cadeia alimentar humana. A exposição prolongada de cádmio provoca distúrbios renais e enfisemas pulmonares, desmineralização óssea, destruição dos eritrócitos e câncer (GHOSROY et al., 1998).

A doença conhecida como Itai-Itai, que significa “dor nos ossos”, acometeu principalmente mulheres na fase pós-menopausa, que viviam no Japão, onde plantações de arroz estavam altamente contaminadas por cádmio. Essa doença consistia de osteomalacia com severa deformidade óssea e doença renal crônica devido a disfunções tubulares renais, anemia e fortes dores generalizadas. A patogenia foi atribuída à exposição ao cádmio, além de ferro, zinco (GOYER, 1996). Há referências ainda a câncer de próstata relacionado à exposição ocupacional, pela via respiratória, não havendo citação quanto a estudos que estabeleçam associação pela exposição via oral (GOYER, 1996).

Muitas espécies vegetais translocam o cádmio para os grãos, como o que ocorre para as culturas de feijão e tomate, mesmo que seja baixa a translocação de cádmio para os frutos (COBBET et al., 2000). No Japão, para estar apto ao consumo humano, o teor de cádmio nos grãos de arroz tem de ser inferior a  $0,4 \text{ mg kg}^{-1}$  (CODEX, 2001), já no Brasil valores superiores a  $1,0 \text{ mg kg}^{-1}$  são considerados tóxicos pela Agência de Vigilância Sanitária (ANVISA, 1965) para as culturas de feijão e arroz, as quais entram na classificação de “outros alimentos”.

## **2.6 Interação cádmio e silício**

Muitos dos benefícios trazidos pela aplicação de silício na agricultura têm sido atribuídos a detoxificação de elementos potencialmente tóxicos, tais como o cádmio. Esse efeito do silício tem tomado grande importância atualmente pelo fato de as atividades antropogênicas estarem cada vez mais contaminando os solos e águas, pondo em risco a saúde

humana. A aplicação de silício no solo pode ser utilizada para o uso em solos contaminados por cádmio, pois o silício pode diminuir o estresse causado pelo cádmio (ZHANG et al., 2008). No solo os silicatos solos podem levar ao aumento de pH e presença de íons silicatos no solo, complexão e retém o cádmio, fazendo com que este não seja absorvido pelas plantas (LIANG; WONG; WEI, 2005; SOMMER et al., 2006) e ainda pode ocorrer a retenção de cádmio pela alocação nas frações de matéria orgânica e óxidos de ferro (CUNHA, NASCIMENTO, SILVA, 2008).

O silício pode diminuir o efeito da toxidez de cádmio por ocorrer interações entre silício e cádmio ligadas a fatores intrínsecos das plantas. Esta interação ainda não é esclarecida e existem algumas hipóteses sobre esse mecanismo. Uma destas hipóteses é que o silício alivia a fitoxidez de cádmio pela inibição do transporte deste elemento das raízes para a parte aérea, pela deposição de silício na endoderme, o que bloqueia fisicamente a passagem de cádmio pelo apoplasto da raiz, impedindo a passagem para a parte aérea (SHI et al., 2005; CUNHA et al, 2009; ZHANG et al., 2008). Em plantas de arroz Shi et al. (2005) demonstraram que as concentrações de cádmio na parte aérea e nas raízes diminuíram na presença de silício.

Wang et al. (2000) demonstraram que o silício depositado na parede celular das folhas e raiz de arroz tem extrema afinidade pelo cádmio. Isto em plantas acumuladoras de silício como o arroz, pode significar uma redução na translocação de cádmio por apoplasto. Pelo fato do processo de difusão entre as células ficar dificultado, com um possível isolamento de cádmio em paredes de célula de raiz pela formação de sílica coloidal, altamente insolúvel. Por outro lado, Neumann e Neiden (2001) mostraram inibição induzida por silício no simplasto para o transporte de metal pesado e sugeriu que o silício intracelular pode formar silicatos instáveis com metais pesados no citoplasma. Todavia, Shi et al. (2005) demonstraram que nenhuma restrição acontece no apoplasto e nem no simplasto. A concentração de cádmio na parede celular na parte aérea (folhas mais colmos) do arroz, crescido em  $50 \mu\text{mol L}^{-1}$  de cádmio, aumentou pela aplicação foliar da solução de silício, isto foi o fator responsável por aliviar a toxidez e acumulação cádmio nos grãos de arroz (LIU et al., 2009).

A aplicação de silício pode ter efeitos estruturais como: alterações no diâmetro do xilema, mesofilo e espessura de epiderme, área de transversal ocupada por colênquima e vasos medianos, podendo este fator conferir uma maior resistência da planta ao estresse causado pelo cádmio (LIANG; WONG; WEI, 2005; CUNHA, NASCIMENTO, SILVA, 2008).

O silício pode diminuir o estresse causado pelo cádmio por proporcionar a manutenção de alguns processos fisiológicos importantes para as plantas. Plantas de arroz em diferentes doses de cádmio e silício tiveram o conteúdo de cádmio reduzido nas raízes e parte aérea. Além do mais a dose 0,2 mmol L<sup>-1</sup> de silício foi suficiente para aumentar o uso eficiente da água e a eficiência da luz (NWUGO, HUERTA, 2008a) e aumentar a eficiência fotossintética e de parâmetros da eficiência de clorofila (NWUGO, HUERTA, 2008b).

Outra hipótese é que o silício estimula o sistema de antioxidantes nas plantas (SHI et al., 2005; KIRKHAM, 2006; LIANG et al., 2007), pois o efeito fitotóxico do cádmio está relacionado à inibição de compostos antioxidantes que resulta na peroxidação de lipídeos e geração de ânions superóxidos (CHIEN et al., 2001; SHAT et al., 2001). Este fato pode diminuir bastante a produção da biomassa da planta por afetar os processos fisiológicos. No entanto, a aplicação de silício promove o aumento da atividade de antioxidantes (GONG et al., 2005) e isto leva a uma redução dos danos causados pelo cádmio e conseqüente aumento de produção. A aplicação de silício reduziu o conteúdo de cádmio na parte aérea, nas concentrações de 0,3; 0,6; 1,2 mg kg<sup>-1</sup> de cádmio e aumentou a atividade de antioxidantes, como as peroxidases, mas atividade de superóxido desmutase diminuiu (CHEN; ZHONG; LI, 2007). Em plantas supridas com 0,5 e 1,0 g kg<sup>-1</sup> de silício, aumentaram o conteúdo de clorofila e a atividade de catalase, ao passo que a permeabilidade da membrana celular diminuiu. Estes resultados demonstram que a aplicação de silício junto com um aumento no pH do solo, pela aplicação de silicato de cálcio, reduziu potencialmente o conteúdo de cádmio nas plantas de arroz. (ZHAO; MASAIHIKO, 2007).

## 2.7 O uso de isótopos de silício

O termo isótopo significa o mesmo lugar na tabela periódica dos elementos e referem-se aos nuclídeos que possuem o mesmo número atômico e diferentes números de massa (diferentes números de nêutrons no núcleo). Os isótopos estáveis dos elementos encontrados no solo e nas plantas ocorrem naturalmente no ambiente. No caso dos elementos do silício são encontrados três isótopos estáveis; na massa 28, 29 e 30. O termo abundância natural ou relativa refere-se à porcentagem de átomos de um isótopo em relação ao total de átomos do elemento que ocorre naturalmente, o silício com abundância de 92,2% de <sup>28</sup>Si, 4,7% de <sup>29</sup>Si e 3,1% de <sup>30</sup>Si (CARDINAL et al., 2003).

A técnica isotópica envolvendo isótopos estáveis de silício tem sido usada na demonstração da dinâmica deste elemento na formação dos oceanos (DE LA ROCHA et al.,

1998) e no ciclo terrestre deste elemento (DOUTHITT, 2006). A técnica isotópica foi usada na caracterização da composição natural de corpos silicosos em banana (*Musa acuminata* C.) (OPFERGET et al., 2006a). Neste estudo foi demonstrando o fracionamento isotópico interno com transporte preferencial do isótopo mais leve. Nas raízes a abundância natural de  $^{30}\text{Si}$  detectada foi de  $-0,21\%$  com a composição isotópica seguindo discriminação de massas em cada parte da planta (OPFERGET et al., 2006b).

Para as plantas de arroz o padrão de fracionamento é o mesmo estabelecido para a banana, com um enriquecimento do  $\delta^{30}\text{Si}$  ocorre das raízes ( $\delta^{30}\text{Si} -0,44\%$ ) para a parte aérea ( $\delta^{30}\text{Si} -0,02\%$ ), onde ocorre a perda de água e deposição de silício. Sendo que, esse fracionamento isotópico depende do solo em que está presente a planta (DING et al., 2005). Este mesmo padrão de fracionamento foi observado para bambu, o qual teve um aumento do  $\delta^{30}\text{Si}$  do caule para as folhas ( $1,7\%$ ) (DING et al., 2003). As variações isotópicas descritas podem ser explicadas pelo princípio de fracionamento isotópico cinético, com  $^{28}\text{Si}(\text{OH})_4$  tendendo a precipitar-se preferencialmente originando uma solução residual enriquecida com  $^{30}\text{Si}(\text{OH})_4$ , como ocorre na maioria dos sistemas terrestres do ciclo do silício (DOELSCH, 2006).

Um dos problemas dos estudos de absorção e função biológica do silício é a falta de um isótopo radioativo apropriado, pois o isótopo radioativo de silício ( $^{31}\text{Si}$ ) tem meia vida de 2,62 horas. Alguns estudos sobre absorção e transporte de silício foram realizados com germânio (Ge) radioativo,  $^{68}\text{Ge}$  que tem meia vida de 282 dias. A concentrações de silício nas plantas demonstrou a ausência de discriminação entre  $^{68}\text{Ge}$  e silício no processo de absorção radicular, demonstrando que o uso do método de marcador  $^{68}\text{Ge}$  é apropriado para estudos de transporte de silício em plantas. O  $^{68}\text{Ge}$  foi usado como traçador isotópico para estudar a absorção de silício por quatro espécies, arroz, cevada, pepino, e tomate. Pelo uso desta técnica se concluiu que o transporte de silício por simplasto e/ou apoplasto em plantas exclusoras de silício, são feitos por um processo metabolicamente ativo pelos transportadores de efluxo de silício (NIKOLIC et al., 2007).

O uso dos isótopos estáveis de silício ( $^{28}\text{Si}$ ,  $^{29}\text{Si}$  e  $^{30}\text{Si}$ ) na pesquisa está restrito a caracterização isotópica naturais, como exposto anteriormente. O uso de isótopos em estudos de fertilidade do solo e nutrição de plantas tem a vantagem de que esses isótopos podem ser identificados numa mistura normal dos isótopos do elemento, possibilitando o acompanhamento qualitativo e quantitativo do elemento nos diferentes compartimentos do sistema em estudo. O emprego desta técnica pode ajudar a elucidar mecanismos fisiológicos

da nutrição mineral de plantas para o silício, tais como os processos de absorção, acúmulo e redistribuição em plantas e os mecanismos desencadeados pelo silício no alívio de estresse bióticos e abióticos.

### **3 ABSORÇÃO E ACÚMULO DE SILÍCIO NAS PLANTAS DE ARROZ, TRIGO, FEIJÃO E SOJA**

#### **RESUMO**

O efeito benéfico do silício vem sendo demonstrado para plantas acumuladoras deste elemento, como arroz e trigo, e para plantas não acumuladoras, como feijão e soja. Estas espécies apresentam diferenças no modo de absorção de silício e podem ser diferentes também no incremento do processo de absorção de acordo com desenvolvimento vegetal e na distribuição do silício dentro da planta. Desta forma, o presente trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar em qual período do desenvolvimento das plantas de arroz, trigo, feijão e soja ocorreu a maior absorção de silício e como ocorre a distribuição deste elemento nas plantas. Visando cumprir esse objetivo instalaram-se experimentos em casa de vegetação usando solução nutritiva, como meio de cultivo. Os tratamentos consistiram na aplicação de  $0,9 \text{ mmol L}^{-1}$  de silício e um tratamento sem a adição de silício. Durante os 60 dias de condução dos experimentos, as soluções nutritivas foram trocadas semanalmente monitorando-se o silício absorvido que era inferido pela diferença entre o silício aplicado inicialmente, daquele remanescente ao final de uma semana. Aos 30, 45 e 60 dias de desenvolvimento das plantas, foram feitas coletas de uma planta por parcela de cada espécie, visando a quantificação da matéria seca e da concentração de silício. Na primeira semana de cultivo as plantas de arroz e trigo absorveram pouco silício do disponível na solução, já ao final dos 60 dias, a absorção chegou a 98 e 60% do disponível, para o arroz e o trigo, respectivamente. Ao contrário destas, as plantas de feijão e soja, absorveram no período inicial de desenvolvimento mais da metade do silício disponível, cerca de 62 e 53%, respectivamente e, no final do experimento, a absorção decresceu para 15% pelas plantas de feijão e 20% pelas de soja. O acúmulo final de silício pelas plantas de arroz e trigo foi de 110 e 80 mg de silício por planta, respectivamente, dos quais 98% estavam localizados na parte aérea. As plantas de feijão e de soja acumularam respectivamente, 40 e 30 mg por planta, deste total menos de 80% estava acumulado na parte aérea. Conclui-se que as espécies acumuladoras de silício, o arroz e trigo, possuem absorção crescente proporcional ao desenvolvimento das plantas, já as espécies não acumuladoras de silício, feijão e soja, absorvem mais silício no início de seu desenvolvimento. A proporção relativa entre o silício acumulado na parte aérea e nas raízes das plantas acumuladoras de silício é maior quando comparada com as não acumuladoras.

Palavras-chave: Marcha de absorção. Transporte. Acumuladoras. Não acumuladoras

## **UPTAKE AND ACCUMULATION OF SILICON IN CULTURES OF THE RICE, WHEAT, BEAN AND SOYBEAN**

### **ABSTRACT**

The silicon benefits had been shown to accumulator species of this element, as rice and wheat and, for nonaccumulator species, as beans and soybeans. These species have differences at the uptake of silicon and may also vary the increasing of uptake process according to the plant development and distribution of silicon in plants. Thus, this work was carried out to evaluate at what development stages of plants of rice, wheat, beans and soybeans, had the greater uptake of silicon and how the distribution of silicon occurs inside the plants. To achieve this goal, greenhouse experiments were carried out using nutrient solutions to cultivate the plants. The treatments consisted of applying  $0.9 \text{ mmol L}^{-1}$  of silicon and a treatment without any silicon. During the 60 days that the experiment was carried out, the nutrient solutions were replaced weekly monitoring the uptake silicon that was determined by the difference among the initial applied silicon and the leftover in the solution after the week. At 30; 45 and 60 days of plant development, a single plant sample per plot of each specie were collected to quantify the dry matter as well as silicon content. Plants of rice and wheat had greater dry matter production due to silicon supply than plants of back beans and soybeans. At the first week of cultivation, plants of rice and wheat uptake just a few of the available silicon at the solution and, 60 days after the plants were transplanted, the uptake was of 98 and 60% of the available silicon in the solution, for plants of rice and wheat, respectively. In the other hand, plants of beans and soybeans, uptake more than a half of available silicon at the first week reaching 62 and 53%, respectively and by the end of the experiment the uptake decreased to 15% by the beans plants and 20% by the soybean plants of the total available silicon supplied to the plants. The final accumulations of silicon in the rice and wheat plants were 110 and 80 mg per plant, respectively, and 98% of this silicon was located at the shoots. Plants of beans and soybeans accumulate 40 and 30 g per plant respectively, and 80% of this total was located at the shoots. These results shown that plants of rice and wheat uptake and accumulate more silicon by the end of 60 days and, balck beans and soybeans uptake more silicon at the early beginning of their development. The plants considered as accumulator species, rice and wheat, accumulate more silicon in the shoots than plants of beans and soybeans which accumulated more silicon in the roots than rice and wheat.

Keywords: Utake dynamic of silicon; Transport; Accumulators, Nonaccumulators.

### 3.1 Introdução

O silício é um elemento benéfico (MARSCHNER, 1995), é assim considerado por estar relacionado ao aumento da resistência a ataques de pragas e doenças, melhorar a absorção e aproveitamento de nutrientes e conferir diminuição a estresses causados pela toxidez ou deficiência de alguns elementos (WILLIAMS; REIMANS, 1957; GALVEZ et al., 1989; TISDALE et al., 1993; EPSTEIN, 1999). Estes benefícios contribuem para o incremento da produtividade de muitas espécies, tais como as plantas de trigo (RAFI; EPSTEIN, 1999), do feijão (MA et al., 2001), do arroz e da soja (MA; TAKAHASHI, 2002).

As plantas diferem quanto à capacidade de absorver e acumular silício. As plantas consideradas acumuladoras de silício, as monocotiledôneas (gramíneas) têm teor foliar acima de  $10,0 \text{ g kg}^{-1}$  de silício e absorção radicular ativa, já as não acumuladoras (leguminosas) têm teor foliar menor que  $5,0 \text{ g kg}^{-1}$  e absorção por simplasto, estas são exclusoras no transporte de silício, absorvendo água de forma mais rápida do que absorção de silício. Existem ainda as intermediárias na acumulação de silício, com teor foliar menor de  $10 \text{ g kg}^{-1}$  e absorção por simplasto (TAKAHASHI et al., 1990). A capacidade de absorção do silício é o principal determinante da concentração desse elemento nas células, podendo essa absorção ser favorecida pela transpiração (EPSTEIN, 1999; MOTOMURA et al., 2002) ou estímulo à proteção contra doenças, pragas e outras condições de estresse (MARSCHNER, 1995; BÉLANGER et al., 2004; CURRIE; PERRY, 2007).

O arroz é uma espécie acumuladora de silício, com absorção ativa desse elemento por proteínas de membrana sintetizadas a partir de genes específicos (MA et al., 2002a). Nas raízes de arroz existem basicamente dois genes (Lsi1 e Lsi2) que controlam a absorção de silício e garante um efetivo transporte deste elemento (MA et al., 2006, 2007) até os vãos xilemáticos. No xilema o ácido monossilícico é transportado até a parte aérea. Isso ocorre de forma rápida, como a absorção e concentração no simplasto das plantas de arroz, pepino e tomate aumentando com  $K_m$  estimado de 0,16; 0,15; and 0,16  $\text{mmol L}^{-1}$  respectivamente. Com a velocidade de absorção ( $V_{max}$ ) de 34,5; 26,9; and 13,3  $\text{ng root}^{-1} \text{ h}^{-1}$ , de silício, para arroz, pepino e tomate. Mostrando que a velocidade de absorção no arroz é que no pepino, que por sua vez é do que para o tomate. A saturação dos transportadores em arroz ocorre após 10 horas de exposição à solução com silício (MITANI; MA, 2005). Na parte aérea a distribuição de silício é controlada por outro gene (Lsi6) localizado nas folhas, o qual garante o transporte do silício do xilema para todas as células (YAMAJI; MITANI; MA, 2008).

Plantas de arroz supridas com silício aumentam a taxa fotossintética, diminui a transpiração, aumenta a translocação de carbono para as panículas e sementes, aumenta a eficiência de uso de água e resiste a infestação de doenças causadas tanto por fungos e bactéria e melhorara a utilização de P (MA; TAKAHASHI, 1990; SAVANT et al., 1997; KORNDÖRFER, et al., 1999; DATNOFF et al., 2007). A ausência de silício em arroz causa murcha de folhas diminuição da biomassa e na produção de grãos, manchas necróticas e/ou amarelecimento nas folhas inferiores com secamento das pontas (MA; TAKAHASHI, 2002; SAVANT et al., 1997).

As plantas de trigo, também absorvem ativamente o silício e seu transporte é realizado através do xilema, onde podem ser encontradas duas formas químicas, o ácido monossilícico e dissilícico ( $H_4SiO_4$  e ácido  $(OH)_3Si(\mu-O)Si(OH)_3^0$  numa relação de aproximadamente 7:1, sem ser observado formação de organossilicatos (CASEY et al., 2003), com rápida deposição foliar (RAFI; EPSTEIN, 1999). A presença de silício no trigo aumenta a produção de biomassa (JARVIS, 1987; CASEY et al., 2003), diminui a incidência e severidade de doenças (GUÉVEL; MENZIES; BÉLANGER, 2003; CÔTÉ-BEAULIEU et al., 2009) e aumenta a tolerância a seca, com um aumento da taxa líquida de assimilação  $CO_2$  nas folhas (GONG et al., 2005).

As plantas exclusoras de silício aumentam a concentração de silício nas raízes (SANGSTER; PARRY, 1999), com mais de 80% do silício localizado na parede celular das raízes (HEINE et al., 2005). A absorção de silício pelas raízes de feijão e soja é feita, basicamente, por difusão, com passagem do ácido monossilícico de uma solução mais concentrada para uma menos concentrada. Para o gênero *Phaseolus*, foi observado gasto de energia nessa absorção, que pode ocorrer por proteínas nos canais de entrada de água (aquaporinas), acarretando gasto de energia (RAVEN, 2001). Nesse trajeto, o silício pode ser retido pela camada de suberina presente na endoderme, essa retenção é que torna estas plantas exclusoras de silício (RAVEN, 2001). A restrição ao transporte no córtex das raízes pode ser feita também por transportador silício responsável pelo efluxo de silício (NIKOLIC et al., 2007). Para a cultura da soja já foi verificado que o transporte de silício das raízes para a parte aérea, ocorre até a concentração de  $30 \text{ mg kg}^{-1}$  a partir da qual o aumento do acúmulo de silício é observado somente nas raízes (GROTHGE-LIMA, 1998).

O efeito benéfico do silício nas plantas de feijão está relacionado à maior resistência das plantas a doenças e pragas (MORAES et al., 2006) e a condições de salinidade e seca (ZUCCARINI, 2008). Para a soja, a ausência de silício causa má formação das folhas novas e

redução da fertilidade do grão de pólen (MIYAKE; TAKAHASHI, 1985). A aplicação de silício diminui a intensidade e severidade de doenças em soja, como a ferrugem asiática, e ainda leva ao aumento do conteúdo de clorofila b, carotenóides, lignina e os teores de fósforo, cálcio, enxofre e zinco (NOLLA et al., 2006; LIMA, 2006).

As gramíneas e leguminosas diferem quanto à forma de absorção e acúmulo de silício, assim como diferem no metabolismo da assimilação do carbono atmosférico ( $\text{CO}_2$ ). As gramíneas, como as plantas de arroz e trigo, são plantas com metabolismos  $\text{C}_4$  e as leguminosas, como as plantas de feijão e soja, são  $\text{C}_3$ . As plantas  $\text{C}_4$  utilizam mais eficientemente o  $\text{CO}_2$  do que as plantas  $\text{C}_3$  e o capturam com um mínimo de perda de água, chegando a ter 50% mais de eficiência da água do que as  $\text{C}_3$ . O ciclo de Calvin das plantas  $\text{C}_3$  ocorre nas células da bainha vascular, enquanto que a via  $\text{C}_4$  ocorre nas células do mesófilo. O aproveitamento do nitrogênio na produção de matéria seca pelas  $\text{C}_4$  é duas vezes maior do que para as  $\text{C}_3$ . As  $\text{C}_4$  são adaptadas a condições ambientais com altas intensidades luminosas, temperatura elevada e seca, fazendo fotossíntese de forma mais eficiente mesmo em temperaturas elevadas (FERRI, 1985). As características das plantas  $\text{C}_4$  podem ser refletidas em aumento da produção de matéria seca e, com isso, aumentar o acúmulo de silício por essas plantas.

As plantas  $\text{C}_4$  são evolutivamente mais adaptadas e o acúmulo de silício é inferido como caractere que foi preservado no decorrer da evolução das espécies vegetais. O acúmulo de silício tem variação entre as angiospermas e as monocotiledôneas (notadamente as Poaceae), sendo enfatizado no último grupo, que são plantas mais antigas (MA et al., 2001; HODSON et al., 2005). Outra relação entre silício e o metabolismo do carbono, é que assimilação de carbono é usada como um indicativo do uso eficiente da água, assim como o silício acumulado, estando estes fatores interligados (WALKER; LANCE, 1991). Diferença no padrão de acúmulo de silício já foi constatada entre gramíneas do grupo  $\text{C}_3$  e do grupo das  $\text{C}_4$ . Em gramíneas  $\text{C}_4$ , os depósitos de sílica ocorrem nas células buliformes e células fundamentais da epiderme, e nas gramíneas  $\text{C}_3$  ocorre com maior frequência nos tricomas, (KAUFMAN et al., 1985; LANNING; ELEUTERIUS, 1989).

Para todas as culturas referidas acima o silício é um elemento importante para o aumento e melhoria da sua produtividade pela aplicação deste elemento como fertilizante. Porém como são espécies diferentes, estas têm distintas formas de responder a aplicação de silício, com diferentes formas de absorção e acúmulo. O momento de maior absorção para uma espécie pode ser diferente de outra e isso pode levar à perda da eficiência da aplicação do

silício. Isto pode ocorrer tanto para as práticas de manejo das culturas, como em estudos científicos da nutrição de silício, que requerem respostas rápidas e precisas da absorção de silício, para entender melhor os seus mecanismos na fisiologia da planta e seus possíveis efeitos nas plantas como elemento benéfico. Desta forma, o presente trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar em qual período do desenvolvimento das plantas de arroz, trigo, feijão e soja ocorreu maior absorção de silício e como ocorre a distribuição deste elemento dentro destas plantas.

### 3.2 Material e métodos

Os experimentos foram instalados e desenvolvidos em casa de vegetação do CENA/USP em Piracicaba (SP) Brasil. O clima da região, segundo classificação de Köppen, é do tipo Cwa (subtropical), com duas estações bem definidas, uma fria e seca, de abril a setembro, e outra quente e úmida, de outubro a março. O experimento com as plantas de trigo (*Triticum aestivum* L. cv. Iguazu IAC-21) e do feijão (*Phaseolus vulgaris* L. cv. BAT 93) foi conduzido no período maio à final de julho de 2006. Já o experimento com as plantas de arroz (*Oryza sativa* L. cv. IAC 202) e da soja (*Glycine max* cv. Garimpo) foi desenvolvido do início de outubro a final de dezembro. Para ambos os experimentos, os procedimentos experimentais adotados foram os mesmos, como segue a descrição.

As sementes de cada espécie foram semeadas em areia lavada. Após uma semana de emergência três plântulas de cada espécie foram transferidas para vasos com dois litros de solução nutritiva (JOHNSON et al., 1957). Nestes vasos, constantemente aerados, acrescentaram-se ( $\text{mmol L}^{-1}$ ): 16000 de N e 6000 de K ( $\text{KNO}_3$ ); 4000 de Ca [ $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ]; 2000 de P ( $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ ); 1000 de S e 1000 de Mg ( $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ); 50 de Cl (KCl), 25 de B ( $\text{H}_3\text{BO}_3$ ); 2,0 de Mn ( $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ); 2,0 de Zn ( $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ); 0,5 de Cu ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ); 0,5 de Mo ( $\text{H}_2\text{MoO}_4$ ) e 20 de Fe (Fe-EDTA) (JOHNSON et al., 1957).

Os tratamentos com silício consistiram em acrescentar  $0,9 \text{ mmol L}^{-1}$  ( $25 \text{ mg L}^{-1}$ ) de silício (+Si), mantendo os tratamentos testemunhas, sem acréscimo de silício (-Si). A fonte de silício utilizada foi o silicato de sódio, obtido a partir da fusão alcalina de 0,1 g de  $\text{SiO}_2$  com 0,5 g de carbonato de sódio em mufla (CARNEIRO et al., 2008). O pH da solução nutritiva foi aferido e quando necessário adicionou-se HCl para acidificar ou NaOH para alcalinizar, objetivando o pH de 6,5 e condutividade elétrica de  $2,5 \text{ mS cm}^{-1}$ , os quais foram monitorados nas parcelas durante todo o período de condução do experimento. Estes tratamentos foram

dispostos em delineamento inteiramente casualizado (DIC), com três repetições para cada parcela.

As três plântulas permaneceram por uma semana em 20% da concentração total dessa solução, na segunda semana as concentrações dos nutrientes foram elevadas para 50% e, por fim, na terceira semana foi introduzida a solução nutritiva completa. A cada 7 dias, a solução nutritiva aplicada foi substituída por outra solução contendo integralmente todos os nutrientes e naqueles tratamentos com silício, foi renovada a dose de  $0,9 \text{ mmol L}^{-1}$  de silício. Durante os 60 dias de condução dos experimentos, a solução nutritiva foi nove vezes substituída. Em cada troca foram recolhidas alíquotas da solução inicial, que seria aplicada nas plantas e da solução final, a qual a planta estava exposta. Esse procedimento visava estimar a extração de silício no período de uma semana, pela diferença entre a concentração de silício disponibilizada e a concentração ao final deste período no volume final da solução. Assim, considerando o período total de 60 dias, foi estimada a quantidade de silício extraída de cada parcela, extrapolando esses dados para o silício acumulado pelas plantas em todo o período.

Para verificar os dados de extração semanal de silício, que eram considerados o absorvido e por consequência o acumulado pelas plantas, em cada parcela do experimento foi retirada uma planta, aos 30, 45 e por fim aos 60 dias após emergência. Constituído esse o fator subparcela. Estas plantas foram coletadas e separadas em caule, raízes e folhas, lavadas com água deionizada e seca em estufa a  $65^\circ\text{C}$  até atingirem peso constante. Em seguida foi determinado o peso seco e a moagem para quantificação da concentração de silício nestas.

Para a quantificação do silício nas plantas foi pesado 0,1 g das amostras moídas, acondicionadas em tubos de polietileno, aos quais foram adicionados 2,0 mL de 30% (v/v)  $\text{H}_2\text{O}_2$  e 3,0 mL de NaOH ( $25 \text{ mol L}^{-1}$ ). Estes tubos foram levados à autoclave por 1 hora a  $123^\circ\text{C}$  e 0,15 MPa para digestão, com o digerido diluído para 50 mL com água mili-Q, do qual foi retirada uma alíquota de 1,0 mL, que foi novamente diluída em 20 mL com água mili-Q. A concentração de silício, no extrato das amostras e nas amostras das soluções nutritivas, foi determinada por método espectrofotométrico (CARNEIRO et al., 2007) com leitura a 410 nm da cor amarela do ácido molibdosilícico formado após reação entre silício e molibdato de amônio em meio ácido com HCl ( $14 \text{ mol L}^{-1}$ ) (KORNDORFER et al., 2004).

Para as análises estatísticas foi aplicado o programa estatístico SAS (Statistical Analysis System) com o teste de comparação de média (Tukey  $p < 0,05$ ) utilizando como variável (parcela) a concentração e o acúmulo de silício nas plantas retiradas da solução aos 30, 45 e 60 dias, que consistiram na época de amostragem, sendo o fator subparcela. O silício

remanescente na solução nutritiva, ou seja, o estimado absorvido foi testado em função dos dias de cultivo em por equações com graus de regressão polinomial de até terceiro grau.

### 3.3 Resultados e discussão

A produção de matéria seca total foi influenciada pela aplicação de silício, de forma significativa para as plantas de arroz e de trigo e não significativa para as plantas de feijão e de soja (Figura 3.1). A produção de matéria seca total foi maior na cultura do arroz e do trigo, e isso foi enfatizado pela aplicação de silício. O efeito do silício no aumento das plantas de arroz e trigo já era esperado visto que, estas espécies são acumuladoras de silício e tem respostas imediatas a aplicação deste elemento, com uma absorção ativa do mesmo (RAFI; EPSTEIN, 1999). Para estas espécies o silício pode levar a melhoria no desenvolvimento vegetal por levar a um aumento da taxa fotossintética e da translocação de carbono para as partes vegetativas da planta, aumento da eficiência de uso de água e melhorara a utilização de P atribuída (MA; TAKAHASHI, 1990; SAVANT et al., 1997; KORNDÖRFER et al., 1999; DATNOFF et al., 2007; JARVIS, 1987; CASEY et al., 2003; GUÉVEL; MENZIES; BÉLANGER, 2007; BÉLANGER; BENHAMOU; MENZIES, 2003) ou ainda por uma melhor nutrição, aumentando produção de carboidratos, teor de clorofila, diminuição da transpiração (MA et al., 2001).

A maior produção de matéria seca nas plantas de arroz e trigo em relação às plantas de feijão e soja pode ser relacionada o fato das primeiras terem metabolismo do carbono  $C_4$  e as segundas terem metabolismos  $C_3$ . As plantas  $C_4$  são mais eficientes na utilização e captura do  $CO_2$  e o aproveitamento do nitrogênio na produção de matéria seca pelas  $C_4$  é duas vezes maior do que para as  $C_3$ . As  $C_4$  fazem a fotossíntese de forma mais eficiente e usam seu produtos mais prontamente (FERRI, 1985). Desta forma plantas  $C_4$ , o arroz e trigo, conseguiram produzir mais matéria seca do que as  $C_3$ , feijão e soja. O efeito do silício para o aumento na produção de matéria seca para estas plantas  $C_4$  pode estar relacionado, com o fato da assimilação de carbono já ter sido comprovada ter ligação com o silício acumulado e com uso eficiente da água (WALKER; LANCE, 1991), ou seja a planta que tem mais eficiência de utilização do carbono poderia ter também maior eficiência em acumular silício. Isto pode se tornar mais claro partindo da prerrogativa que o silício quando é absorvido se deposita nas células combinado com compostos orgânicos, como celulose e hemicelulose (YOSHIDA; OHNISHI; KITAGISHI, 1962; EPSTEIN, 1999; MA et al., 2001). Uma evidencia dessa relação pode ser pelo fato de que as plantas  $C_4$  são evolutivamente mais adaptadas, que

conseguem sobreviver em condições adversas e assim preservam-se ao longo da evolução vegetal e o acúmulo de silício é inferido como caractere que foi preservado na filogenia das espécies vegetais (MA et al., 2001; HODSON, et al., 2005).

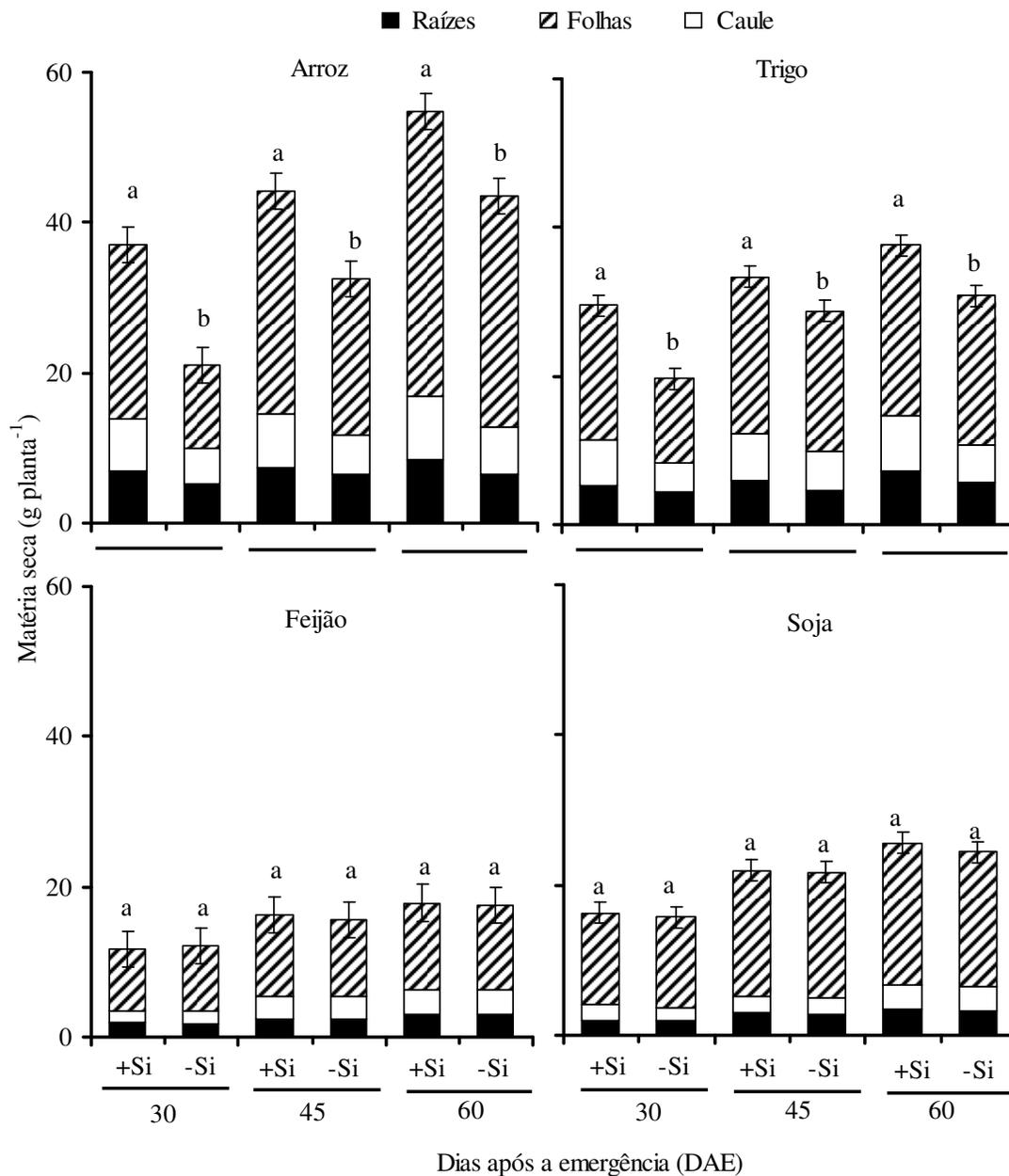


Figura 3.1 - Produção de matéria seca das folhas, caule e raízes das plantas de arroz, trigo, feijão e soja cultivados em solução nutritiva, na presença de silício (+Si) e na ausência de silício (-Si). \*Médias seguidas de letras minúsculas distintas entre si, diferem pelo teste de Tukey (p < 0,05).

Outra relação entre a produção de matéria seca e a maior absorção de silício é o fato de que as gramíneas C<sub>4</sub> têm depósito de sílica nas células buliformes e células fundamentais da

epiderme, já nas gramíneas  $C_3$  os depósitos de silício ocorrem com maiores frequências nos tricomas, (KAUFMAN et al., 1985; LANNING; ELEUTERIUS, 1989), podendo ter uma relação da função do silício nestas plantas, como defesa física a perda de água e ataque de pragas ou mesmo na captura de luz para a fotossíntese.

As diferentes épocas de amostragem mostram que as plantas estavam em plena produção da matéria seca, sendo gradativo esses aumentos dos 30 aos 60 dias de cultivo. O período de coleta aos 60 dias foi determinado pelo fato de que após esse período as plantas tendem a cessar a extração de nutriente do substrato e utilizar aqueles já acumulados para a produção de grãos e matéria seca. Isto foi observado em plantas jovens de trigo para micronutrientes e metais pesados (PAGE; FELLER, 2005; RIESEN; FELLER, 2005), com concentrações altas no começo de desenvolvimento das plantas (jovem em estágios imaturos) e concentrações reduzidas com o amadurecimento, principalmente das raízes (PAGE et al., 2006). Para arroz foi verificado na marcha de absorção que após 75 dias ocorria estabilização do acúmulo, formando a uma curva sigmóide de acúmulo em relação ao tempo de exposição ao silício (MAUAD, 2006), considerando os ciclos mais curto de feijão, soja e trigo este pico de acúmulo pode ocorrer antes desse tempo.

A quantidade de silício extraída da solução nutritiva durante os 60 dias de experimento resultou na estimativa da construção da marcha de absorção de silício, pela quantidade restante daquela inicialmente disponível. As espécies em questão apresentaram diferenças entre os padrões de absorção. As espécies consideradas acumuladoras de silício, arroz e trigo, apresentaram semelhanças na extração, assim como as plantas de feijão e soja, não acumuladoras de silício (Figura 3.2).

As culturas do arroz e do trigo extraíram e acumularam mais silício do que as culturas da soja e do feijão. As plantas de arroz absorveram cerca de 5% do silício disponível, na primeira semana de cultivo, porém no final do cultivo a extração foi de 90% do silício disponível na solução nutritiva. Já as plantas de trigo absorveram 16% do silício na primeira semana e no final do cultivo extraiu 60% do disponível. Estes resultados demonstram que as plantas de trigo absorveram prontamente o silício adicionado na solução, o que concorda com os resultados Rafi e Epstein (1999), que verificaram uma absorção ativa de silício após 10 minutos em exposição à solução contendo  $0,9 \text{ mmol L}^{-1}$  de silício. Após o período de 20 dias de cultivo o arroz passou a acumular mais silício na planta do que o trigo. Ao final dos 60 dias o acúmulo de silício chegou a 114 e 84 mg de silício por planta de arroz e trigo, respectivamente.

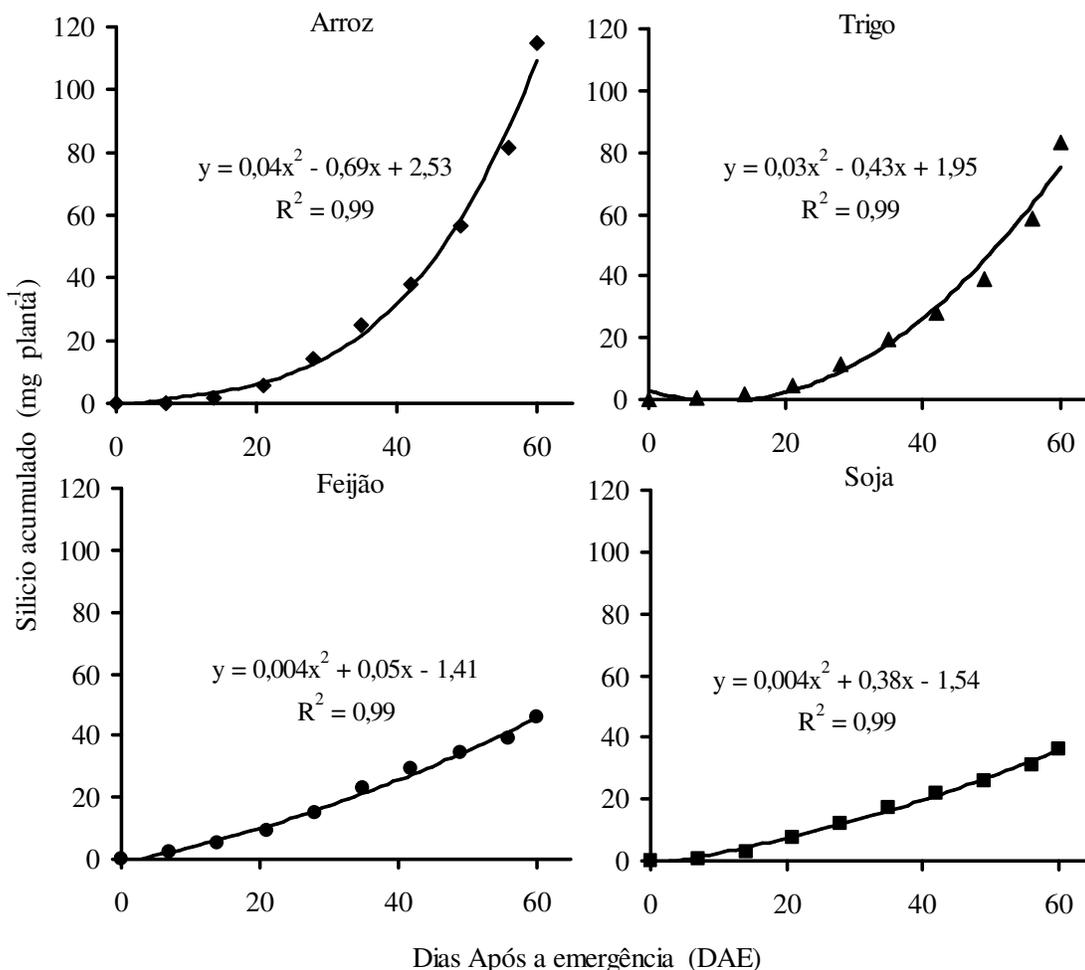


Figura 3.2 - Estimativa do acúmulo de silício pelas plantas de arroz, trigo, feijão e soja ao longo dos 60 dias de cultivo em solução nutritiva contendo  $0,9 \text{ mmol L}^{-1}$  de silício.

Mesmo nas espécies não acumuladoras de silício, como o feijão e soja a concentração de silício foi aumentada pela aplicação deste elemento na solução nutritiva. As plantas de feijão e da soja apresentaram semelhante taxa de absorção de silício, com diminuição na percentagem de absorção em função do tempo de exposição ao silício, ou seja, os dias após a emergência (DAE). As plantas de feijão absorveram prontamente e de forma rápida o silício disponível na solução nutritiva, com uma extração de 62% do total disponível, na primeira semana de cultivo. Aos 60 dias de cultivo esse valor chegou a 15% do total disponível, mostrando que para esta cultura a absorção de silício ocorre de forma mais intensa nos primeiros dias de desenvolvimento da planta. As plantas de soja apresentaram semelhante extração àquelas do feijão, porém a absorção foi menor, com a extração de 53% do silício

disponível, na primeira semana e no final do cultivo de 20%, mostrando também uma absorção maior no início do desenvolvimento das plantas.

A marcha de absorção de silício já foi descrita para arroz, com um acúmulo crescente de silício nas plantas após 20 dias de cultivo com tendência crescente até os 75 dias no qual o acúmulo se estabiliza, formando uma curva sigmóide de acúmulo deste elemento (MAUAD, 2006). Esta tendência de deposição e acúmulo de silício está diretamente relacionada com o aumento da produção de matéria seca. Para as plantas de arroz já foi demonstrado que transporte radial de silício, mediado por transportadores, que garantem velocidade de absorção ( $V_{max}$ ) de  $34,5 \text{ ng root}^{-1} \text{ 8 h}^{-1}$ , de silício, porém ocorre saturação dos transportadores após 10 horas de exposição à solução com silício (MITANI; MA, 2005).

Com o objetivo de verificar a extração de silício, foram determinadas as concentrações de silício nas plantas, aos 30; 45 e 60 dias de desenvolvimento. As concentrações de silício na parte aérea e nas raízes mostraram diferença quanto à concentração em cada parte da planta, ou seja, na distribuição de silício nas plantas. No arroz e trigo, acumuladoras de silício, houve maior concentração na parte aérea, já no feijão e na soja a concentração foi maior nas raízes (Tabela 3.1). As concentrações de silício nas plantas testemunhas foram muito pequenas não sendo detectadas pelo método analítico empregado. Consideram-se valores pequenos, pois a ausência total de silício é impossível, visto que o silício é o segundo elemento mais abundante da crosta terrestre, podendo ser encontrado até mesmo no ar atmosférico (EPSTEIN, 1994).

Os resultados relativos à concentração de silício, na parte aérea e raízes, mostraram que para todas as espécies, aos 60 dias de cultivo, as plantas concentraram mais silício. A maior concentração, na parte aérea, foi observada nas plantas de arroz, seguida por trigo, feijão e soja. Nas raízes, as plantas de feijão apresentaram maior concentração, seguida pela soja, trigo e arroz. Estas diferenças de distribuição do silício dentro da planta podem estar relacionadas com a forma de absorção e transporte destas espécies. O arroz e trigo absorvem silício ativamente, com eficiente absorção e transporte das raízes para a parte aérea sendo que, desta forma, a concentração nas raízes é menor e, maior na parte aérea das plantas. Já para as plantas de soja e feijão a absorção de silício ocorre de forma passiva e com exclusão do silício (TAKAHASHI; MA; MIYAKE, 1990), sendo que neste trabalho a concentração foi maior nas raízes. O acúmulo de silício já foi reportado na endoderme das raízes de trigo (SANGSTER; HODSON; TUBB, 2001), o que explica a maior concentração de silício nas raízes de trigo do que nas de arroz neste experimento.

Tabela 3.1 - Concentração de silício na parte aérea (folha e caule) e nas raízes das plantas de arroz, trigo, feijão e soja, cultivadas em solução nutritiva contendo  $0,9 \text{ mmol L}^{-1}$  de silício. \*Médias seguidas de letras minúsculas distintas entre si, diferem pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

	Arroz	Trigo	Feijão	Soja
	----- Silício ( $\text{g kg}^{-1}$ ) -----			
	Parte aérea			
30	0,6 c	0,9 c	1,3 b	0,8 b
45	1,9 b	1,6 b	1,7 b	1,2 ab
60	3,7 a	3,2 c	2,4 a	1,6 a
	Raízes			
30	0,1 a	0,2 b	0,3 c	0,9 b
45	0,1 a	0,3 a	1,0 b	0,6 b
60	0,2 a	0,3 a	1,2 a	0,7 b

Nota-se uma baixa concentração de silício em todas as espécies, principalmente no arroz e no trigo, que como acumuladoras, geralmente apresentam concentração superior a  $10 \text{ g kg}^{-1}$ . Esta baixa concentração nas plantas pode ser atribuída a reduzida quantidade de silício disponibilizada na solução nutritiva ( $0,9 \text{ mmol L}^{-1}$ ). Pois a quantidade de silício que é depositada na matéria seca questão depende da quantidade de ácido de monossilícico disponível no substrato, além de depender também das condições de transpiração (RAVEN, 2003).

Plantas exclusoras de silício são capazes de aumentar a concentração deste elemento nas raízes (SANGSTER; PARRY, 1999), depositando mais de 80% do silício absorvido nas paredes celulares das raízes (HEINE et al., 2005). A absorção de silício pelas raízes de feijão e soja é feita basicamente por difusão, com passagem do ácido monossilícico de uma solução mais concentrada para uma menos concentrada, com transporte via xilema para a parte aérea. Nesse trajeto, o silício pode ser retido pela camada de suberina presente na endoderme, o que caracteriza estas plantas como exclusoras de silício (RAVEN, 2001). A restrição ao transporte, por simplasto ou apoplasto, pelo córtex de raízes pode ser feito também por transportador silício responsável pelo efluxo de silício (NIKOLIC et al., 2007). Para a cultura da soja já foi verificado que o transporte de silício das raízes para a parte aérea, ocorre até a concentração de  $30 \text{ mg kg}^{-1}$  de silício, a partir do qual o elemento é acumulado nas raízes (GROTHGE-LIMA, 1998).

O acúmulo de silício nas raízes e parte aérea das plantas de arroz, trigo, feijão e soja coletadas aos 30, 45 e 60 dias e submetidas às análises espectrofotométricas está apresentado

na figura 3.3. Os valores detectados nas plantas foram ligeiramente menores aos estimados, pelo calculo da extração de silício da solução nutritiva. Isto pode ser explicado pelo fato de que perdas durante o manuseio da solução podem ter ocorrido, como por exemplo, queda de parte da solução, ou contaminação com fontes externas de silício, como a água utilizada e o ar atmosférico.

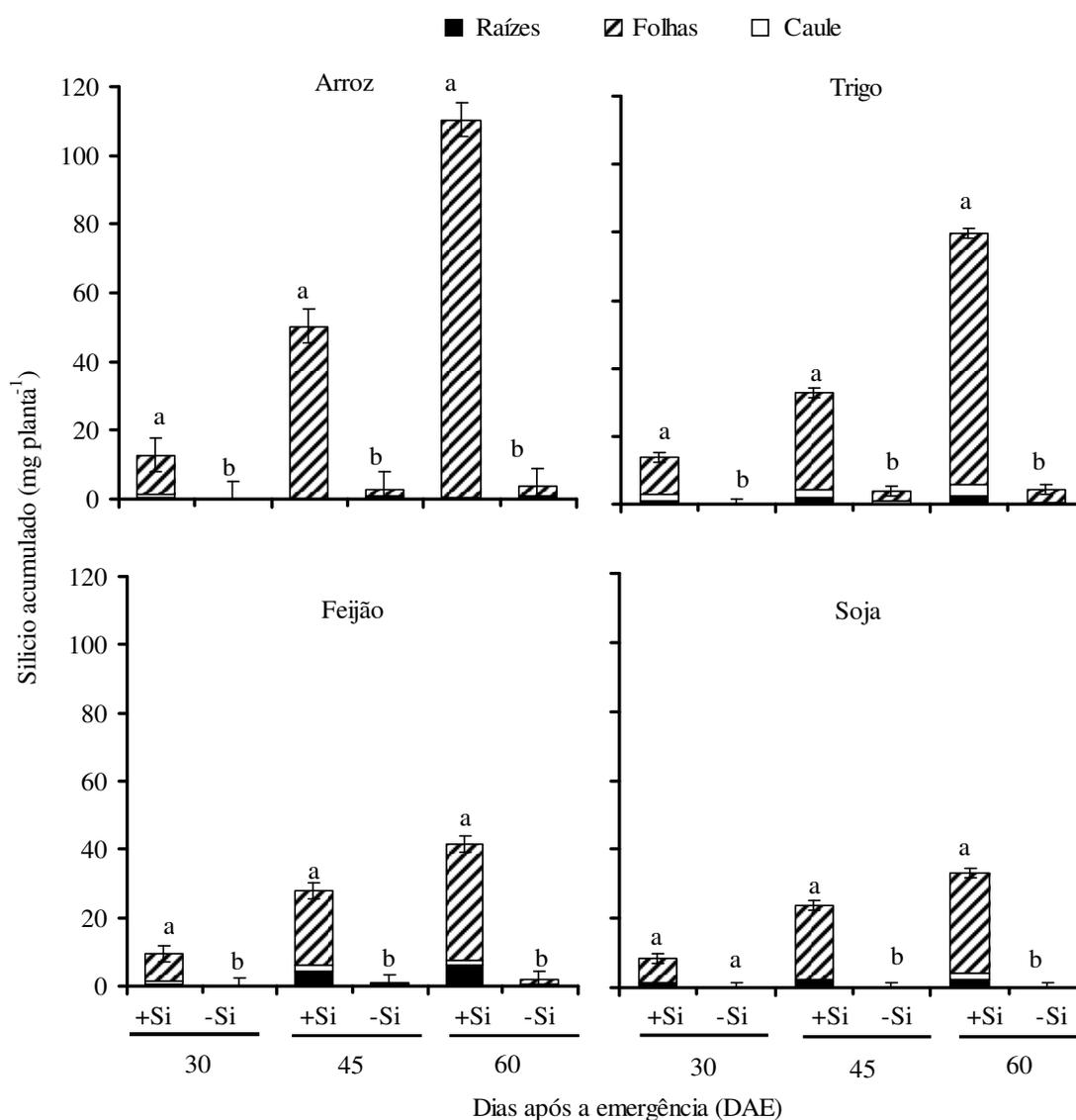


Figura 3.3 - Quantidade de silício acumulada nas folhas, caule e raízes das plantas de arroz, trigo, feijão e soja, em três períodos de amostragem (30, 45 e 60 dias após a emergência), na presença de silício (+Si) e na ausência de silício (-Si). \*Médias seguidas de letras minúsculas distintas entre si, diferem pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

As plantas de feijão e soja apresentaram semelhante acúmulo de silício, e tal como no arroz e no trigo, observou-se aumento no acúmulo de silício proporcional ao desenvolvimento

da planta, devido ao incremento na produção de matéria seca. Como a produção de matéria seca está relacionada ao metabolismo de assimilação do carbono, o acúmulo de silício também pode ser relacionado à melhor eficiência das plantas C<sub>4</sub> (arroz e trigo) na captura do CO<sub>2</sub> e aproveitamento do nitrogênio (FERRI, 1985). Desta forma, as plantas C<sub>4</sub> produziram maior quantidade de matéria seca do que as plantas C<sub>3</sub> e, conseqüentemente, extraíram mais silício do meio de cultivo. Além de que, o acúmulo de silício em plantas apresenta relação positiva com o aumento da eficiência de uso da água (WALKER; LANCE, 1991) e, com a taxa de fotossíntese (EPSTEIN, 1999), sendo que todos esses fatos podem favorecer a absorção de silício e produção de biomassa, como conseqüência do acúmulo de deste elemento.

O acúmulo de silício pode não estar ligado somente à produção de matéria seca, por apresentar relação direta com processos fisiológicos ativos das plantas, como perda de água e injúrias biológicas ou químicas (MOTOMURA et al., 2002). Segundo esses mesmos autores a curva sigmóide pode ser repetida muitas vezes ao longo da vida de plantas perenes, como o bambu, ao longo das estações do ano, ou seja, o acúmulo de silício é dependente de condições climáticas como umidade e temperatura e, também por ser um mecanismo de ação contra estresse pela perda de água. Considerando essa prerrogativa, as plantas de arroz e feijão podem ter extraído mais silício da solução nutritiva porque os experimentos com estas espécies foram conduzidos no verão com temperaturas médias de 35°C no interior da casa de vegetação. Já para o trigo e a soja o experimento foi conduzido no período de inverno, como temperaturas médias de 20°C no interior da casa de vegetação. Assim, a perda de água por transpiração pode ter influenciado os diferentes padrões de acúmulo de silício.

A distribuição de silício foi diferente entre as espécies estudadas. Do total de silício absorvido pelo arroz e o trigo, 1,5 e 2,8% estavam acumulados nas raízes, respectivamente. Na parte aérea destas espécies, o acúmulo foi de 98 e 97%, para arroz e trigo, respectivamente. Desta forma, estas espécies apresentaram maior acúmulo na parte aérea, evidenciando o eficiente transporte do elemento das raízes até a parte aérea. Essa eficiência de transporte se deve ao fato de que o transporte de silício nestas plantas é feito de forma eficiente, através do xilema na forma de ácido monossilícico (MITANI; MA; IWASHITA 2005; CASEY et al.2003).

As espécies não acumuladoras, feijão e soja, apresentaram acúmulo de silício nas raízes de 12 e 8% e, na parte aérea, 88 e 92%, respectivamente. O acúmulo de silício em raízes já foi reportado nas plantas de trigo, sorgo e soja (SANGSTER; PARRY, 1999;

GROTHGE–LIMA, 1998). Os resultados do experimento mostraram que feijão e soja se enquadram no grupo das espécies excludoras de silício pelo alto acúmulo deste elemento nas raízes, podendo haver depósitos nas paredes celulares das células radiculares, ou até mesmo no citoplasma, conforme já descrito por Heine et al. (2005).

### **3.4 Conclusões**

As espécies acumuladoras de silício, o arroz e trigo, possuem absorção crescente proporcional ao desenvolvimento das plantas, já as espécies não acumuladoras de silício, feijão e soja, absorvem mais silício no início de seu desenvolvimento. A proporção relativa entre o silício acumulado na parte aérea e nas raízes das plantas acumuladoras de silício é maior quando comparada com as não acumuladoras.

## 4 MOBILIDADE DE SILÍCIO EM PLANTAS DE ARROZ E DE FEIJÃO

### RESUMO

A maior parte do silício absorvido pelas raízes das plantas é depositada nestas na forma de sílica amorfa que é combinada a compostos orgânicos como a celulose, podendo tornar o silício um elemento imóvel nas plantas. Porém essa imobilidade, que leva à não redistribuição de silício de uma parte velha das plantas para uma parte nova, é ainda questionada. O uso de isótopos estáveis de silício pode determinar e até mesmo quantificar o processo de redistribuição de silício nas plantas. Desta forma, para verificar a redistribuição silício em plantas de arroz e feijão, foi utilizado como ferramenta, o isótopo estável de silício ( $^{30}\text{Si}$ ). O experimento com estas duas espécies vegetais foi instalado em casa de vegetação, aplicando-se  $0,9 \text{ mmol L}^{-1}$  de silício a solução nutritiva, que foram obtidos pela dissociação do silicato de sódio natural com composição isotópica natural e silicato de sódio com 12% em átomos de  $^{30}\text{Si}$ , mantendo-se o tratamento testemunha, sem adição de silício. As plantas foram cultivadas na solução com silício por um período de 30 dias e logo após este período o silício foi retirado do meio de cultivo, sendo as plantas mantidas por mais 30 dias no meio de cultivo sem aplicação de silício. As folhas produzidas durante o período de aplicação da solução com silício foram consideradas como folhas velhas e, as folhas produzidas após a retirada da solução de silício foram consideradas como folhas novas. As quantidades acumuladas de silício por planta não diferiu entre as duas formas de silicato aplicadas, com praticamente todo o silício sendo encontrado nas folhas velhas, as quais acumularam em arroz, 400 mg por planta e no feijão 45 mg por planta, não sendo detectado silício nas folhas novas e nem raízes. As folhas velhas mostraram alteração isotópica pelo composto marcado, aumentando abundância do silício na massa 30, de 3,2% de  $^{30}\text{Si}$  oriundo do silicato natural para 8,0% de  $^{30}\text{Si}$  oriundo do silicato com 12% em átomos de  $^{30}\text{Si}$ . Nas plantas de feijão essa diferença foi de 3,1% de  $^{30}\text{Si}$  do silicato natural para 7,8 % de  $^{30}\text{Si}$  do silicato com 12% em átomos de  $^{30}\text{Si}$ . Nas folhas novas não foi verificado nenhuma forma de alteração isotópica ou mesmo deposição e/ou acúmulo de silício. Nas condições experimentais apresentadas, os resultados mostram que, uma vez depositado nos tecidos das folhas velhas das plantas de arroz e de feijão, o silício é imobilizado e não é redistribuído para as folhas novas, concluindo assim que, a redistribuição de silício em plantas de arroz e de feijão não ocorre.

Palavras-chave: Isótopos estáveis. Determinação isotópica. Compostos enriquecidos. Elemento imóvel

## MOBILITY OF THE SILICON IN PLANTS OF THE RICE AND BEAN

### ABSTRACT

Most of the silicon that is uptake by the roots is placed in the plants as amorphous silica combined to organic compounds as celluloses that can immobilize silicon inside the plants. Although this immobility, that leads to no redistribution of silicon from an older part to a newer part of plants is still questionable. The utilization of silicon stable isotopes can determine and, even, quantify the process of silicon redistribution inside the plants. Thus, the stable isotope of silicon ( $^{30}\text{Si}$ ) was utilized as a tool to check redistribution of silicon in plants of rice and beans. The experiment, with these two species, was carried out in a greenhouse, adding  $0.9 \text{ mmol L}^{-1}$  of silicon which was obtained by the dissociation of natural sodium silicate with natural isotopic composition and sodium silicate with 12% of  $^{30}\text{Si}$  atoms, with a check without any silicon. Plants were cultivated in a solution with silicon for 30 days and right after this period silicon was taken out of the environment, cultivating the plants for another 30 days without supplying any silicon. The leaves produced during the period that silicon was supplied to the nutrient solution were considered as older leaves and the ones produced after the silicon was taken out of the nutrient solution were considered as newer leaves. The amount of silicon accumulated per plant was the same among both silicon sources supplied and, basically, all the silicon was found in the older leaves that accumulate 400 g per plant in rice and 45 mg in beans and, silicon was not detected in newer leaves as well as in the roots. The older leaves shown isotopic alteration by the marked compound, increasing the abundance of silicon at the 30 mass, from 3.2% of  $^{30}\text{Si}$  from the natural silicate to 8.0% of  $^{30}\text{Si}$  from the silicate with 12% of  $^{30}\text{Si}$  in excess. In plants of beans was 3.1% of  $^{30}\text{Si}$  of the natural to 7.8% of the  $^{30}\text{Si}$  enriched 12% compound. In the newer leaves no isotopic alteration or even deposit or accumulation of silicon was verified. At the present experimental conditions, the results had showed that, once the silicon is deposited in the older leaves of rice and beans plants, this element is immobilized and not redistributed to the newer leaves. The results shown that, there is no redistribution of silicon in plants of rice and beans.

Keywords: Stable isotope. Isotopic determination. Silicate labeled. Imobily element.

## 4.1 Introdução

O silício é um importante elemento para o desenvolvimento das plantas e sua presença tem sido relacionada à resistência das plantas em condições de estresse biótico e abiótico (EPSTEIN, 1999; MA et al., 2004b). Os efeitos benéficos do silício estão principalmente associados a sua deposição nos tecidos das plantas, melhorando a força e rigidez dos tecidos vegetais (SAVANT et al., 1997). Além desse efeito mecânico, não depositado, ou seja, o silício solúvel desempenha importante função na ativação de defesas químicas contra doenças através do estímulo de mecanismos de reação das fitoalexinas e fenóis (RODRIGUES et al., 2004; BÉLANGER; BENHAMOU; MÉNZIES, 2003), assim como no estímulo à ação de enzimas envolvidas no metabolismo do fósforo (YOSHIDA; OHNISHI; KITAGISHI, 1962).

A deposição e acúmulo de silício são diferentes entre as espécies de plantas devido às diferenças nos padrões de absorção de silício pelas raízes (MA; YAMAJI, 2006). De acordo com Takahashi, Ma e Miyake et al. (1990), existem três diferentes modos de absorção de silício pelas plantas: ativo, passivo e absorção exclusora, quando expostas a solução contendo silício. Plantas de absorção ativa tendem a causar a depleção de silício na solução nutritiva e são conhecidas como plantas acumuladoras de silício. Por outro lado, plantas exclusoras tendem a exsudar silício, aumentando assim a concentração de silício na solução, e são consideradas não-acumuladoras de silício.

As raízes das plantas absorvem silício na forma de ácido monossilícico ( $H_4SiO_4$ ), por difusão, por fluxo de massa ou pela participação de transportadores de membrana (RAVEN, 2001), os quais são sinalizados por genes específicos (MA et al., 2006; 2007). Após a absorção o ácido monossilícico é transportado até a parte aérea pelo xilema. Nas folhas, principalmente, o silício se deposita na forma de sílica ( $SiO_2 \cdot nH_2O$ ) ou, em plantas que possuem alta concentração de sílica, pode ocorrer a formação de polímeros de silício (KAUFMAN et al., 1985; SANGSTER; HODSON; TUBB, 2001; NEUMANN; FIGUEIREDO, 2002). Esta forma de deposição ocorre para 99% do total de silício absorvido e cutícula e menos de 1% ainda se encontram na forma solúvel (MA; MIYAKE; TAKAHASHI, 2001). Ding et al. (2005) deduziu que o processo de transpiração é a força responsável pelo fluxo ascendente da solução com silício. Porém atualmente se reconhece que esse transporte pode estar relacionado também com mecanismos de defesa das plantas, contra algum e estresse (BÉLANGER; BENHAMOU; MENZIES, 2003; CURRIE; PERRY, 2007).

As plantas de arroz têm sido usadas como um modelo para estudos envolvendo a nutrição de silício em plantas (DATNOFF, 2007). Em estudo visando caracterizar sintomas de deficiência de silício, foi observado que a produção de arroz em ambiente de solução nutritiva com a falta de silício, ocorre redução da área foliar, murcha de folhas, diminuição da biomassa e produção de grãos (MA; TAKAHASHI, 2002). Para as plantas de arroz o suprimento de silício proporciona maior eficiência na fotossíntese, maior translocação de carbono para as partes jovens e aumento da eficiência do uso de água (SAVANT et al., 1997; KORNDÖRFER et al., 1999; DATNOFF et al., 2007).

As plantas de feijão é uma espécie não acumuladora de silício. Entretanto, o aumento da disponibilidade de silício no solo aumenta sua produtividade (MA et al., 2001), pelo fato do silício conferir redução de doenças causadas por fungos e bactérias (MORAES et al., 2006; HAMMERSCHMIDT, 2005a) e diminuir a toxidez de alguns elementos potencialmente tóxicos (HORST; MARSCHNER, 1978).

A redistribuição de silício nas plantas não deve ocorrer ou, se ocorrer deve ser muito baixa (JONES; HANDRECK, 1967; LEWIN; REIMAN, 1969; BALASTRA et al., 1989; MA et al., 2001; MALAVOLTA, 2006). Sendo que redistribuição quer dizer, movimento do elemento de um local de residência para outro órgão que funciona como dreno, podendo ser uma folha, um ramo novo, um fruto ou uma raiz nova (MALAVOLTA, 2006). O processo de redistribuição tem ligação direta com a mobilidade dos elementos pelo floema, com evidências que sugerem a translocação de solutos pelo floema (HOCKING, 1980). Essa mobilidade está relacionada ao desenvolvimento vegetal, com concentrações altas em plantas jovens, em estágios imaturos e redução no amadurecimento (PAGE et al., 2006).

A mobilidade do silício em plantas tem sido estudada através da análise de silício em diferentes partes e posições das folhas (YOSHIDA; OHNISHI; KITAGISHI, 1962; FOX et al., 1969). Para a cana de açúcar a maior concentração de silício, total e solúvel, foi encontrada na bainha do que na lamina foliar, com o silício solúvel presente em folhas maduras, caracterizando o silício como “quase insolúvel” (FOX et al., 1969). De acordo com Jarvis (1987), como o silício está depositado na forma sílica amorfa hidratada ( $\text{SiO}_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ ), sua resolubilização e mobilidade dentro da planta são muito mais dificultados. Desta forma, ficam claras as controvérsias que existem entre o processo de redistribuição de silício na nutrição de plantas. Sendo que, a ocorrência de redistribuição seria importante para garantir o papel do silício solúvel como elemento benéfico contra ataques de pragas e doenças e adversidades climáticas. A mobilidade de silício tem implicações fisiológicas fundamentais concernentes a

redistribuição de silício dentro da planta, assim como implicações práticas para aplicação de silicato no controle de doenças e outras condições de estresse fisiológico. O que pode implicar na necessidade de se fazer aplicações periódicas de silício para ter o efeito benéfico do silício solúvel.

Para esclarecer se existe ou não redistribuição de silício nas plantas, a aplicação da técnica isotópica, pode caracterizar de forma exata e precisa este processo, pela determinação da razão isotópica alterada em função do enriquecimento do  $^{30}\text{Si}$ . Sendo que os isótopos estáveis de silício são:  $^{28}\text{Si}$ ,  $^{29}\text{Si}$  e  $^{30}\text{Si}$ , os quais têm abundâncias relativas de 92,22%, 4,69% e 3,09% respectivamente (DE LAETER et al., 2003). Estes isótopos foram utilizados para caracterizar o fracionamento do isótopo natural de silício em arroz (SUN et al., 2008), bambu (DING et al., 2008) e banana (OPFERGELT et al., 2006a;b). Para as plantas de arroz o padrão de fracionamento é o mesmo estabelecido para a banana e bambu com um enriquecimento do  $\delta^{30}\text{Si}$  nas raízes ( $\delta^{30}\text{Si}$  -0,44 ‰) em relação à parte aérea ( $\delta^{30}\text{Si}$  -0,02 ‰), onde ocorre a perda de água e deposição de silício. As variações isotópicas descritas podem ser explicadas pelo princípio de fracionamento isotópico cinético, com  $^{28}\text{Si}(\text{OH})_4$  tendendo a precipitar-se preferencialmente originando uma solução residual enriquecida com  $^{30}\text{Si}(\text{OH})_4$ , como já observado nos sistemas terrestres do ciclo do silício (DOELSCH, 2006).

A possibilidade que haja redistribuição de silício, de uma parte velha para uma parte nova das plantas, ainda é um fato a ser verificado. Neste sentido a aplicação de isótopos estáveis de silício e o uso de ferramentas analíticas eficientes, como análise por espectrômetro de massa de razão isotópica (IRMS), a qual tem capacidade de determinação de pequenas variações de abundância isotópica, podem definir de forma precisa a redistribuição de silício em plantas. Desta forma, essa ferramenta foi utilizada nesse trabalho, que teve como objetivo verificar a redistribuição de silício em plantas de arroz e feijão.

## 4.2 Material e métodos

A condução do experimento foi em condições de casa de vegetação entre o período de maio a julho de 2007, em Piracicaba (SP). Primeiramente, sementes de arroz (*Oryza sativa* L. cv. IAC-202) e feijão (*Phaseolus vulgaris* L. cv. IPR Colibri) foram semeadas em bandejas plásticas com areia lavadas. Uma semana após a emergência duas plântulas foram transferidas para a solução nutritiva. Concentração em mmol L<sup>-1</sup>: 16000 de N e 6000 de K (KNO<sub>3</sub>); 4000 de Ca [Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>.4H<sub>2</sub>O]; 2000 de P (NH<sub>4</sub>H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>); 1000 de S e 1000 de Mg (MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O); 50 de Cl (KCl), 25 de B (H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>); 2,0 de Mn (MnSO<sub>4</sub>.H<sub>2</sub>O); 2,0 de Zn (ZnSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O); 0,5 de

Cu (CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O); 0,5 de Mo (H<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub>) e 20 de Fe (Fe-EDTA) (JOHNSON et al., 1957). A esta solução inicial foram adicionados os tratamentos com 1,8 mmol L<sup>-1</sup> de silício. A fonte de silício usada foi silicato de sódio, natural e enriquecido com isótopo da massa 30 de silício. Juntamente com esses tratamentos foram mantidas as parcelas com tratamento sem silício. Esses tratamentos foram arrançados em um delineamento experimental inteiramente casualizado com quatro repetições. O pH da solução nutritiva foi aferido com HCl para acidificar ou NaOH para alcalinizar, objetivando o pH de 6,5 e condutividade elétrica de 2,5 mS cm<sup>-1</sup>, os quais foram monitorados nas parcelas durante todo o período de condução do experimento.

Os silicatos adicionados à solução nutritiva foram obtidos por fusão alcalina. O SiO<sub>2</sub>, tanto o natural, quanto o enriquecido, foram misturado ao carbonato de sódio e fundido em cadinhos de platina a 1000°C. A massa fundida de cada silicato foi dissolvida em água e a solução obtida com silício solúvel foi adicionada à solução nutritiva (CARNEIRO et al., 2007).

A quantidade de SiO<sub>2</sub> enriquecido utilizado na fusão alcalina (<sup>30</sup>Si<sub>e</sub>) foi calculada com base na Eq. 1. A solução nutritiva marcada foi preparada para alcançar o enriquecimento de 12,0% de átomos em excesso do isótopo <sup>30</sup>Si. Dióxido de silício altamente enriquecido em <sup>30</sup>Si (99,28%) foi adquirido do Cambridge Isotope Laboratories, Inc. (Andover, England).

$$Si_t *^{30} Si_n + ^{30} SiO_2 *^{30} Si_e = (Si_n + ^{30} Si_e) *^{30} Si_t \quad (\text{Eq. 1})$$

Onde: Si<sub>t</sub> = quantidade total de silício na solução nutritiva (mg L<sup>-1</sup>); <sup>30</sup>Si<sub>n</sub> = abundância isotópica natural de <sup>30</sup>Si (3,092% de átomos); <sup>30</sup>SiO<sub>2</sub> = quantidades do composto enriquecido (mg); <sup>30</sup>Si<sub>e</sub> = abundância isotópica de <sup>30</sup>Si no composto enriquecido (99,28% de átomos de silício na massa 30); <sup>30</sup>Si<sub>t</sub> = abundância isotópica teórica de <sup>30</sup>Si (12,0% de átomos em excesso de <sup>30</sup>Si).

Os tratamentos com o silicato com 12% em átomos de <sup>30</sup>Si foram previamente tratados com a adição de silicato com abundância natural na solução nutritiva. Isto foi executado durante uma semana para as plantas de feijão, na qual recebeu a solução nutritiva com metade da sua concentração (força osmótica). Já para a cultura de arroz, as plantas foram tratadas com silicato com abundância natural por três semanas. Este procedimento foi adotado porque a cultura de feijão tem uma absorção de silício preferencial nas primeiras semanas de desenvolvimento, já as plantas de arroz absorvem mais silício com o aumento da produção de

massa seca, como mostrado no primeiro capítulo. Assim a aplicação do silicato com 12% em átomos de  $^{30}\text{Si}$  foi feita primeiramente nas plantas de feijão e depois nas de arroz. Sendo as plantas de feijão ficaram na solução com silicato com 12% em átomos de  $^{30}\text{Si}$  por um período de 30 dias, repondo apenas a solução básica de nutrientes, já as plantas de arroz ficaram 15 dias expostas a essa solução. Depois desse tempo de suprimento do silicato com 12% em átomos de  $^{30}\text{Si}$  e silicato natural, todas as soluções nutritivas foram trocadas abstraindo-se o silício do meio de cultivo.

Com a retirada da solução contendo silício, todas as folhas já formadas foram identificadas, com tinta de caneta (Figura 4.1). Este procedimento visava marcar as “folhas velhas”, que correspondiam às folhas formadas durante a exposição nas soluções com silício, e aquelas formadas depois da retirada da solução eram as “folhas novas”. Desta forma, fazendo a análise isotópica de ambas poderia ser determinar a redistribuição de silício de um local de alocação, as folhas velhas, que serviram como fonte de silício para as folhas novas.



Figura 4.1 - Plantas de arroz marcadas com tinta de caneta, para identificação das folhas velhas, formadas durante a exposição da solução nutritiva contendo silicato natural e silicato com 12% em átomos de  $^{30}\text{Si}$ .

Após a retirada da solução contendo silício, o experimento foi conduzido por mais 20 dias, em solução nutritiva sem silício. Ao final de 60 dias de cultivo foi feita a coleta das plantas. As plantas de arroz foram separadas em: raízes, colmos, bainha nova, bainha velha, folhas novas e folhas velhas e as plantas de feijão foram separadas em: raízes, caules, folhas novas e folhas velhas. O período de 60 dias foi considerado ideal, pois alguns trabalhos mostraram um maior transporte de soluto pelo floema em plantas jovens (HOCKING, 1980; PAGE et al., 2006), neste período as plantas de arroz permaneciam na fase vegetativa e as plantas de feijão iniciavam a fase reprodutiva, com o surgimento das primeiras flores.

Após serem coletadas, as amostras foram secas a temperatura de 65°C até atingirem massa constante, em seguida foi finamente moída (aproximadamente 150 µm). As amostras moídas foram então digeridas em meio ácido, para a qual se utilizou 0,5 g de material vegetal; 5,0 mL de ácido nítrico concentrado e 1,5 mL de ácido perclórico concentrado, colocado em bloco digestor (CARNEIRO et al., 2008). Após a evaporação quase total da solução ácida, o SiO<sub>2</sub> precipitado foi transferido para um recipiente de Teflon de 25 mL utilizando 10,0 mL de água. Logo em seguida, 2,5 mL de BaCl<sub>2</sub> a 2,6% (p/v) e 500 µL de solução de HF a 40% (v/v) foram adicionados para converter o SiO<sub>2</sub> em fluorossilicato de bário (BaSiF<sub>6</sub>). A solução foi seca e o precipitado transferido para a linha de vácuo, onde o SiF<sub>4</sub> foi obtido e levado ao espectrômetro de massa (CARNEIRO et al., 2008). O espectrômetro de massa ATLAS-MAT modelo CH<sub>4</sub> é um sistema de admissão com fluxo molecular e coletor de íons único com copo de Faraday. O sistema analítico é compreendido por uma linha de vácuo com uma bomba mecânica, uma difusora, um determinador de vácuo ativo, com um sensor. A abundância do isótopo de silício foi determinada baseada nos sinais m/e 85, 86 e 87, que correspondem aos isótopos <sup>28</sup>Si, <sup>29</sup>Si e <sup>30</sup>Si, respectivamente. Os valores para a abundância isotópica de <sup>30</sup>Si (% de átomos) foram calculados pela Eq. 2.

$$\text{Abundância isotópica de } ^{30}\text{Si} (\% \text{ de átomos}) = \frac{I_{87}}{(I_{85} + I_{86} + I_{87})} \quad (\text{Eq. 2})$$

Onde: I<sub>85</sub>, I<sub>86</sub> and I<sub>87</sub> = intensidade de sinal de m/e 85, 86 e 87, respectivamente.

Para os cálculos da % Si<sub>ppf</sub> (Porcentagem de silício na planta proveniente ou derivado do fertilizante), usou-se da Equação 3 (Trivelin, 2000), utilizada em estudos com nitrogênio marcado <sup>15</sup>N. Sendo a % Si<sub>ppf</sub> igual a quantidade de átomos %<sup>30</sup>Si na amostra (analisada no ATLAS-MAT), menos a quantidade de átomos %<sup>30</sup>Si natural; dividida pela quantidade de átomos %<sup>30</sup>Si do fertilizante (12,0%) menos a quantidade de átomos %<sup>30</sup>Si natural (3,1). A quantidade de %<sup>30</sup>Si da amostra é o valor da contagem dos átomos de <sup>30</sup>Si obtido nos métodos utilizados, já com as correções. O valor da %<sup>30</sup>Si natural é o valor das análises das amostras das plantas que não receberam adubação com <sup>30</sup>Si, que foi em média de 3,1 %<sup>30</sup>Si.

$$\% \text{ Si}_{\text{ppf}} = \left( \frac{\text{Ab}_p - \text{Ab}_n}{\text{Ab}_s - \text{Ab}_n} \right) * 100 \quad (\text{Eq. 3})$$

Onde:  $Si_{ppf}$  = quantidade de silício nas plantas proveniente do silicato com 12% de excesso de  $^{30}Si$  (%);  $Ab_p$  = Abundância isotópica de  $^{30}Si$  (% de átomos) nas plantas marcadas determinadas por espectrometria de massa;  $Ab_n$  = Abundância isotópica natural de  $^{30}Si$  (% de átomos);  $Ab_s$  = Abundância isotópica de  $^{30}Si$  na solução nutritiva (% de átomos).

A quantidade de silício absorvida e acumulada nas plantas coletadas foi calculada pela concentração de silício que foi determinada pelo método de espectrofotometria o sistema de análise de injeção de fluxo (FIA) (CARNEIRO et al., 2007) em função da produção de matéria seca. O sistema FIA compreende uma bomba peristáltica Ismatec IPC-4 com um capilar bombeador Tygon de 0,4 mm, um espectrofotômetro 700 Plus Femto com uma célula de fluxo 178-OS Hellma (volume de imersão 80  $\mu$ L) e acessórios.

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância pelo teste F, casos significativos aplicaram-se o teste de Tukey menor ou igual a 0,05 para comparação de médias. Para os resultados da abundância isotópica foi utilizado o teste de Student t-test a 95% de probabilidade para comparar as médias dos tratamentos com silicato natural com o silicato com 12% em átomos de  $^{30}Si$ .

### 4.3 Resultados e discussão

A adição dos silicatos natural e silicato com 12% em átomos de  $^{30}Si$ , na solução nutritiva promoveram o aumento da produção de matéria seca para as plantas de arroz, mas não para plantas de feijão (Figura 4.2). A matéria seca das folhas novas das plantas de feijão, assim como dos colmos, foi diminuída com a aplicação do silício natural, mas não com o suprimento do silicato enriquecido em  $^{30}Si$ .

O aumento da produção de matéria seca observado para as plantas de arroz se deve ao fato de que esta espécie é acumuladora de silício, com absorção ativa do silício e para a qual o silício pode trazer inúmeros benefícios. Um desses benefícios pode ser pela absorção e deposição do silício nos tecidos das plantas de arroz, levar à melhora na força e rigidez dos tecidos vegetais, o que pode levar a uma maior eficiência na fotossíntese. Assim como pode ocorrer maior translocação de carbono para as partes jovens e aumento da eficiência do uso de água (SAVANT et al., 1997; KORNDÖRFER, et al., 1999; DATNOFF et al., 2007). Já para as plantas de feijão, que são exclusora na absorção de silício, podendo o silício ser importante para esta cultura em condição de algum estresse biótico ou abiótico. Como na defesa contra doenças (MORAES et al., 2006; HAMMERSCHMIDT, 2005a) ou na diminuição da toxidez de elementos potencialmente tóxicos (HORST; MARSCHNER, 1978). Como nessa condição

de casa de vegetação, as plantas de feijão não estavam sofrendo nenhuma injúria, as presenças de silício não favoreceu o desenvolvimento da matéria seca desta cultura.

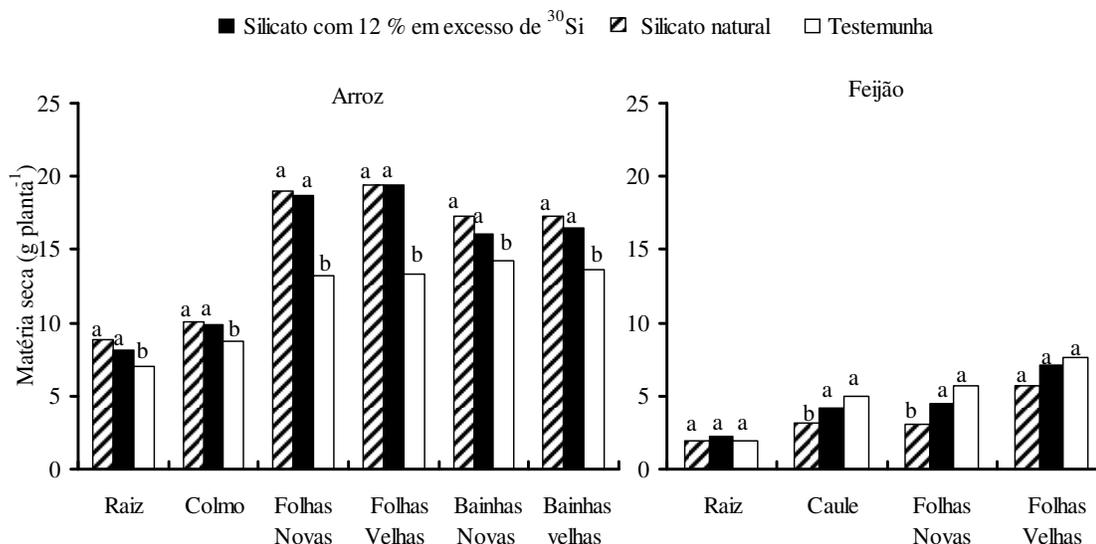


Figura 4.2 - Produção de matéria seca das diferentes partes das plantas de arroz (a) e feijão (b), cultivadas em solução nutritiva com  $1,8 \text{ mmol L}^{-1}$  de silício, natural e enriquecido a 12% em átomos de  $^{30}\text{Si}$  e o tratamento testemunha, sem silício. \*Médias seguidas de letras minúsculas distintas entre si, diferem pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

Nos resultados obtidos por espectrometria para a concentração total de silício nas amostras de plantas, a concentração de silício superior que  $0,1 \text{ g kg}^{-1}$  foi detectada somente nas folhas e bainhas velhas de arroz e nas folhas velhas de feijão (Tabela 4.1). As plantas cultivadas em solução nutritiva sem silício apresentaram concentração menor que  $0,1 \text{ g kg}^{-1}$ . As maiores concentrações de silício foram observadas em folhas velhas de arroz, as quais apresentaram valores cerca de três vezes maiores que às concentrações encontradas em folhas velhas de feijão para ambos os tratamentos.

A concentração de silício nas plantas é dependente da disponibilidade de  $\text{Si(OH)}_4$  aplicado a solução nutritiva. Considerando a condição mencionada, o procedimento de fusão alcalina adotada promoveu a conversão de silício da forma de  $\text{SiO}_2$  (insolúvel) para a forma solúvel e disponível para ser absorvida pelas raízes das plantas. A análise da solução nutritiva após a adição do  $\text{SiO}_2$  fundido, revelou que aproximadamente 96 a 98% foram recuperados.

Considerando o silício total adicionado às soluções nutritivas, a quantidade de silício absorvida pelas plantas submetidas aos tratamentos com silicato natural e com silicato com 12% em átomos de  $^{30}\text{Si}$ , foi próxima a 51% no arroz e 15% no feijão. De acordo com os resultados apresentados na Tabela 4.1, a concentração de silício em plantas de arroz

foi superior ao encontrado nas plantas de feijão. Podendo ainda ser notado a igualdade de absorção entre o silicato natural e silicato com excesso de  $^{30}\text{Si}$ , mostrando que não houve diferenças na absorção de silício entre os tratamentos. Todo o silício absorvido pelas plantas foi encontrado nas folhas e bainhas mostrando o transporte direto do silício das raízes para as partes aéreas das plantas.

Tabela 4.1 - Concentração de silício ( $\text{g kg}^{-1}$ ) e silício acumulado ( $\text{mg planta}^{-1}$ ) em plantas de arroz e feijão determinada por espectrometria. Os resultados se baseiam em três repetições para cada tratamento. \*Médias seguidas de letras minúsculas distintas, diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

Tratamentos	ARROZ		FEIJÃO
	Folhas Velhas	Bainhas velhas	Folhas Velhas
	----- Concentração de Si ( $\text{g kg}^{-1}$ ) -----		
Testemunha	< 0,1b	< 0,1 b	< 0,1 b
Silicato Natural	20,6 a	15,8 a	7,6 a
Silicato com 12 % em excesso de $^{30}\text{Si}$	21,0 a	15,5 a	6,5 a
	----- Acúmulo de Si ( $\text{mg planta}^{-1}$ ) -----		
Silicato Natural	398,8 a	273,5 a	43,0 a
Silicato com 12 % em excesso de $^{30}\text{Si}$	406,6 a	255,9 a	46,4 a

Como as plantas de arroz são consideradas plantas acumuladoras de silício tendo transporte ativo deste elemento, o experimento mostrou que as plantas de arroz foram mais eficientes no acúmulo de silício que as plantas de feijão. O acúmulo de silício em arroz foi observado especialmente nas folhas e bainhas velhas. As plantas de feijão não são consideradas acumuladoras de silício uma vez que possuem mecanismos de absorção exclusivos, com o silício sendo encontrado especialmente nas folhas velhas (Tabela 4.1). A maior concentração de silício nas folhas velhas ocorre devido a deposição de silício junto as paredes celulares, lúmen e espaços intercelulares com as fibras de celulose e hemicelulose. Assim à medida que vai se formando o tecido vegetal ocorre o depósito de silício, a forma de depósito é sílica hidratada (YOSHIDA; OHNISHI; KITAGISHI, 1962; EPSTEIN, 1999, MA et al., 2001). Mesmo porque as folhas novas foram àquelas desenvolvidas sem o suprimento de silício, a detecções da ausência de silício indica por si só a falta de mobilidade e redistribuição deste elemento nestas plantas, pois a única fonte de silício para as folhas novas seria o silício depositado nas folhas velhas.

Mesmo em baixa concentração de silício, todas as amostras coletadas das plantas foram submetidas a análises isotópicas; entretanto, nas amostras com concentrações de silício menores que  $0,5 \text{ g kg}^{-1}$  os sinais de abundância isotópica de silício não foram detectados na análise de espectrometria de massa. Somente os resultados de  $^{30}\text{Si}$  (% de átomos) obtidos nas análises de folhas e bainhas velhas para as plantas de arroz e do feijão, estão apresentados na tabela 4.2.

Tabela 4.2 - Abundância isotópica de  $^{30}\text{Si}$  (% de átomos) em plantas de arroz e de feijão determinada por espectrometria de massa. Os resultados baseiam-se em três repetições para cada tratamento. Os números entre parênteses referem-se ao desvio padrão analítico (%).

Tratamentos	ARROZ		FEIJÃO
	Folhas Velhas	Bainhas velhas	Folhas Velhas
	----- Abundância isotópica (% de átomos de $^{30}\text{Si}$ ) -----		
Silicato Natural	3,18 (0,2)	3,18 (0,1)	3,09 (0,3)
Silicato com 12 % em excesso de $^{30}\text{Si}$	8,04 (0,4)	7,68 (0,2)	7,85 (0,5)
	----- Si derivado de material enriquecido (%) -----		
Silicato com 12 % em excesso de $^{30}\text{Si}$	55,23	51,21	56,12

Os resultados obtidos na análise isotópica mostram que mais de 50% do silício total acumulado nas amostras de plantas foi derivada do composto enriquecido aplicado a solução nutritiva. Este fato pode ser explicado devido ao fato de que o silício marcado ter sido adicionado à solução nutritiva durante o período de maior absorção de silício pelas plantas (período vegetativo). Por outro lado, o valor mostra que as raízes das plantas absorveram silício da solução nutritiva sem qualquer discriminação isotópica. O fracionamento isotópico não foi observado considerando os resultados obtidos pela determinação isotópica do  $^{30}\text{Si}$  (% de átomos) em plantas de arroz e de feijão nos tratamentos com silicato natural e com silicato com 12% em átomos de  $^{30}\text{Si}$ . As diferenças estatísticas dos dados foram confirmadas pela aplicação do teste de Student t-test a 95% de probabilidade.

A análise de espectrometria de massa utilizada neste experimento permitiu a mensuração da alteração da composição isotópica de  $^{30}\text{Si}$  em amostras com concentrações de silício maiores que  $0,5 \text{ g kg}^{-1}$ . Os resultados dos experimentos mostram que após a adição de uma quantidade conhecida do composto enriquecido a solução nutritiva houve um equilíbrio

entre os isótopos, resultando na formação de uma mistura final com composição isotópica diferente da composição isotópica natural alterando assim, a composição isotópica das plantas cultivadas. Este fato representa o balanço isotópico dentre os isótopos de silício possibilitando o uso de outros fertilizantes enriquecido em  $^{30}\text{Si}$  para avaliar o balanço de massa de silício no sistema substrato-planta.

Os resultados obtidos utilizando a presente metodologia demonstram que uma vez que o silício é depositado nas folhas velhas este não é redistribuído para as partes novas, quando se considera as concentrações acima de  $0,5 \text{ g kg}^{-1}$ , isso não ocorre mesmo quando não existem fontes externas de silício. Os resultados obtidos nas condições experimentais corroboram com a afirmação de que o  $\text{H}_4\text{SiO}_4$  é transportado até a parte aérea, na qual se deposita na forma de sílica ( $\text{SiO}_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ ) ou, em plantas que possuem alta concentração de sílica, pode ocorrer a formação de polímeros de silício (KAUFMAN et al., 1985; SANGSTER; HODSON; TUBB, 2001). O processo deposição e polimerização da sílica nas plantas é um processo irreversível, tornando o silício um elemento imóvel nas plantas.

Os termos utilizados para caracterização da redistribuição de silício em plantas, como um elemento “quase insolúvel” (FOX et al., 1969) ou de baixa solubilidade (JONES; HANDRECK, 1967; LEWIN; REIMAN, 1969; YOSHIDA; OHNISHI; KITAGISHI, 1962), não são adequados para caracterizar o processo de redistribuição do silício dentro das plantas. Concordando com Jarvis (1987), os quais expuseram que como o silício está depositado na forma sílica amorfa hidratada ( $\text{SiO}_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ ), sua resolubilização e mobilidade dentro da planta são muito mais dificultadas.

Os resultados obtidos demonstraram a não redistribuição de silício nas plantas de arroz e feijão nas condições experimentais estabelecida. Porém em condições de cultivo a campo a ausência de silício no solo é praticamente impossível, sendo que um meio de cultivo sem silício é dificilmente encontrado (EPSTEIN, 1999), sendo necessário se fazer aplicações periódica, no caso de se almejar um efeito enfático do silício solúvel. Isto implica em adequação do manejo de adubações silicatada, uma vez que tem sido demonstrado o efeito do silício solúvel na defesa das plantas contra o ataque de pragas e doenças e contra adversidades ambientais.

Os resultados obtidos confirmaram que a variação na composição isotópica de silício pode ser utilizada para estudos envolvendo o acúmulo e transporte de silício em plantas utilizando o isótopo estável  $^{30}\text{Si}$ . O isótopo de silício estudado possui um potencial aplicação

na agricultura representando uma nova ferramenta para o estudo do ciclo do silício em plantas, que pode conduzir a conclusões mais confiáveis das funções fisiológicas do silício.

#### **4.4 Conclusão**

Nas condições experimentais apresentadas, os resultados mostram que, uma vez depositado nos tecidos das folhas velhas das plantas de arroz e de feijão, o silício é imobilizado e não é redistribuído para as folhas novas. Concluindo assim, que não ocorre redistribuição de silício nem nas plantas de arroz e nem nas de feijão.

## 5 INTERAÇÃO SILÍCIO E CÁDMIO EM PLANTAS DE FEIJÃO

### RESUMO

A adequada nutrição com silício para plantas de feijão pode reduzir os efeitos deletérios causados pelo excesso de cádmio. O objetivo desse trabalho foi avaliar o efeito das doses de cádmio no acúmulo de silício pelas plantas de feijão assim como o efeito do silício na redução da toxidez do cádmio nestas plantas. Para verificar esses objetivos, desenvolveu-se um experimento, em casa de vegetação, com plantas de feijão (IPR Colibri), em solução nutritiva, com delineamento experimental ao acaso sendo os tratamentos dispostos em um esquema fatorial 5 x 2 (cinco doses de cádmio: 0,00; 0,05; 0,45; 0,90; 4,50  $\mu\text{mol L}^{-1}$  e duas de silício: 0,00 e 1,80  $\text{mmol L}^{-1}$ ). Logo no início do ciclo da cultura sintomas de toxidez de cádmio foram evidenciados, como clorose, encarquilhamento e enrugamento do limbo foliar e, nas doses de 0,90 e 4,50  $\mu\text{mol L}^{-1}$  de cádmio, as nervuras apresentaram-se avermelhadas. A aplicação de silício minimizou o efeito deletério do cádmio na produção de matéria seca, o qual conferiu aumento na produção de grãos, de 47% na dose de 0,9  $\mu\text{mol L}^{-1}$  e, mais de 100% na dose de 4,5  $\mu\text{mol L}^{-1}$  em relação à produção sem aplicação de silício. O efeito positivo no aumento da matéria seca dessas plantas pode ter ocorrido pelo fato do silício preservar o aparato fotossintético, que foi verificado no aumento da coloração verde destas plantas. A concentração de silício nas raízes e parte aérea das plantas de feijão aumentou com a aplicação de cádmio e, comportamento semelhante foi observado para o acúmulo de silício, o qual foi reduzido apenas no tratamento com 4,50  $\mu\text{mol L}^{-1}$ , dada à queda na produção de matéria seca. O maior teor de cádmio foi encontrado nas raízes quando o silício foi suprido na solução nutritiva, diminuindo a concentração de cádmio na parte aérea e nos grãos. A concentração de cádmio nos grãos das plantas expostas a 4,5  $\mu\text{mol L}^{-1}$  de cádmio diminuiu de 2,18  $\text{mg kg}^{-1}$  para 1,12  $\text{mg kg}^{-1}$  quando na presença de silício, já o acúmulo neste tratamento apresentou uma redução do conteúdo de cádmio de quase três vezes em relação à ausência de silício, o que foi observado par todas as doses de cádmio. Conclui-se com isto que o acúmulo de silício nas plantas de feijão foi aumentado em função das doses crescentes de cádmio, diminuindo a toxidez de cádmio, aumentando a produção de matéria seca e reduzindo a concentração de cádmio nos grãos.

Palavras-chave: Estresse abiótico. Acúmulo. Sílica amorfa. Raízes.

## SILICON AND CADMIUM INTERACTION IN PLANTS OF BEANS

### ABSTRACT

Adequate silicon nutrition for beans might reduce the harmful effects caused by cadmium excess. The goal of this experiment was to evaluate rates of cadmium on silicon accumulation by plants of beans as well as the effect of silicon in reducing cadmium toxicity to these plants. To achieve these goals, an experiment was carried out with bean plants, variety IPR Colibri, cultivated under nutrient solution in greenhouse in a randomized scheme of 5 x 2 factorial (five cadmium rates: 0.00; 0.05; 0.45; 0.90 and 4.50  $\mu\text{mol L}^{-1}$  and rates of silicon of: 0.00 and 1.80  $\mu\text{mol L}^{-1}$ ). Toxicity symptoms of cadmium, like chlorosis, stunting and harkening of leaves, were seen in the early beginning of plant development at 0.90  $\mu\text{mol L}^{-1}$  rate and, symptoms of reddish leaves at the rate of 4.50  $\mu\text{mol L}^{-1}$ . The silicon supply minimize the harmful effect caused by cadmium to the dry mass production in, 47% at the rate of 0.9  $\mu\text{mol L}^{-1}$  and more than 100% at the rate of 4.5  $\mu\text{mol L}^{-1}$  against the treatments without any silicon. The positive effects in the dry mass increase of these plants can be related to the fact that silicon preserved the photosynthetic apparatus of plants that was verified by the increase of SPAD values at these plants. The silicon concentration in roots and shoots of beans increased according to the cadmium supply, and similar behavior was observed for accumulation, that was only reduced at 4.50  $\mu\text{mol L}^{-1}$  treatments that reduced the dry mass production. The greater values of cadmium was found in the roots with silicon been supplied where the concentrations in the shoots and grains were reduced. The cadmium concentration in the grains of plants exposed to 4.5  $\mu\text{mol L}^{-1}$  of cadmium reduced from 2.18  $\text{mg kg}^{-1}$  to 1.12  $\text{mg kg}^{-1}$  when silicon was supplied, although the accumulation of cadmium was reduced in about three times in plants supplied by silicon related to those without any silicon. The results showed that silicon accumulation in beans where increased as cadmium was supplied to these plants that lead to reduce cadmium toxicity, increasing the dry matter production and reducing the cadmium concentration in grains.

Keywords: Abiotic Stress. Accumulation. Amorphous silica. Roots.

## 5.1 Introdução

As plantas de feijão são exclusora na absorção e não são consideradas acumuladoras de silício (TAKAHASHI et al., 1990), as quais tendem a acumular silício nas raízes. Estas espécies têm absorção por difusão ativa, como já demonstrada para todo o gênero *Phaseolus* (RAVEN, 2001) e o transporte do silício a longa distância é feito por apoplasto via xilema (RAVEN, 2001). O transporte e acúmulo de silício podem ser regulados pelo fluxo de transpiração (JONES; HANDRECK, 1967; EPSTEIN, 1999; SANGSTER; HODSON; TUBB, 2001) ou por um processo ativo, que é desencadeado pelo estímulo à proteção contra doenças, pragas e outras condições de estresse, dependendo das exigências das plantas para resistirem a uma condição de estresse (BARBER; SHONE, 1966; JARVIS, 1987; MARSCHNER, 1995; BÉLANGER et al., 2004; CURRIE; PERRY, 2007).

O silício exerce efeito benéfico para as plantas de feijão pela diminuição dos danos causados em condições de estresse biótico e abiótico. A aplicação de silício nas plantas de feijão causa a indução de resistência às doenças fúngicas, como antracnose (*Colletotrichum lindemuthianum*) (MORAES et al., 2006) e aos insetos-praga, como mosca branca (*Bemisia tabaci*) (ALMEIDA et al., 2008). Esse efeito benéfico do silício pode ser desencadeado pelo fato do silício agir como uma barreira física (KIM et al., 2002), ou por outro mecanismo proposto, em que silício solúvel atua como ativador de resistência (FAWE et al., 2001; GUÉVEL; MENZIES; BÉLANGER, 2003; CÔTÉ-BEAULIEU et al., 2009).

O silício nas plantas de feijão contribui para o crescimento, aproveitamento de nutrientes e aumento na tolerância ao excesso de manganês (HORST; MARSCHNER, 1978) e salinidade (ZUCCARINI, 2008). Esse efeito benéfico conferido pelo silício também pode ser extrapolado para outras condições de estresse, como o excesso de cádmio (Cd), com a possibilidade de que nesta condição a maior absorção e acúmulo de silício atuem como mecanismo de defesa.

O cádmio em solos não contaminados, encontra-se em concentrações que variam de 0,06 a 1,10 mg kg<sup>-1</sup> (KABATA-PENDIAS et al., 2007). Essa concentração de cádmio no solo pode ser aumentada pelas atividades antropogênicas, tais como, mineração, produção, consumo e disposição de produtos industrializados que utilizam cádmio, água contaminada, o uso de lodo de esgoto na agricultura e aplicação de fertilizantes, principalmente os fosfatados (WHO, 2000).

O cádmio é um elemento potencialmente tóxico, altamente solúvel em água, com relativa mobilidade no solo. Desta forma, uma vez no solo o cádmio é absorvido pelo sistema

radicular das plantas e posteriormente transportado via xilema (PRASAD, 1995), por via apoplástica ou por simplasto (KIM; YANG; LEE, 2002; SHI et al., 2005). Uma vez absorvido pelas plantas o cádmio entra na cadeia alimentar, sendo a alimentação a principal forma de contaminação humana. Para os animais a exposição prolongada de cádmio provoca distúrbios renais e enfisemas pulmonares, desmineralização óssea, destruição dos eritrócitos e câncer (GHOSROY et al., 1998).

A absorção de cádmio é variável entre as espécies vegetais e, em culturas como o feijão pequenas concentrações deste elemento prejudicam o transporte de outros nutrientes, como o nitrogênio, o potássio, o cálcio, o magnésio e o zinco (JURADO, 1989; NASCIMENTO; PEREIRA, 1997). O cádmio em feijão causa danos associados ao DNA e ao estresse oxidativo (KOPPEN; VERSCHAEVE, 1996), estimula a biossíntese de etileno o que aumenta atividade de peroxidases e acúmulo de compostos fenólicos solúveis e insolúveis (FUHRER, 1982), o que leva a peroxidação de lipídio (CHAOUUI et al., 1997). O cádmio ainda pode induzir a síntese de fitoquelatinas em folhas, caules e raízes de feijão (LEITA; CONTIN; MAGGIONI, 1991).

A concentração de cádmio em grãos de feijão considerada tóxica é de  $1,0 \text{ mg kg}^{-1}$  pela ANVISA (1965), sendo este inserido na categoria de “outros alimentos”. Em termos mundiais o nível tóxico de cádmio em grãos de feijão, juntamente com outros alimentos, é pouco estudado por ser considerado de baixa influencia na entrada de cádmio na cadeia alimentar mundial, pela pouca importância dessa cultura como fonte de alimento para a população mundial (CODEX 2004 pg. 176). Mas isto em populações, como a brasileira, a qual tem o feijão como um dos seus principais alimentos, a presença de cádmio nos grãos pode exercer efeitos ainda desconhecidos. No Brasil as plantas de feijão é uma das principais fontes de alimentação humana, e as aéreas destinadas ao seu cultivo vêm se expandindo, com produção média de 90.000 toneladas por ano (CONAB, 2008).

Existem algumas hipóteses sobre como ocorre a interação entre silício e cádmio, que leva a diminuição da fitoxidez do cádmio. Dentre estas inicialmente, que a presença de silício leva à co-precipitação e/ou complexação no solo (CHEN; ZHENG; SHEN, 2000; ZHAO; MASAIHIKO, 2007; CUNHA; NASCIMENTO; SILVA, 2008) ou devido a interações que ocorrem no interior dos vegetais, os quais podem ser: inibição da translocação das raízes para a parte aérea, pelo fato do silício depositado na endoderme bloquear fisicamente a passagem de cádmio pelo apoplasto (EPSTEIN, 1999; SHI et al., 2005; ZHANG et al., 2008; CUNHA; NASCIMENTO, 2009); ou pelo estímulo do sistema de antioxidantes nas plantas (GONG et

al., 2005; SHI et al., 2005; KIRKHAM, 2006; LIANG et al., 2007). Assim a aplicação de silício em solos contaminados com cádmio pode aliviar a fitoxidez deste elemento em muitas culturas (ZHANG et al., 2008). Podendo-se ainda considerar que ocorre interação entre estes efeitos dentro da planta e não apenas um isoladamente. Muitos destes estudos que verificaram esse efeito do silício na diminuição da toxidez de cádmio foram realizados em culturas que acumulam silício, como arroz e milho, mas em culturas que não acumulam silício, como feijão, ainda não foi observada essa interação.

A absorção e acúmulo de silício nas plantas de feijão podem ser regulados não somente pela transpiração, mas sim por condições de estresse, desencadeado pela presença de cádmio, o que acarreta num aumento da aquisição de silício do meio, como tentativa de suprimir os efeitos deletérios do cádmio. A absorção e adequada nutrição com silício pelas plantas de feijão pode em parte, reduzir os efeitos deletérios causados pelo excesso de cádmio, que leva a sua fitoxidez para plantas de feijão. Assim o objetivo desse trabalho foi avaliar o efeito do cádmio no acúmulo e absorção de silício pelas plantas de feijão e o efeito da presença de silício na redução da fitoxidez do cádmio nestas plantas.

## 5.2 Material e métodos

O experimento foi realizado em casa de vegetação do CENA/USP, no período de abril a junho de 2008, em Piracicaba (SP). As sementes de feijão do tipo carioca (*Phaseolus vulgaris* L. cv. IPR Colibri) foram semeadas em bandejas plásticas com areia lavadas, onde permaneceram até a emergência das plântulas. Foram transferidas duas plântulas para vasos contendo dois litros de solução nutritiva, constantemente aereados, contendo, em  $\text{mmol L}^{-1}$ : 16000 de N e 6000 de K ( $\text{KNO}_3$ ); 4000 de Ca [ $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ]; 2000 de P ( $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ ); 1000 de S e 1000 de Mg ( $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ); 50 de Cl (KCl), 25 de B ( $\text{H}_3\text{BO}_3$ ); 2,0 de Mn ( $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ); 2,0 de Zn ( $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ); 0,5 de Cu ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ); 0,5 de Mo ( $\text{H}_2\text{MoO}_4$ ) e 20 de Fe (Fe-EDTA) (JOHNSON et al., 1957).

As plântulas de feijão ficaram expostas à metade desta concentração de nutrientes por duas semanas, posteriormente, na segunda aplicação da solução nutritiva manteve-se a concentração original de todos os nutrientes, adicionando-se as doses relativas aos tratamentos com silício e cádmio. Nos tratamentos com silício na dose de  $1,8 \text{ mmol L}^{-1}$  de silício, obtido pela dissociação do silicato de potássio ( $\text{K}_2\text{SiO}_3$ ) em solução, já se adicionavam  $1480 \text{ mmol L}^{-1}$  de K, assim a concentração de K na solução inicial foi diminuída para

4520 mmol L<sup>-1</sup>, nestes tratamentos. Os tratamentos consistiram em cinco doses de cádmio foram obtidos pelo uso do cloreto de cádmio (CdCl<sub>2</sub>), nas doses de cádmio (μmol L<sup>-1</sup>): 0,00; 0,05; 0,45; 0,90; 4,45. Combinadas ou não com a aplicação de silício na solução nutritiva, perfazendo 10 combinações. Adotou-se o delineamento em inteiramente casualizado (DIC), em esquema fatorial 5x2, com três repetições para cada parcela.

Durante a condução do experimento foram realizadas trocas semanais da solução nutritiva, monitorando-se o pH e a condutividade elétrica e quando necessário foi realizado a foi aferido o pH com HCl para acidificar ou NaOH para alcalinizar, objetivando o pH de 6,5 e condutividade elétrica de 2,5 mS cm<sup>-1</sup>. A condutividade elétrica da solução nutritiva está relacionada com a quantidade de íons presentes na solução, à medida que a planta absorve esses íons ocorre um decréscimo no valor da condutividade elétrica da solução nutritiva. Quando a condutividade elétrica atingiu aproximadamente 40% do valor inicial, foi feita a troca da solução nutritiva.

Uma das formas de se avaliar o estado nutricional das plantas de feijão foi a análise visual dos sintomas de toxidez do cádmio. Para isso desde que as plantas foram expostas ao cádmio iniciaram-se as observações com registro em fotografias.

Para verificar o efeito doses de cádmio e silício, uma das variáveis consideradas foi à intensidade da coloração verde das plantas, usando microprocessadores para calcular valores em SPAD (“Soil plant analysis development”). Esse medidor portátil permite medições instantâneas do valor de coloração verde (processo de reflexão), que tem relação direta com a taxa de clorofila *a* e *b* na planta (ARGENTA et al., 2002). Essa determinação foi efetuada aos 40 dias de cultivo na solução nutritiva, momento no qual se completou a floração. Para cada tratamento, procedeu-se à leitura no terceiro trifólio, a partir do ápice da planta, amostrando 10 pontos de cada folíolo.

Após 75 dias de cultivo, as plantas de feijão apresentavam vagens amadurecidas e tinham seu ciclo de vida completo, visto que se utilizou uma variedade precoce em relação a outras variedades. Nessa fase final as amostras das plantas de feijão foram colhidas, dividindo-se as plantas de feijão em: parte aérea (caule + folha); raízes; vagens (pericarpo “casca”) e grãos (sem a vagem). Estas amostras foram lavadas em água deionizada e enxaguadas em água pura. Posteriormente foram acondicionadas em sacos de papel e secas em estufa a 65°C, até atingirem peso constante. Em seguida foram pesadas e moídas para serem levadas ao laboratório para análises elementares.

Todos os procedimentos analíticos usados nesse estudo foram realizados com uso da água pura, assim caracterizada por ser purificada em um sistema milli-Q, fornecido pela Millipore Corporation, modelo gradiente A10. A pureza desta água é monitorada pela medida da condutividade, valor de resistividade de 18,2 M $\Omega$ .cm a 25°C, a água é normalmente dispensada através de uma membrana filtradora de 0,22  $\mu$ m, retirando carbono dissolvido, o valor final destes não ultrapassa 5  $\mu$ g L<sup>-1</sup>.

A determinação de silício do material vegetal seguiu metodologia proposta por Elliot e Snyder, 1991. Para isto foi pesado 0,1 g das amostras em tubos de polietileno e adicionados 2,0 mL de 30% (v/v) H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e 3,0 mL de NaOH (25 mol L<sup>-1</sup>). Procedeu-se a digestão em autoclave por 1 hora a 123°C e 0,15 MPa. Após resfriamento, o volume foi completado com água mili-Q para 50 mL. Desse extrato foi retirada uma alíquota de 1,0 mL e transferida para frasco de 20 mL, completando-se o volume com água pura. A concentração de silício foi determinada por método espectrofotométrico (CARNEIRO et al., 2007) com leitura a 410 nm da cor amarela do ácido molibdosilícico formado após reação entre silício e molibdato de amônio em meio ácido com HCl (14 mol L<sup>-1</sup>).

A concentração de cádmio foi determinada nas diferentes partes das plantas. Para isso foi realizada digestão ácida em micro-ondas. O procedimento de digestão ácida foi baseado no método 3052 da USEPA (U.S. Environmental Protection Agency, 1996). Para isso foi pesado 0,25 g de amostra vegetal moída. Nestas amostras foram adicionados às amostras 30  $\mu$ l de HF, 8,0 mL de HNO<sub>3</sub> (20% de concentração) e 2 mL de peróxido de hidrogênio (30%). Os reagentes e amostras foram acondicionado em tubos de teflon (10 mL) e levados ao aparelho de micro-ondas (Milestone, modelo Ethos TC Plus) em temperatura de 180°C a qual é atingida em 20 minutos, permanecendo nessa mesma temperatura por mais 20 minutos, e 10 minutos de resfriamento, totalizando 50 minutos. Após o resfriamento e abertura do aparelho de micro-ondas as amostras foram diluídas com água mili-Q para volume final de 50 mL e cerca de 5 mL foram levados para análise em ICP-MS (Inductively Coupled Plasm Mass Spectrometry). Equipamento da marca Agilent modelo 7500ce, com nebulizador concêntrico (micromist) instalado em câmara de nebulização refrigerada.

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância pelo teste F. Quando significativas, as interações foram desdobradas, aplicando teste de Tukey (  $p < 0,05$ ) para comparação das médias relativas à aplicação de silício, e análise de regressão polinomial para as doses de cádmio, utilizando o software Statistical Analysis System (SAS, 1999).

## 5.3 Resultados e discussão

### 5.3.1 Sintomas visuais

Os sintomas visuais de excesso ou deficiência se baseiam no princípio: um dado elemento exerce as mesmas funções em todas as plantas, cultivadas ou não, a sua falta ou excesso provoca as mesmas desordens. Ou seja, há um denominador comum para os sintomas em todas as espécies (MALAVOLTA, 2006). Alguns sintomas de toxidez de cádmio já foram descritos na literatura para muitas culturas. Neste trabalho as plantas de feijão começaram a manifestar sintomas de toxidez após cinco dias de exposição na solução nutritiva com cádmio, na concentração de  $0,45 \mu\text{mol L}^{-1}$  de cádmio, nesta fase as plantas apresentavam manchas avermelhadas no caule. Com o tempo de exposição ao cádmio e o aumento do desenvolvimento das plantas de feijão, observou-se clorose foliar, seguida de encarquilhamento e enrolamento do limbo foliar (Figura 5.1). Os sintomas observados condizem com aqueles já descritos para o excesso de cádmio na plantas de feijão (JURADO, 1989; NASCIMENTO; PEREIRA, 1997) e nas plantas de milho (CUNHA et al., 2008). O encarquilhamento e o enrolamento das folhas são descritos como sintomas de toxidez que indicam distúrbios na nutrição mineral, como possível deficiência de Fe e redução da absorção e transporte de água e de vários outros elementos (N, Ca, Mg, K e Mn) envolvidos na fotossíntese ou biossíntese de clorofila pelas plantas (DAS, 1997; SIEDLECKA; KRUPA, 1999; BENAVIDES et al., 2005).

Os sintomas foram observados na ausência de silício, na dose de  $0,45 \mu\text{mol L}^{-1}$  e foram mais intensos nos tratamentos com  $0,90 \mu\text{mol L}^{-1}$  e  $4,50 \mu\text{mol L}^{-1}$  de cádmio. Nestes tratamentos também foi possível observar que a nervura principal e as secundárias, das folhas de feijão, apresentaram-se avermelhadas (Figura 5.1 d, e). Nos tratamentos sem cádmio e na dose de  $0,05 \mu\text{mol L}^{-1}$  de cádmio, não foi observada nenhuma modificação estrutural do limbo foliar nem a vermelhidão das nervuras. Nos tratamentos com cádmio e aplicação de silício esses sintomas foram observados, porém com menor intensidade.

A clorose observada foi mais severa nas folhas novas quando comparadas com as mais velhas, indicando que estas são mais vulneráveis a toxidez causada por este metal pesado (KÜPPER et al., 2007). Esta clorose pode ter sido causada pela competição entre cádmio e ferro por sítios de absorção na membrana plasmática (KABATA- PENDIAS; PENDIAS, 2007) ou com magnésio e um decréscimo, o que poderia levar a diminuição da ação do cloroplasto (KURDZIEL et al., 2004), afetando a estabilidade das clorofilas. Como a presença

do cádmio pode inibir a absorção de fósforo ou reduzir o transporte de manganês, estes efeitos podem também provocar clorose (GODBOLD; HUTTERMAN, 1985).

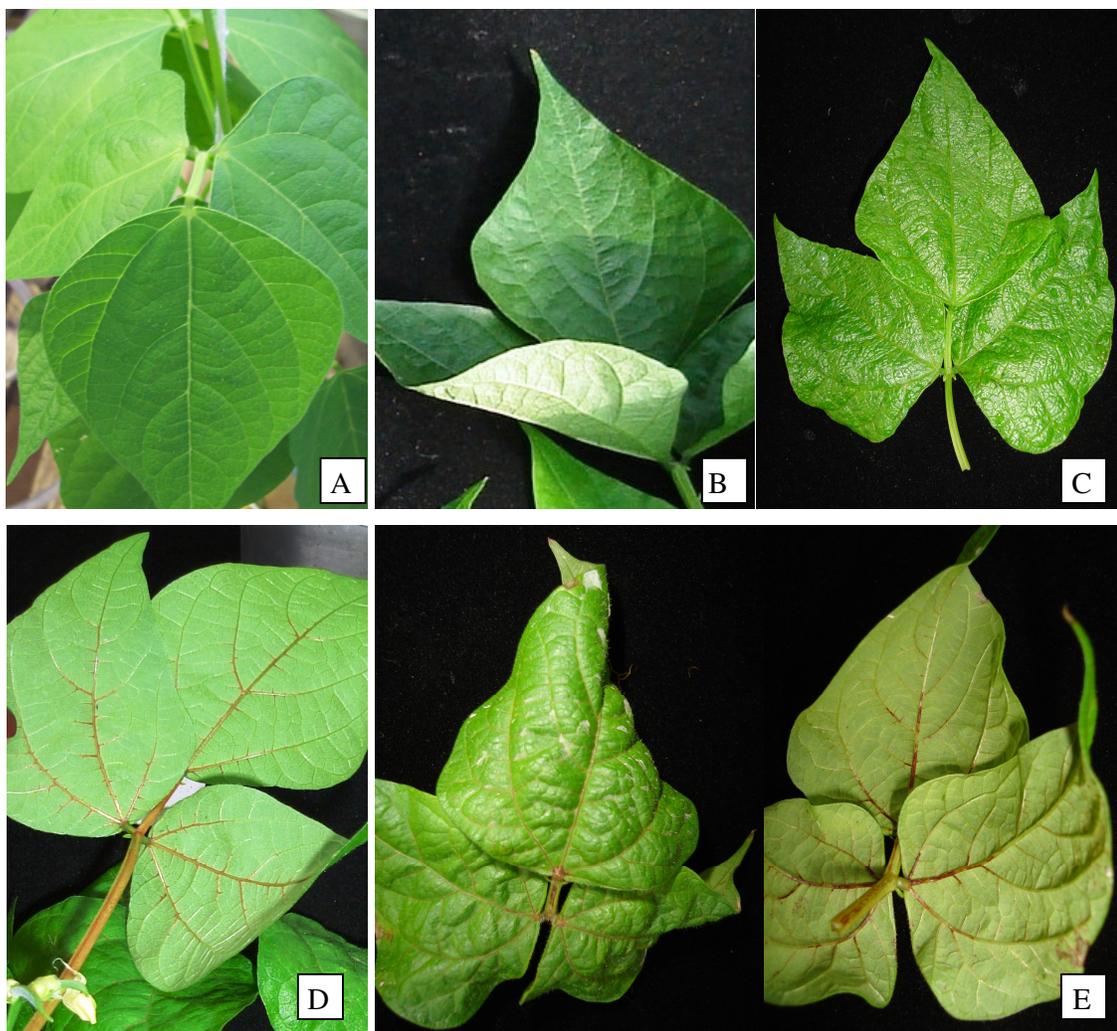


Figura 5.1 - Evolução dos sintomas visuais de toxidez de cádmio nas folhas das plantas de feijão (IPR Colibri) a partir das folhas saudáveis nos tratamentos: sem cádmio (A) e com  $0,05 \mu\text{mol L}^{-1}$  de cádmio (B), até as doses de  $0,45$  (C);  $0,90$  (D) e  $4,50$  (E)  $\mu\text{mol L}^{-1}$  de cádmio, as quais apresentaram sintomas de toxidez de cádmio principalmente nas folhas jovens e na ausência de silício.

O efeito do cádmio em afetar o crescimento e desenvolvimento das plantas de feijão foi visivelmente diminuído pela presença de silício (Figura 5.2). Nos tratamentos com cádmio e silício, as plantas de feijão apresentaram-se maiores, por outro lado no tratamento sem cádmio, a presença de silício levou a um menor desenvolvimento vegetal do que quando na

ausência de silício. A redução da matéria seca com a adição de cádmio e silício foi menor em relação às condições sem silício.



Figura 5.2 - Efeito visual da produção de matéria seca das plantas de feijão variedade IPR Colibri, cultivadas em solução nutritiva sem cádmio (A) em comparação com aquelas cultivadas em 0,05 (B); 0,45 (C); 0,90 (D); 4,50 (E)  $\mu\text{mol L}^{-1}$  de cádmio, na presença de silício (+Si) e na ausência de silício (-Si).

### 5.3.2 Produção de matéria seca

Ocorreu interação entre as doses de cádmio e silício para a produção de matéria seca das plantas de feijão, tanto para parte aérea, como raízes, vagens e grãos. O aumento das

doses de cádmio acarretou em diminuição da produção de matéria, sendo representado pelo modelo quadrático de regressão (Figura 5.3).

O efeito do cádmio na diminuição da produção de matéria seca das plantas de feijão pode estar associado à diminuição da divisão, crescimento, expansão e alongação celular das células vegetais (POSCHENRIEDER; GUNSE; BARCELO, 1989; DAS et al., 1997). Pode-se atribuir também pelas ligações que o cádmio faz nas paredes celulares e lamela media, com as pectinas (GRATÃO, 2008) diminuindo o potencial de turgor e a plasticidade celular (BARCELÓ et al., 1988), ou pelo cádmio causar alterações nos cromossomos e alterar a divisão celular (DAS et al., 1997).

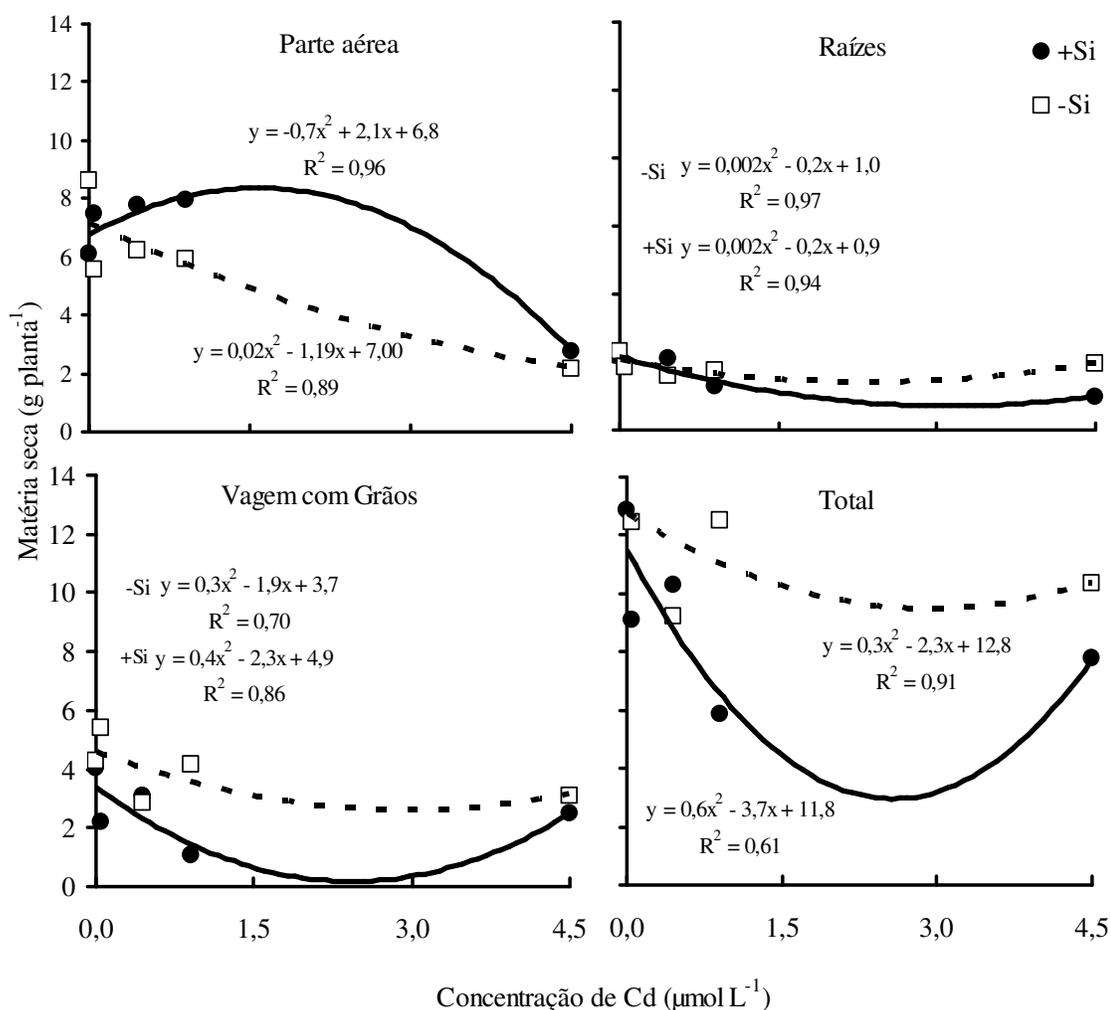


Figura 5.3 - Produção de matéria seca da parte aérea (a), raízes (b), grãos (c) e total (d) de plantas de feijão cultivadas em solução nutritiva com doses crescentes de cádmio, na presença de silício (+Si) e na ausência de silício (-Si).

A produção de massa seca pode ser afetada também pelo efeito deletério do cádmio na fotossíntese, que é um processo fisiológico de suma importância para o desenvolvimento vegetal. O efeito do cádmio na inibição da taxa de fotossíntese líquida, aumento da resistência do estômato e do mesófilo à retenção  $\text{CO}_2$  pode ser o fator que inibe a fotossíntese feijão (KRUPA; OQUIST; HUNER, 1993). Outro fato que afeta no processo fotossintético é que o cádmio desencadeia um estresse oxidativo, que resulta na peroxidação de lipídeos da membrana plasmáticas das células e geração de ânions superóxidos (CHAOUI et al., 1997; SHAT et al., 2001). Este efeito do cádmio na produção de espécies reativas de  $\text{O}_2$  foi observado em feijão, que quando exposto ao cádmio, aumentou a produção de etileno, da atividade de peroxidases e da acumulação de compostos fenólicos (FUHRER, 1982).

A produção de matéria seca das plantas de feijão foi aumentada pela presença de silício, isto tanto para a parte aérea, como para as raízes e a produção de grãos. Ou seja, a aplicação de silício foi capaz de suprimir os efeitos deletérios do cádmio na produção de matéria seca (Figura 5.4).

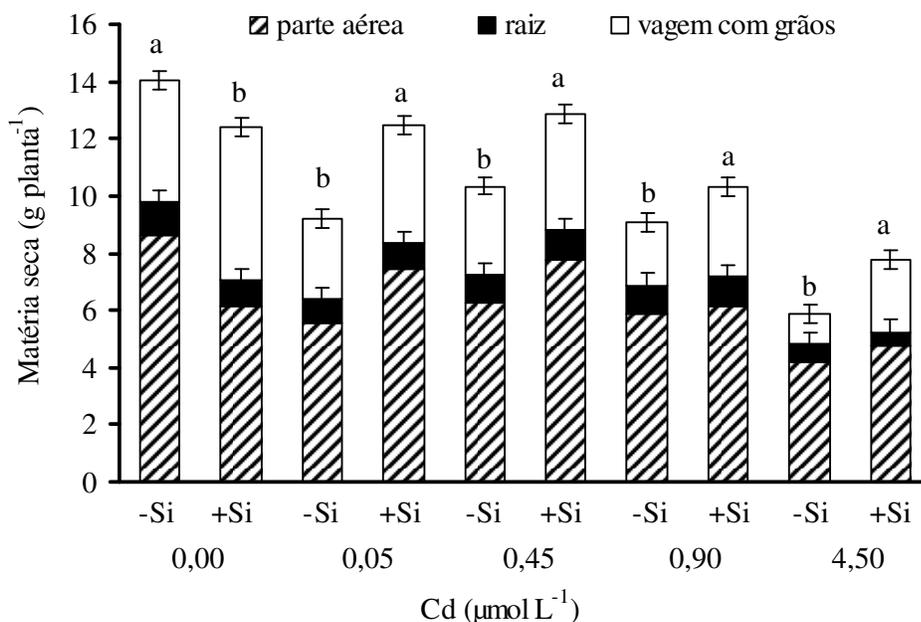


Figura 5.4 - Produção de matéria seca total das plantas de feijão em função das doses de cádmio na presença (+Si) e na ausência (-Si) de silício. Médias seguidas de letras distintas entre si, diferem em função das doses de silício a Tukey ( $p < 0,05$ ).

As plantas de feijão, expostas à solução nutritiva sem adição de cádmio e com aplicação de silício, tiveram aumento na produção da matéria seca de grãos em relação à não

aplicação de silício, mesmo não sendo observado o mesmo efeito para a produção de matéria seca da parte aérea. Nesse tratamento sem cádmio a presença de silício acarretou em um aumento de 26% na matéria seca de grãos em relação à não aplicação de silício. O mesmo efeito do silício foi observado para a produção de grãos das plantas expostas às crescentes doses de cádmio. Na dose de  $0,05 \mu\text{mol L}^{-1}$  de cádmio, ocorreu um incremento de 46% na produção de grãos, em relação à não aplicação de silício, já na dose de  $0,45 \mu\text{mol L}^{-1}$  esse incremento foi de 29 % e na dose de  $0,9 \mu\text{mol L}^{-1}$  de 42 %. Na dose, mais alta de cádmio,  $4,5 \mu\text{mol L}^{-1}$ , a qual teve maior efeito tóxico de cádmio, o aumento na produção de grãos pela aplicação de foi duas vezes maior do que no tratamento com ausência de silício.

O efeito do silício no aumento da produção de matéria seca de grãos provavelmente se a um conjunto de fatores. Podendo ocorrer devido à melhora na absorção e aproveitamento de nutrientes (TISDALE et al., 1993; EPSTEIN, 1999), à diminuição da transpiração e ao aumento da translocação de carbono para os grãos (MA; TAKAHASHI, 1990; SAVANT et al., 1997; DATNOFF et al., 2007). Ou ainda pelo efeito direto na taxa de fotossíntese, pelo fato do silício ainda levar ao aumento do conteúdo de clorofila b, carotenóides, lignina e os teores de fósforo, cálcio, enxofre e zinco (LIMA, 2006). Desta forma, pode ocorrer uma maior eficiência fotossintética nas plantas de feijão e conseqüentemente maior produção de grãos em feijão.

A interação entre doses de silício e cádmio também foi observada na taxa de coloração verde, em valores SPAD, a qual tem relação direta com a taxa de clorofila *a* e *b* na planta (ARGENTA et al., 2002). Desdobrando esta interação, as doses de cádmio tiveram efeito negativo nos valores SPAD e a presença de silício foi efetiva em manter a integridade do aparato fotossintético, mesmo com o aumento das doses de cádmio (Figura 5.5).

O efeito negativo das doses de cádmio era esperado e já foi relatado para as plantas de arroz (HASSAN; SHAO; ZHANG, 2005). Esse efeito pode ocorrer porque o cádmio afeta a estrutura interna dos cloroplastos, assim como a concentração de clorofila *a* e *b*, como já foi descrito para as plantas de feijão (BARCELÓ et al., 1988).

A presença de silício fez com que os o aparato fotossintético fosse preservado, pois se sabe que o silício causa estímulo aumento da taxa fotossintética líquida devido ao aumento no teor de clorofila, na assimilação de nitrogênio responsável pela manutenção de compostos orgânicos. Com isso ocorre preservação da parede celular, o que pode levar a manutenção da atividade de células importantes, envolvidas na fotossíntese e na absorção radicular (NWUGO; HUERTA, 2008a). Podendo ocorrer aumento na absorção de água e nutrientes,

notadamente nitrogênio, fósforo e potássio, o que leva a maior produção de matéria seca, como observado na presença de silício (MA et al., 2001). Além disso, o silício leva a uma maior rigidez da planta e de tecido, pela sua deposição nos tecidos das plantas (SAVANT et al., 1997), o que pode levar ao melhor aproveitamento da luz na produção foto assimilado e conseqüentemente maior preservação da clorofila. Resultados semelhantes foram observados para as plantas de arroz, que na presença de  $0,2 \text{ mmol L}^{-1}$  de silício aumentou o uso eficiente da água e a eficiência da luz na presença, quando expostas ao cádmio (NWUGO; HUERTA, 2008a). Este fato pode ter refletido na produção de matéria seca de grãos, que foi aumentada pela presença de silício.

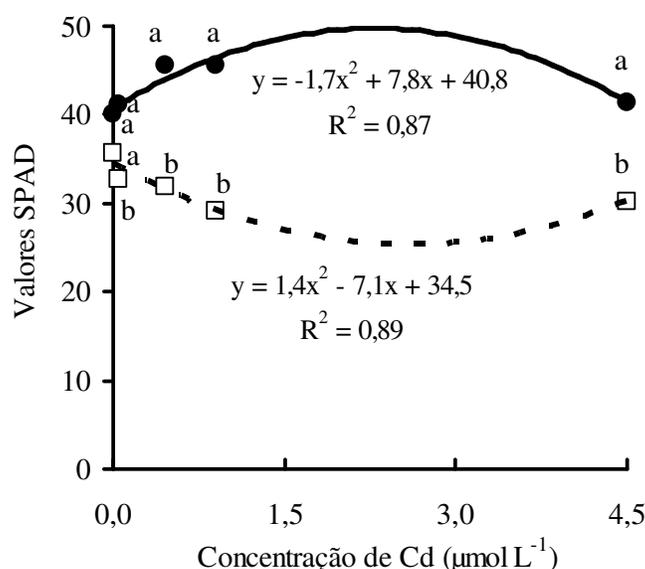


Figura 5.5 - Valores SPAD (“Soil plant analysis development”) referentes à coloração verde das folhas de plantas de feijão cultivadas em solução nutritiva com diferentes doses de cádmio, na presença de silício (+Si) e na ausência de silício (-Si). Médias seguidas de letras distintas entre si, diferem em função das doses de silício a Tukey ( $p < 0,05$ ).

O silício pode ainda ter uma ação indireta no aumento da coloração verde das plantas, pelo fato de estimular a produção de antioxidantes (LIANG et al., 2003; GONG et al., 2005; ERASLAN et al., 2008), levando ao aumento das atividades de superóxido dismutase e catalase (GUNES et al., 2007; KHAN, 2007; HORST; MARSCHNER, 1978). Assim, provavelmente com a aplicação de silício a oxidação de enzimas fotossintéticas, desencadeada pelo estresse oxidativo pela presença de cádmio, foi diminuída e a influência deletéria do cádmio no processo fotossintético foi minimizada.

A interação entre silício e cádmio tem sido discutida por alguns trabalhos e com isso têm-se algumas hipóteses de como essa interação pode diminuir a toxidez conferida pelo

cádmio. As hipóteses que se baseiam nas interações que ocorrem no interior da planta são basicamente duas, da inibição do transporte à longa distância, das raízes para a parte aérea (EPSTEIN, 1999; SHI et al., 2005; ZHANG et al., 2008; CUNHA; NASCIMENTO, 2009) ou do estímulo ao sistema antioxidativo nas plantas (GONG et al., 2005; KIRKHAM, 2006; LIANG et al., 2007). O que pode estar ocorrendo é uma interação entre estes fatores, que estaria ligada ao silício solúvel e ao silício depositado nas paredes celulares, tornando-as mais rígidas e por isso sofrendo menos efeito do estresse oxidativo desencadeado pelo cádmio.

### 5.3.3 Absorção e acúmulo de silício

A interação entre as doses de cádmio e silício foi significativa para a concentração e acúmulo de silício nas raízes, parte aérea, vagens e para a planta toda, exceto para os grãos de feijão, nos quais não foi detectado silício. De forma geral, para todas as partes das plantas de feijão as doses de cádmio afetaram a concentração e acúmulo de silício em um modelo quadrático de regressão (Figura 5.6). Exceto para as raízes e vagens que se adequaram ao modelo linear de regressão em relação à concentração de silício e as doses de cádmio.

Do total de silício absorvido, a maior parte se depositou nas folhas e caules (parte aérea), correspondendo praticamente a todo silício depositado na planta. Na parte a absorção de silício aumentou proporcionalmente às doses de cádmio, isto até a dose de  $0,9 \mu\text{mol L}^{-1}$  de cádmio, a partir dessa dose a concentração de silício decresceu. Assim como foi observado para o acúmulo de silício. Isto pode ter ocorrido porque na dose de  $4,5 \mu\text{mol L}^{-1}$  de cádmio a toxicidade de cádmio foi maior e afetou o transporte de silício até a parte aérea. Visto que nas raízes essa dose foi a de maior concentração de silício (Figura 5.6).

O aumento das doses de cádmio favoreceu a concentração de silício pelas plantas de feijão. Este aumento na absorção de silício em uma condição de estresse já observado em condições de excesso de manganês (HORST; MARSCHNER, 1978) e salinidade (ZUCCARINI, 2008). O transporte e acúmulo de silício podem ser regulados pelo fluxo de transpiração (JONES; HANDRECK, 1967; EPSTEIN, 1999; SANGSTER; HODSON; TUBB, 2001), porém esse não é o único mecanismo que regula esses processos (MALAVOLTA, 2006). O transporte e acúmulo de silício podem ser regulados por um processo ativo, que é desencadeado pelo estímulo à proteção contra doenças, pragas e outras condições de estresse, como já sugerido, que o acúmulo de silício na forma de  $\text{SiO}_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$  depende das exigências das plantas para resistirem a uma condição de estresse (BARBER; SHONE, 1966; JARVIS, 1987; MARSCHNER, 1995; BÉLANGER et al., 2004; CURRIE;

PERRY, 2007). Esse tipo de regulação da absorção e transporte pode ter ocorrido nas plantas de feijão uma vez que já foi demonstrado para o gênero *Phaseolus* a absorção por difusão ativa (RAVEN, 2001) e o transporte a longa distância é feito por apoplasto no xilema (RAVEN, 2001). Desta forma, a absorção e transporte de silício podem ter sido aumentados pela presença de cádmio.

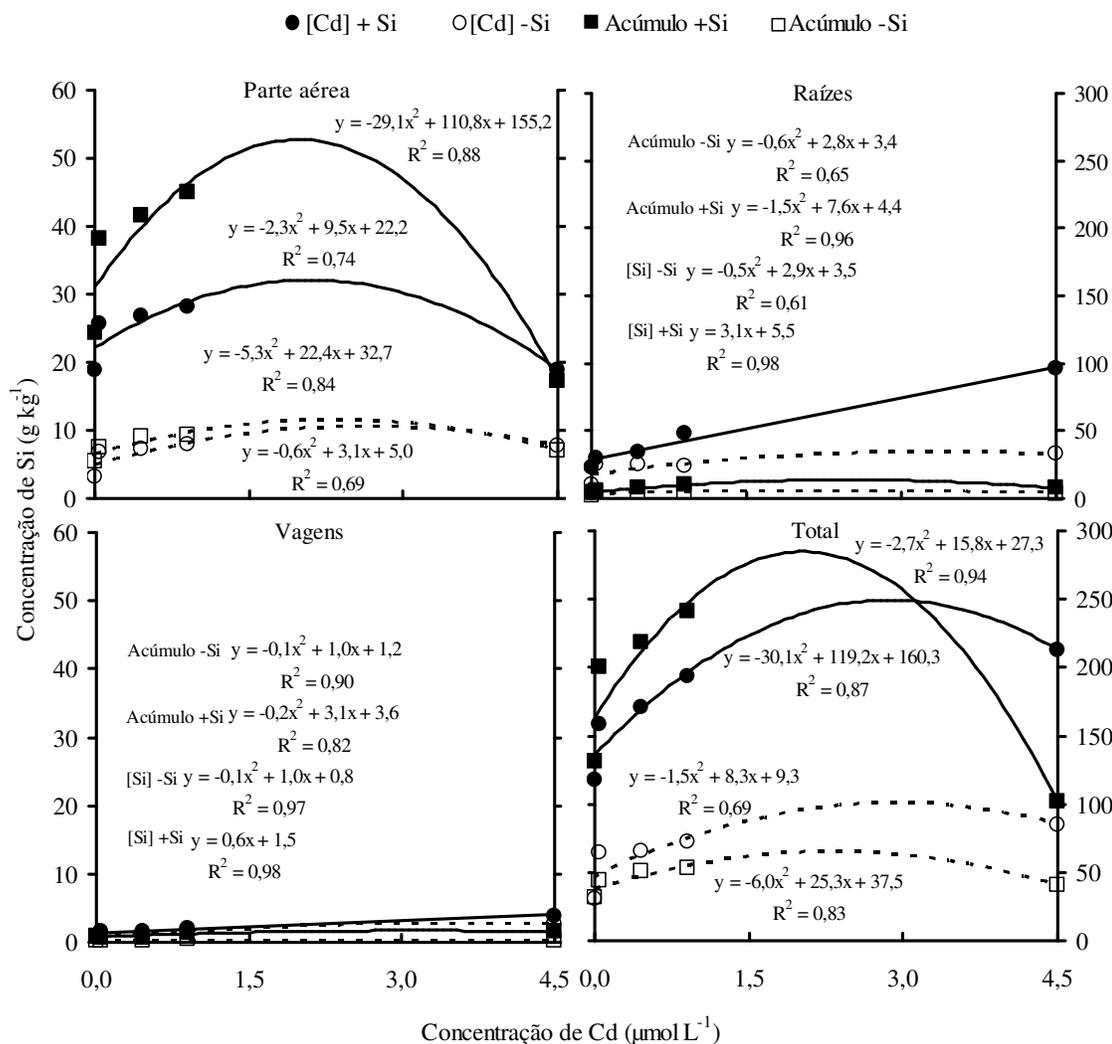


Figura 5.6 - Concentração de silício ( $\text{g kg}^{-1}$ ) e acúmulo ( $\text{mg planta}^{-1}$ ) na parte aérea, raízes, vagens e o total nas plantas de feijão, cultivadas em solução nutritiva contendo doses crescentes de cádmio, na presença de silício (+Si) e na ausência de silício (-Si).

A concentração de silício também foi afetada pela aplicação do silicato na solução nutritiva (Figura 5.7). Mesmo naqueles tratamentos em que não se aplicou silício, foi detectada uma pequena concentração desse elemento. Isto foi possível porque a água e sais

utilizados e até mesmo o ar atmosférico, contém uma pequena quantidade de silício. Um ambiente totalmente livre deste elemento é praticamente inexistente e essa é uma das grandes dificuldades de demonstrar a essencialidade do silício (EPSTEIN, 1999).

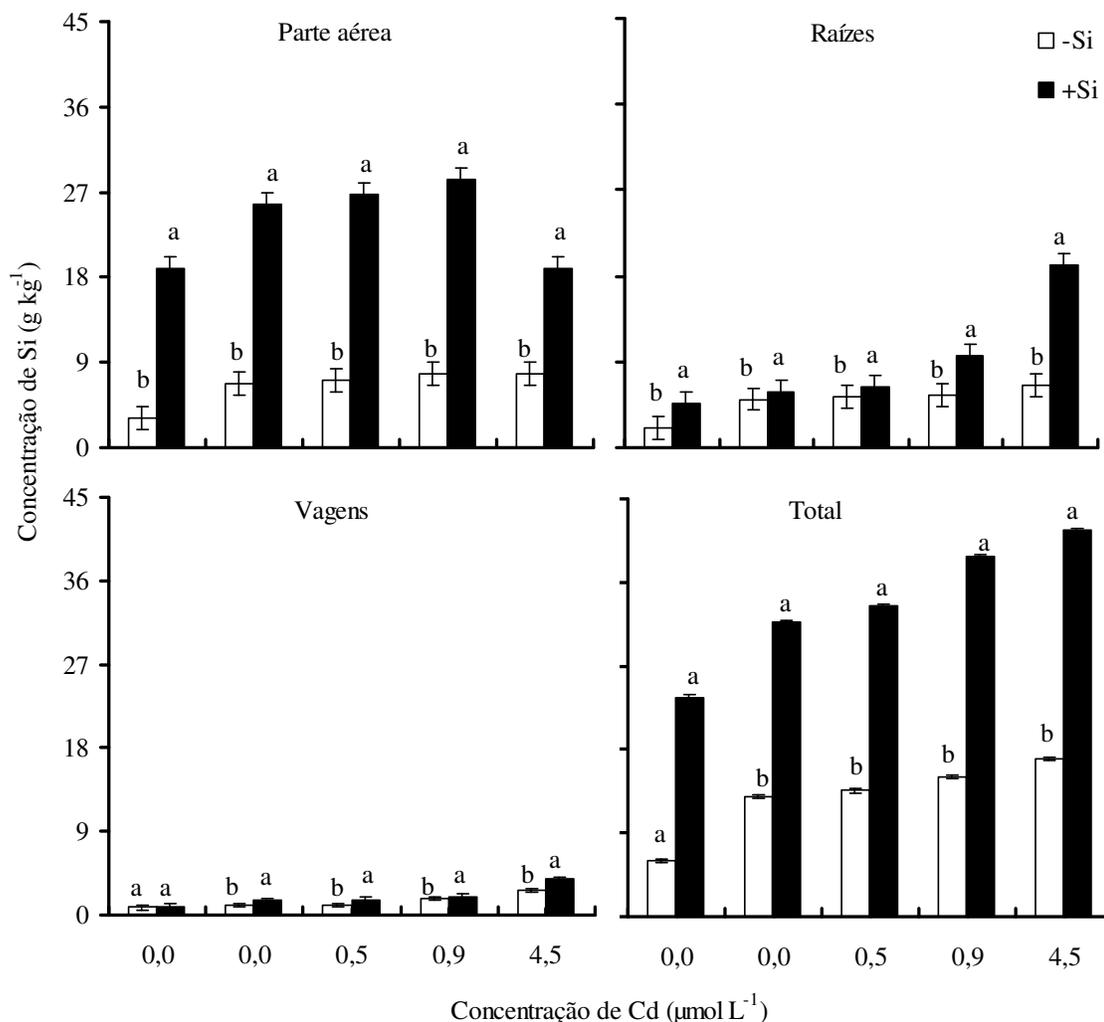


Figura 5.7 - Concentração de silício na parte aérea, raízes, vagens e no total das plantas de feijão cultivadas em solução nutritiva contendo doses crescentes de cádmio, na presença de silício (+Si) e na ausência de silício (-Si). Médias seguidas de letras distintas entre si, diferem em função das doses de silício a Tukey ( $p < 0,05$ ).

As plantas de feijão apresentaram uma concentração de silício relativamente alta, já que esta cultura não é considerada acumuladora de silício. Os teores foliares chegaram até  $28,3 \text{ g kg}^{-1}$  na dose de  $0,9 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$  de cádmio na presença de silício. Este teor é compatível com plantas acumuladoras do elemento silício, segundo Takahashi, Ma e Miyake (1990), leguminosas como feijão tem teor foliar menor que  $5 \text{ g kg}^{-1}$ , sendo consideradas por estes autores como exclusoras na absorção de silício. Isto pode ter ocorrido por estas plantas

estarem em um meio de solução nutritiva, no qual a disponibilidade de silício foi imediata e não teve efeitos que poderiam estar ocorrendo no solo, como efeito de pH, por exemplo.

Nas vagens de feijão se observa aumento na concentração de silício pela aplicação desse elemento na solução nutritiva, de forma proporcional às doses de cádmio. Evidenciando com isso a distribuição do silício para todas as partes das plantas de feijão. Porém nos grãos de feijão não foi detectado silício, ou seja, do silício transportado para a parte reprodutiva, praticamente todo ele ficou depositado nas vagens.

O acúmulo de silício, ou a extração total desse elemento em função da produção de matéria seca, foi favorecido pelas doses de cádmio, o acúmulo de silício pelas plantas foi aumentado com o suprimento de cádmio na solução nutritiva (Figura 5.8).

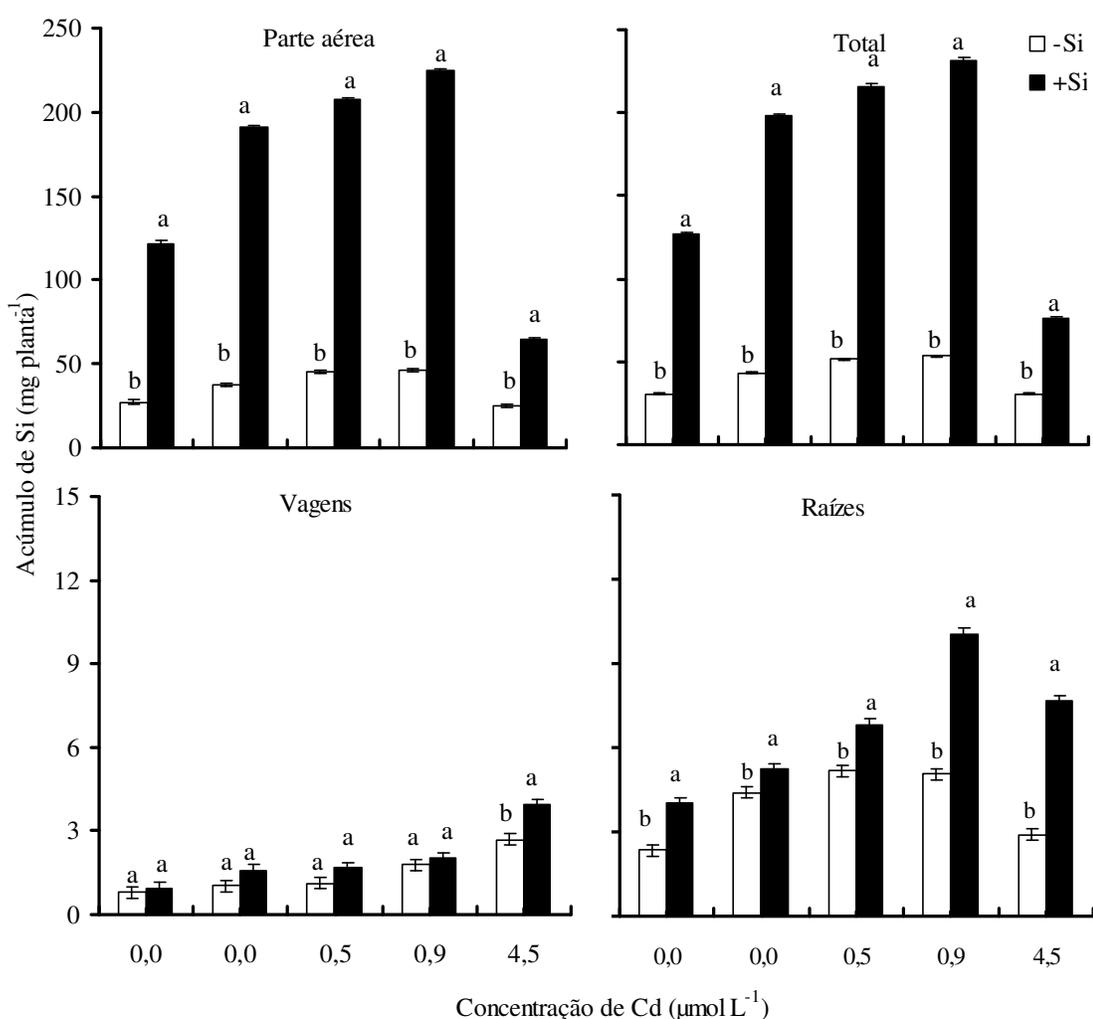


Figura 5.8 - Acúmulo de silício na parte aérea, raízes, vagens e o total para as plantas de feijão cultivadas em solução nutritiva com doses crescentes de cádmio, na presença de silício (+Si) e na ausência de silício (-Si). Médias seguidas de letras distintas entre si, diferem em função das doses de silício a Tukey ( $p < 0,05$ ).

Na dose de  $4,5 \mu\text{mol L}^{-1}$  de cádmio ocorreu descréscimo do acúmulo de silício, porque essa concentração de cádmio foi tóxica e impediu o desenvolvimento das plantas de arroz, conseqüentemente o acúmulo de silício foi menor. Nas outras doses de cádmio a presença de silício, a produção de matéria seca e a concentração de silício, foram proporcionais, por isso o acúmulo deste elemento foi acentuado nessas doses. Sendo, que praticamente todo o silício foi acumulado na parte aérea, pois a produção de matéria seca pelas folhas e caule foi maior do que nas outras partes da planta de feijão.

Nas raízes das plantas de feijão foi observada uma alta concentração de silício, sendo proporcional ao aumento das doses de cádmio (Figura 5.6 e 5.7). E isso leva a um maior acúmulo de silício nas raízes, o que parece ser típico de plantas excludoras de silício, não acumuladoras. Isto porque durante o transporte no córtex da raiz, o silício pode ser retido pela camada de suberina presente na endoderme, essa retenção é que torna estas plantas excludoras de silício (RAVEN, 2001). Desse silício depositado nas raízes, 80% está localizado na parede celular das raízes (HEINE et al., 2005), o que pode ter preservado as células das raízes contra os danos causados pelo cádmio e isso levou as plantas de feijão a resistirem à toxidez conferida pelo cádmio. Isto foi observado até a dose de  $4,5 \mu\text{mol L}^{-1}$  de cádmio, na qual ocorreu uma redução severa da produção de matéria seca e isso levou a diminuição acentuada do silício acumulado.

#### **5.3.4 Absorção e acúmulo de cádmio**

Foi observada interação entre as doses de cádmio e silício para a concentração e acúmulo de cádmio nas raízes, parte aérea, vagens, grãos e para a planta toda. Para todas as partes das plantas de feijão o efeito das doses de cádmio se adequou ao modelo quadrático para a concentração e acúmulo. As raízes quando na presença de silício apresentaram uma concentração que se adequou ao modelo quadrático de regressão (Figura 5.9).

A concentração de cádmio foi significativamente diminuída pela presença de silício na parte aérea e nos grãos. Isto foi observado principalmente nas doses de 0,45 e 0,90 e  $4,50 \mu\text{mol L}^{-1}$  de cádmio, que a aplicação de silício fez com que a concentração de cádmio aumentasse significativamente nas raízes e diminuísse outras partes da planta. Isto mostra que nestas doses o cádmio foi retido nas raízes das plantas de feijão e a presença de silício atenuou esse fato.

A concentração de cádmio nas raízes era um fato esperado, visto que, essa é a um mecanismo de defesa das plantas, contra a exposição a este metal. Pois a planta retém o

cádmio nas raízes como forma de impedir que esse elemento chegue até a parte aérea e seja prejudicial o seu desenvolvimento, esta é uma forma de tolerância ao cádmio (CLEMENS, 2006).

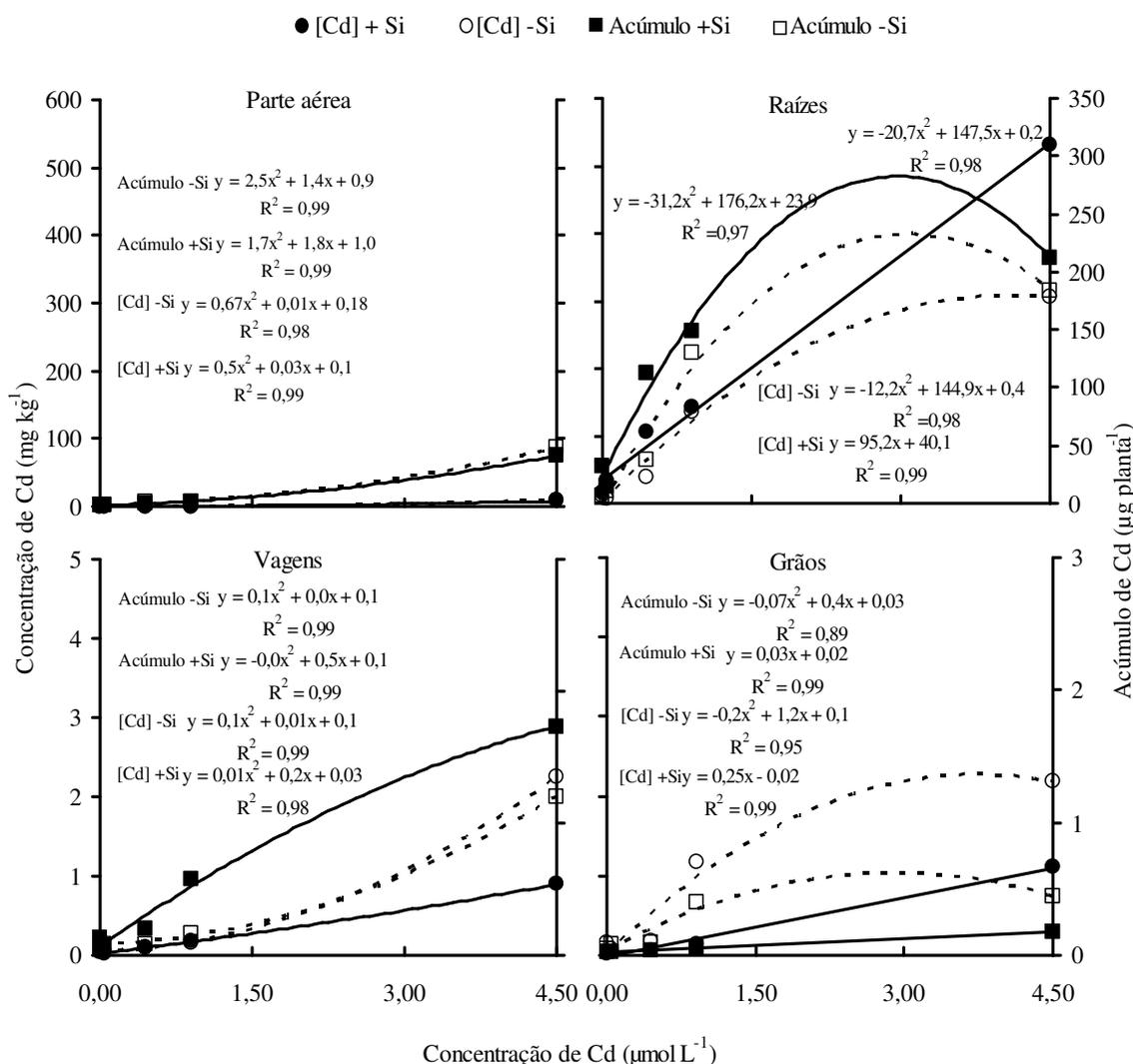


Figura 5.9 - Concentração de cádmio ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) e acúmulo ( $\mu\text{g planta}^{-1}$ ) na parte aérea, raízes, grãos e nas vagens das plantas de feijão, cultivadas em solução nutritiva contendo doses crescentes de cádmio, na presença de silício (+Si) e na ausência de silício (-Si).

Desta forma, as raízes apresentaram quase o total de cádmio acumulado pelas plantas de feijão, do total absorvido e acumulado (Figura 5.10). A concentração total de cádmio foi linearmente proporcional às doses de cádmio na solução nutritiva. Assim como, o acúmulo, o qual mesmo a matéria seca tendo sofrido decréscimo com o aumento das doses de cádmio,

foi proporcional ao aumento das doses de cádmio, isso porque a concentração alta o suficiente para suprimir o efeito de diluição na matéria seca.

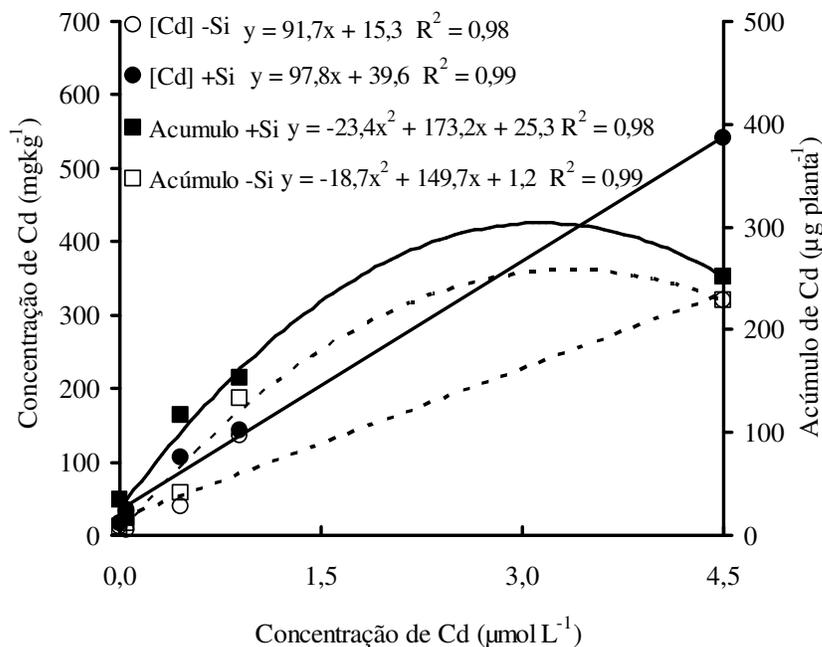


Figura 5.10 -Concentração de cádmio (mg kg<sup>-1</sup>) e acúmulo (μg planta<sup>-1</sup>) total na planta de feijão, cultivadas em solução nutritiva contendo doses crescentes de cádmio, na presença de silício (+Si) e na ausência de silício (-Si).

A concentração de cádmio nas raízes aumentou significativamente pela presença de silício. Isso fez com a concentração de cádmio diminuísse na parte aérea, inclusive nos grãos (Tabela 5.1). Esses resultados discordam de Shi et al., (2005), os quais verificaram que a aplicação de silício em plântulas de arroz levou a uma redução 35% da concentração de cádmio nas raízes destas plântulas na presença de silício (SHI et al., 2005). Esta diferença de efeito do silício pode estar relacionada com a idade da planta, já que se sabe que em plantas jovens o transporte e distribuição de nutrientes e metais ocorrem com maior eficiência (RIESEN; FELLER, 2005; PAGE et al., 2006). Além disso, existem grande diferenças entre as espécies envolvidas, um dessas é a capacidade de absorção e translocação de silício. O arroz absorve e transporta rapidamente o silício e o feijão, como sendo não acumuladora e exclusora na absorção de silício (MA; TAKAHASHI, 2002), retendo certa quantidade de silício nas raízes. Este fato provavelmente foi o fator determinante da retenção de cádmio nas raízes. Pelo fato de que a deposição de silício na endoderme do feijão impediu a translocação do cádmio, fazendo com que este ficasse retido nas raízes. Esse efeito já foi demonstrado

também em arroz Zhang et al. (2008) e milho (LIANG et al., 2007; CUNHA; NASCIMENTO, 2009).

Neumann e Neiden (2001) mostraram a inibição na absorção de cádmio induzida pelo silício no simplasto, e sugeriu que o silício depositado na parede celular ou nos espaços intracelular, poderia se ligar ao íon de metais, formando silicatos estáveis adsorvendo o metal dentro da planta. Já Shi et al. (2005) demonstraram que nenhuma restrição acontece no apoplasto e nem no simplasto, podendo a diminuição da toxidez do cádmio pela presença de silício estar relacionado exclusivamente ao fato do silício estimular a ação de antioxidantes. Ainda pode ser que essa diminuição da toxidez do cádmio pelo silício seja na melhoria da taxa fotossintética por uma melhor eficiência de uso da água e da luz (NWUGO; HUERTA, 2008), o que leva a uma maior produtividade na presença de silício.

Tabela 5.1 - Concentração de cádmio na parte aérea, raízes, vagens e grãos das plantas de feijão, cultivada em solução nutritiva contendo doses crescentes de cádmio, na presença de silício (+Si) e na ausência de silício (-Si). Médias seguidas de letras distintas entre si, diferem em função das doses de silício a Tukey ( $p < 0,05$ ).

Concentração de cádmio na solução nutritiva ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ )	Parte aérea		Raízes		Vagens		Grãos	
	-Si	+Si	-Si	+Si	-Si	+Si	-Si	+Si
	-----Cd ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) -----							
0,00	0,11 a	0,10 a	5,0 b	16,9 a	0,05 a	0,03 a	0,07 a	0,03 a
0,05	0,16 a	0,11 b	6,1 b	34,8 a	0,05 a	0,03 a	0,15 a	0,03 a
0,45	0,48 a	0,33 b	39,1 b	104,6 a	0,11 a	0,09 a	0,17 a	0,07 b
0,90	0,63 a	0,48 b	131,3 b	142,2 a	0,18 a	0,17 a	1,16 a	0,13 b
4,50	13,83 a	9,62 b	422,4 b	463,5 a	2,85 a	0,90 b	2,18 a	1,12 b

A retenção do cádmio na raiz impediu que esse fosse transportado até a parte aérea e assim as concentrações de cádmio em toda a planta foram diminuídas na presença de silício. Na parte aérea (folha + caule) ocorreu significativa diminuição de cádmio, assim como nos grãos. Esse efeito foi importante para melhorar a qualidade do grão de feijão, pois a ANVISA (1965) qualifica que o teor de cádmio nos grãos de feijão para consumo humano, sejam inferiores a  $1 \text{ mg kg}^{-1}$ . Essa concentração foi inferior à concentração de cádmio encontrada no grão de feijão do tratamento com  $0,9 \mu\text{mol L}^{-1}$  de cádmio, que foi de  $1,16 \text{ mg kg}^{-1}$ , isso na ausência de silício. Quando as plantas, expostas a essa mesma dose de cádmio, receberam a aplicação de silício, a concentração diminuiu para  $0,13 \text{ mg kg}^{-1}$  de cádmio no grão, o que o torna apto para consumo humano, segundo a ANVISA. Esse efeito foi observado também na

dose de  $4,5 \mu\text{mol L}^{-1}$  de cádmio, no qual a concentração de cádmio no grão diminuiu de  $2,18 \text{ mg kg}^{-1}$  para  $1,12 \text{ mg kg}^{-1}$  na presença de silício, uma redução de quase 100% da concentração de cádmio.

A quantidade de cádmio acumulada nas raízes e nos grãos das plantas de feijão foram significativamente afetados pela aplicação de silício (Tabela 5.2). A quantidade de cádmio acumulada na parte aérea das plantas de feijão, quando estas plantas foram supridas com  $4,5 \mu\text{mol L}^{-1}$  de cádmio foi 63 vezes maior do que no tratamento sem cádmio, isso na ausência de silício. Nessa mesma dose de cádmio na solução, com a aplicação de silício, as plantas receberam um aporte de cádmio de 45 vezes em relação à testemunha, sem cádmio. Demonstrando assim, que o silício diminuiu aporte de cádmio acumulado nas plantas de feijão, a partir de uma solução sem cádmio. Nas raízes o aumento de cádmio na dose de  $4,5 \mu\text{mol L}^{-1}$ , quando comparado com a testemunha foi 34 vezes maior quando o silício não estava presente no meio de cultivo. Na mesma dose, com a aplicação de silício esse aumento foi de 14 vezes maior, evidenciado a diminuição de aporte também nas raízes, pela presença de silício.

Tabela 5.2 - Acúmulo de cádmio na parte aérea, raízes, vagens e grãos das plantas de feijão cultivadas em solução nutritiva contendo doses crescentes de cádmio, na presença de silício (+Si) e na ausência de silício (-Si). Médias seguidas de letras distintas entre si, diferem em função das doses de silício a Tukey ( $p < 0,05$ ).

Concentração de cádmio na solução nutritiva ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ )	Parte aérea		Raízes		Vagens		Grãos	
	-Si	+Si	-Si	+Si	-Si	+Si	-Si	+Si
	-----Cd ( $\mu\text{g planta}^{-1}$ ) -----							
0,00	0,6 a	0,9 a	5,4 a	14,9 a	0,09 a	0,10 a	0,04 a	0,03 a
0,05	0,9 a	1,1 a	6,9 b	30,4 a	0,09 b	0,13 a	0,08 a	0,02 b
0,45	3,0 a	2,7 a	38,2 b	113,2 a	0,08 b	0,20 a	0,19 a	0,04 b
0,90	3,8 a	3,8 a	132,3 b	149,3 a	0,16 b	0,61 a	0,40 a	0,06 b
4,50	37,6a	42,9 a	182,4 b	212,0 a	1,20 b	1,90 a	0,44 a	0,17 b

O aumento do acúmulo de cádmio nas vagens e nas raízes pela presença de silício, demonstra que estes órgãos são provavelmente os locais onde o cádmio combina-se com mais afinidade ao silício. Tendo em vista que o acúmulo de silício nestes órgãos também foi aumentado pela presença de cádmio (Figura 5.8), isso indica a provável deposição concomitante destes dois elementos. O silício assim pode imobilizar o cádmio nestes órgãos, evitando os prejuízos no desenvolvimento das plantas de feijão causados por este elemento.

Do total de cádmio acumulado pelas plantas de feijão na dose de  $4,5 \mu\text{mol L}^{-1}$ , sem a aplicação de silício, 80 % encontra-se na raiz e 19% na parte aérea. Na mesma dose quando se aplica silício, o acúmulo na raiz é de 85% e na parte aérea de 14%, indicando a alteração na distribuição do cádmio na planta pela presença de silício. Na ausência de silício foi observada menor produção de massa seca, mas uma maior concentração de cádmio, assim quando determinado o acúmulo estas se equivalem. O acúmulo na raiz é um fato observado para plantas não acumuladoras de cádmio, ou menos tolerantes a este elemento, como as plantas de feijão (NASCIMENTO; PEREIRA, 1997; KIRKHAM, 2006).

Nos grãos o acúmulo de cádmio foi significativamente diminuído pela presença de silício, mesmo com a produção de matéria seca maior, mas com concentrações de cádmio inferiores na presença de silício. O acúmulo na dose de  $4,5 \mu\text{mol L}^{-1}$ , teve uma redução do conteúdo de cádmio de quase três vezes menos do que sem aplicação de silício. Esta redução foi observada par todas as doses de cádmio.

O cádmio nas plantas de feijão apresentou maior acúmulo nas raízes, enfatizado pela aplicação de silício e isso diminui o acúmulo nas outras partes das plantas, principalmente nos grãos. O silício acumulado nas raízes pode ter levado a maior retenção de cádmio nas paredes celulares, adsorvendo e tornando-o indisponível para o transporte a longa distância, até a parte aérea. O silício nas raízes ainda pode ter conferido maior resistência das plantas aos danos causados pelo cádmio, preservando assim a absorção de água e nutrientes. Além disso, o silício pode induzir a sinalização do sistema antioxidativo, minimizando os danos causados em processo fisiológicos importantes, tais como a fotossíntese. Seja pela ocorrência de um desses fatos isolados ou pela associação entres estes, o silício diminui significativamente a concentração e acúmulo de cádmio principalmente nos grãos de feijão. Estudos envolvendo parâmetros fisiológicos da interação silício e cádmio ainda devem ser desenvolvidos com o intuito de elucidar os mecanismos fisiológicos desencadeados por esta interação.

#### **5.4 Conclusão**

A concentração e o acúmulo de silício nas plantas de feijão foram aumentados em função das doses crescentes de cádmio, o que acarretou na diminuição do efeito da toxidez do cádmio, aumentando a produção de matéria seca e diminuindo a concentração e acúmulo de cádmio nos grãos.

## 6 INTERAÇÃO SILÍCIO E CÁDMIO NAS PLANTAS DE ARROZ

### RESUMO

O efeito do silício no aumento da produtividade de arroz tem sido atribuído a diversos fatores, sendo a diminuição da toxicidade de alguns elementos potencialmente tóxicos, tais como o cádmio, um desses. Em condições de estresse, causadas pelo cádmio, a absorção e acúmulo de silício podem ser favorecidos, como um mecanismo de resistência ao cádmio. O presente trabalho teve como objetivo verificar o efeito do excesso de cádmio no aumento da absorção e acúmulo de silício e a conseqüente diminuição da toxidez do cádmio para plantas de arroz. Para isso foi desenvolvido um experimento em casa de vegetação usando como meio de cultivo solução nutritiva, na qual foram acrescentadas seis doses de cádmio (0,0; 0,5; 4,5; 9,0; 22,5 e 45,0  $\mu\text{mol L}^{-1}$ ), às quais foram adicionados 1,8  $\text{mmol L}^{-1}$  de silício, mantendo o tratamento testemunha sem aplicação de silício. A aplicação de silício reduziu os sintomas visuais de toxidez, e aumentou o tamanho das plantas de arroz. O silício aumentou a taxa de coloração verde (valor SPAD), a qual foi diminuída com o aumento do suprimento de cádmio ao meio de cultivo. Completados 130 dias de cultivo as plantas foram coletadas e separadas em: parte aérea (folhas e colmos), raízes, cascas e sementes. Nestas amostras, o aumento de cádmio na solução nutritiva acarretou em uma progressiva redução na produção de matéria seca, sendo que as plantas supridas com silício aumentaram a produção de matéria seca. Nos grãos, o silício proporcionou aumento de 76% na produção de matéria seca. A concentração de silício na parte área e nas cascas, aumentou em média de 80% conforme as concentrações de cádmio no meio de cultivo foram incrementadas. O aumento na concentração de silício na parte aérea e cascas promoveram a redução na concentração e acúmulo de cádmio nas plantas de arroz. Esse fato pode ter ocorrido pelo melhor desenvolvimento das plantas de arroz, quando supridas com silício. O efeito benéfico do silício foi inversamente proporcional ao aumento das doses de cádmio. A análise das raízes de arroz em MEV mostrou o efeito deletério do cádmio, com a formação de grânulos nas células de absorção e a desintegração das paredes celulares na dose de 45,0  $\mu\text{mol L}^{-1}$  de cádmio, sendo que, na presença de silício esses efeitos foram minimizados. Desta forma, conclui-se que o excesso de cádmio nas plantas de arroz fez com que a concentração de silício nestas plantas fosse aumentada, melhorando a integridade das células, conferindo maior resistência às plantas aos danos causados pelo excesso de cádmio.

Palavras-chave: Estresse abiótico. Resistência de plantas. Parede celular. MEV.

## SILICON AND CADMIUM INTERACTION IN PLANTS OF RICE

### ABSTRACT

The silicon effect in rice yield increase had been related to several factors and, one of these factors is the toxicity reduction to some potential toxic elements, like cadmium. Under these stressing conditions, the uptake and accumulation of silicon can be favored as a resistance mechanism to cadmium. The goal of this experiment was to evaluate cadmium excess in the uptake and accumulation of silicon and the cadmium toxicity reduction in plants of rice. An experiment was carried out with plants of rice cultivated in nutrient solution in a greenhouse, testing six rates of cadmium: 0.00; 0.05; 4.50; 9.00; 22.50 and 45.00  $\mu\text{mol L}^{-1}$  where 1.80  $\text{mmol L}^{-1}$  was added and, also a check treatment without silicon. Silicon supply reduced the cadmium visual toxicity effects and increased the height of rice plants. Silicon increased the greenish index (SPAD values) that was reduced due to the increasing in cadmium rates. After 130 days, the plants were collected and separated in: shoots (leaves and stems), roots, shelves and grains. The cadmium increase lead to a progressive reduction in dry mass production to these samples and, plants supplied with silicon had their dry matter production increased. Silicon increased the dry mass production in 76% to the grains. The silicon content in shoots and shelves, increased in about 80% due to increases in cadmium concentrations in the nutrient solution. The increased silicon content lead to the reduction, in concentration and accumulation, of cadmium in rice. This fact can be related to the better development of rice plants when supplied with silicon. The effect of beneficial silicon was inversely proportional to the cadmium rates. The analysis of the roots in ESM showed the deleterious effect of cadmium with formation of granules on the absorption cells and disintegration of cell walls at the rate of 45.00  $\mu\text{mol L}^{-1}$  of cadmium, effect that was reduced in silicon presence. The results showed that cadmium excess lead to increase silicon content in rice plants. This fact supported the cells integrity of the plants that provided better resistance of this plant to cadmium excess damage.

Keywords: Abiotic stress. Resistance of plants. Cellular wall. MEV.

## 6.1 Introdução

O arroz é uma espécie acumuladora de silício, a qual exige quantidades elevadas de silício para um crescimento vigoroso e alto na produção geralmente com um teor foliar de 15 g kg<sup>-1</sup> de silício (DATNOFF et al., 2007). Podendo acumular este elemento muitas vezes mais do que macronutrientes tal como nitrogênio, fósforo e potássio (EPSTEIN, 1999). O mecanismo de absorção de silício para a cultura do arroz é feito de forma ativa por proteínas de membranas específicas para o ácido monossilícico (H<sub>4</sub>SiO<sub>4</sub>). O gen Lsi 1 foi o primeiro transportador de ácido monossilícico identificado em arroz (MA et al., 2004a) e concentra sua ação na exoderme e endoderme da raiz, sendo responsável pelo influxo de silício. O Lsi2 é responsável pela sinalização do transportador de efluxo de ácido de monossilícico (MA et al., 2007).

Na cultura do arroz a absorção de silício proporciona aumento da produção de matéria seca, pela melhor utilização de P (MA; TAKAHASHI, 1990) ou proporcionar uma melhor nutrição, aumentando produção de carboidratos, teor de clorofila, eficiência fotossintética e conseqüentemente o aumento do número de panícula e produção de grãos (KORNDÖRFER et al., 1999). Além disso, o silício mostra-se eficiente no controle de importantes doenças do arroz (DATNOFF et al., 2007). O mecanismo de defesa desencadeado pelo silício pode ocorrer por basicamente dois fatores: O silício age como uma barreira física, depositado embaixo da cutícula formando uma camada dupla de sílica e cutícula (KIM et al., 2002) qual mecanicamente pode impedir penetração por fungos e, assim, obstrui o processo de infecção. Ou o silício pode agir como ativador de resistência ao patógenos, estas respostas bioquímicas só são induzidas por silício solúvel (FAUTEUX et al., 2005; CÔTÉ-BEAULIEU et al., 2009). E ainda pode ocorrer os dois fatores concomitantemente, como a defesa induzida, ocorrendo após a infecção, e levando a deposição de sílica sobre e no interior da parede das células do mesofilo como uma resposta à infecção por patógenos (HEATH, 1980).

Outro benefício do silício é o alívio a muitos estresses abióticos, como salinidade, toxicidade de metal, deficiência de nutriente, seca, temperatura alta, geadas e muitos outros (EPSTEIN, 1999; RICHMOND; SUSSMAN, 2003; MA, 2004b). A maioria destes efeitos benéficos também é atribuída à deposição de silício nas paredes de célula de raízes, folhas, talos e cascas (CHEN; ZHENG; ZHU, 2000; SHI et al., 2005). Porém alguns autores atribuem este efeito ao estímulo ao sistema de antioxidantes (GONG et al., 2005; LIANG et al., 2007).

Estudos da diminuição da toxidez de cádmio em plantas de arroz, pela aplicação de silício tem sido atribuída a alguns mecanismos tais como: co-precipitação ou complexação no solo (CHEN et al., 2000; ZHAO; MASAIHIKO, 2007; CUNHA; NASCIMENTO; SILVA, 2008); Ou por interações que ocorrem no interior dos vegetais, os quais podem ser: Inibição do transporte de silício das raízes para a parte aérea; compartimentação do cádmio dentro da planta; ou pelo estímulo ao sistema de antioxidantes nas plantas (LIANG et al., 2003; 2007; KIRKHAM, 2006). O efeito fitotóxico do cádmio está relacionado a vários fatores; tais como: clorose foliar, inibição de crescimento e a perturbação de processos fisiológicos importantes, como a fotossíntese, pelo aumento na produção de espécies ativas de oxigênio (MOYA; ROS; PICAZO, 1993; DAS et al., 1998; KUKIER, CHANEY, 2002; SHI; CAI, 2008).

A aplicação de silício na diminuição da toxicidade do cádmio tem importância por ser cádmio altamente solúvel em água, móvel e tóxico até mesmo em baixa concentração, chegando facilmente ao consumo humano (WAGNER, 1993; SANITÀ DI TOPPI; GABRIELLI, 1999). Desta forma, uma vez no solo o cádmio é facilmente absorvido pelo sistema radicular das plantas e translocado, via xilema, para a parte aérea, a favor de um fluxo de transpiração (PRASAD, 1995). A absorção de cádmio é feita por apoplasto (CLEMENS, 2006), mas também pode ser feita por simplasto, como um cátion oportunista, absorvido por canais seletivos de cátion (SHI et al., 2005).

As plantas constituem-se o principal ponto de entrada do cádmio na cadeia alimentar. O cádmio no homem pode trazer várias complicações fisiológicas, como deformidade óssea e doença renal crônica devido a disfunções tubulares renais, anemia e fortes dores generalizadas, câncer de próstata (GOYER, 1997). No Japão o valor considerado ideal para consumo humano dos grãos de arroz não podem ultrapassar  $0,4 \text{ mg kg}^{-1}$  de cádmio (CODEX, 2004), para a legislação vigente no Brasil esses valores não poderão ultrapassar  $1,0 \text{ mg kg}^{-1}$  de cádmio (ANVISA, 1965).

A cultura do arroz dentro do sistema alimentar mundial ocupa posição preponderante sendo que mais de um terço da população mundial depende do arroz como alimento básico. No Brasil esta cultura vem expandindo sua área de plantio e a qualidade e produtividade de grãos de arroz é de suma importância para garantir uma boa comercialização. O que pode ser obtido pela aplicação de silício. Nesse sentido este trabalho teve como objetivo verificar o efeito do excesso de cádmio no aumento da absorção e acúmulo de silício e a consequente diminuição da toxidez do cádmio para plantas de arroz.

## 6.2 Material e métodos

O experimento foi realizado em casa de vegetação do CENA/USP, localizado no município de Piracicaba-SP, no período de junho a outubro de 2008. As sementes de arroz variedade IAC 202 foram semeadas em areia lavada, onde permaneceram até a emergência das plântulas. Esta variedade foi assim escolhida por apresentar produtividade superior à variedade IAC 201, com alta qualidade industrial e menor grau de acamamento, mas a utilização de silício não interfere na produtividade de grãos e rendimento industrial desta cultivar (REIS et al., 2008).

Após a emergência, uma plântula de arroz foi transferida para cada vaso que continham dois litros de solução nutritiva com a seguinte formulação em  $\text{mmol L}^{-1}$ : 16000 de N e 6000 de K ( $\text{KNO}_3$ ); 4000 de Ca [ $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ]; 2000 de P ( $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ ); 1000 de S e 1000 de Mg ( $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ); 50 de Cl (KCl), 25 de B ( $\text{H}_3\text{BO}_3$ ); 2,0 de Mn ( $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ); 2,0 de Zn ( $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ); 0,5 de Cu ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ); 0,5 de Mo ( $\text{H}_2\text{MoO}_4$ ) e 20 de Fe (Fe-EDTA) (JOHNSON et al., 1957).

A essa solução foram adicionados os tratamentos com cádmio, sendo a fonte usada o cloreto de cádmio ( $\text{CdCl}_2$ ), com as seguintes doses ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ ): 0,00; 0,45; 4,45; 9,00; 22,50; 45,00; totalizando seis doses de cádmio. A esses tratamentos foi adicionado  $1,8 \text{ mmol L}^{-1}$  de silício (Si), mantendo uma parte das parcelas sem adicionar o silício. Nestes tratamentos com silício na dose de  $1,8 \text{ mmol L}^{-1}$ , obtido pela dissociação do silicato de potássio ( $\text{K}_2\text{SiO}_3$ ) em solução, já adicionava  $58 \text{ mg L}^{-1}$  de K, assim a concentração de K na solução inicial foi diminuída para  $167 \text{ mg L}^{-1}$ , nestes tratamentos. O experimento foi instalado em delineamento inteiramente casualizado (DIC), em esquema fatorial  $6 \times 2$ , com três repetições para cada tratamento.

As plantas de arroz foram cultivadas por 130 dias, período no qual foram realizadas trocas semanais da solução nutritiva, monitorando o pH e condutividade elétrica da solução nutritiva, e quando necessário foi realizada a correção do pH da solução, mantendo-o entre 5,0 a 6,5. Quando a condutividade elétrica atingiu aproximadamente 40% do valor inicial, foi feita a troca da solução nutritiva.

Para avaliar o efeito das doses de cádmio e silício nos sintomas visuais da toxidez de cádmio, foram feitas observações periódicas com registro em fotografia. Uma variável utilizada foi a taxa de coloração verde das plantas, usando microprocessadores para calcular valores em SPAD (“Soil plant analysis development”). Esse medidor portátil permite medições instantâneas do valor de coloração verde (processo de reflexão), que tem relação

direta com a taxa de clorofila a e b na planta (ARGENTA et al., 2002). Essa determinação foi feita aos 45 dias de desenvolvimento. Para cada tratamento, procedeu-se a leitura da última folha do arroz totalmente expandida, a partir do ápice da planta, amostrando-se seis pontos de cada folha e retirando-se a médias destas medidas.

Ao final dos 130 dias de cultivo as plantas de arroz apresentavam-se com panícula dourada e tinham seu ciclo de vida completo. Nesta fase as plantas foram coletadas, e divididas em amostras de parte aéreas (colmo + folha), raízes, casca (pericarpo) e sementes. Estas amostras foram lavadas em água deionizadas e enxaguadas em água pura, acondicionadas em sacos de papel e secas em estufa a 65°C, até atingirem peso constante. Em seguida foram pesadas e moídas para serem levadas ao laboratório para análises elementares.

Todos os procedimentos analíticos usados nesse estudo foram realizados com uso da água pura. A pureza desta água é monitorada pela medida da condutividade, valor de resistividade de 18,2 MΩ.cm a 25°C, a água é normalmente dispensada através de uma membrana filtradora de 0,22 μm, retirando carbono dissolvido, o valor final destes não ultrapassa 5 μg L<sup>-1</sup>.

A determinação de silício do material vegetal seguiu metodologia proposta por Elliot e Snyder, 1991. Para isto foi pesado 0,1 g das amostras em tubos de polietileno e adicionados 2,0 mL de 30% (v/v) H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e 3,0 mL de NaOH (25 mol L<sup>-1</sup>). Procedeu-se a digestão em autoclave por 1 hora a 123°C e 0,15 MPa. Após resfriamento, o volume foi completado com água pura para 50 mL. Desse extrato foi retirada uma alíquota de 1,0 mL e transferida para frasco de 20 mL, completando-se o volume com água pura. A concentração de silício foi determinada por método espectrofotométrico (CARNEIRO et al., 2007) com leitura a 410 nm da cor amarela do ácido molibdosilícico formado após reação entre silício e molibdato de amônio em meio ácido com HCl (14 mol L<sup>-1</sup>).

A concentração de cádmio foi determinada nas diferentes partes das plantas. Para isso foi realizada digestão ácida em micro-ondas. O procedimento de digestão ácida foi baseado no método 3052 da USEPA (U.S. Environmental Protection Agency, 1996). Para isso foi pesado 0,25 g de amostra vegetal moída. Nestas amostras foram adicionados às amostras 30 μl de HF, 8,0 mL de HNO<sub>3</sub> (20% de concentração) e 2 mL de peróxido de hidrogênio (30%). Os reagentes e amostras foram acondicionado em tubos de teflon (10 mL) e levados ao aparelho de micro-ondas (Milestone, modelo Ethos TC Plus) em temperatura de 180°C a qual é atingida em 20 minutos, permanecendo nessa mesma temperatura por mais 20 minutos, e 10 minutos de resfriamento, totalizando 50 minutos. Após o resfriamento e abertura do aparelho

de micro-ondas as amostras foram diluídas com água mili-Q para volume final de 50 mL e cerca de 5 mL foram levados para análise em ICP-MS (Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry). Equipamento da marca Agilent modelo 7500ce, com nebulizador concêntrico (micromist) instalado em câmara de nebulização refrigerada.

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância pelo teste F. Quando significativas, as interações foram desdobradas, aplicando teste de Tukey ( $p < 0,05$ ) para comparação das médias relativas à aplicação de silício, e análise de regressão polinomial para as doses de cádmio, utilizando o software Statistical Analysis System (SAS, 1999).

A análise ultraestrutural das raízes das plantas de arroz foi feita por microscopia eletrônica de varredura (MEV) uqe destina-se ao exame de superfície das amostras (pode-se ver superfícies internas das amostras, se fraturadas e expostas) utilizando-se principalmente elétrons secundários, para melhor observação do tecido vegetal. Para a análise da estrutura interna, foi feita uma criofratura, ou seja, o material foi congelado em temperatura criogênicas ( $\pm 190^{\circ}\text{C}$ ) com nitrogênio líquido e procederam-se as fraturas nestas condições. O primeiro passo para esta técnica foi coletar amostras frescas das raízes e fixa-las em fixador Karnovsky por 12h, posteriormente, o mesmo foi descartado e foi adicionado o glicerol 30% em  $\text{H}_2\text{O}$  deixando reagir por 30 minutos, como crioprotetor. Logo após as amostras foram imersas em  $\text{N}_2$  líquido e e em seguida fraturado. Posteriormente foi feita a fixação em tetróxido de ósmio 1% em um período de 3 horas, após rápida lavagem em água destilada, as amostras foram desidratadas em séries crescentes de acetona em água (25; 50; 75; 90 e 100%) (KITAJIMA; LEITE, 1999).

Em seguida as amostras foram secas no aparelho de ponto crítico (PC) (Balzers CPD 030 do NAP/MEPA – ESALQ). Para se proceder a secagem ao PC, as amostras foram imersas em acetona, colocando-se em uma câmara hermeticamente fechada e dotada de janela para a observação, resfriada por volta de  $5-6^{\circ}\text{C}$ . Assim que a amostra foi colocada na câmara procedeu-se à entrada de  $\text{CO}_2$  que se liquefaz ficando a amostra imersa no mesmo. Parte deste  $\text{CO}_2$  foi removida por aproximadamente seis vezes consecutivas até que toda a acetona fosse retirada. Em seguida, o gás  $\text{CO}_2$  foi retirado lentamente e amostras foram secas e preservadas. A seguir, as amostras foram montadas em suporte de metal (stubs) e metalizadas com ouro durante 260 segundos no evaporador (MED 010 Balzers). As análises foram feitas ao microscópio eletrônico (Zeiss LEO 435 VP) e imagens digitalizadas foram obtidas. Parte desse material foi coberto com carbono para ser feita a microanálise de raios-X (Zeiss DSM-940 A).

## 6.3 Resultados e discussão

### 6.3.1 Sintomas visuais

Os sintomas visuais de toxidez evidente em arroz foram; a presença de manchas marrom-avermelhadas nas folhas e clorose. Os efeitos visíveis da exposição ao cádmio levaram a redução do crescimento, à medida que se aumentaram as doses de cádmio na solução nutritiva, nas quais as plantas de arroz estavam submetidas (Figura 6.1). Evidenciando ainda que a aplicação da dose de  $1,8 \text{ mmol L}^{-1}$  de silício fez com esses sintomas visuais de fitotoxidez fosse diminuído.

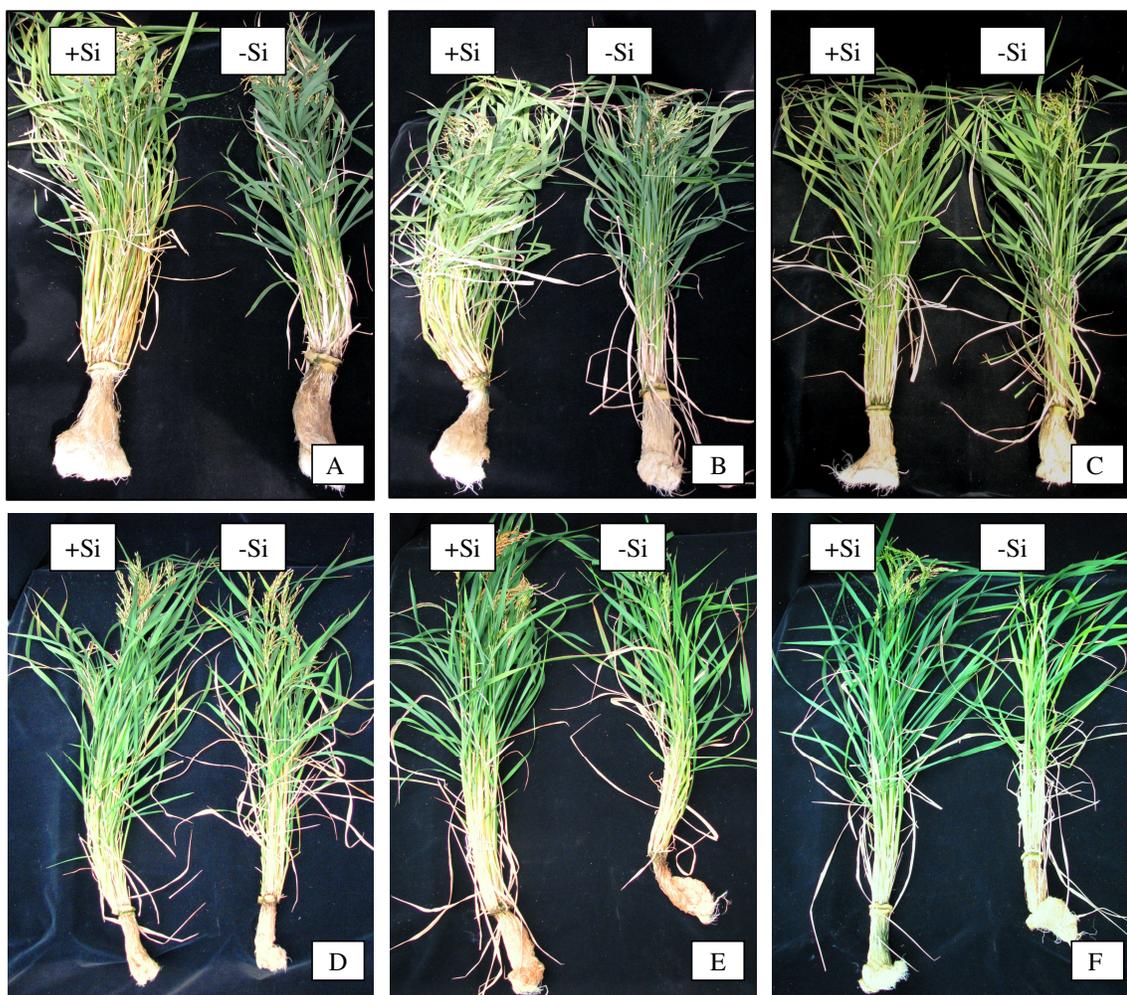


Figura 6.1 - Comparação dos sintomas visuais de toxidez de cádmio para plantas de arroz , quando cultivadas em solução nutritiva sem cádmio (A) e nas doses crescentes, de 0,45 (B); 4,5 (C); 9,0 (D); 22,5 (E) e 45,0 (F)  $\mu\text{mol L}^{-1}$  de cádmio, evidenciando o efeito da aplicação de  $1,8 \text{ mmol L}^{-1}$  de silício (+Si) e sem aplicação de silício (-Si)

Estes sintomas de toxidez de cádmio em plantas de arroz já foram descritos por Jurado (1989). Sintomas como clorose, são descritas como sintomas de toxidez Cd indica distúrbios na nutrição mineral, como deficiência de Fe e redução da absorção e transporte de água e de vários elementos (Ca, Mg, K e Mn) pelas plantas (SIEDLECKA; KRUPA, 1999; BENAVIDES et al., 2005). Além disso, a clorose pode estar ligada ao efeito deletério do cádmio no aparato fotossintético e na diminuição de condutância estomática, o que afeta na respiração celular também (SHI; CAI, 2008).

A presença de silício fez com o efeito fitotóxico em relação ao crescimento e desenvolvimento vegetal fosse reduzido. Isso pode ser extrapolados inclusive para aplicação de silicato em solos contaminados, que podem inclusive, aliviar a fitoxidez de cádmio em muitas outras culturas (ZHANG et al., 2008). O efeito do silício na diminuição destes sintomas de toxidez de cádmio pode estar ligado ao fato de que a presença de silício leva à uma maior eficiência fotossintética, pela melhoria na arquitetura de plantas e no aumento de compostos orgânicos essenciais para o desenvolvimento da plantas (KORNDORFER et al., 1999, MA et al., 2001).

### **6.3.2 Produção de matéria seca**

Os sintomas visuais do efeito tóxico do cádmio e do efeito do silício foram confirmados na produção de matéria seca das plantas de arroz. A qual sofreu significativo efeito da interação entre as doses de cádmio e silício. O aumento da concentração de cádmio na solução nutritiva acarretou em uma redução da produção de matéria seca, que se adequou à um modelo quadrático de regressão (Figura 6.2).

A diminuição da produção de massa de matéria seca já foi observada por Shah e Dubey (1995), ao estudarem o efeito de cádmio em arroz observaram que este elemento provocou diminuição no crescimento das raízes e parte aérea pelas alterações na atividade do RNA, inibição das ribonucleases e concomitante alteração de suas isoformas, afetando assim a divisão celular. Outros autores ressaltam que a redução no crescimento e desenvolvimento vegetal causada pelo cádmio deve-se à inibição de processos fisiológicos importantes, tais como a fotossíntese e a respiração (BENAVIDES et al., 2005).

O cádmio ainda pode causar danos radiculares, Daud et al., (2009) trabalhando com duas cultivares de algodão (transgênica e selvagem), observaram que com o aumento das doses de cádmio levaram a mudança nas estruturas das células apicais radiculares. Aumentando a plasmólise da membrana plasmática, número maior de nucléos e vacúolos.

Além do mais, a acumulação de cádmio na forma de elétrons grânulos densos e cristais ambos em vacúolos e aderidos a paredes celulares eram visível em ambos cultivares de algodão.

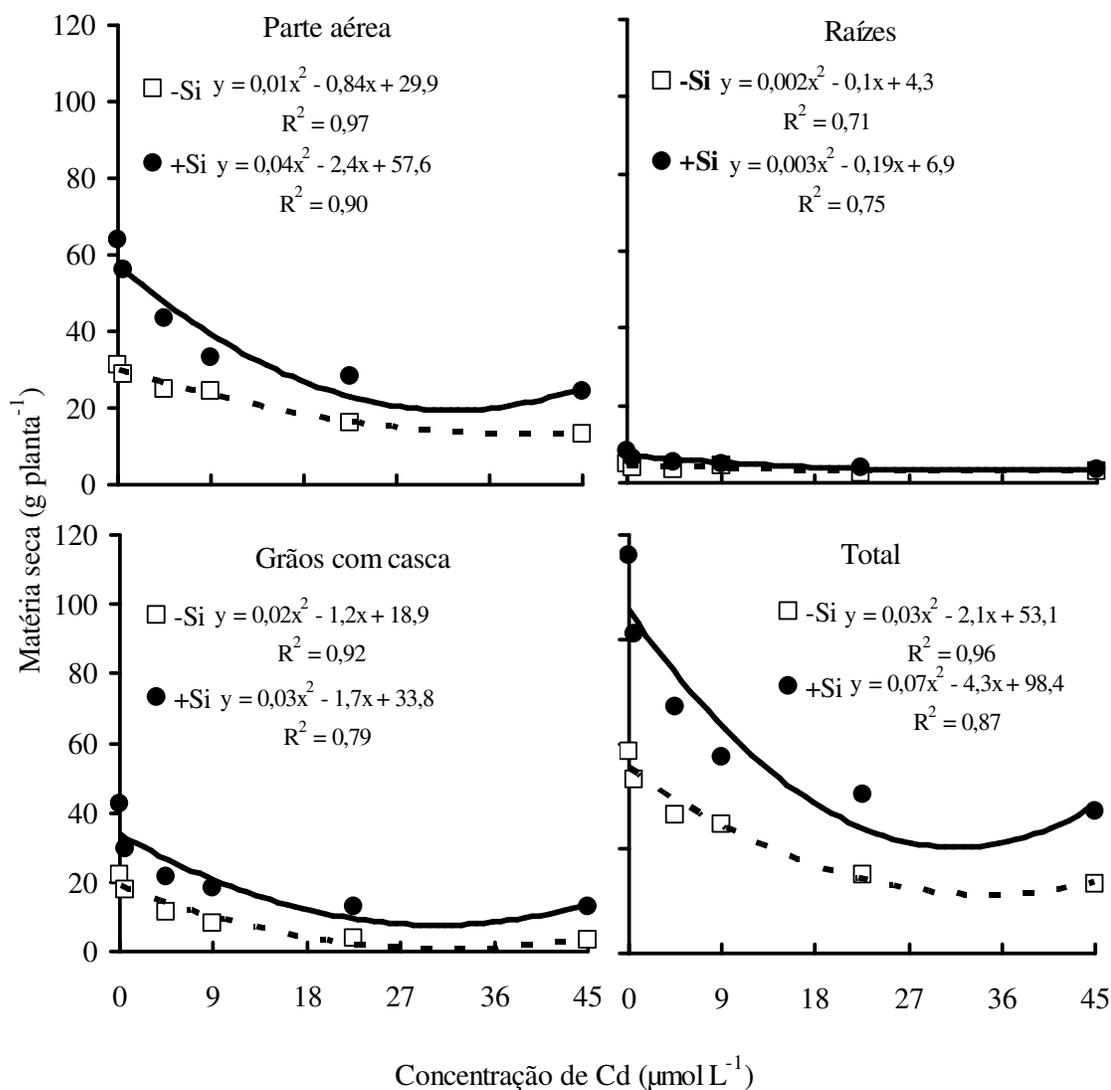


Figura 6.2 - Produção de matéria seca da parte aérea, raízes, grãos e total das plantas de arroz cultivadas em solução nutritiva com doses crescentes de cádmio, na presença de silício (+Si) e na ausência de silício (-Si).

A aplicação de silício proporcionou um aumento significativo para a produção de matéria seca da planta toda (Figura 6.3). Mesmo na dose maior de cádmio, de  $45,05 \mu\text{mol L}^{-1}$ , a dose de  $1,8 \text{ mmol L}^{-1}$  de silício aumentou a produção de massa de matéria seca da parte aérea em 45 %, das raízes de 13% e dos grãos de 76 %, em relação à mesma dose sem aplicar silício.

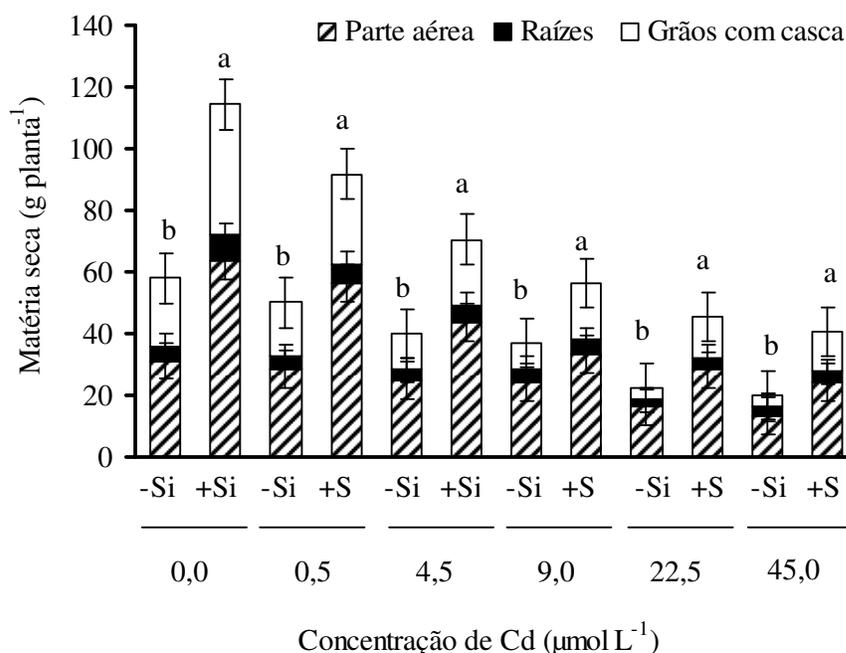


Figura 6.3 - Produção de matéria seca das plantas de arroz em função das doses de cádmio na presença (+Si) e na ausência (-Si) de silício. Médias seguidas de letras distintas entre si, diferem em função das doses de silício a Tukey ( $p < 0,05$ ).

O efeito positivo da aplicação de silício em relação à produção de massa de matéria seca de toda a planta de arroz, deve-se a fato de que o arroz é uma espécie acumuladora de silício. Nesta a absorção de silício proporciona aumento da produção de matéria seca, pela melhor utilização de fósforo (MA et al., 2001) ou ainda por uma melhor nutrição, aumentando produção de carboidratos, teor de clorofila e maior número de panícula. Assim como também já foram observadas maiores produções de grãos à medida que se aumenta a aplicação de silicato (KORNDÖRFER et al., 1999).

Em milho a aplicação de  $10 \text{ mg kg}^{-1}$  de cádmio e  $100 \text{ mg kg}^{-1}$  de Zn tiveram a fitoxidez diminuída progressivamente pelo aumento das doses de silício de 0; 50; 100; 150 e  $200 \text{ mg kg}^{-1}$ , com um aumento da massa seca das raízes e parte aérea de 82% e 67% respectivamente, pela aplicação de  $20 \text{ mg kg}^{-1}$  de silício (CUNHA; NASCIMENTO; SILVA, 2008). Uma das hipóteses explicarem a diminuição da toxidez do cádmio para as plantas pela presença de silício, é que o silício leva ao aumento da biomassa, diluindo o estresse causado pelo cádmio. Com o aumento da biomassa das raízes e sua capacidade de reter o cádmio, leva o superior acúmulo de cádmio nesse órgão. Isso pode ocorrer pela compartimentação do cádmio nas paredes celulares em especial células silicificadas da raiz (ZHANG et al., 2008).

O efeito da nutrição com silício (0,0; 0,2 ou 0,6 mmol L<sup>-1</sup>) nos sintomas de toxidez conferida por baixa concentração de cádmio (0,0 ou 2,5 µmol L<sup>-1</sup>) foi investigado em plantas novas de arroz crescidas em solução nutritiva, avaliando caracteres fisiológicos adaptativos. Mostrando que esse tratamento com cádmio e silício, o conteúdo de cádmio foi significativamente reduzido nas raízes e parte aérea. Além do mais a dose 0,2 mmol L<sup>-1</sup> de silício, foi suficiente para aumentar o uso eficiente da água e a eficiência da luz (NWUGO, HUERTA, 2008a). Esta mesma dose de 0,2 mmol L<sup>-1</sup> de silício também foi ideal aumentar a eficiência fotossintética e de parâmetros da eficiência de clorofila e arroz (NWUGO, HUERTA, 2008b). Esses fatores de que tem efeito direto na fisiologia das plantas podem ter influenciado na melhora na produção de massa seca.

A taxa de coloração verde, medida em valores SPAD, foi significativamente diminuída pelo aumento das doses de cádmio. E embora a aplicação de silício tenha aumentado a coloração verde em algumas doses de cádmio, não foi observada diferença significativa entre os valores SPAD na presença de na ausência de silício (Figura 6.4).

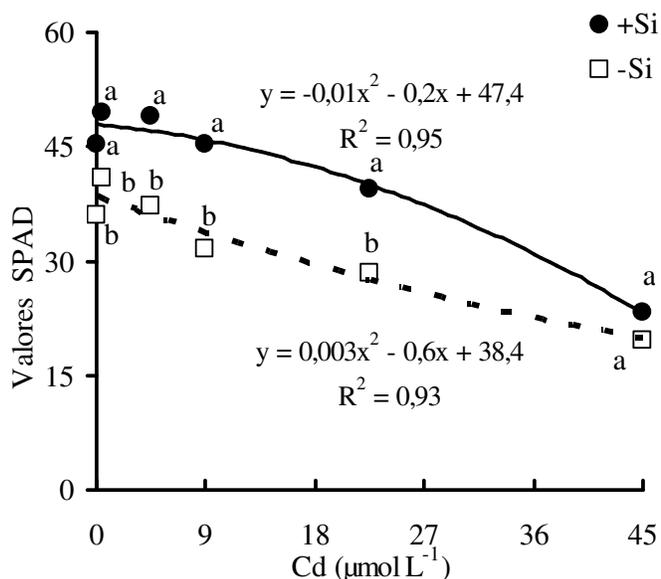


Figura 6.4 - Valores SPAD (“Soil plant analysis development”) referentes à coloração verde das folhas de plantas de arroz cultivadas em solução nutritiva com diferentes doses de cádmio, na presença de silício (+Si) e na ausência de silício (-Si). Médias seguidas de letras distintas entre si, diferem função das doses de silício a Tukey (p < 0,05).

A clorose pode ser causada também pela redução no número de cloroplastos e uma mudança no tamanho celular das plantas expostas a este elemento, Kurdziel et al. (2004) demonstram que a clorose esta mais relacionada a um decréscimo na replicação do cloroplasto e da divisão celular do que a interação direta entre o cádmio e a biossíntese de clorofila. Além

disso, a inibição da atividade fotossintética pode ser devida à inibição da cadeia de transporte de elétrons do cloroplasto e dilatação da membrana do tilacóides (KURDZIEL et al., 2004), inibição de enzimas do Ciclo de Calvin ou simplesmente devido a redução da concentração de clorofila (KÜPPER et al., 2007). Outros autores ainda demonstram o efeito do cádmio em alterações nas funções dos estômatos (SOUZA et al., 2005), na inibição da Rubisco e no transporte de elétrons no Ciclo de Calvin e desordens na estrutura dos grana (STIBOROVA, 1988). Todos esses processos podem estar envolvidos com a clorose generalizada em arroz e com a diminuição da produção de matéria seca.

### **6.3.3 Absorção e acúmulo de silício**

As doses de cádmio de silício tiveram interação na concentração e no acúmulo de silício nas plantas de arroz (Figura 6.5). O aumento das doses de cádmio levou ao incremento da concentração de silício principalmente na parte aérea, visto que nas raízes, casca e grãos o teor de silício é geralmente baixo. Além disso, os tratamentos com cádmio em que não se aplicou silício, os valores da concentração e acúmulo não afetados pelas doses de cádmio, porém sem que ocorresse interação entre as doses de cádmio e silício.

O aumento das doses de cádmio na solução nutritiva favoreceu a concentração de silício em toda a planta de arroz, isto provavelmente se deve ao estresse desencadeado pelo cádmio o que levou as plantas de arroz absorver uma maior quantidade de silício da solução nutritiva. Visto que a absorção e acúmulo de silício podem ocorrer a favor de um fluxo de transpiração e também podem ser aumentados pelo esabelecimento de alguma forma de estresse biótica ou abiótica (BARBER; SHONE, 1966; JARVIS, 1987; MARSCHNER, 1995; BÉLANGER et al., 2004; CURRIE; PERRY, 2007). Visto que a absorção radicular de silício em arroz ocorre de forma ativa pela ativação de transportadores específicos, o incremento na concentração de silício pelas doses de cádmio, pode ter ocorrido por uma maior atividade destes transportadores. Isso para que a planta pudesse resistir ao excesso de cádmio, pela deposição de uma maior quantidade de silício nas paredes celulares e assim os danos do cádmio nessas estruturas seriam minimizados.

O decréscimo no acúmulo de silício em função das doses de cádmio (Figura 6.5) foi ocasionado pelo efeito deletério do cádmio na produção de matéria seca, assim a medida que se aumenta as doses de cádmio a matéria seca diminui, conseqüentemente o acúmulo de silício é proporcionalmente afetado, pois uma planta com menor biomassa extrai e acumula menor quantidade de silício da solução nutritiva.

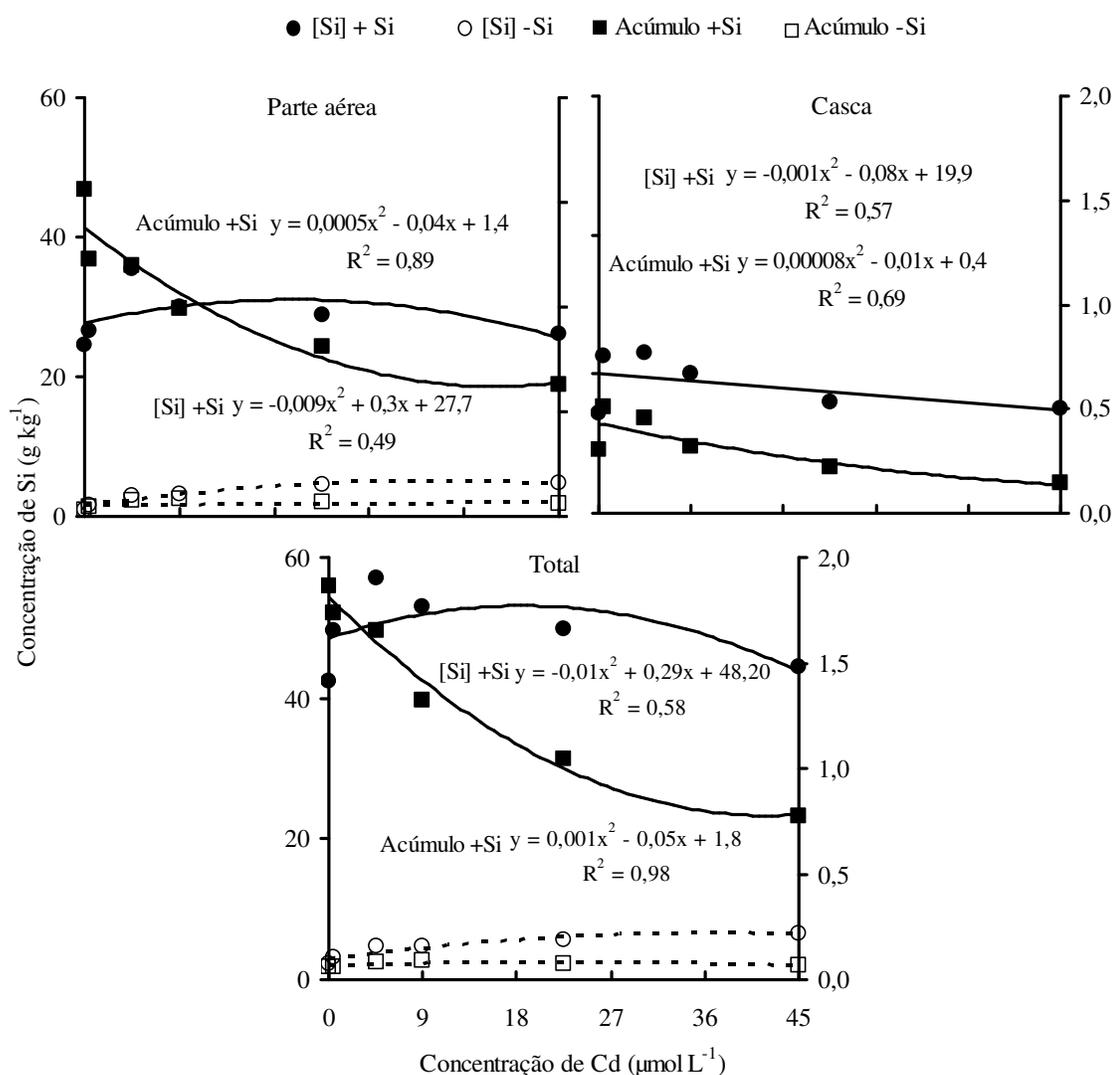


Figura 6.5 - Concentração de silício ( $\text{g kg}^{-1}$ ) e acúmulo ( $\text{g planta}^{-1}$ ) na parte aérea, raízes e vagens de plantas de arroz cultivadas em solução nutritiva contendo doses crescentes de cádmio, na presença de silício (+Si) e na ausência de silício (-Si).

A concentração de silício nas plantas foi significativamente afetada pela aplicação da dose de  $1,8 \text{ mmol L}^{-1}$  de silício na solução nutritiva (Figura 6.6). A planta toda chegou a absorver  $60 \text{ g kg}^{-1}$  de silício na condição de  $4,5 \mu\text{mol L}^{-1}$  de cádmio na solução nutritiva. Essa concentração foi extremamente alta e supera o valor médio de  $15 \text{ g kg}^{-1}$  de silício na parte aérea (DATNOF et al., 2007). Sendo que na casca dos grãos de arroz a concentração de silício não foi elevada em relação aos valores de concentração já caracterizados para casca de arroz, cerca de  $50 \text{ g kg}^{-1}$  (KORNDÖRFER; PEREIRA; CAMARGO, 2004). Nas raízes foi encontrada uma pequena quantidade de silício.

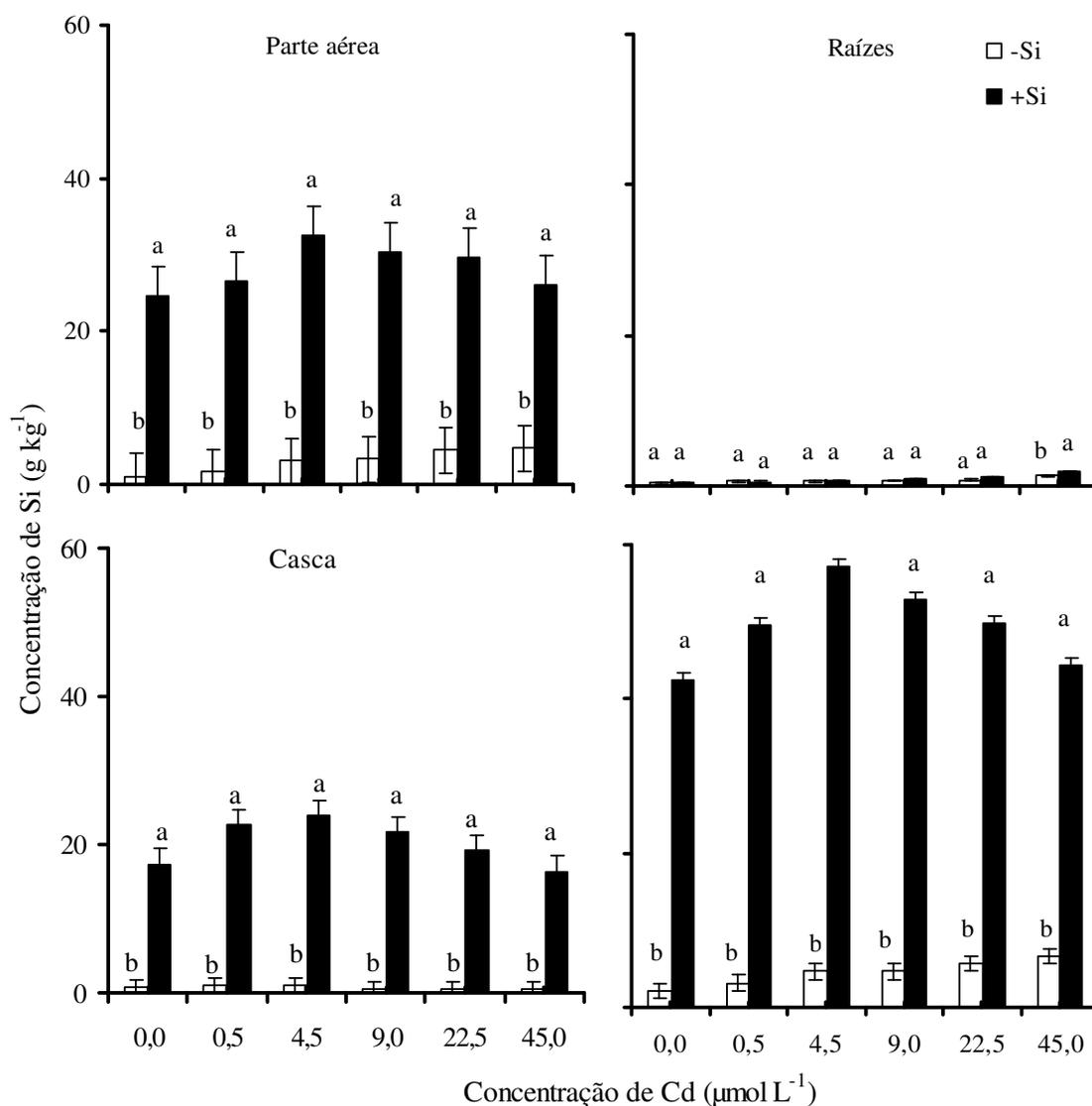


Figura 6.6 - Concentração de silício na parte aérea, raízes, casca e na planta toda de arroz, quando cultivadas em solução nutritiva contendo doses crescentes de cádmio, na presença de silício (+Si) e na ausência de silício (-Si). Médias seguidas de letras distintas entre si, diferem em função das doses de silício a Tukey ( $p < 0,05$ ).

O acúmulo de silício nas plantas de arroz também foi significativamente afetado pelas doses de cádmio e silício (Figura 6.7). As crescentes doses de cádmio na solução não tiveram efeito em diminuir o silício acumulado. Isto ocorreu porque as plantas de arroz expostas às menores doses de cádmio tiveram uma maior produção de massa de matéria seca, assim extraíram proporcionalmente mais silício do meio. E quando expostas às maiores concentrações de cádmio na solução nutritiva a produção da matéria seca foi diminuída e

consequentemente a absorção e acúmulo de silício (Figura 6.3), embora a concentração tenha sido maior nessas doses (Figura 6.6).

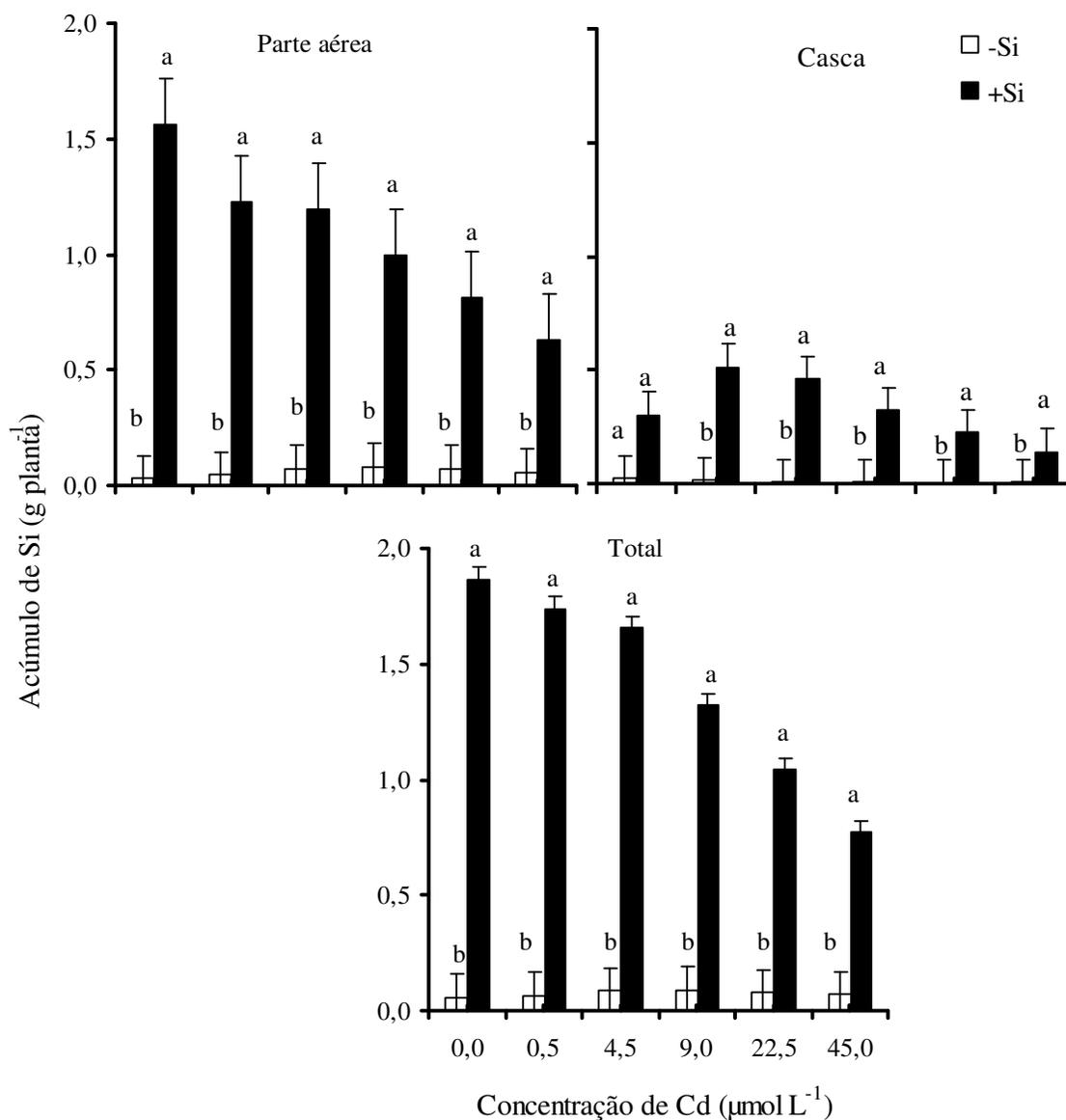


Figura 6.7 - Acúmulo de silício na parte aérea, casca e na planta toda de arroz, quando cultivadas em solução nutritiva com doses crescentes de cádmio, na presença de silício (+Si) e na ausência de silício (-Si). Médias seguidas de letras distintas entre si, diferem em função das doses de silício a Tukey ( $p < 0,05$ ).

### 6.3.4 Absorção de acúmulo de cádmio nas plantas de arroz

As crescentes doses de cádmio e as doses de silício tiveram interação positiva para a concentração e acúmulo de cádmio (Figura 6.8). O aumento da concentração de cádmio nas plantas de arroz foi proporcional ao aumento deste elemento na solução nutritiva. A maior

concentração foi observada nas raízes das plantas de arroz, mostrando a tendência do cádmio em ficar retido nas raízes, o que pode ser um fator de adaptação quando as plantas de arroz foram expostas a altas doses de cádmio. Pois a imobilização do cádmio na raiz pode ser uma das primeiras barreiras de defesa da planta contra a toxidez a este metal pesado (DAUD et al., 2009).

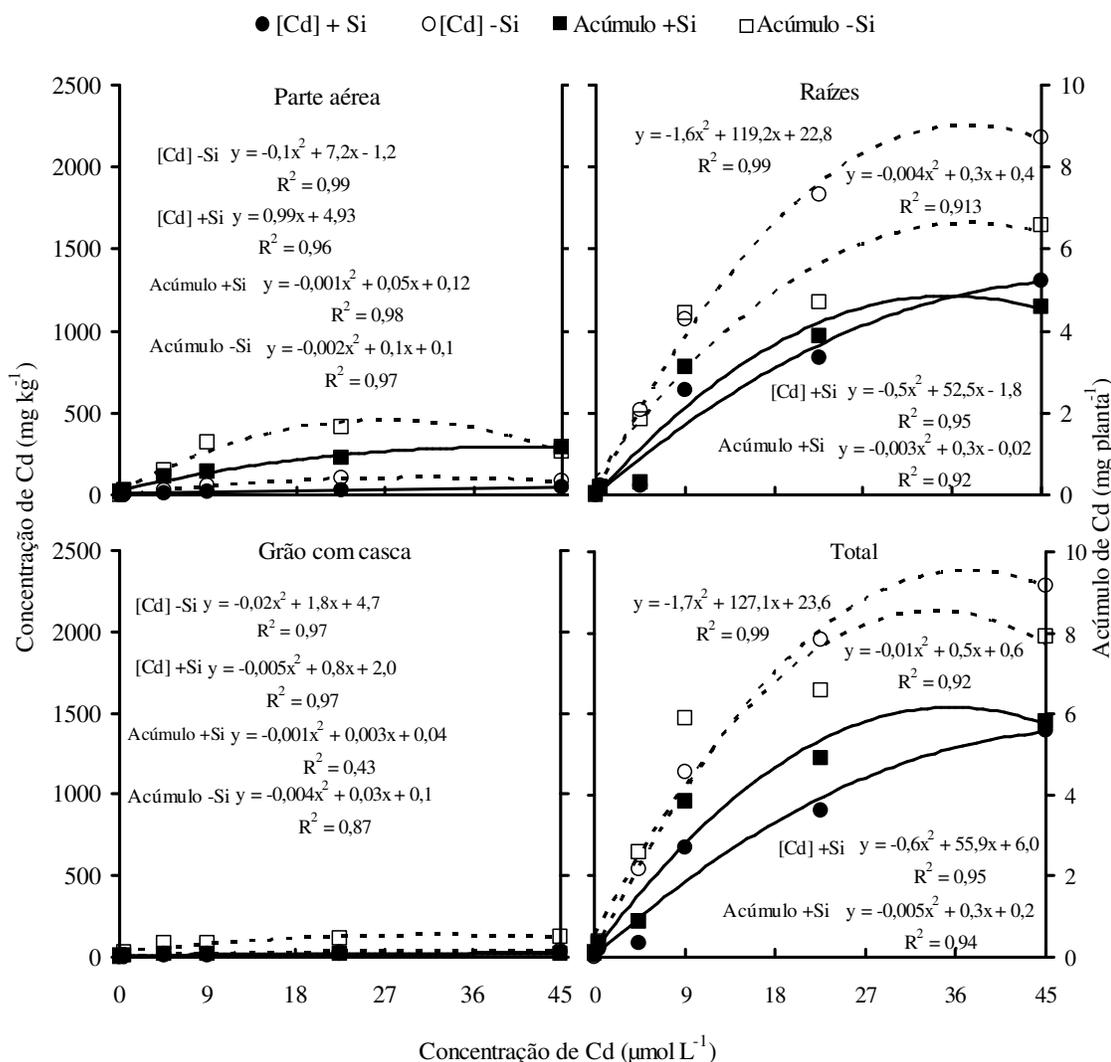


Figura 6.8 - Concentração de cádmio ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) e acúmulo ( $\mu\text{g planta}^{-1}$ ) na parte aérea, raízes, grão com casca e nas plantas toda de arroz, cultivadas em solução nutritiva contendo doses crescentes de cádmio, na presença de silício (+Si) e na ausência de silício (-Si).

Nas raízes ocorrem grupos carboxílicos com carga negativa nos polímeros da parede celular (NISHIZONO et al., 1989), bem como os carboidratos secretados pelas raízes (WAGNER, 1993), que podem agir como quelante sobre o cádmio. Outro fator que pode estar

ajudando da retenção do cádmio nas raízes é a herança genética da hiperacumulação de cádmio. Pois já foram identificados oito “Quantitative Trait Loci” (QTLs), povável região do cromossomo, onde se encontram os genes envolvidos na tolerância a cádmio, que é a sinalização de síntese proteica (grupos sulfidril) e de compostos orgânicos (citrato, malato, dentre outros), relacionados a acumulação de cádmio e zinco em raízes e folhas de arroz. Dos oito QTLs identificados, três parecem estar relacionados a acumulação de cádmio, dois em raízes e um em folhas (DENIAU et al., 2006).

A concentração de cádmio nas raízes, assim como em toda a planta de arroz foi significativamente diminuída pela aplicação da dose de 1,8 mmol L<sup>-1</sup> de silício, como mostrado na figura 6.7. Sendo que nas doses iniciais de cádmio não foi observada diferença na concentração de cádmio pela aplicação de silício (Tabela 6.1).

Tabela 6.1 - Concentração de cádmio ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ ) na parte aérea (colmo+folha), raízes, casca e semente de plantas de arroz cultivadas em solução nutritiva, na presença de silício (+Si) e na ausência de silício (-Si). Médias seguidas de letras distintas entre si, diferem em função das doses de silício a Tukey ( $p < 0,05$ ).

Concentração de cádmio na solução nutritiva ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ )	Parte aérea		Raízes		Casca		Grãos	
	-Si	+Si	-Si	+Si	-Si	+Si	-Si	+Si
	-----Cd ( $\text{mg kg}^{-1}$ )-----							
0,00	0,5 a	1,0 a	3,4 a	3,3 a	0,2 a	0,6 a	0,1 a	0,3 a
0,45	4,5 a	2,5 a	53,2 a	38,0 b	2,4 a	1,2 b	1,0 a	0,7 a
4,50	33,6 a	16,3 b	533,9 a	57,0 b	9,7 a	6,7 b	2,9 a	2,1 b
9,00	35,7 a	17,4 b	1344,1 a	627,1 b	13,9 a	6,5 b	5,6 a	3,2 b
22,50	102,9 a	28,3 b	1584,7 a	1196,3 b	15,7 a	9,3 b	6,8 a	5,1 b
45,00	104,9 a	47,1 b	2247,7 a	1309,0 b	24,9 a	20,4 b	8,3 a	7,1 b

A concentração de cádmio foi reduzida em todas as partes da planta pela aplicação de silício, nos grãos de arroz foi reduzida em 7,8% na dose de 4,5  $\mu\text{mol L}^{-1}$ , 36,5% na dose de 9,0  $\mu\text{mol L}^{-1}$ , 25% na dose de 22,50  $\mu\text{mol L}^{-1}$  e de 15% na dose de 45,0  $\mu\text{mol L}^{-1}$ . Sendo que os valores estabelecidos pela CODEX (2004) para arroz não poderia ultrapassar 0,4  $\text{mg kg}^{-1}$  de cádmio, para não acarretar prejuízos à saúde humana. No Brasil a ANVISA (1965) qualifica o teor adequado de cádmio no grão de arroz ideal para consumo humano, que seja inferior a 1  $\text{mg kg}^{-1}$ . Concentração a qual, foi observada em grãos de arroz na dose de 0,45  $\mu\text{mol L}^{-1}$ . Com a aplicação de silício a concentração de cádmio foi reduzida para 0,7  $\text{mg kg}^{-1}$ , tornando-o assim os grãos aptos ao consumo humano, segundo a ANVISA, porém ainda alto de acordo com CODEX (2004). As concentrações de cádmio na parte aérea

e nas raízes diminuíram na presença de silício, o que concorda com o já observado em plântulas de arroz (SHI et al., 2005).

O acúmulo de cádmio pelas plantas de arroz foi significativamente diminuído pela aplicação de silício (Tabela 6.2). Mesmo nas raízes, onde se tem um maior acúmulo de cádmio, a aplicação de silício fez com esse acúmulo diminuísse. A dose de 1,8 mmol L<sup>-1</sup> de silício diminuiu significativamente o acúmulo de cádmio de forma inversamente proporcional ao aumento das doses de cádmio. O total de cádmio acumulado na planta toda de arroz foi reduzido em 45% na dose 4,5 µmol L<sup>-1</sup>, 40% na dose de 9,0 µmol L<sup>-1</sup>, 30% na dose de 22,5 µmol L<sup>-1</sup> e de 25% na dose de 45,0 µmol L<sup>-1</sup>. O aumento nas doses de cádmio acarreta em um menor efeito do silício em diminuir o acúmulo de cádmio. Este fato pode estar relacionado com a diminuição da matéria seca nessas doses mais altas de cádmio, o que garante também menor acúmulo de cádmio, já que para a concentração de cádmio também foi reduzida pela aplicação de silício.

Tabela 6.2 - Acúmulo de cádmio nas plantas de arroz submetido a diferentes doses de cádmio, na presença de silício (+Si) e na ausência de silício (-Si). Médias seguidas de letras distintas entre si, diferem em função das doses de silício a Tukey (p < 0,05).

Concentração de cádmio na solução nutritiva (µmol L <sup>-1</sup> )	Parte aérea		Raiz		Grão com casca	
	-Si	+Si	-Si	+Si	-Si	+Si
	-----Cd (mg planta <sup>-1</sup> )-----					
0,00	0,06 a	0,01 a	0,03 a	0,02 a	0,04 a	0,006 b
0,45	0,13 a	0,11 a	0,20 a	0,20 a	0,06 a	0,04 a
4,50	0,60 a	0,44 b	1,85 a	0,84 b	0,15 a	0,14 a
9,00	1,28 a	0,58 b	4,98 a	3,12 b	0,18 a	0,15 a
22,52	1,67 a	0,92 b	5,20 a	3,87 b	0,20 a	0,13 b
45,05	1,15 a	0,94 b	6,58 a	4,57 b	0,26 a	0,09 b

O silício pode ter diminuído o acúmulo de cádmio por ter diminuído de forma significativa a concentração de cádmio nas plantas. Isto pode estar ligado ao fato de que o silício se liga nas paredes celulares e com o aumento da extensibilidade, a resistência, melhorando a estrutura física destas paredes (HOSSAIN et al., 2007), garantindo a manutenção da integridade das paredes celulares mesmo com o excesso de cádmio. Ou ainda o silício depositado nas paredes celulares pode levar à adsorção de cádmio, já que já foi demonstrado que a concentração e porcentagem de cádmio combinados com a parede celular na parte aérea do arroz aumentam significativamente com a aplicação de silício foliar (LIU et al., 2009).

As alterações morfológicas, fisiológicas, bioquímicas e nutricionais relacionados ao cádmio têm sido bastante estudadas ultimamente nas plantas de arroz, já que esta espécie tem uma importância mundial e diferenças genótípicas em relação à tolerância a cádmio têm sido reportadas (CARDOSO, 2000; LIU et al., 2005). A variedade de arroz usada neste estudo já foi comprovadamente ser sensível à exposição ao cádmio, isso mesmo em doses baixas, de  $0,5 \mu\text{mol L}^{-1}$ , com rápida resposta ao cádmio (CARDOSO, 2000).

Mesmo em altas concentrações de cádmio as plantas crescem isto ocorre porque as plantas desenvolveram alguns mecanismos de adaptação para reduzir a concentração de cádmio livre no citossol das células, os quais incluem: a compartimentalização deste metal em estruturas subcelulares, exclusão e diminuição do transporte através da membrana e a formação de peptídeos ricos em cisteínas, conhecidos como fitoquelatinas, que podem complexar o cádmio. Assim como a produção de um oxidante defensivo, as espécies ativas de oxigênio (EAOs), que causa peroxidação de lipídeos e danos na parede celular e um sistema de enzimas antioxidantes capazes de remover, neutralizar ou limpar radical livre, tais como a superóxido dismutase (SODs), catalase (CAT) (SCANDALIOS, 1993; ROMERO- PUERTAS et al., 2006; CHIEN et al., 2001; SHAT et al., 2001).

Neste contexto do silício pode estar agindo de forma mais expressiva no alívio da fitotoxicidade conferida pelo cádmio, pois é sabido que o silício estimula a atividade de antioxidantes (GONG et al., 2005) e isto leva a uma redução dos danos causados pelo cádmio e conseqüente aumento de produção. A aplicação de silício em condições de salinidade e excesso de boro e sódio, em cevada e algodão, diminuiu a permeabilidade de membrana e as concentrações de  $\text{H}_2\text{O}_2$  e peroxidação de lipídio, diminuiu a atividade da superóxido dismutase e catalase e aumentou a atividade ascorbato peroxidase, que garantiu a preservação da parede celular. Assim o silício pode estar envolvido em atividades metabólicas ou fisiológicas sob estresse a seca (GUNES et al., 2007; 2008).

Este mesmo efeito do silício pode estar ocorrendo pelo estresse causado pelo cádmio, com o silício agindo como estimulante do sistema de antioxidante, evitando os danos nas paredes celulares. Já que em arroz, o silício significativamente reduziu o conteúdo de cádmio na parte aérea, a atividade de superóxido dismutase e a permeabilidade da membrana celular diminuíram, mas aumentou a atividade de peroxidase e catalase (ZHAO; MASAIHIKO, 2007), diminuindo assim a concentração de cádmio. No entanto, isto talvez seja um resultado indireto do benefício de silício ao contrário de um efeito direto, porque é improvável que silício afete a atividade de enzimas antioxidantes (MA; YAMAJI, 2006).

### 6.3.5 Raízes de arroz em microscopia eletrônica de varredura

As raízes de arroz observadas em microscópio eletrônico de varredura, em cortes transversais, apresentaram estrutura anatômica inalterada pela aplicação de silício (Figura 6.9 C; D), quando comparado à planta controle, sem silício (Figura 6.9 A; B). Nas raízes de pode-se observar que abaixo da epiderme, apresenta-se uma exoderme formada por duas camadas: a adjacente a epiderme, de paredes suberizadas, limitada internamente por uma camada de células maiores do que as epidérmicas adjacentes ao córtex radicular. Estas são responsáveis pela absorção de água e nutrientes da solução do solo.

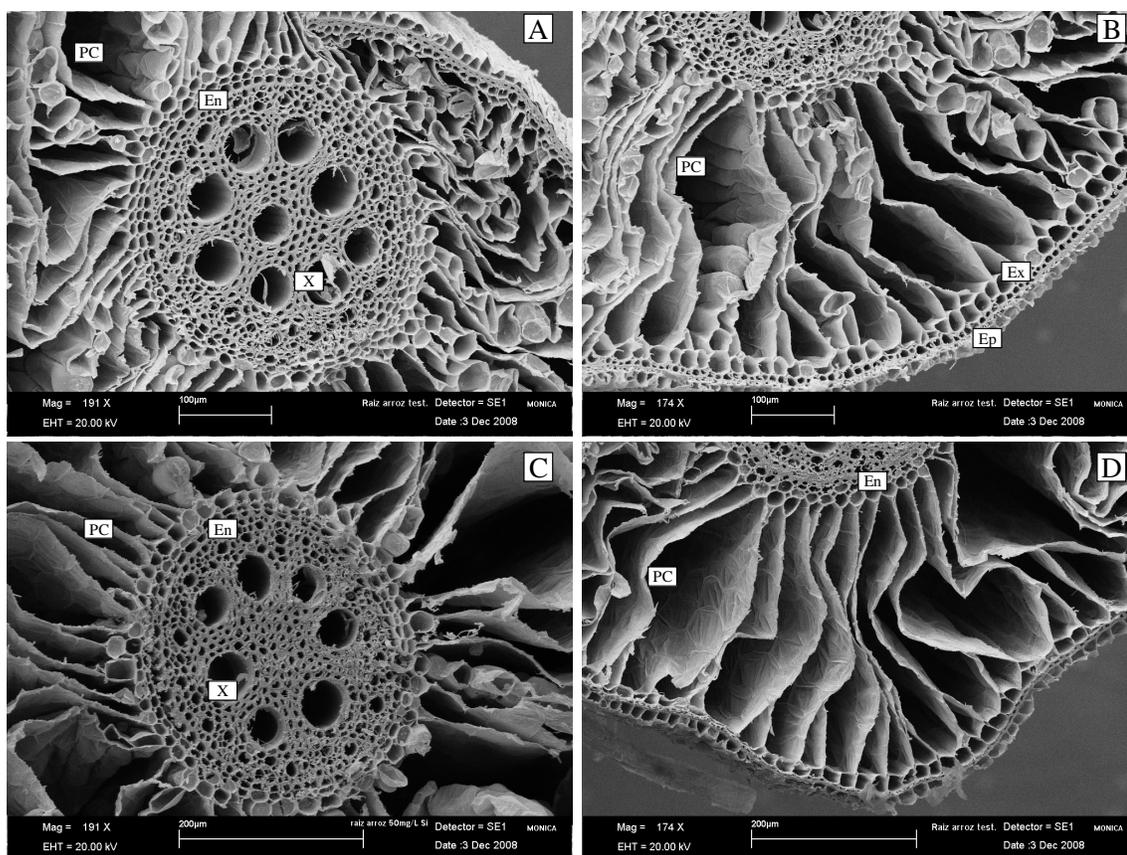


Figura 6.9 - Raízes de arroz submetidas a cortes transversais por criofratura vista em microscopia eletrônica de varredura (MEV). Observa-se a raiz de planta de arroz em cultivado em solução nutritiva sem silício (A e B) e de plantas expostas a  $1,8 \text{ mmol L}^{-1}$  de silício (C e D). PC = parênquima cortical; X = xilema; En = endoderme; Ep = epiderme; Ex= exoderme

Após a morte das células epidérmicas e perda das funções, a exoderme passa a ser o tecido de revestimento da raiz. Abaixo da exoderme, em direção ao cilindro vascular, há o córtex, formado por várias camadas de células parenquimáticas (PC), que se degeneram com

o amadurecimento da raiz, formando um aerênquima. Abaixo da camada mais interna do córtex, ocorre uma única camada de endoderme que envolve o cilindro vascular. Nestas raízes maduras, todos os tecidos do cilindro vascular são espessados, exceto as células do floema, independentemente dos tratamentos. A presença de um aerênquima na região cortical da raiz de arroz tem sido atribuída a uma adaptação anatômica em plantas que se desenvolveram em ambientes úmidos ou relativamente áridos (ESAU, 1974).

Na endoderme podem ocorrer células com reforços de suberina e/ou lignina, os quais dificultam as trocas metabólicas entre o córtex e o cilindro central, arrançadas em reforços em na forma de “U” e “O” (GLORIA; GUERREIRO, 2003). Algumas células não apresentam tais reforços (células de passagem), permitindo a permuta de substâncias nutritivas (FERRI, 1990). O cilindro vascular das raízes de arroz é constituído de câmbio vascular (xilema e floema) e células não-vasculares. O centro do órgão pode ser ainda preenchido por células parenquimáticas, denominadas de parênquima medular.

O cádmio nas raízes de arroz desencadeou algumas alterações anatômicas, tais como formação de grânulos, provavelmente de amido, dilaceração das células da epiderme e desestruturação da parede celular (Figura 6.10 A; B). Algumas dessas alterações já foram relatadas para raízes de feijão, nas quais foi observado que o cádmio desencadeia alterações anatômicas importantes, tais como, alterações no número e tamanhos de células do xilema, e o surgimento de grânulos eletrodensos no xilema devido à presença de cádmio também foram observados em consequência de aplicação de cádmio (BARCELO; VAZQUEZ; POSCHENRIEDER, 1998).

A aplicação de silício aparentemente desfez ou dissolveu os grânulos formados pelo excesso de cádmio nas raízes (Figura 6.10 D), o que pode ter efeito numa melhora no transporte de nutrientes, o que faz com as plantas de arroz resistam ao excesso de cádmio. O que pode ser enfatizado também pela preservação da epiderme pela aplicação de silício (Figura 6.10 C), o que provavelmente garante a manutenção da absorção de nutriente e água por estas plantas de arroz, mesmo em excesso de cádmio no meio.

Em raízes de milho a aplicação de silício levou a alterações no diâmetro do xilema, mesofilo e espessura de epiderme, e área de transversal ocupada por colênquima e vasos medianos (CUNHA; NASCIMENTO, 2009). Apesar de ocorrer um aumento do cádmio nas raízes, provavelmente retido na endoderme, mas sem afetar a porosidade celular da epiderme.

O aumento da concentração de cádmio o efeito na desestruturação da parede celular das células da epiderme e células do parênquima cortical e medular foi evidente (Figura 6.11

A; B), com a aplicação de silício esse efeito foi diminuído (Figura 6.11 C; D). As alterações morfológicas das células dependem de fatores como concentração do metal, período de exposição e grau de sensibilidade das espécies ao metal (PRASAD, 1995). Assim com o aumento da concentração de cádmio na solução o efeito deletério na parede celular foi maior do que na concentração de  $9,0 \mu\text{mol L}^{-1}$  de cádmio (Figura 6.10 a, b). Esse efeito pode estar relacionado com efeitos deletérios no potencial de turgor e na plasticidade celular (BARCELÓ et al., 1988).

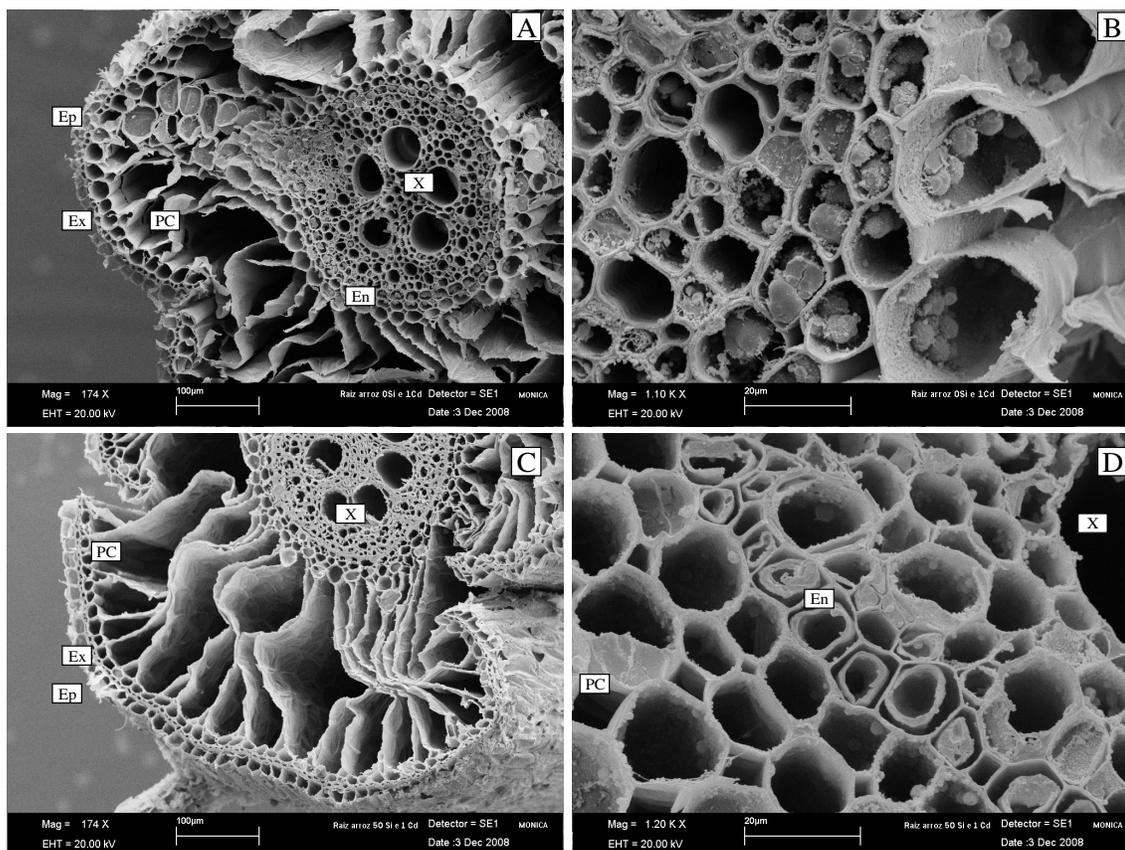


Figura 6.10 - Raízes de arroz submetidas a cortes transversais por criofratura vista em microscopia eletrônica de varredura (MEV). Observa-se a raiz de planta exposta a  $9,0 \mu\text{mol L}^{-1}$  e cádmio (A e B) e de plantas expostas a  $9,0 \mu\text{mol L}^{-1}$  e cádmio e  $1,8 \text{ mmol L}^{-1}$  de silício (C e D). PC = parênquima cortical; X = xilema; En = endoderme; Ep = epiderme; Ex = exdoderme.

Outro fator que pode estar afetando a integridade da parede celular é o efeito do estresse oxidativo, pois nessa condição há um desbalanço entre a produção de espécies ativas de oxigênio (EAOs), que em altas concentrações de no ambiente celular pode impor danos oxidativos nas estruturas e funções celulares (CHOUDHURY; PANDA, 2005). Sendo que o

cádmio parece não gerar radicais livres diretamente, mas pode elevar a peroxidação lipídica contribuindo para o processo de danos celulares (GRATÃO et al., 2006). Modificações na anatomia vegetal de tomate já foram observadas pela presença de cádmio, com modificações na densidade foliar, arranjo celular, aumento no tamanho das células do parênquima paliçádico e decréscimo do número de cloroplastos e ainda o cádmio o induziu aumento nos espaços intercelulares nas folhas (GRATÃO, 2008).

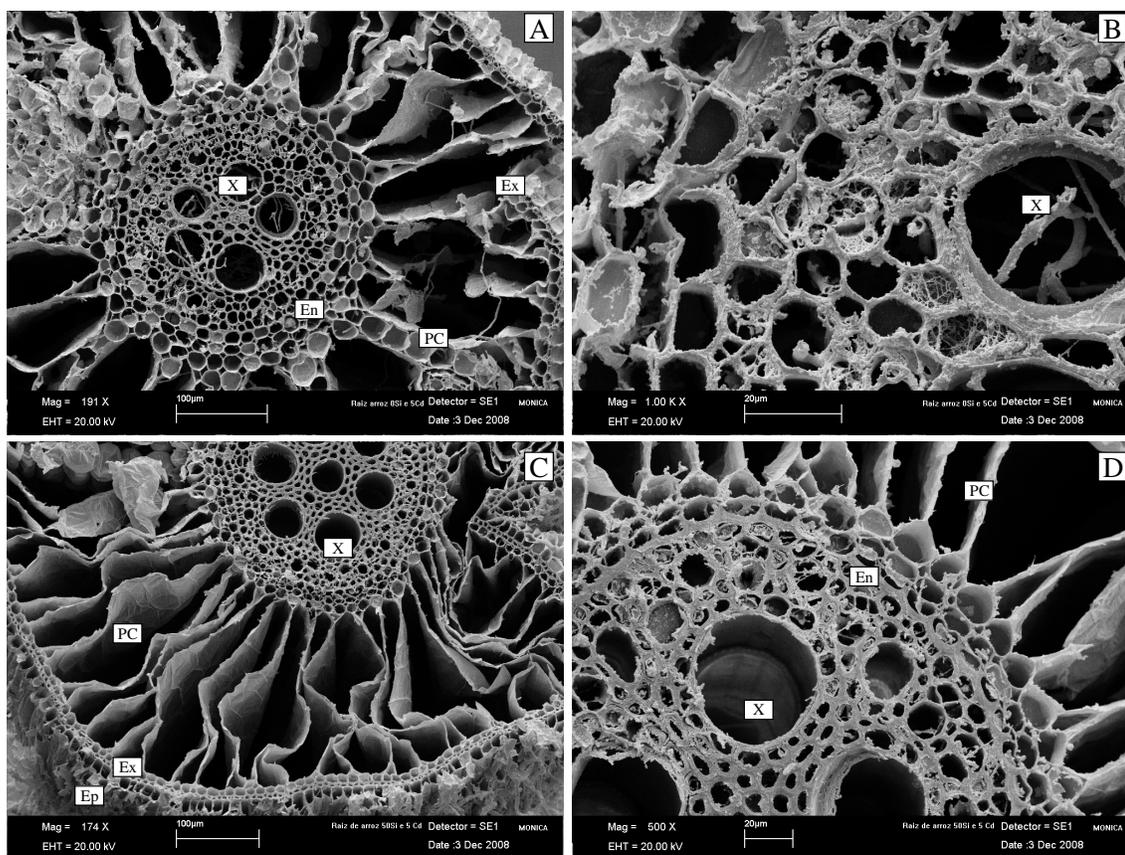


Figura 6.11 -Raízes de arroz submetidas a cortes transversais por criofatura vista em microscopia eletrônica de varredura (MEV). Observa-se a raiz de planta exposta a  $45,05 \mu\text{mol L}^{-1}$  e cádmio (A e B) e de plantas expostas a  $45,0 \mu\text{mol L}^{-1}$  de cádmio e  $1,8 \text{ mmol L}^{-1}$  de silício (C e D). PC = parênquima cortical; X = xilema; En = endoderme; Ep = epiderme; Ex= exdoderme

O silício pode estar envolvido na diminuição de antioxidantes que diminuem os EAOs e seu efeito deletério diminuído. Como já demonstrando esse efeito do silício em algumas condições de estresse (GUNES et al., 2007; 2008; LIANG et al., 2003; KIRKHAM, 2006; LIANG et al., 2007). Porém esse pode ser um efeito indireto do silício. Já o efeito direto do silício pode ser o fato da presença de silício manter a integridades das paredes celulares pela

sua capacidade de se ligar a celulose, formando uma estrutura mais rígida e dificilmente destruída, pois a deposição de silício ocorre como sílica amorfa ( $\text{SiO}_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ ) (MA et al., 2001). Isso pode resultar em uma maior resistência aos danos causados pelo cádmio em todas as células das plantas. O silício depositado na parede celular ainda pode adsorver o cádmio, como em trabalhos já desenvolvido, Liu et al. (2007; 2009) destacam o efeito do silício na diminuição da toxicidade por estar relacionado à retenção de cádmio na parede celular. Neste trabalho isto pode estar ocorrendo em células menos ativa, como por exemplo, células do parênquima cortical e medular das raízes de arroz, garantido a preservação da atividade das células ativas das raízes, e assim a manutenção de processos importantes como a absorção de água e nutrientes é garantida.

Provavelmente o efeito do silício na diminuição da toxidez de cádmio está ligado a mais à manutenção da estrutura das células do que ao aumento de cádmio pela aplicação de silício, como visto na tabela 6.1. Sendo que a cocentração de cádmio não é aumentada pela presença de silício nas raízes de arroz independentemente das doses de cádmio. As raízes que foram expostas ao silício em solucao nutritiva mostraram um aumento de silício nas paredes celulares, quando analisadas em microanálise de raio-x (Figura 6.12 e 6.13).

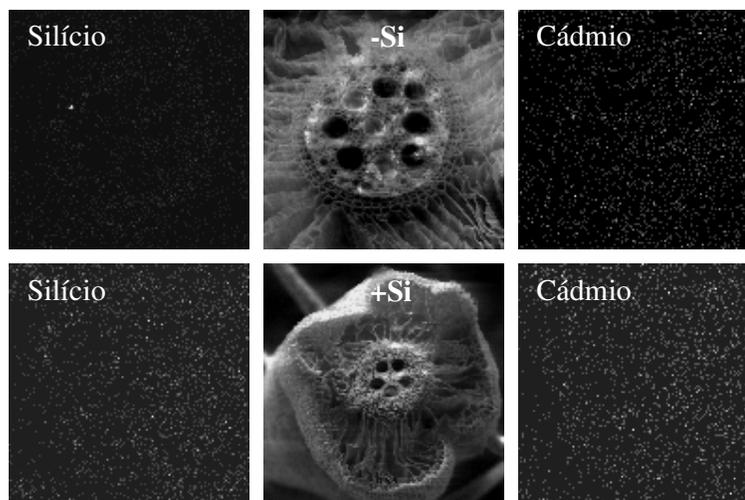


Figura 6.12 - Raízes de arroz submetidas a cortes transversais por criofratura vista em microscopia eletrônica de varredura (MEV). Com mapeamento químico feito por microanálise de raios-X, os pontos brancos correspondem aos depósitos de silício e de cádmio nestas raízes expostas à dose de  $0,9 \mu\text{mol L}^{-1}$  de cádmio, na presença de silício (+Si) e na ausência de Si (-Si).

As raízes das plantas de arroz expostas a dose de  $0,9 \mu\text{mol L}^{-1}$  de cádmio em solução nutritiva, não mostraram aumento na retenção de cádmio nas paredes celulares (Figura

6.12), assim como foi observado na dose de de  $45,0 \mu\text{mol L}^{-1}$  de cádmio (Figura 6.13). Evidenciando ainda que não ocorresse acúmulo nem de cádmio e nem de silício na endoderme, mesmos na dose de  $45,05 \mu\text{mol L}^{-1}$  de cádmio, discordando de Shi et al. (2005) e de Cunha e Nascimento (2009) que estudando o efeito de silício no alívio da toxidez de milho, demonstram o acúmulo de silício na endoderme como o fator responsável pela diminuição de cádmio na planta.

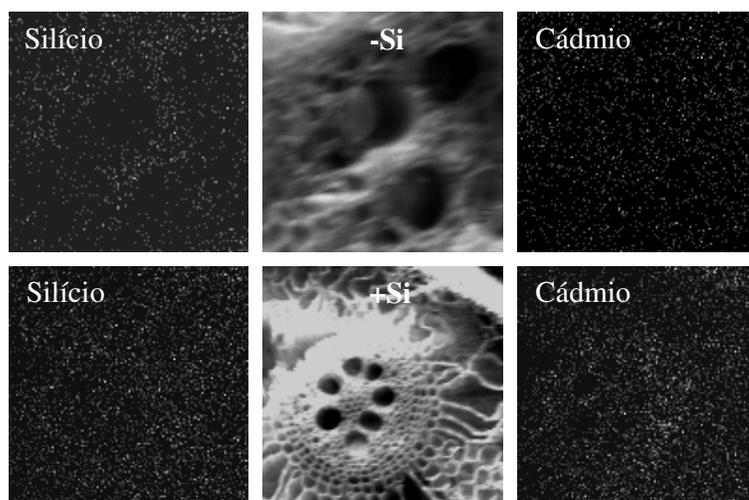


Figura 6.13 -Raízes de arroz submetidas a cortes transversais por criofatura vista em microscopia eletrônica de varredura (MEV). Com mapeamento químico feito por microanálise de raios-X, os pontos brancos correspondem aos depósitos de silício e de cádmio nestas raízes expostas à dose de  $45,0 \mu\text{mol L}^{-1}$  de cádmio, na presença de silício (+Si) e na ausência de Si (-Si).

#### 6.4 Conclusões

O excesso de cádmio nas plantas de arroz fez a concentração de silício nestas plantas aumentasse. Esse fato pode ter levado a manutenção da integridade das paredes celulares destas plantas, o que as levou a ter uma maior resistência aos danos causados pelo excesso de cádmio.

## 7 REDISTRIBUIÇÃO DE SILÍCIO EM PLANTAS DE ARROZ E FEIJÃO CULTIVADAS COM EXCESSO DE CÁDMIO

### RESUMO

O silício pode desencadear diversas reações fisiológicas nas plantas, dentre as quais resistência ao estresse causado pelo cádmio, sendo que essa característica pode ser distinta entre espécies consideradas acumuladoras e espécies não acumuladoras de silício. Desta forma, este trabalho teve como objetivo avaliar a redistribuição de silício em plantas de arroz e feijão, em condição de excesso de cádmio. Inicialmente, em casa de vegetação, as plântulas foram cultivadas em solução nutritiva na presença e na ausência de silício e de cádmio. Os tratamentos com silício, na concentração de  $1,8 \text{ mmol L}^{-1}$ , foram preparados utilizando-se silicato de cálcio contendo 10% em átomos de  $^{30}\text{Si}$  ou silicato de potássio de composição isotópica natural (92,2% de  $^{28}\text{Si}$ , 4,7% de  $^{29}\text{Si}$  e 3,1% de  $^{30}\text{Si}$ ). Os tratamentos com cádmio continham  $0,9$  e  $0,5 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$  para as plantas de arroz e feijão, respectivamente. Após 30 dias de cultivo, o silício foi eliminado de todos os tratamentos, mantendo-se o cádmio. Ao final de 75 dias de cultivo do feijão e, 120 dias do arroz, as plantas foram colhidas e separadas em raízes, caules, grãos, pericarpos (cascas), folhas velhas (produzidas durante o período em que o silício foi suprido) e folhas novas (produzidas no período em que o silício não foi suprido). Os resultados mostraram que, a aplicação de silício, aumentou a produção de matéria seca nas plantas de arroz e de feijão devido à redução do estresse causado pelo excesso de cádmio. Na presença de cádmio, houve aumento do acúmulo de silício nas folhas velhas de ambas as espécies e, em folhas novas de arroz. A análise da composição isotópica das amostras do material vegetal, nos tratamentos com  $^{30}\text{Si}$ , indicou que, na presença de cádmio, as folhas velhas e as folhas novas de arroz recuperaram 64,8% e 30,3% do total de  $^{30}\text{Si}$  da solução nutritiva, respectivamente. Já nas plantas de arroz cultivadas na ausência de cádmio, 87% do  $^{30}\text{Si}$  foi recuperado e acumulado apenas em folhas velhas. Nas plantas de feijão, supridas com cádmio, a recuperação de  $^{30}\text{Si}$  pelas folhas velhas foi de 4,9% e, na ausência de cádmio, foi de 7,1%. Conclui-se que o excesso de cádmio promove a redistribuição de silício de folhas velhas para folhas novas nas planta de arroz, mas não em plantas de feijão.

Palavras-chave: ICP-MS. Espectrômetro de massa. Isótopos estáveis.  $^{30}\text{Si}$ .

## EFFECT OF THE CÁDMIO IN THE REDISTRIBUTION OF SILICON IN RICE AND BEAN

### ABSTRACT

Silicon can play a role at several different physiological reactions in plants that lead them to resist to the stress caused by cadmium that could be distinct among silicon accumulator and non-accumulator plants. The objective of this work was to investigate silicon redistribution in plants of rice and beans under cadmium excess. First of all, in a greenhouse, the seedlings were grown in a nutrient solution under silicon and cadmium presence and absence. The treatments with silicon, at  $1.8 \text{ mmol L}^{-1}$  concentration, were get from calcium silicate containing 10% of  $^{30}\text{Si}$  atoms or with potash silicate with natural isotopic composition (92.2% of  $^{28}\text{Si}$ ; 4.7% of  $^{29}\text{Si}$  and 3.1% of  $^{30}\text{Si}$ ). The treatments with cadmium had 0.9 and  $0.5 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$  for rice and beans, respectively. After 30 days of cultivation, silicon was taken off of all treatments and the cadmium continued. After 75 days for the beans and 120 days for the rice, the plants were collected and separated in roots, stems, grains, shelves, old leaves (produced under silicon presence) and newer leaves (produced with no silicon in the nutrient solution). The results demonstrated that the silicon supply increased the dry matter production for the rice and beans due to the reduction of stress caused by the cadmium excess. Under cadmium excess, silicon was accumulated in the older leaves of both plant species and also in the rice newer leaves. The analysis of the isotopic composition of the vegetable samples, in the treatments containing  $^{30}\text{Si}$ , showed that when cadmium was supplied the older and newer leaves of rice recovered 64.8% and 30.3% of the total  $^{30}\text{Si}$  in nutrient solution, respectively. At the rice plants cultivated in the absence of cadmium, 87% of  $^{30}\text{Si}$  was recovered and accumulated only at the newer leaves. In the bean plants, under cadmium supply, the recovering of  $^{30}\text{Si}$  by the older leaves was of 4.9% and at its absence was of 7.1%. At this experiment, cadmium excess promoted the redistribution of silicon from the older leaves to the newer leaves of rice plants but no for the beans plants.

Keywords: ICP-MS. Mass spectrometry. Stable isotopes.  $^{30}\text{Si}$ .

## 7.1 Introdução

A absorção de silício pelas raízes das plantas pode ocorrer de forma ativa (com a participação de transportadores específicos), isso para plantas acumuladoras como o arroz ou de forma passiva ou espécies excludoras e não acumuladoras de silício, como o feijão (MA et al, 2001). A forma de silício solúvel absorvida ( $H_4SiO_4$ ) é transportado via xilema até a parte aérea (MITANI; MA; IWASHITA 2005), onde as plantas perdem água e o silício fica depositado, junto com a celulose na parede celular. O transporte e acúmulo podem ser regulados por pela transpiração e também por condição de adversidade do meio, ocorrendo por processo ativo, que é desencadeado pelo estímulo à proteção contra doenças, pragas e outras condições de estresse. Sugerindo que o acúmulo de silício na forma de sílica amorfa ( $SiO_2.nH_2O$ ) depende das exigências das plantas para resistirem a uma condição de estresse (BARBER; SHONE, 1966; JARVIS, 1987; MARSCHNER, 1995; BÉLANGER et al., 2004; CURRIE; PERRY, 2007). A deposição de silício ocorre como sílica amorfa, ocorre para 99% do silício total absorvido e menos de 1% encontra-se na forma coloidal ou iônica (MA et al., 2001).

A forma ativa do silício é determinada pelo silício solúvel, que pode ser responsável pela ativação de respostas bioquímicas importante para aumentar resistência do hospedeiro a infestação de patógeno (FAUTEUX et al., 2005), na estimulação do sistema de defesa da planta contra infecção de pragas e doenças (FAWE et al, 2001; RODRIGUES et al., 2004; HAMMERSCHMIDT et al., 2005; CÔTÉ-BEAULIEU et al., 2009). O silício solúvel pode ser importante na ativação de enzimas importantes como no metabolismo do fósforo, mesmo em baixa quantidade (UMEMURA et al., 1961) ou na estimulação do sistema de antioxidantes dentro da planta em condições de estresse abiótico, tais como falta de água, excesso de metais e/ou sais (MA, 2004, GUNES et al., 2007; 2008) e excesso de cádmio (LIANG et al., 2007). Sendo assim o silício pode ser considerado como um elemento biologicamente ativo, que age na defesa natural das plantas, contra estresse biótico e abiótico (CURRIE; PERRY, 2007).

O silício depositado na forma de sílica é considerado pouco móvel ou até mesmo imóvel, sendo assim inferido pela estrutura da sílica na planta (YOSHIDA; OHNISHI; KITAGISHI, 1962; FOX et al., 1969). Dentro da planta a sílica tem uma estrutura cristalina estabilizada, que combinada com a celulose, principalmente nas estruturas terminais de transpiração, torna-se dificilmente resolubilizada (YOSHIDA; OHNISHI; KITAGISHI, 1962). Essa imobilidade leva não redistribuição do silício dentro da planta de uma parte velha

para uma parte nova. Testando a eficácia de redistribuição de silício em plantas de pepino, previamente cultivadas em meio suplementado com silício, e posteriormente transferidas a meio deficiente nesse elemento, as folhas inferiores apresentaram concentração de silício menor que as superiores, indicando baixa redistribuição desse elemento. Essas plantas mantiveram o silício residual na base dos tricomas foliares das folhas mais velhas, mas falharam em desenvolver a silicificação do tecido novo injuriado por patógenos invasor (*Sphaerotheca fuliginea*) o que não permitiu à planta resistir à doença. Mostrando a falta de redistribuição de silício nessa condição (SAMUELS et al., 1991).

A demonstração quantitativa dessa baixa e/ou ausente de mobilidade de silício ainda não foi caracterizada pelo uso de isótopos de silício, que é uma ferramenta precisa de quantificação. Sendo que existem três isótopos estáveis de silício:  $^{28}\text{Si}$ ,  $^{29}\text{Si}$  e  $^{30}\text{Si}$  com abundâncias relativas de 92,22%, 4,68% e 3,09% respectivamente (DE LAETER et al., 2003). O uso de isótopos de silício mostrou o fracionamento de isótopo natural em arroz (SUN et al., 2008), bambu (DING et al., 2008) e banana (OPFERGELT et al., 2006). Observações feitas em plantas sugerem que as variações isotópicas de silício existem em uma variedade de plantas e podem ser úteis para o estudo da bioquímica do silício na agricultura e problemas ambientais (DING et al., 2005).

Em condições de estresse abiótico o silício tem efeito na ativação de enzimas antioxidantes (FOX et al., 1969). Nas plantas o excesso de um elemento tóxico, como o cádmio, poderia ativar essa defesa química do silício, ou ainda estimular o processo de redistribuição de uma parte velha para uma parte nova, na qual o silício poderia ser depositado, ativando desta forma a defesa mecânica. Visto que silício diminui a toxidez do cádmio, mas existem algumas hipóteses da ação do silício nas plantas que as fazem resistir à condição de estresse estabelecida pela presença de cádmio.

Uma das hipóteses que explica a diminuição da toxidez do cádmio para as plantas pela presença de silício, é que o silício leva ao aumento da biomassa, diluindo o estresse causado pelo cádmio. Com o aumento da biomassa das raízes e sua capacidade de reter o cádmio, leva o superior acúmulo de cádmio nesse órgão. Isso pode ocorrer pela compartimentalização do cádmio nas paredes celulares ou em espaços intercelulares das células da raiz (ZHANG et al., 2008). O silício tem efeito nas propriedades mecânicas e químicas de paredes celulares, aumentando a quantidade de polissacarídeos e polifenóis. Tais modificações de arquitetura de parede podem ser responsáveis pelo aumento da extensibilidade da parede celular induzida pelo silício (HOSSAIN et al., 2007). Isso pode levar a resistência dos danos radiculares

causados pelo cádmio (DAUD et al., 2009). Um das evidências que o silício pode ter efeito na diminuição da toxidez de cádmio pelo depósito de sílica na parede celular é a própria característica de deposição do cádmio em arroz, que 70 a 90% do cádmio fica localizado nas paredes celulares (NISHIZONO et al., 1987) e na parede celular foi detectada a formação de sílica coloidal com a propriedade altamente específica para adsorção e retenção de cádmio na célula (WANG, et al., 2000).

O silício pode estimular diferentes reações de defesa nas plantas, o que as leva a resistência a uma condição de estresse. Isso pode ocorrer pelo aumento da absorção de silício, ou até mesmo da utilização de uma fonte de silício não convencionalmente utilizada em uma condição sem estresse, como por exemplo, o silício depositado na própria planta, em suas partes velhas. Porém esta redistribuição pode ocorrer de forma distinta, em condição de estresse, entre plantas acumuladoras e não acumuladoras de silício. O objetivo deste trabalho foi então avaliar a redistribuição de silício em plantas de arroz e feijão, em uma condição de excesso de cádmio.

## 7.2 Material e métodos

O experimento foi realizado em casa de vegetação do CENA/USP, localizado no município de Piracicaba-SP, no período de outubro de 2008 a janeiro de 2009. As sementes de arroz (*Oryza sativa* L. cv IAC 202) e feijão do tipo carioca (*Phaseolus vulgaris* L. cv IPR Colibri) foram semeadas em areia lavada, onde permaneceram até a emergência das plântulas. Foi transferida uma plântula para cada vaso contendo oito litros de solução nutritiva, os quais foram constantemente aerados e continham uma solução nutritiva, com base nas concentrações de ( $\text{mmol L}^{-1}$ ): 16000 de N e 6000 de K ( $\text{KNO}_3$ ); 4000 de Ca [ $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ]; 2000 de P ( $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ ); 1000 de S e 1000 de Mg ( $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ); 50 de Cl (KCl), 25 de B ( $\text{H}_3\text{BO}_3$ ); 2,0 de Mn ( $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ); 2,0 de Zn ( $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ); 0,5 de Cu ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ); 0,5 de Mo ( $\text{H}_2\text{MoO}_4$ ) e 20 de Fe (Fe-EDTA) (JOHNSON et al., 1957).

A essa solução foram adicionados os tratamentos dissolvendo o cloreto de cádmio ( $\text{CdCl}_2$ ), usado como fonte de cádmio e o silicato de potássio ( $\text{K}_2\text{SiO}_3$ ) como fonte de silício natural e silicato de cálcio ( $\text{CaSiO}_2$ ) como fonte de silício em 10% de átomos  $^{30}\text{Si}$  (enriquecido). Os tratamentos compreenderam a dose de  $1,8 \text{ mmol L}^{-1}$  de silício, como fonte do silicato natural e o enriquecido e um tratamento sem silício, a testemunha. Para as plantas de arroz foram adicionados  $0,9 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$  de cádmio na solução nutritiva e para as plantas de feijão foram adicionados  $0,5 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$  de cádmio, para ambas foi mantido um tratamento

controle, sem adição de cádmio. Totalizando assim três tratamentos com silício, na presença e ausência de cádmio, e dois com cádmio. Isto foi feito para cada espécie isoladamente, constituindo assim um fatorial 3x2, para as plantas de arroz e de feijão. A definição das doses de cádmio, para cada espécie, foi feita a partir dos resultados obtidos nos capítulos anteriores, nos quais se verificou a interação entre silício e cádmio (Item 4 e 5).

O silicato de cálcio com 10% de átomos de silício foi obtido por fusão alcalina entre dióxido de silício e carbonato de cálcio. Para isso foi determinada primeiramente, a massa de dióxido de silício altamente enriquecido em átomos de  $^{30}\text{Si}$  (99,28%), o qual adquirido da Cambridge Isotope Laboratories, Inc. (Andover, England), necessária para proporcionar o suprimento de 10% de átomos de silício na solução nutritiva. Esse cálculo foi feito em função do valor total de silício pretendido para dois vasos de nove litros de solução nutritiva. O cálculo foi feito realizado com base na Eq. 1. A solução nutritiva marcada foi preparada para alcançar o enriquecimento de 10,0% de átomos do isótopo  $^{30}\text{Si}$ .

$$\text{Si}_t * {}^{30}\text{Si}_n + {}^{30}\text{SiO}_2 * {}^{30}\text{Si}_e = (\text{Si}_n + {}^{30}\text{Si}_e) * {}^{30}\text{Si}_t \quad (\text{Eq. 1})$$

Onde:  $\text{Si}_t$  = quantidade total de silício na solução nutritiva (mg/vaso);  ${}^{30}\text{Si}_n$  = abundância isotópica natural de  $^{30}\text{Si}$  (3,092% de átomos);  ${}^{30}\text{SiO}_2$  = quantidades do composto enriquecido;  ${}^{30}\text{SiO}_2$  (mg);  ${}^{30}\text{Si}_e$  = abundância isotópica de  $^{30}\text{Si}$  no composto enriquecido  ${}^{30}\text{SiO}_2$  (99,28% de átomos em átomos de  $^{30}\text{Si}$ );  ${}^{30}\text{Si}_t$  = abundância isotópica teórica de  $^{30}\text{Si}$  (10% de átomos).

A quantidade de  ${}^{30}\text{SiO}_2$  necessária para chegar a 10% de átomos de  $\text{Si}^{30}$  na solução foi de 64,57mg e para que a concentração final chegasse a 1,8 mmol L<sup>-1</sup> de silício, foram adicionados 836 mg de  $\text{SiO}_2$  natural, os quais ambos foram misturados ao carbonato de cálcio (90 gramas) e juntos em cadinhos de platina, foram levados a mufla a 1000°C, por uma hora. A massa fundida foi dissolvida em água e a solução obtida foi dissolvida nos vasos com solução nutritiva e conferiram uma concentração de  $^{30}\text{Si}$  de 28,4 mg de silício para cada vaso.

A solução com o silicato com 10% de átomos de  $^{30}\text{Si}$  foi aplicada então nas soluções nutritivas para suprimento de silício as plantas de feijão e arroz tratamentos nos tratamentos com e sem cádmio. Sendo que para ambas as espécies foram mantidos tratamentos correspondentes ao silicato de potássio com abundância natural. As plantas de feijão receberam na primeira semana de cultivo silicato natural, silicato na concentração de 1,8 mmol L<sup>-1</sup> de silício e a aplicação da solução nutritiva com 10% de átomos de  $^{30}\text{Si}$  foi feita

na segunda semana. Isto foi devido ao fato de que, na segunda semana as plantas de feijão apresentam uma maior absorção e acúmulo de silício, como observado no capítulo 3 dessa tese. As plantas de feijão ficaram expostas por 20 dias na solução nutritiva contendo o silicato com 10% de átomos do  $^{30}\text{Si}$ . Nesse período ocorreu reposição da solução nutritiva com metade da sua concentração dos nutrientes básicos.

As plantas de arroz foram supridas com solução nutritiva contendo silicato natural, na concentração de  $1,8 \text{ mmol L}^{-1}$  de silício por 15 dias, com troca semanal da solução. Após este período foi então adicionado na solução nutritiva o silicato com 10% de átomos de  $^{30}\text{Si}$ , na qual as plantas ficaram expostas por 20 dias.

Depois destes períodos distintos de suprimento de silício para as plantas de arroz e de feijão, estas soluções contendo silicato natural e com átomos de  $^{30}\text{Si}$  foram substituídas por soluções sem silício, mantendo as doses de cádmio. Nesta etapa, todas as folhas já formadas foram identificadas com caneta, isso mesmo aquelas não totalmente expandidas, as quais foram consideradas como folhas velhas. Assim seria fácil de identificar as folhas novas, que surgiram após a retirada da solução nutritiva contendo silício.

O experimento foi conduzido até o amadurecimento dos grãos, os quais corresponderam aos 75 dias de cultivo para o feijão e 120 para o arroz. Nesta etapa as plantas foram colhidas e separadas em partes produzidas no período anterior e durante a exposição à solução com silício, as folhas velhas, e folhas produzidas após a retirada da solução nutritiva com silício, as folhas novas. Juntamente nessa coleta das plantas foram separadas as amostras de raízes, grãos, caule, e pericarpo (casca de arroz e vagem de feijão). As quais foram secas secas a temperatura de  $65^\circ\text{C}$  até que atingissem peso constante e finamente moído.

Para determinação da concentração de silício e cádmio nas diferentes partes das plantas foi realizada digestão em micro-ondas, sendo que todos os procedimentos metodológicos foram realizados com uso da água pura, mili-Q, assim caracterizada por ser purificada em um sistema milli-Q, da Millipore Corporation, modelo gradiente A10. A pureza desta água é monitorada pela medida da condutividade, valor de resistividade de  $18,2 \text{ M}\Omega \text{ cm}$  a  $25^\circ\text{C}$ , a água é dispensada através de uma membrana filtradora de  $0,22 \mu\text{m}$ , retirando carbono dissolvido, o valor final destes não ultrapassa  $5 \mu\text{g L}^{-1}$  e usando reagente com grau analítico padrão do ICP-MS.

O procedimento de digestão ácida foi baseado no método 3052 da USEPA (U.S. Environmental Protection Agency, 1996). Foi pesado  $0,25 \text{ g}$  de amostra vegetal moída. Com pipetas plásticas foram adicionados à amostra  $30 \mu\text{L}$  de HF e  $8,0 \text{ mL}$  de  $\text{HNO}_3$  (20% de

concentração) e 2 mL de peróxido de hidrogênio, visando reduzir interferentes da matriz, tais como NO. Os reagentes e amostras foram acondicionado em tubos de teflon (10 mL) e levados ao aparelho de microondas (Milestone, modelo Ethos TC Plus) por 50 minutos. Após o resfriamento e abertura do aparelho de microondas as amostras foram diluídas para volume final de 50 mL e cerca de 5 mL foram levados para análise em ICP-MS (Inductively Coupled Plasm Mass Spectrometry) para a quantificação de silício e cádmio.

A espectrometria de massas com fonte de plasma é uma técnica analítica resultante do acoplamento de uma fonte de plasma com um espectrômetro de massas (ICP-MS). A técnica baseia-se na capacidade de medir individualmente as razões massa carga ( $m/z$ ) dos isótopos, possibilitando a aplicação do método da diluição isotópica (GINÉ et al., 1999). O ICP-MS utilizado foi do tipo quadrupolo com fonte de plasma induzido em argônio. Equipamento da marca Agilent modelo 7500ce, com nebulizador concêntrico (micromist) instalado em câmara de nebulização refrigerada. As soluções foram introduzidas no equipamento utilizando o sistema de injeção em fluxo. As condições operacionais do ICP-MS utilizadas durante os experimentos estão apresentadas na Tabela 7.1.

Tabela 7.1 - Valores típicos de parâmetros de ajuste para análise no modo padrão (com ShieldTorch, nebulizador micromist)

<b>Parâmetros</b>	<b>Valores</b>
RF Power (W)	1500
Sampling Depth (mm)	8
Carrier Gas (L/min)	0,9
Makeup Gas (L/min)	0,15
PeriPump 1 (rps)	0,1
S/C Temp (°C)	2
Extract 1 (V)	4,0
Extract 2 (V)	-140
Omega Bias -ce (V)	-22
Omega Lens -ce (V)	1,2
OctP RF (V)	150
OctPBias (V)	-6
QP Bias (V)	-3

A quantificação de silício nesse equipamento não é usualmente feita, pois a leitura das massas 28, 29 e 30, relativas aos isótopos de silício possui interferentes espectrais na massa 28 ( $^{14}\text{N}_2$  e  $^{12}\text{CO}$ ), 29 ( $^{14}\text{N}_2\text{H}$ ) e 30 ( $^{14}\text{N}_2\text{O}$ ), os quais podem superestimar a leitura de seus isótopos. Porém a quantificação de silício já foi demonstrada com segurança (OLIVEIRA et al., 2007) o mesmo resultado pode ainda ser aplicado na determinação isotópica, porém este método ainda não foi devidamente calibrado. Determinação isotópica é possível de ser realizada, visto que, a este equipamento separa os íons por razão carga massa ( $m/z$ ) podendo separar as massas relativas ao isótopo de silício, sendo as interferências monitoradas com os padrões internos  $^{45}\text{Sc}$  e o  $^{115}\text{In}$ , para garantir a estabilidade do equipamento durante procedimento da determinação analítica.

As análises isotópicas foram também determinadas por método já calibrado (CARNEIRO et al., 2008), realizadas no espectrômetro de massa ATLAS-MAT modelo  $\text{CH}_4$  que é um sistema de admissão com fluxo gasoso com coletor de íons único como copo de Faraday. O sistema analítico é compreendido por uma linha de vácuo com uma bomba mecânica, uma difusora, um determinador de vácuo ativo, com um sensor. Para esta determinação isotópica as amostras foram digeridas em procedimento de digestão úmida. Para isso foi utilizado 0,5 g de material vegetal; 5,0 mL de ácido nítrico concentrado e 1,5 mL de ácido perclórico concentrado. Após a evaporação quase total da solução ácida, o  $\text{SiO}_2$  precipitado foi transferido para um recipiente de Teflon de 25 mL utilizando aproximadamente 10,0 mL de água mili-Q. Depois se adicionou 2,5 mL de  $\text{BaCl}_2$  a 2,6% (p/v) e 500  $\mu\text{L}$  de solução de HF a 40% (v/v) para converter o  $\text{SiO}_2$  em fluorossilicato de bário ( $\text{BaSiF}_6$ ). A solução foi secada e o precipitado transferido para a linha de vácuo, onde o  $\text{SiF}_4$  foi obtido e levado ao espectrômetro de massa (CARNEIRO et al., 2008).

A abundância do isótopo de silício obtida no equipamento de injeção gasosa, o ATLAS – MAT modelo  $\text{CH}_4$  foi determinada baseada nos sinais  $m/e$  85, 86 e 87, que correspondem aos isótopos  $^{28}\text{Si}$ ,  $^{29}\text{Si}$  e  $^{30}\text{Si}$ , respectivamente. Os valores para a abundância isotópica de  $^{30}\text{Si}$  (% de átomos) foram calculados pela Eq. 2.

$$\text{Abundância isotópica de } ^{30}\text{Si} (\% \text{ de átomos}) = \frac{I_{87}}{(I_{85} + I_{86} + I_{87})} \quad (\text{Eq. 2})$$

Onde:  $I_{85}$ ,  $I_{86}$  and  $I_{87}$  = intensidade de sinal de  $m/e$  85, 86 e 87, respectivamente.

Para os cálculos da % Si<sub>ppf</sub> (Porcentagem de silício na planta proveniente ou derivado do fertilizante), usou-se da Equação 3 (Trivelin, 2000), utilizada em estudos com nitrogênio marcado <sup>15</sup>N. Sendo a % Si<sub>ppf</sub> igual a quantidade de átomos %<sup>30</sup>Si na amostra (analisada no ATLAS-MAT e no ICP-MS), menos a quantidade de átomos %<sup>30</sup>Si natural; dividida pela quantidade de átomos %<sup>30</sup>Si do fertilizante (10%) menos a quantidade de átomos %<sup>30</sup>Si natural (3,1), em porcentagem. A quantidade de %<sup>30</sup>Si da amostra é o valor da contagem dos átomos de <sup>30</sup>Si obtido nos métodos utilizados, já com as correções. O valor da %<sup>30</sup>Si natural é o valor das análises das amostras das plantas que não receberam adubação com <sup>30</sup>Si, que foi em média de 3,1 %<sup>30</sup>Si.

$$\% \text{Si}_{\text{ppf}} = \left( \frac{\text{Ab}_p - \text{Ab}_n}{\text{Ab}_s - \text{Ab}_n} \right) * 100 \quad (\text{Eq. 3})$$

Onde: Si<sub>ppf</sub> = quantidade de silício nas plantas proveniente do silicato com 10 % de átomos de <sup>30</sup>Si (%); Ab<sub>p</sub> = Abundância isotópica de <sup>30</sup>Si (% de átomos) nas plantas marcadas determinadas por espectrometria de massa; Ab<sub>n</sub> = Abundância isotópica natural de <sup>30</sup>Si (% de átomos); Ab<sub>s</sub> = Abundância isotópica de <sup>30</sup>Si na solução nutritiva (% de átomos).

Para o cálculo da concentração do Si na planta proveniente do fertilizante utilizou-se da Equação 4. Que é a % Si<sub>ppf</sub> multiplicado pela concentração do nutriente na amostra e dividido por 100.

$$(\text{mg} / \text{kg})\text{Si}_{\text{ppf}} = \frac{(\% \text{Si}_{\text{ppf}} * \text{Si}_p)}{100} \quad (\text{Eq. 4})$$

Onde: Si<sub>ppf</sub> = silício nas plantas da fonte marcada (mg kg<sup>-1</sup>); %Si<sub>ppf</sub> = silício nas amostras proveniente do fertilizante; Si<sub>p</sub> = total de silício nas plantas silício (mg kg<sup>-1</sup>).

Os resultados obtidos foram submetidos a análise de variância pelo teste F para teste de concentração e acúmulo de silício e cádmio, casos significativos aplicaram-se o teste de Tukey (p < 0,05) para comparação de médias relativas à aplicação de silício e cádmio.

## 7.3 Resultados e discussão

### 7.3.1 Produção de matéria seca

A produção de matéria seca foi significativamente afetada pelo suprimento de silício e de cádmio, e pela interação entre esses ambos. Mostrando efeito negativo do cádmio no desenvolvimento e crescimento das plantas de arroz e de feijão. A aplicação da dose de  $1,8 \text{ mmol L}^{-1}$  de silício, tanto na forma de silicato com composição isotópica natural, como na de silicato com 10% átomos de  $^{30}\text{Si}$ , foi efetiva na diminuição do efeito deletério do cádmio na produção da matéria seca destas plantas (Figura 7.1).

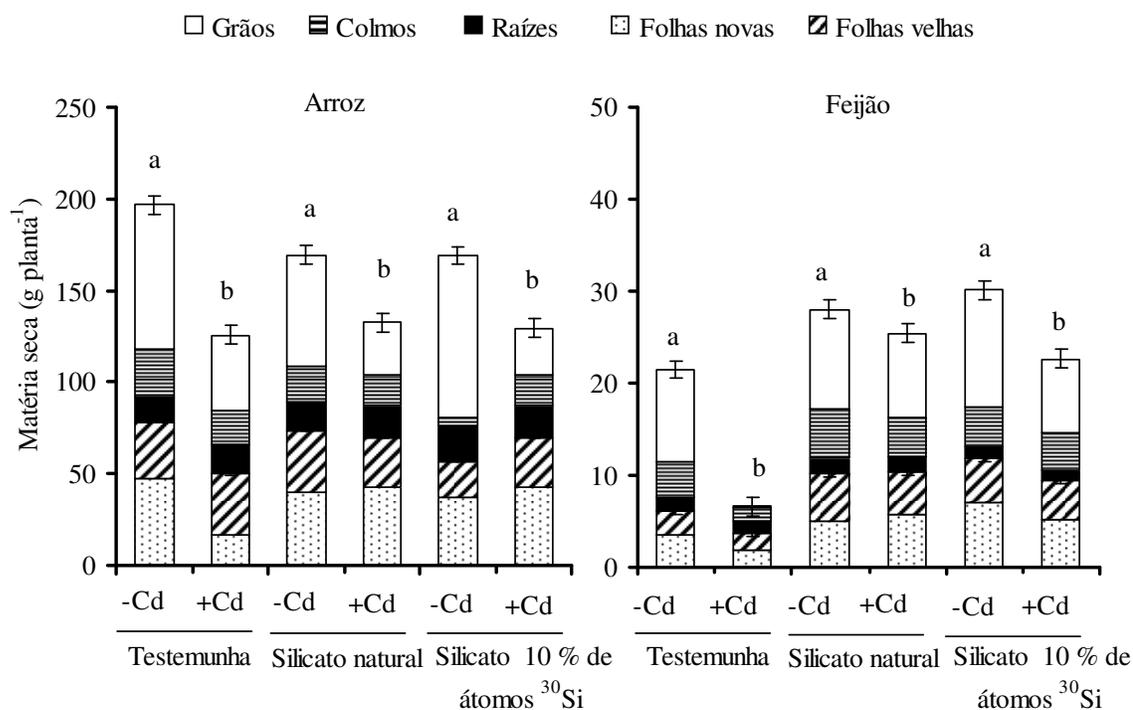


Figura 7.1 - Produção de matéria seca para plantas de arroz e feijão submetidas à aplicação de  $1,8 \text{ mmol L}^{-1}$  de silício, obtido a partir de silicato natural e silicato com 10% átomos de  $^{30}\text{Si}$ , na presença de cádmio (+Cd) e ausência de cádmio (-Cd). Médias seguidas de letras distintas entre si, diferem em função da aplicação de cádmio a Tukey ( $p < 0,05$ ).

O suprimento de silício na solução nutritiva proporcionou aumento na produção de matéria seca, isto pode ter ocorrido pelos benefícios oferecidos pelo silício. Dentre os quais pode-se inferir; a melhora da arquitetura da planta, pela presença de silício, e com isso ocorre melhor aproveitamento da luz e dos nutrientes (EPSTEIN, 1999), o que leva a um melhor desenvolvimento vegetal. A aplicação de silício conferiu o aumento na produção de matéria

seca até mesmo das plantas que foram supridas com cádmio. Esse efeito foi observado principalmente nas plantas de arroz, as quais apresentaram um incremento na produção de biomassa da parte aérea de 30% pelo suprimento de silício na solução, na presença de cádmio. Para as raízes o silício proporcionou um aumento de 20% e na matéria seca dos grãos o incremento foi de 50% para o silicato natural e 40% para o silicato com 10% de excesso <sup>30</sup>Si, quando na presença de cádmio.

Nas plantas de feijão a aplicação de silicato na solução também proporcionou a diminuição da toxidez de cádmio, refletida em uma maior produção de matéria seca destas plantas, pelo silício. Na parte aérea as plantas tratadas com cádmio, na presença de silício aumentaram a produção de matéria seca em 15% para o silicato natural e 30% para o silicato com 10 de átomos <sup>30</sup>Si. Nas raízes esse aumento foi de 10% para o silicato natural e 20% para o silicato com enriquecido e nos grãos o aumento pela aplicação de silício foi de 23% pela aplicação do silicato natural e 40% a mais pelo silicato enriquecido. Para estas plantas de feijão ambos os silicatos aplicados se mostraram eficientes em diminuir o estresse causado pelo cádmio refletido em uma menor produção de matéria seca.

O cádmio prejudica o desenvolvimento das plantas principalmente por atuar em processos fisiológicos fundamentais para o desenvolvimento vegetal, como na fotossíntese. Além de que o cádmio causa distúrbios na nutrição mineral, como possível deficiência de Fe e redução da absorção e transporte de água e de N, Ca, Mg, K e Mn, os quais estão envolvidos na fotossíntese ou biossíntese de clorofila pelas plantas (DAS, 1997; SIEDLECKA; KRUPA, 1999; BENAVIDES et al., 2005). O silício pode estar agindo na diminuição desses feitos nocivos do cádmio na fotossíntese, pois o suprimento de silício proporciona maior eficiência na fotossíntese, maior eficiência do uso da água (SAVANT et al., 1997; KORNDÖRFER, et al., 1999; DATNOFF et al., 2007) e aumento do conteúdo de clorofila b, carotenóides, lignina e os teores de fósforo, cálcio, enxofre e zinco (LIMA, 2006).

O silício proporcionou aumento na produção de matéria seca das raízes e assim sua capacidade de reter cádmio foi aumentado, o que pode ocorrer por compartimentalização do cádmio nas paredes celulares ou em espaços intercelulares das células da raiz (ZHANG et al., 2008). Além disso, o silício depositado nas paredes celulares pode levar a resistência dos danos radiculares causados pelo cádmio, o qual leva à mudança na estrutura das células apicais das raízes (DAUD et al., 2009).

### 7.3.2 Absorção e acúmulo de silício

A concentração de silício foi significativamente afetada pela aplicação de ambos os silicatos na solução nutritiva e pela presença de cádmio, nas folhas velhas, novas e casca das plantas de arroz. Já as demais partes das plantas de arroz, raízes, colmo e grãos, as doses de cádmio não tiveram efeito na concentração de silício e nem mesmo o silício aplicado. As plantas de feijão tiveram sua concentração de silício, significativamente afetada pelas doses de cádmio para toda planta, com exceção das folhas novas e grãos (Tabela 7.2).

Tabela 7.2 - Concentração de silício nas plantas de arroz e feijão submetidas à aplicação de 1,8 mmol L<sup>-1</sup> de silício, obtido a partir de silicato natural e silicato com 10% de átomos <sup>30</sup>Si, na presença de cádmio (+Cd) e ausência de cádmio (-Cd). Médias seguidas de letras minúsculas distintas entre si na linha, diferem em função das doses de silício e as médias seguidas de letras maiúsculas distintas entre si diferem em função das doses de cádmio, a Tukey (p < 0,05).

	Testemunha		Silicato natural		Silicato 10 % de átomos <sup>30</sup> Si	
	-----Si (g kg <sup>-1</sup> ) -----					
Arroz	+ Cd	- Cd	+ Cd	- Cd	+ Cd	- Cd
Folhas novas	0,2 Ab	0,1 Ab	0,7 Aa	0,3 Bb	0,9 Aa	0,3 Bb
Folhas velhas	0,2 Ac	0,2 Ac	4,9 Aab	3,2 Bb	5,2 Aa	4,6 Bb
Cascas	0,2 Ab	0,2 Ab	0,5 Aa	0,4 Ab	0,5 Aa	0,6 Aa
Feijão	+ Cd	- Cd	+ Cd	- Cd	+ Cd	- Cd
Folhas novas	0,4 Aa	0,5 Aa	0,3 Aa	0,5 Aa	0,3 Aa	0,3 Aa
Folhas velhas	0,5 Ac	0,7 Ac	1,4 Ab	1,2 Ab	2,8 Aa	2,4 Aa
Raízes	0,3 Ab	0,3 Ab	3,6 Aa	0,3 Bb	0,4 Ab	0,2 Bc
Vagens	0,3 Aa	0,2 Aa	0,8 Aa	0,3 Bb	0,6 Aa	0,5 Aab

As plantas de arroz apresentaram aumento de silício nas folhas velhas pela aplicação de cádmio na solução nutritiva. Este fato também pode ser observado nas folhas novas, nas casca não foi observada diferença de concentração de silício pela presença de cádmio. As folhas novas foram formadas em solução nutritiva que o suprimento de silício tinha sido suspenso e a única “fonte” de silício nessa condição eram as folhas velhas. Indicando assim a possível mobilidade do silício nas plantas de arroz na presença de cádmio. Assim o silício pode ter sido redistribuído da folha velha, que foi utilizada como a única fonte de silício para a parte nova das plantas de arroz, ocorrendo à mobilização do silício. O silício solúvel pode

ser o responsável pela defesa contra o estresse causado pelo cádmio, pelo estímulo ao sistema de antioxidantes (MA, 2004b, GUNES et al., 2007; 2008LIANG et al., 2007) ou ainda pode ter sido mobilizado e depositado nas folhas novas, tendo o efeito mecânico de defesa ao cádmio, contra danos da parede celular (SHI et al., 2005; CURRIE; PERRY, 2007).

O aumento da concentração de silício em plantas que foram supridas com cádmio já foi observado (item 5 e 6 desse trabalho) tanto na parte aérea como nas raízes. A aplicação de silício na forma de silicato com composição isotópica natural e como silicato com 10 % de átomos  $^{30}\text{Si}$ , tiveram a mesma eficiência em aumentar a concentração de silício principalmente nas folhas velhas para ambas as espécies. A concentração de silício nas folhas velhas de arroz, quando expostas ao cádmio foi o dobro da concentração encontrada na ausência de cádmio. As raízes das plantas de feijão apresentaram dez vezes mais a concentração de silício quando expostas ao cádmio, como pode ser observado na Tabela 7.2. Essa observação vem a confirmar a hipótese de que o silício depositado nas raízes pode ser o responsável pela diminuição da toxicidade de cádmio para as plantas, como já sugerido anteriormente por Zhang et al. (2008) e Daud et al., (2009).

As plantas de feijão quando submetidas ao cádmio, apresentaram menor concentração de silício do que o arroz, mas nessa condição teve aumento na produção de matéria seca, como se observa na Figura 7.1. Mostrando que, para as plantas de feijão, mesmo o silício não sendo absorvido em quantidade elevada, como para as plantas de arroz, a aplicação de silício trás benefícios, visto que o cádmio causa menos danos na presença de silício. Esse fato pode estar ligado ao aumento da concentração de silício encontrada nas raízes de feijão, pois um dos efeitos deletérios do cádmio está ligado a danos radiculares, tais como: mudança das estruturas das células apicais e aumento das plasmólises da membrana plasmática (DAUD et al., 2009).

Do total de silício absorvido a maior parte foi acumulada nas folhas velhas, tanto para as plantas de feijão, como as de arroz. A concentração maior de silício nas folhas velhas, em função da presença de cádmio, refletiu em maior acúmulo de silício por estas, isto para ambas as espécies (Figura 7.2), mesmo que a presença de cádmio tenha diminuído a produção de matéria seca.

As plantas de feijão quando expostas ao cádmio acumularam cerca de 60% do silício nas raízes e 4% nas folhas velhas. Quando foram cultivadas com silicato de potássio com composição isotópica natural, na presença de cádmio esse acúmulo nas folhas velhas foi cerca de 50% e nas raízes de 40%. As plantas de feijão tratadas com silicato de cálcio 10% de

átomos de  $^{30}\text{Si}$ , tiveram o silício acumulado nos grãos com a vagem, visto que, as vagens de feijão mostraram uma maior concentração de silício quando foi aplicado cádmio no meio de cultivo. A aplicação desse tipo de silicato garantiu o acúmulo de 50% do silício total nos grãos com vagem na presença de cádmio, já na ausência de cádmio o acúmulo nos grãos com vagem foi de 30% do total acumulado nas plantas de feijão.

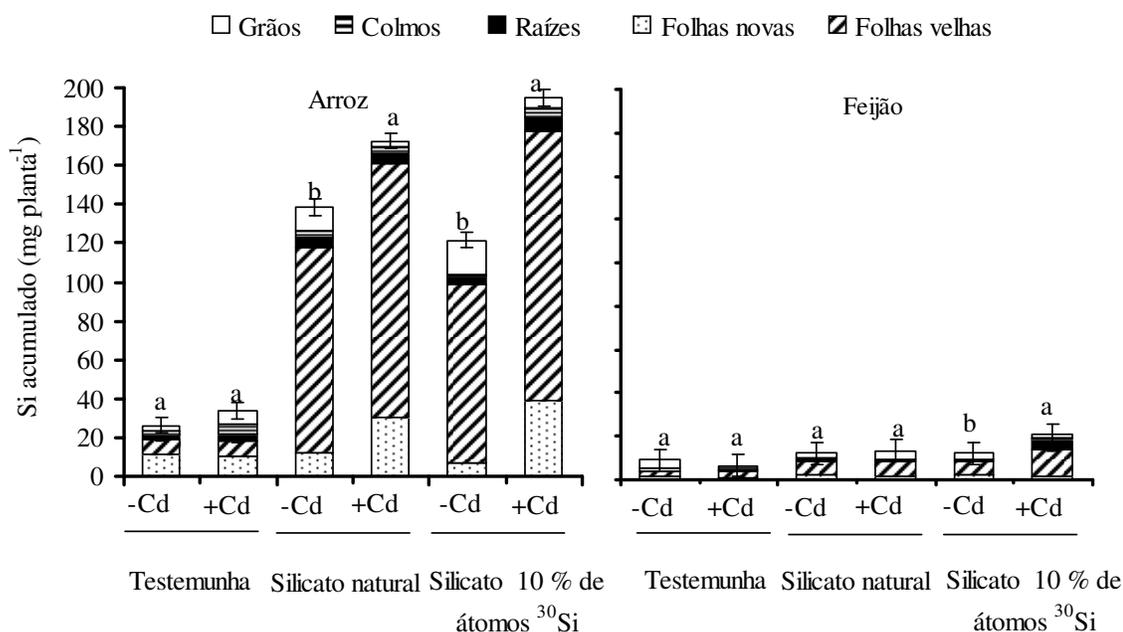


Figura 7.2 - Acúmulo de silício nas plantas de arroz e feijão submetidas à aplicação de  $1,8 \text{ mmol L}^{-1}$  de silício, obtido a partir de silicato natural e silicato com 10% em átomos de  $^{30}\text{Si}$ , na presença de cádmio (+Cd) e ausência de cádmio (-Cd). Médias seguidas de letras distintas entre si diferem em função da aplicação de cádmio a Tukey ( $p < 0,05$ ).

A produção de matéria seca para grãos foi maior na presença de silício, mas a deposição de silício nessas estruturas é mínima e só possível de ser detectada pelo uso da técnica de análise feita pelo ICP-MS, que tem uma sensibilidade maior do que o espectrofotômetro, o qual é usado para análises de rotina para silício.

Para as plantas de arroz o acúmulo de silício nas folhas velhas não foi influenciado pela aplicação de cádmio. O que se explica pela ausência de cádmio favorecer a produção de matéria seca das folhas velhas, apesar de ter uma menor concentração de cádmio, o acúmulo foi balanceado entre o tratamento com cádmio, o qual teve menor matéria seca e maior concentração de cádmio. Já para as folhas novas esse acúmulo dobrou, passando de 5% do total retido nas folhas novas, sem cádmio, para a 10% acumulado nas folhas novas com cádmio. Esse fato demonstra que estas espécies diferem não somente na absorção de silício e acúmulo

(MA et al., 2001), mas também na distribuição desse elemento, principalmente na condição de estresse estabelecida pelo cádmio.

### 7.3.3 Absorção e acúmulo de cádmio

A concentração de cádmio foi significativamente aumentada, tanto pela aplicação de silício com composição isotópica natural, como pelo silicato com 8% em átomos de excesso de  $^{30}\text{Si}$  nas plantas de arroz, já para as plantas de feijão, o que se observou foi uma diminuição da concentração de cádmio quando exposta em ambos os silicatos (Tabela 7.3).

Tabela 7.3 - Concentração de cádmio nas plantas de arroz e feijão submetidos à aplicação de  $0,9 \text{ mmol L}^{-1}$  de silício, obtido a partir do silicato natural e do silicato com 8% em átomos de  $^{30}\text{Si}$ , na presença de cádmio (+Cd) e ausência de cádmio (-Cd). Médias seguidas de letras minúsculas distintas entre si na linha, diferem em função das doses de silício e as médias seguidas de letras maiúsculas distintas entre si diferem em função das doses de cádmio, a Tukey ( $p < 0,05$ ).

	Testemunha		Silicato natural		Silicato 10 % de átomos $^{30}\text{Si}$	
	+Cd	-Cd	+Cd	-Cd	+Cd	-Cd
----- Cd ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) -----						
Arroz						
Folhas novas	3,6 Aa	0,3 Bb	119,7 Aa	6,3 Bb	128,7 Aa	45,6 Bb
Folhas velhas	28,4 Aa	0,6 Bb	189,4 Aa	28,4 Bb	189,5 Aa	102,2 Bb
Raízes	150,9 Aa	4,1 Bb	1553,6 Aa	150,4 Bb	1615,8 Aa	180,2 Bb
Colmos	39,7 Aa	0,4 Bb	197,8 Aa	24,5 Bb	258,7 Aa	160,7 Bb
Grãos	1,4 Aa	0,5 Bc	6,4 Ab	1,4 Bc	6,3 Ab	1,7 Bc
Cascas	1,9 Ab	1,2 Bc	131,9 Aa	1,9 Bc	180,8 Aa	116,4 Bc
Feijão						
Folhas novas	20,5 Ab	2,2 Ab	11,2 Ab	1,0 Ab	71,2 Aa	0,9 Bb
Folhas velhas	32,8 Ab	5,5 Ab	13,2 Ab	0,9 Ab	113,8 Aa	1,2 Bb
Raízes	142,1 Ab	51,9 Ab	151,4 Ab	62,7 Ab	483,3 Aa	4,1 Bb
Caules	70,8 Aa	11,3 Bb	52,0 Ab	0,8 Bb	5,6 Ab	3,8 Ab
Grãos	2,1 Aa	0,4 Bb	0,9 Ab	0,4 Ab	1,2 Ab	0,9 Ab
Vagens	13,8 Ab	1,2 Bc	6,2 Aa	0,3 Bc	41,1 Aa	0,3 Bc

As plantas de arroz tiveram um aumento na concentração de cádmio de 94% nas folhas novas, 74% nas folhas velhas, 83% nas raízes, 63% nos grãos e 98% na casca do arroz, pela aplicação de ambos os silicatos na solução nutritiva. Para as plantas de feijão foram observadas diferenças na distribuição do cádmio em relação à fonte de silício utilizada. O silicato de potássio utilizado como fonte para silício com composição isotópica natural proporcionou uma diminuição de 30% do cádmio nas folhas novas, 45% nas folhas velhas,

15% no caule e 40% nos grãos, nas raízes ocorreram um aumento de 5% do cádmio, em relação ao não suprimento de silício na solução nutritiva. Já para a fonte de silicato de cálcio usada para se ter silício com 8% de excesso em  $^{30}\text{Si}$  na solução nutritiva, acarretou num aumento de 73% de cádmio nas folhas novas, 55% nas folhas velhas e raízes, no caule e grãos o cádmio diminuiu cerca de 80% e 20% respectivamente, isso quando comparado os valores de concentração sem a aplicação de silício.

Para ambas as espécies foi encontrada uma maior concentração de cádmio nas raízes do que na parte aérea. Sendo que para o total de cádmio absorvido pelas plantas de arroz, cerca de 70% estava concentrado nas raízes, e a aplicação de silício não afetou nessa distribuição de cádmio. Este fato já foi reportado para plantas jovens de arroz supridas com cádmio e silício (SHI et al., 2005). Para as plantas de feijão foi observado que a aplicação de silício, como fonte de silicato natural ou aumentado em 8% de  $^{30}\text{Si}$ , alterou a distribuição de cádmio. Na ausência de qualquer fonte de silício, 50% do total de cádmio absorvido pelas plantas de feijão estavam nas raízes, com a aplicação dos silicatos essas proporções aumentou para quase 70% do total absorvido.

O aumento do silício retido nas raízes adsorveu mais o cádmio, provavelmente nas paredes celulares, conforme já sugerido por Zhang et al., (2008) e isso impede que o cádmio cause danos ao sistema radicular, proporcionando assim um maior desenvolvimento vegetal, com maior produção de matéria seca, principalmente para o feijão. Embora a concentração de silício nas plantas de arroz não tenha aumentado nas raízes, quando submetida ao cádmio, nota-se um maior desenvolvimento das raízes, quando submetidas ao silício e isso fez com que acumulasse mais cádmio, pois a presença de silício proporciona ainda, uma maior extensibilidade da parede celular (HOSSAIN et al., 2007) e este pode ser um dos fatores responsáveis pela diminuição da toxidez do cádmio pela aplicação de silício.

As plantas de arroz acumularam uma quantidade de cádmio significativamente maior do que as plantas de feijão. Sendo que o acúmulo de cádmio representa a interação entre a aplicação de cádmio e de silício e produção de matéria seca, assim as plantas de arroz, como são mais eficientes na produção de matéria seca acumularam maior quantidade de cádmio. Outro fato que explica o maior acúmulo de cádmio nas plantas de arroz é que a dose usada no experimento com cádmio foi 10 vezes maior do que a usada nas plantas de feijão, pois o arroz é sabidamente menos sensível ao cádmio do que as plantas de feijão (JURADO, 1989). Em ambas as espécies ocorreu o maior acúmulo de cádmio nas raízes (Figura 7.3).

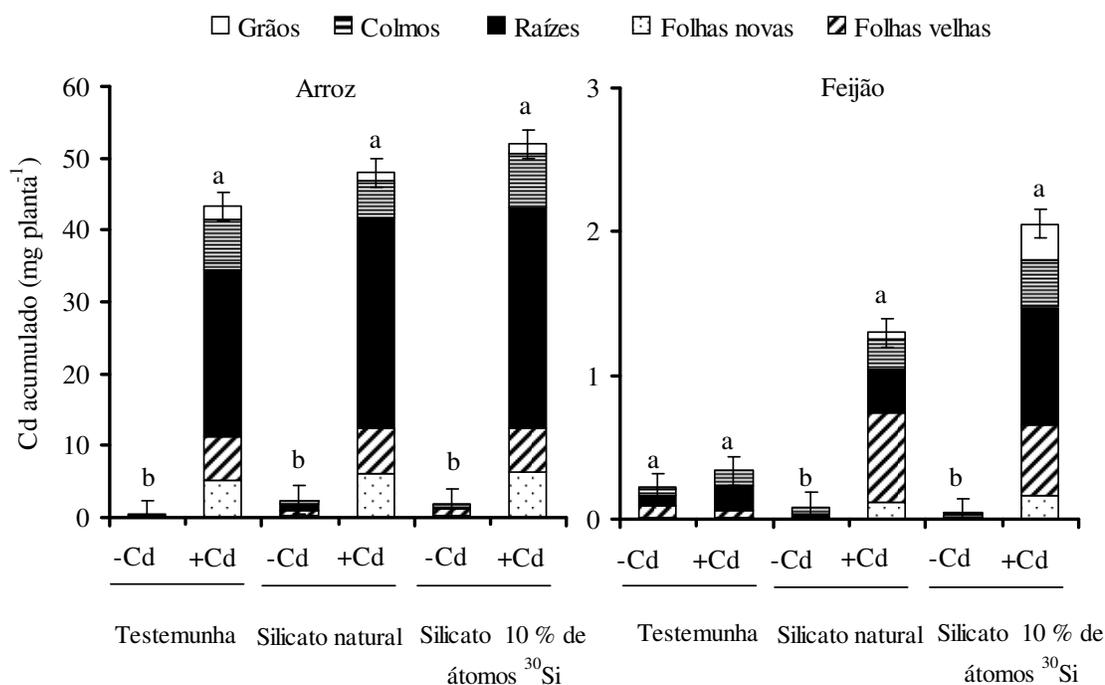


Figura 7.3 - Acúmulo de cádmio nas plantas de arroz e feijão submetidas à aplicação de  $0,9 \text{ mmol L}^{-1}$  de silício, obtido a partir do silicato natural e do silicato com 10% em átomos de  $^{30}\text{Si}$ , na presença de cádmio (+Cd) e ausência de cádmio (-Cd). Médias seguidas de letras distintas diferem entre si em função das doses de cádmio a Tukey ( $p < 0,05$ ).

O efeito do cádmio foi prejudicial ao crescimento das plantas e produção de grãos para as plantas de feijão e arroz. A aplicação de silício amenizou este estresse, levando a uma melhoria do desenvolvimento vegetal e com isso as plantas que foram supridas com silício consequentemente acumularam mais cádmio, pois tiveram uma maior produção de matéria seca. Além disso, nas plantas de arroz o silício aumentou a absorção de cádmio, como observado na Tabela 7.3. o que pode ocorrer pela presença de silício depositado na parede celular. Nas plantas de feijão esse efeito foi observado para as raízes. Nestas plantas o acúmulo de cádmio e sua distribuição na planta foram influenciados pela forma de silicato aplicada. O silicato natural, na forma de silicato de potássio, a maior quantidade de cádmio ficou retida nas raízes, cerca de 40% do total acumulado na planta na presença de cádmio. Já a aplicação do silicato de cálcio como fonte de excesso em 10% de silício na massa 30, levou a um maior acúmulo nos grãos com vagem, cerca de 30% nesses órgãos e 25% nas raízes, quando foi aplicado cádmio.

As diferentes fontes de silício mostraram-se diferentes no incremento de cádmio, o que se deve ao fato de que a aplicação destes silicatos levou ao aumento de potássio naqueles

tratamentos que se aplicou o silicato com composição natural. Nos tratamentos que se aplicou o silicato de cálcio, como fonte de silício aumentado em 10% do isótopo de massa 30, ocorreu acréscimo de cálcio no meio de cultivo. Como o cádmio pode ser absorvido pelos canais de absorção de cálcio (PERFUS-BARBEOCH et al., 2002), por difusão facilitada através da plasmalema, do mesmo modo que ocorre o  $\text{Ca}^{+2}$  e  $\text{Zn}^{+2}$ , o que pode levar à diminuição desses elementos para as plantas. A aplicação do silicato cálcio fez com que o meio de cultivo ficasse com uma maior concentração de cálcio, o que provavelmente supriu a sua possível deficiência, causada pelo cádmio, por competição entre cádmio e cálcio pelos canais de entrada de cálcio. Já foi demonstrado que em feijoeiro pequenas concentrações deste elemento prejudicam o transporte de nitrogênio, o potássio, o cálcio, o magnésio e o zinco (JURADO, 1989; NASCIMENTO; PEREIRA, 1997).

#### 7.3.4 Alterações na composição isotópica

A aplicação do silicato de cálcio com 10% em átomos de  $^{30}\text{Si}$ , garantiu um aumento na porcentagem em átomos de  $^{30}\text{Si}$  nas folhas velhas e novas de arroz e nas folhas velhas de feijão, ou seja, levou ao enriquecimento destas partes das plantas no isótopo de silício na massa 30. Nas folhas novas de arroz esse aumento na porcentagem de silício na massa 30 só foi observado quando as plantas foram supridas com cádmio (Tabela 7.4). As análises feitas por injeção gasosa no ATLAS-MAT foram relacionadas os resultados das análises feita no ICP-MS, não sendo demonstrada diferença entre os dois métodos analíticos utilizados.

As análises da abundância isotópica mostraram que o enriquecimento isotópico foi eficiente para aumentar a quantidade de átomos de  $^{30}\text{Si}$  nas plantas de arroz e de feijão. As diferenças estatísticas entre os resultados da aplicação do silicato natural e do silicato com 10% em átomos de  $^{30}\text{Si}$  foram confirmadas pela aplicação do teste de Student t-test a 95% de probabilidade ( $t^{\text{tab}} = 1,1$ ) relacionada ao  $n = 3$ . A diferença entre o enriquecimento do isótopo de massa 30 de silício nas plantas em átomos de  $^{30}\text{Si}$  e o silicato com 10% em átomos de  $^{30}\text{Si}$ , pode ter ocorrido pelo tempo de exposição não ter sido suficiente para ocorrer toda a absorção do silício enriquecido na massa 30. Ou ainda uma possibilidade seria que na absorção de silício poderia ocorrer discriminação de massas, com o enriquecimento apenas das raízes na massa 30 (DING et al., 2005), porém esse fato parece improvável, uma vez que em nenhuma das espécies consideradas nesse estudo foi observado aumento de  $^{30}\text{Si}$  nas raízes.

A aplicação do silicato com 10% de átomos de  $^{30}\text{Si}$ , visava evidenciar a redistribuição de silício nas plantas, ou a mobilidade de silício das folhas velhas para as folhas novas, detectado pela alteração na composição isotópica nas folhas novas. Os resultados indicaram que na presença de cádmio, 21,6% do silício presente nas folhas velhas veio do silicato com 10% em átomos de  $^{30}\text{Si}$ , (Si pff), obtido pelo cálculo usando a equação 3 descrita acima, ou seja 593,2 (mg kg<sup>-1</sup>). Nas folhas novas de arroz a quantidade de silício proveniente do silicato com 10% em átomos de Si foi de 11,6%, ou seja, 180(mg kg<sup>-1</sup>). Com isso pode-se inferir que as folhas velhas serviram para suprir as folhas novas de arroz com silício, servindo como fonte de silício na presença de cádmio, já que o suprimento de silício na solução nutritiva tinha sido suspenso durante o seu desenvolvimento.

Tabela 7.4 - Abundância isotópica de  $^{30}\text{Si}$  (% de átomos) e Si proveniente do silicato com 10% de excesso de  $^{30}\text{Si}$  nas folhas velhas e novas das plantas de arroz e folhas velhas das plantas de feijão determinada por espectrometria de massa.

	ATLAS-MAT				ICP-MS			
	Silicato Natural		Silicato 10% de átomos $^{30}\text{Si}$		Silicato Natural		Silicato 10% de átomos $^{30}\text{Si}$	
-----Abundância isotópica (% de átomos de $^{30}\text{Si}$ )-----								
	+Cd	-Cd	+Cd	-Cd	+Cd	-Cd	+Cd	-Cd
ARROZ								
Folhas novas	ND*	ND	3,9	ND	3,1	3,0	3,8	3,1
Folhas velhas	3,1	3,1	4,6	4,4	3,1	3,1	4,7	4,3
FEIJÃO								
Folha velhas	3,1	3,1	4,8	4,7	3,1	3,2	4,9	5,0
----- Porcentagem de silício proveniente do fertilizante (% $^{30}\text{Si}$ pff)-----								
ARROZ								
Folhas novas			11,6					10,1
Folhas velhas			21,7	18,8			23,2	17,4
FEIJÃO								
Folha velhas			24,6	23,2			26,1	

\* Não detectado

Nos tratamentos com o silicato com 10% em átomos de  $^{30}\text{Si}$  em que não foi aplicado cádmio, a quantidade de silício proveniente deste fertilizante foi menor, 18,8%, ou seja, 24 (mg kg<sup>-1</sup>) de silício. Para as outras partes das plantas de arroz não foi detectado alteração na composição isotópica, evidenciando assim a não redistribuição de silício para estas partes das plantas, na presença ou ausência de cádmio.

Para as plantas de feijão na presença de cádmio, 24,7% do silício presente nas folhas velhas veio do silicato com 10% em átomos de  $^{30}\text{Si}$ , ou seja, ou seja, 0,7 (mg kg<sup>-1</sup>). Já na

presença de cádmio a quantidade que foi provida pelo fertilizante foi de 23,2% ou seja, 0,6 (mg kg<sup>-1</sup>) e nenhuma alteração isotópica foram detectadas nas folhas novas, como observado para as plantas de arroz e nem nas outras partes das plantas de feijão.

Pelos cálculos feitos usando a equação 4 foi determinada a quantidade de silício acumulada na matéria seca das folhas velhas e novas, que teve origem do silicato com 10% de átomos de <sup>30</sup>Si. E ainda, a partir do cálculo desse total acumulado foi possível determinar o percentual de recuperação do <sup>30</sup>Si. Com estes resultados foi observado que nas plantas de arroz ocorreu redistribuição de silício quando as plantas estavam supridas com cádmio na solução nutritiva. Já para as plantas de feijão as folhas velhas apresentaram o total o total de silício recuperado (Figura 7.4).

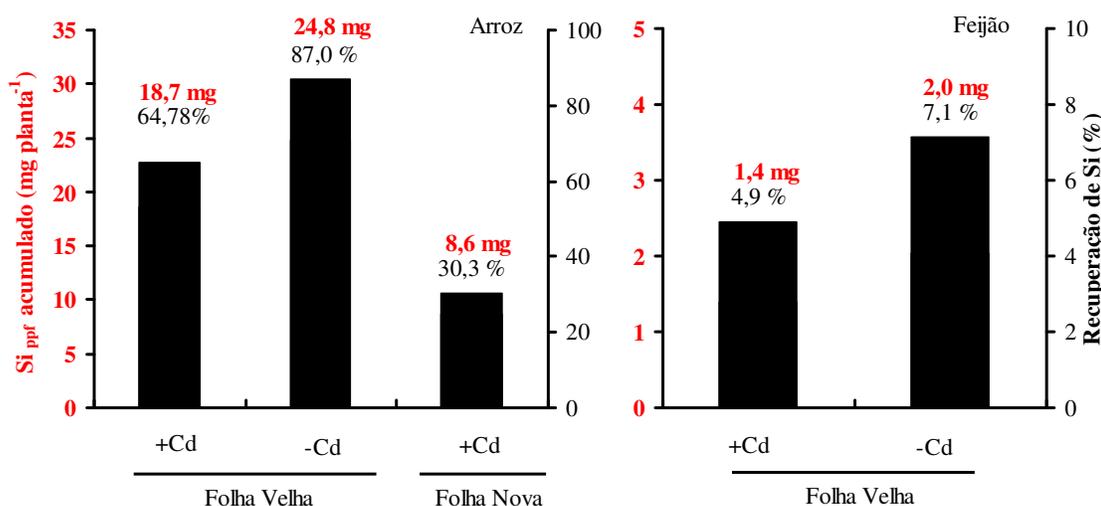


Figura 7.4 - Recuperação do silício pelas folhas novas e folhas velhas de plantas de arroz, e folhas velhas de feijão, cultivadas em solução nutritiva, tendo como fonte de silício o silicato de cálcio com 10% em átomos de <sup>30</sup>Si em solução nutritiva com cádmio (+Cd) e sem cádmio (-Cd).

Do total de silício obtido pela dissociação do silicato com 10% em átomos de <sup>30</sup>Si, 30,3% foi encontrado acumulado na folha nova, sendo que estas foram desenvolvidas em solução nutritiva sem silício, mostrando com isso que o silício acumulado nessas folhas novas teve origem das folhas velhas. E ainda, que a quantidade redistribuída foi relativamente alta, o que pode fazer com o silício não seja mais caracterizado como um elemento imóvel ou com pouca mobilidade (FOX et al., 1969; JONES; HANDRECK, 1967; MA et al, 2001; MALAVOLTA, 2006), mostrando uma alta mobilidade do silício nessas condições em que o cádmio foi suprido em excesso para as plantas de arroz.

As análises isotópicas das plantas de arroz mostraram que ocorreu redistribuição de silício das folhas velhas para as folhas novas, em condição de estresse nutricional provocado pela aplicação de cádmio. Assim como também foi verificado, que o acúmulo de silício nas plantas de arroz foi aumentado na presença de cádmio. Ou seja, provavelmente a condição de estresse estabelecida pelo excesso de cádmio acarretou em uma maior absorção de silício, tanto natural como o com 10% em átomos de  $^{30}\text{Si}$ . E o silício acumulado nas folhas novas teve origem nas folhas velhas, pois estas eram as únicas fontes de silício disponível naquele momento e a mobilidade foi favorecida pelo estresse conferido pelo cádmio. Pois o transporte e acúmulo de silício podem ser regulados por um processo ativo, que é desencadeado pelo estímulo à proteção contra doenças, pragas e outras condições de estresse, sugerindo que o acúmulo de silício na forma de  $\text{SiO}_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$  depende das exigências das plantas para resistirem a uma condição de estresse (BARBER; SHONE, 1966; JARVIS, 1987; MARSCHNER, 1995; BÉLANGER et al., 2004; CURRIE; PERRY, 2007). Nas plantas de arroz ocorreu redistribuição de silício nestas condições.

A redistribuição de silício não foi observada em condições de estresse biótico de plantas de pepino, as quais mantiveram o silício residual na base dos tricomas foliares das folhas mais velhas, mas falharam em desenvolver a silicificação do tecido novo injuriado por patógenos invasor (*Sphaerotheca fuliginea*) (SAMUELS et al., 1991).

O processo de redistribuição ocorre pela mobilidade do elemento no floema, Raven (2001) demonstra que o silício no floema pode ser transportado por simplasto. Isso sugere que saindo de uma local de maior concentração de silício, as folhas velhas, o silício atingiu as folhas novas de arroz por simplasto a favor de um gradiente de concentração. Para as plantas de arroz o silício já havia sido caracterizado elemento imóvel ou de baixa mobilidade, indicando que a presença de polímeros de silício em arroz torna o insolúvel (YOSHIDA; OHNISHI; KITAGISHI, 1962). Ou ainda, a imobilidade foi inferida por muito estudiosos pelo fato de que os depósitos de sílica, como sílica amorfa ou opala biogênica ( $\text{SiO}_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ ) impregnada nas paredes celulares ou lúmen das células, por isso fica compartimentalizada e sua redistribuição não deve ocorrer (BALASTRA, et al., 1989). Nesse sentido o uso do composto enriquecido em 10% em átomos de  $^{30}\text{Si}$  se mostra uma importante ferramenta, pois possibilita a quantificação da redistribuição e se esta ocorreu efetivamente. Pois os trabalhos anteriormente desenvolvidos para verificar a redistribuição de silício não usaram dessa ferramenta e por isso a imprecisão em definir a mobilidade deste elemento.

Provavelmente a redistribuição do silício das folhas velhas para as folhas novas em arroz ocorreu devido à condição de estresse estabelecida pela presença de cádmio, assim o silício pode ter sido requerido nestas partes novas como sinalizador de mecanismos de resistência ao cádmio. Mecanismos estes que podem ser químicos pela ativação de sistemas de antioxidantes ou ainda pela deposição de silício nas paredes celulares, que garante a integridade destas mesmas na presença de cádmio. Pois já foi verificado que o silício depositado nas paredes celulares proporciona efeito defensivo contra ataque de fungos, sendo que o aumento desses depósitos pode ocorrer após a infecção pelos patógenos (BÉLANGER et al., 1995). O mesmo pode estar ocorrendo pela presença de cádmio nas plantas de arroz, como um mecanismo de defesa. Já as plantas de feijão que acumulam relativamente menos silício do que o arroz, a deposição de silício nas folhas velhas pode ser uma fonte ineficiente para ser usada pelas folhas novas destas plantas.

A demonstração quantitativa da mobilidade de silício foi caracterizada pela ferramenta isotópica que é precisa na quantificação. Assim após ser depositados o silício poderá ser mobilizado, o que pode garantir a diminuição da toxidez de cádmio na plantas de arroz. O efeito do silício solúvel proveniente de fonte interna (folha velha) para o alívio da toxidez de cádmio pode ocorrer nas plantas de arroz. A mobilidade de silício poderá ocorrer em outras condições de estresse, e o uso de isótopos estáveis de silício poderá ajudar a esclarecer melhor esse padrão de mobilidade e até mesmo as formas de redistribuição de silício pelas plantas.

#### **7.4 Conclusões**

O excesso de cádmio levou a redistribuição de silício das folhas velhas para as folhas novas nas planta de arroz, o que não foi observado para as plantas de feijão. Mostrando a que o silício é um elemento móvel nas plantas de arroz, quando estas estiverem em meio de cultivo com excesso de cádmio.

## 8 CONSIDERAÇÕES FINAIS

As indagações e os resultados observados no presente trabalho dão menção de quanto complexo pode ser a função do silício nas plantas e de como ainda se têm equívocos na caracterização da função do silício na nutrição de plantas. Os resultados evidenciaram alguns aspectos inéditos: a diferença entre os períodos de maior absorção de silício pelas plantas (maior absorção pelas espécies acumuladoras ao final de 60 dias de desenvolvimento, contrapondo as não acumuladoras, que absorveram mais efetivamente na primeira semana de cultivo); a imobilidade do silício em condição normal de desenvolvimento e, por outro lado, a sua mobilidade em condição de estresse pela adição de cádmio. Isto demonstra e reafirma as últimas descobertas efetuadas na presente pesquisa com silício, de que este elemento é 'biologicamente ativo' ou seja, em condição de estresse fisiológico há maior acúmulo de silício nas plantas como forma de reação ao estresse. Nesse sentido, no presente estudo, foi demonstrada a diminuição da toxidez do cádmio na presença de silício e que, provavelmente, a forma de ação do silício nas plantas acumuladoras e não acumuladoras de silício é distinta na tolerância ao cádmio. O excesso de cádmio promoveu a redistribuição de silício, comprovando que o silício pode ser mobilizado em condição de estresse.

Pelo exposto, pôde-se concluir que existem diferenças marcantes entre os processos de absorção, transporte e deposição de silício nas plantas acumuladoras e não acumuladoras, em condição de suprimento de silício, e que estes processos estão diretamente relacionados aos benefícios conferidos por este elemento. Em condições de estresse, há redistribuição de silício em plantas de arroz. Tal fato também deve ocorrer nas demais espécies acumuladoras, por apresentarem os mesmos padrões de fotoassimilação de carbono e de absorção radicular, transporte e as mesmas exigências nutricionais, e neste sentido o silício pode estimular o sistema de defesa das plantas.

## REFERÊNCIAS

AGARIE, S.; HANAOKA, N.; UENO, O.; MIYAZAKI, A.; KUBOTA, F.; AGATA, W.; KAUFMAN, P.B. Effects of silicon on tolerance to water deficit and heat stress in rice plants (*Oryza sativa* L.), monitored by electrolyte leakage. **Plant Production Science**, Tokyo, v. 1, n. 1, p. 96-103, 1998.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA - ANVISA. Decreto nº 55871, de 26 de março de 1965. Modifica o Decreto nº 50.040, de 24 de janeiro de 1961, referente a normas reguladoras do emprego de aditivos para alimentos, alterado pelo Decreto nº 691, de 13 de março de 1962. **Diário Oficial da União**, Brasília, 9 abr. 1965.

ALMEIDA, G.D.; PRATISSOLI, D.; HOLTZ, A.M.; VICENTINI, V.B. Fertilizante organomineral como indutor de resistência contra a colonização da mosca branca no feijoeiro. **IDESIA**, Arica, v. 26, n. 1, p. 29-32, 2008.

ARGENTA, G.; SILVA, P.R.F. da; MIELNICZUK, J. Plant parameters indicators of nitrogen status in maize crop. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 37, n. 4, p. 519-517, 2002.

ARNON, D.I.; STOUT, P.R. Molybdenum as an essential element for higher plants. **Plant Physiology**, Rockville, v. 14, n. 3, p. 599-602, 1939.

BALASTRA, M.L.F.; PEREZ, C.M.; JULIANO, B.O.; VILLREAL, P. Effects of silica level on some properties of *Oryza sativa* straw and hult. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v. 67, n. 8, p. 2356-2363, 1989.

BARBER, D.A.; SHONE M.G.T. The absorption of silica from aqueous solutions by plants. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 17, p. 569-578, 1966.

BARCELÓ, J.; VÁSQUES, M.D.; POSCHENRIEDER, C. Structural and ultrastructural disorders in cadmium-treated bush bean plants (*Phaseolus vulgaris* L.). **New Phytologist**, London, v. 108, n. 1, p. 37-49, 1988.

BASNER, R.; SCHMIDT, M.; DENISOV, E. Absolute total and partial cross sections for the electron impact ionization of tetrafluorosilane (SiF<sub>4</sub>). **Journal of Chemical Physics**, Pennsylvania, v. 14, n. 4, p. 1170-1177, 2001.

BÉLANGER, R.R.; BENHAMOU, N.; MENZIES, J.G. Cytological evidence of an active role of silicon in wheat resistance to powdery mildew (*Blumeria graminis* f. sp. tritici). **Phytopathology**, St. Paul, v. 93, n. 4, p. 402-412, 2003.

BÉLANGER, R.R.; BOWEN, P.A.; EHRET, D.L.; MENZIES, J.G. Soluble silicon: its role in crop and disease management of greenhouse crops. **Plant Disease**, St. Paul, v. 79, n. 4, p. 329-336, 1995.

BENAVIDES, M.P.; GALLEGOS, S.M.; TOMARO, M.L. Cadmium toxicity in plants. **Brazilian Journal Plant Physiology**, Londrina, v. 17, n. 1, p. 21-34, 2005.

BRASIL. Decreto nº 2954, de 14 de Janeiro de 2004. Aprova o regulamento da lei nº 6894 de 16 de janeiro de 1980, que dispõe sobre a inspeção e fiscalização da produção e do comércio

de fertilizantes, corretivos, inoculantes ou biofertilizantes destinados à agricultura, e dá outras providências. **Normas Jurídicas** (Texto Integral), Brasília, DEC 004954, p. 18, 2004.

CARDINAL, D.; ALEMAN, L.Y.; JONG, J. de; ZIEGLER, K.; ANDRÉ, L. Isotopic composition of silicon measured by multicollector plasma source mass spectrometry in dry plasma mode. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, London, v. 18, p. 213-218, 2003.

CARDOSO, P.F. **Resposta de linhagens de arroz à exposição ao cádmio**. 2000. 72 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2000.

CARNEIRO, J.M.T.; ROSSETE, A.L.R.M.; BENDASSOLLI, J.A. Isotopic determination of silicon by mass spectrometry in plants and soils labeled with  $^{30}\text{Si}$ . **Analytical Letters**, New York, v. 41, n. 9, p. 1640-1647, 2008.

CARNEIRO, J.M.T.; ROSSETE, A.L.R.M.; OLIVEIRA, G.S.; BENDASSOLLI, J.A. A versatile flow injection system for spectrophotometric determination of silicon in agronomic samples. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, New York, v. 38, n. 11, p. 1411-1423, 2007.

CARVER, T.L.W.; ZEYEN, R.J.; AHLSTRAND, G.G. The relationship between insoluble silicon and success or failure of attempted primary penetration by powdery mildew (*Erysiphe graminis*) germplings on barley. **Physiology Molecular Plant Pathology**, Michigan, v. 31, n.5, p. 133-148, 1987.

CASEY, W.H.; KINRADE, S.D.; KNIGHT, C.T.G.; RAINS, D.W.; EPSTEIN, E. Aqueous silicate complexes in wheat, *Triticum aestivum* L. **Plant Cell and Environment**, Oxford, v. 27, n. 1, p. 51-54, 2003.

CHAOUI, A.; FERJANI, E.E. Effects of cadmium and copper on antioxidant capacities, lignification and auxin degradation in leaves of pea (*Pisum sativum* L.) seedlings. **Comptes Rendus Biologies**, Paris, v. 328, n. 1, p. 23-31, 2005.

CHAOUI, A.; MAZHOUDI, S.; GHORBAL, H.; FERJANI, E.E. Cadmium and zinc induction of lipid peroxidase and effects on antioxidant enzyme activities in bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Plant Science**, Amsterdam, v. 127, n. 2, p. 139-147, 1997.

CHEN, C.F.; ZHONG, J.H.; LI, S.Y. Effect of silicon on growth and anti-stress ability of Chinese cabbage (*Brassica pekinensis* Rupr.) in cadmium contaminated soil. **Plant Physiology Communications**, Leipzig, v. 43, n. 3, p. 479-482, 2007.

CHEN, H.M.; ZHENG, C.R.; TU, C.; SHEN, Z.G. Chemical methods and phytoremediation of soil contaminated with heavy metals. **Chemosphere**, Oxford, v. 41, n. 5, p. 229-234, 2000.

CHÉRIF, M.; ASSELIN, A.; BÉLANGER, R.R. Defense responses induced by soluble silicon in cucumber roots infected by *Pythium* spp. **Phytopathology**, St. Paul, v. 84, n. 3, p. 236-242, 1994.

CHIBA, Y.; MITANI, N.; YAMAJI, N.; MA, J.F. HvLsi1 is a silicon influx transporter in barley. **Plant Journal**, Oxford, v. 57, n. 5, p. 810-818, 2009.

CHIEN, H.F.; LIN, C.C.; WANG, J.W.; CHEN, C.T.; KAO, C.H. Changes in ammonium ion content and glutamine synthetase activity in rice leaves caused by excess cadmium are a consequence of oxidative damage. **Plant Growth Regulation**, Dordrecht, v. 36, p. 41-47, 2002.

CLARK, R.B. Role of silicon in plant nutrition. In: SINGH, K.; MORI, S.; WELCH, R.M. **Perspectives on the micronutrient nutrition of crops**. New Delhi: Scientific Publishers, 2001. p. 205-225.

CLEMENS, S. Toxic metal accumulation, responses to exposure and mechanisms of tolerance in plants. **Biochimie**, Paris, v. 88, n. 11, p. 1707-1719, 2006.

COBBETT, C.S. Phytochelatins and their roles in heavy metal detoxification. **Plant Physiology**, Rockville, v. 123, p. 825-832, 2000.

CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION – CODEX. Report of the 36th Session of the Codex Committee on Food Additives and Contaminants. Twenty-seventh Session appendix XXIII, paragraphs 176, 182. Rotterdam: Codex Alimentarius Commission, 2004.

CÔTÉ-BEAULIEU, C.; CHAIN, F.; MENZIES, J.G.; KINRADE, S.D.; BÉLANGER, R.R. Absorption of aqueous inorganic and organic silicon compounds by wheat and their effect on growth and powdery mildew control. **Environmental and Experimental Botany**, Oxford, v. 65, p. 155-161, 2009.

CUNHA, K.P.V.; NASCIMENTO, C.W.A. Silicon effects on metal tolerance and structural changes in maize (*Zea mays* L.) grown on a cadmium and zinc enriched soil. **Water, Air and Soil Pollution**, Dordrecht, v. 197, n. 9, p. 323-330, 2009.

CUNHA, K.P.V.; NASCIMENTO, C.W.A.; PIMENTEL, R.M.M.; ACCIOLY, A.M.A.; SILVA, A.J. Disponibilidade, acúmulo e toxidez de cádmio e zinco em milho cultivado em solo contaminado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 32, n. 1, p. 1319-1328, 2008.

CUNHA, K.P.V.; NASCIMENTO, C.W.A.; SILVA, A.J. Silicon alleviates the toxicity of cadmium and zinc for maize (*Zea mays* L.) grown on a contaminated soil. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, Malden, v. 171, n. 1, p. 849-853, 2008.

CURRIE, H.A.; PERRY, C.C. Silica in plants: biological, biochemical and chemical studies. **Annals of Botany**, Oxford, v. 100, n. 7, p. 1383-1389, 2007.

DAKORA, F.D.; NELWAMONDO, A. Silicon nutrition promotes root growth and tissue mechanical strength in symbiotic cowpea. **Functional Plant Biology**, Victoria, v. 30, n. 4, p. 947-953, 2003.

DALLAGNOL, L.J.; RODRIGUES, F.Á.; MIELLI, M.V.B.; MA, J.F.; DATNOFF, L.E. Defective active silicon uptake affects some components of rice resistance to brown spot. **Phytopathology**, St. Paul, v. 99, n. 1, p. 116-121, 2009.

DAS, P.S.; SAMANTARAY, G.R. Rout, studies on cadmium toxicity in plants: a review, **Environmental Pollution**, London, v. 98, n. 10, p. 29-36, 1997.

- DATNOFF, L.E.; RODRIGUES, F.A.; SEEBOLD, K.W. Silicon and plant disease. In: DATNOFF, L.E.; ELMER, W.H.; HUBER, D.M. (Org.). **Mineral nutrition and plant disease**. St. Paul: American Phytopathological Society, 2007. p. 233-246.
- DAUD, M.K.; YUQIANG, S.; DAWOOD, M.; HAYAT, Y.; VARIATHA, M.T.; XIANGWU, Y.; RAZIUDDIN, Y.; MISHKAT, U.; SALAHUDDIN, U.N.; ZHU, S. Cadmium-induced functional and ultrastructural alterations in roots of two transgenic cotton cultivars. **Journal of Hazardous Materials**, Amsterdam, v. 161, p. 463–473, 2009.
- DAYANANDAM, P.; KAUFMAN, P.B.; FRAKIN, C.I. Detection of silica in plants. **American Journal of Botany**, New York, v. 70, n. 10, p. 1079-1084, 1983.
- DE LA ROCHA, C.L. Silicon isotope fractionation by marine sponges and the reconstruction of the silicon isotope composition of ancient deep water. **Geology**, Boulder, v. 31, n. 5, p. 423-426, 2003.
- DE LA ROCHA, C.L.; BRZEZINSKI, M.A.; DENIRO, M.J.; SHEMESH, A. Silicon-isotope composition of diatoms as an indicator of past oceanic change. **Nature**, London, v. 395, p. 680-683, 1998.
- DE LAETER, J.R.; BOHLKE, J.K.; DE BIEVRE, P.; HIDAKA, H.; PEISER, H.S.; ROSMAN, K.J.R.; TAYLOR, P.D.P. Atomic weights of the elements: Review 2000 (IUPAC Technical Report). **Pure and Applied Chemistry**, Oxford, v. 75, p. 683-800, 2003.
- DIETZEL, M. Dissolution of silicates and the stability of polysilicic acid. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, New York, v. 64, n. 19, p. 3275–3281, 2000.
- DING, T.P.; DEFANG, W.; WANG, C.; ZHANG, F. Large and systematic silicon isotope fractionation discovered in single sticks of bamboo. In: GOLDSCHMIDT CONFERENCE, 2003, Pequin, China. **Abstracts...** Pequin, China, 2003. A49.
- DING, T.P.; MA, G.R.; SHUI, M.X.; WAN, D.F.; LI, R.H. Silicon isotope study on rice plants from the Zhejiang province, China. **Chemical Geology**, Amsterdam, v. 218, p. 41-50, 2005.
- DING, T.P.; ZHOU, J.X.; WAN, D.F.; CHEN, Z.Y.; WANG C.Y.; ZHANG, F. Silicon isotope fractionation in bamboo and its significance to the biogeochemical cycle of silicon. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, New York, v. 72, n. 5, p. 1381-1395, 2008.
- DJEBALI, W.; ZARROUK, M.; BROUQUISSE, R.; KAHOUI, S.E.; LIMAM, F.; GHORBEL, M.H.; CHAÏBI, W. Ultrastructure and lipid alterations induced by cadmium in tomato (*Lycopersicon esculentum*) chloroplast membranes. **Plant Biology**, Stuttgart, v. 7, n. 4, p. 358-368, 2005.
- DOELSCH, I.B. Si stable isotopes in the Earth's surface: a review. **Journal of Geochemical Exploration**, Amsterdam, v. 88, n. 1-3, p. 252-256, 2006.
- DOUTHITT, C.B. The geochemistry of the stable isotopes of silicon. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, New York, v. 46, n. 8, p. 1449-1458, 1982.
- ELAWAD, S.H.; GREEN, V.E. Silicon and the rice plant environment: a review of recent research. **Rivista Il Riso**, Milano, v. 28, n. 4, p. 235-253, 1979.

- ELLIOTT, C.L.; SNYDER, G.H. Autoclave - Induced digestion for the colorimetric determination of silicon in rice straw. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 39, n. 6, p. 1118-1119, 1991.
- EPOV, V.N.; EVANS, R.D. Improvement in the determination of Fe and Si and their isotope ratios by ICP-MS. Part I. Desolvating nebulizer. **Canadian Journal of Analytical Sciences and Spectroscopy**, Quebec, v. 47, n. 6, p. 177-183, 2002.
- EPSTEIN, E. The anomaly of silicon plant biology. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA**, Washington, v. 91, p. 11-17, 1994.
- EPSTEIN, E. Silicon. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo alto, v. 50, p. 641-664, 1999.
- ERASLAN, F.; INAL, A.; PILBEAM, D.J.; GUNES, A. Interactive effects of salicylic acid and silicon on oxidative damage and antioxidant activity in spinach (*Spinacia oleracea* L. cv. Matador) grown under boron toxicity and salinity. **Plant Growth Regulation**, Dordrecht, v. 55, n. 3, p. 207-219, 2008.
- ESAU, K. **Anatomia das plantas com sementes**. São Paulo: Edgard Blucher, 2000. 293 p.
- FALLAH, A.; VISPERAS, R.M.; ALEJAR, A.A. Interactive effect of silicon and nitrogen on growth and spikelet filling in rice (*Oryza sativa*). **Philippine Agricultural Scientist**, Laguna, v. 87, n. 2, p. 176-177, 2004.
- FASSET, J.D.; PAULSEN, P.L. Isotope dilution mass-spectrometry for accurate elemental analysis. **Analytical Chemistry**, Washington, v. 61, n. 11, p. 643A-649A, 1989.
- FAUTEUX, F.; REMUS-BOREL, W.; MENZIES, J.G.; BÉLANGER, R.R. Silicon and plant disease resistance against pathogenic fungi. **FEMS Microbiology Letters**, Amsterdam, v. 249, n. 1, p. 1-6, 2005.
- FAWE, A.; MENZIES, J.G.; CHÉRIF, M.; BÉLANGER, R.R. Silicon and disease resistance in dicotyledons. In: DATNOFF, L.E.; SNYDER, G.H.; KORNDÖFER, G.H. (Ed.). **Silicon in agriculture**. Amsterdam: Elsevier, 2001. p. 159-170.
- FERRI, M.G. **Botânica: morfologia interna das plantas (Anatomia)**. São Paulo: Edições Melhoramentos, 1970. 245 p.
- FERRI, M.G. **Fisiologia vegetal 1**. São Paulo: Editora Pedagógica e Universitária, 1985. 362p.
- FOX, R.L.; SILVA, J.A.; PLUCKNETT, D.L.; TERANISHI, D.Y. Soluble and total silicon in sugar cane. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 30, n. 1, p. 81-92, 1969.
- FUHRER, J. Early effects of excess cadmium uptake in *Phaseolus vulgaris*. **Plant Cell and Environment**, Oxford, v. 5, p. 263-270, 1982.
- GABBRIELLI, R.; PANDOLFINI, T.; VERGNANO, O.; PALANDRI, M.R. Comparison of two serpentine species with different nickel tolerance strategies. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 122, n. 2, p.271-277, 1990.

GALVEZ, L.; CLARK, R.B.; GOURLEY, L.M.; MARANVILLE, J.W. Effects of silicon on mineral composition of sorghum grown with excess manganese. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 12, p. 547-551, 1989.

GEORG, R.B.; HALLIDAY, A.N.; SCHAUBLE, E.A.; REYNOLDS, B.C. Silicon in the Earth's core, **Nature**, London, v. 447, p. 1102-1106, 2007.

GHOSHROY, S.; FREEDMAN, K.; LARTEY, R.; CITOVSKEY, V. Inhibition of plant viral systemic infection by non-toxic concentrations of cadmium. **Plant Journal**, Oxford, v. 13, n. 5, p. 591-602, 1998.

GLORIA, B.A.; GUERREIRO, S.M.C. **Anatomia vegetal**. Viçosa: UFV, 2003. 438 p.

GODBOLD, D.L.; HUTTERMANN, A. Effect of zinc, cadmium and mercury on root elongation of *Picea abies* (Karst.) seedlings and the significance of these metals to forest dieback. **Environmental Pollution**, London, v. 38, p. 509-516, 1985.

GONG, H.; ZHU, X.; CHEN, K.; WANG, S.; ZHANG, C. Silicon alleviates oxidative damage of wheat plants in pots under drought. **Plant Science**, Amsterdam, v. 169, n. 2, p. 313-321, 2005.

GOYER, R.A. Toxic and essential metal interactions. **Annual Review of Nutrition**, Palo Alto, v. 17, p. 37-50, 1997.

GRATÃO, P.L. **Resposta de plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum* cv Micro-Tom) ao cádmio**. 2008. 115 f. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2008.

GRATÃO, P.L.; POMPEU, G.B.; CARDOSO, P.F.; LEA, P.J.; AZEVEDO, R.A. Plant antioxidant responses to toxic elements. **Current Topics in Biochemical Research**, New Delhi, v. 8, p. 40-70, 2006.

GROTHGE-LIMA, M.T. **Interação cancro da haste (*Diaporthe phaseolorum* f. sp. meridionalis) e silício em Soja [*Glycine Max* (L.) Merrill]**. 1988. 29 f. Tese (Doutorado em Ciências) - Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1988.

GUÉVEL, M.H.; MENZIES, J.G.; BÉLANGER, R.R. Effect of root and foliar applications of soluble silicon on powdery mildew control and growth of wheat plants. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 119, p. 429-436, 2007.

GINÉ, M.F.; MENEGÁRIO, A.A.; BELLATO, A.C.D.; PACKER, A.P. MIRANDA, C.E.S.; ALMEIDA, C.R. O sistema ICP-MS. In: \_\_\_\_\_ **Espectrometria de massas com fonte de plasma**. 1. ed. Piracicaba: CENA/USP, 1999. p. 20-43. (Série Didática, 4).

GUNES, A.; INAL, A.; BAGCI, E.G.; PILBEAM, D.J. Silicon mediated changes of some physiological and enzymatic parameters symptomatic for oxidative stress in spinach and tomato grown in sodic-B toxic soil. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 290, p. 103-114, 2007.

GUNES, A.; PILBEAM, D. J.; INAL, A.; COBAN, S. Influence of silicon on sunflower cultivars under drought stress, i: growth, antioxidant mechanisms, and lipid peroxidation

**Communication in Soil Science and Plant Analysis**, New York, v. 39, n. 13-14, p. 1885-1903, 2008.

HALL, J.L. Cellular mechanisms for heavy metal metal detoxification and tolerance. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 53, n. 4, p. 1-11, 2002.

HAMMERSCHMIDT, R. Silicon and plant defense: the evidence continues to mount. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, St. Paul, v. 66, n. 4, p. 117-118, 2005a.

HAMMERSCHMIDT, R. Phenols and plant-pathogen interactions: the saga continues. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, St. Paul, v. 66, n. 3, p. 77-78, 2005b.

HASSAN, M.J.; SHAO, G.; ZHANG, G. Influence of cadmium toxicity on growth and antioxidant enzyme activity in rice cultivars with different grain cadmium accumulation. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 28, p. 1259-1270, 2005.

HAYASAKA, T.; FUJII, H.; ISHIGURO, K. The role of silicon in preventing appressorial penetration by the rice blast fungus. **Phytopathology**, St. Paul, v. 98, n. 9, p. 1038-1044, 2008.

HEATH, M.C. Reactions of nonsusceptible to fungal pathogens. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 18, p. 211-236, 1980.

HEATH, M.C. The suppression of the development of silicon containing deposits in French bean leaves by exudates of the bean rust fungus and extracts from rust-infected tissue. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, St. Paul, v. 18, p. 149-155, 1981.

HEINE, G.; TIKUM, G.; HORST, W.J. Silicon nutrition of tomato and bitter melon with special emphasis on silicon distribution in root fractions. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, Malden, v. 168, n. 21, p. 600-606, 2005.

HEUMANN, K.G. Isotope dilution mass spectrometry of inorganic and organic substance. **Fresenius Journal of Analytical Chemistry**, Berlin, v. 325, n. 8, p. 661-666, 1986.

HEUMANN, K.G. Isotope-dilution mass-spectrometry. **International Journal of Mass Spectrometry and Ion Processes**, Amsterdam, v. 118, n. 5, p. 575-592, 1992.

HOCKING, P.J. The composition of phloem exudate and xylem sap from tree tobacco (*Nicotiana glauca* Grah.). **Annals of Botany**, Oxford, v. 45, n. 6, p. 633-643, 1980.

HODSON, M.J.; EVANS, D.E. Aluminium/silicon interactions in higher plants. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 46, n. 2, p. 161-171, 1995.

HODSON, M.J.; WHITE, P.J.; MEAD, A.; BROADLEY, M.R. Phylogenetic variation in the silicon composition of plants. **Annals of Botany**, Oxford, v. 96, n. 6, p. 1027-1046, 2005.

HOFFMAN, F.M.; HILLSON, C.J. Effects of silicon on the life cycle of *Equisetum hyemale* L. **Botanical Gazette**, Chicago, v. 140, n. 2, p. 127-132, 1979.

HORST, W.J.; MARSCHNER, H. Effect of silicon on manganese tolerance of bean plants (*Phaseolus vulgaris* L.). **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 50, n. 1, p. 287-303, 1978.

HORST, W.J.; MARSCHNER, H. Effect of silicon on manganese tolerance of bean plants (*Phaseolus vulgaris* L.). **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 50, n. 1, p. 287-303, 1978.

HOSSAIN, M.T.; SOGA K.; WAKABAYASHI, K.; KAMISAKA, S.; FUJII, S.; YAMAMOTO, R.; HOSON, T. Modification of chemical properties of cell walls by silicon and its role in regulation of the cell wall extensibility in oat leaves. **Journal of Plant Physiology**, Jena, v. 164, n. 4, p. 385-393, 2007.

ILER, R.K. **The chemistry of silica**. New York: Wiley, 1979. 321 p.

JARVIS, S.C. The uptake and transport of silicon by perennial ryegrass and wheat. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 97, n. 3, p. 429-437, 1987.

JIANG, R.F.; MA, D.Y.; ZHAO, F.J.; McGRATH, S.P. Cadmium hyperaccumulation protects *Thlaspi caerulescens* from leaf feeding damage by thrips (*Frankliniella occidentalis*). **New Phytologist**, London, v. 167, p. 805-814, 2005.

JOHNSON, C.M.; STOUT, P.R.; BROYER, T.C.; CARLTON, A.B. Comparative chlorine requirements of different plant species. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 8, n. 4, p. 337-353, 1957.

JONES, L.H.P.; HANDRECK, K.A., Silica in soils, plants, and animals. **Advances in Agronomy**, San Diego, v. 19, p. 107-149, 1967.

JURADO, S.G. **Efeitos do cádmio no arroz (*Oryza sativa* L.) e no feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivados em solução nutritiva**. 1989. 139 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1989.

KABATA-PENDIAS, A. Agricultural problems related to excessive trace metal contents of soils. In: SALOMONS, W.; FÖRSTNER, U.; MADER, P. (Ed.). **Heavy metals: problems and solutions**. Berlin: Springer-Verlag, 1995. p. 3-18.

KABATA-PENDIAS, A.; MUKHERJEE, A.B. **Trace elements from soil to human**. New York: Springer, 2007. 550 p.

KABATA-PENDIAS, A.; PENDIAS, H. **Trace elements in soils and plants**. 3. ed. Boca Raton: CRC Press, 2001. 413 p.

KAUFMAN, P.B.; DAYANANDAN, P.; FRANKLIN, C.I.; TAKEOKA, Y. Structure and function of silica bodies in the epidermal system of grass shoots. **Annals of Botany**, Oxford, v. 55, n. 4, p. 487-507, 1985.

KAUSS, H.; SEEHAUS, K.; FRANKE, R.; GILBERT, S.; DIETRICH, R.A.; KRÖGER, N. Silica deposition by a strongly cationic proline-rich protein from systemically resistant cucumber plants. **Plant Journal**, Oxford, v. 33, p. 87-95, 2003.

KHAN, N.A.; SAMIULLAH, S.; SINGH, R.; NAZAR, A. Activities of antioxidative enzymes, sulphur assimilation, photosynthetic activity and growth of wheat (*Triticum aestivum*) cultivars differing in yield potential under cadmium stress. **Journal of Agronomy and Crop Science**, Madison, v. 139, n. 6, p. 435-444, 2007.

- KIM, S.G.; KIM, K.W.; PARK, E.W.; CHOI, D. Silicon-induced cell wall fortification of rice leaves: a possible cellular mechanism of enhanced host resistance to blast. **Phytopathology**, St. Paul, v. 92, n. 10, p. 1095-1103, 2002.
- KIM, Y.Y.; YANG, Y.Y.; LEE, Y. Pb and Cd uptake in rice roots. **Physiologia Plantarum**, Kobenhavn, v. 116, n. 3, p. 368-372, 2002.
- KIRKHAM, M. B. Cadmium in plants on polluted soils: Effects of soil factors, hyperaccumulation, and amendments. **Geoderma**, Amsterdam, v. 137, n. 1-2, p. 19-32, 2006.
- KITAJIMA, E.W.; LEITE, B. **Curso introdutório de microscopia eletrônica de varredura**. 2. ed. Piracicaba: ESALQ, Núcleo de Apoio à Pesquisa, Microscopia Aplicada à Pesquisa Agropecuária, 1999. 46 p.
- KNIGHT, C.T.G.; KINRADE, S. A primer on the aqueous chemistry of silicon. In: DATNOFF, L.E.; SNYDER, G.H.; KORNDÖRFER, G.H. (Ed.). **Silicon in agriculture**. Amsterdam: Elsevier, 2001. p. 57-86. (Studies in Plant Science, 8).
- KORNDÖRFER, G.H.; ARANTES, V.A.; CORREA, G.F.; SNYDER, G.H. Efeito da aplicação do silicato de cálcio no teor de silício e produção de grãos no arroz de sequeiro. **Revista Brasileira Ciência e Solo**, Viçosa, v. 23, p. 35-41, 1999.
- KORNDÖRFER, G.H.; PEREIRA, H.S.; CAMARGO, M.S. **Métodos para análise de silício no solo e na planta**. Uberlândia: GPSi-ICIAG-UFU, 2004. 24 p. (Boletim Técnico, 1).
- KRUPA, Z.; OQUIST, G.; HUNER, N. P. A. The effects of cadmium on photosynthesis of *Phaseolus vulgaris* fluorescence analysis. **Physiologia Plantarum**, Kobenhavn, v. 88, n. 8, p. 626-630, 1993.
- KUKIER, U.; CHANEY, R.L. Growing rice grain with controlled cadmium concentrations. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 25, n. 8, p. 1793-1820, 2002.
- KUPPER, H.; PARAMESWARAN, A.; LEITENMAIER, B.; TRTILEK, M.; SETLIK, I. Cadmium-induced inhibition of photosynthesis and long-term acclimation to cadmium stress in the hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens*. **New Phytologist**, London, v. 175, n. 4, p. 1-20, 2007.
- KURDZIEL, B.M.; PRASAD, M.N.V.; STRZALKA, K. Photosynthesis in heavy metal stressed plants. In: PRASAD, M.N.V. (Ed.). **Heavy metal stress in plants: from biomolecules to ecosystems**. 2. ed. Andhra Pradesh: Springer, 2004. p. 146-181.
- LANNING, F.C.; ELEUTERIUS, L.N. Silica deposition in some C3 and C4 species of grasses, sedges and composites in the USA. **Annals of Botany**, Oxford, v. 63. p. 395-410, 1989.
- LEITA, L.; CONTIN, M.; MAGGIONI, A. Distribution of cadmium and induced Cd-binding proteins in roots, stems and leaves of *Phaseolus vulgaris*. **Plant Science**, Amsterdam, v. 77, p. 139-147, 1991.
- LEWIN, J.; REIMANN, B.E.F. Silicon and plant growth. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo alto, v. 20, p. 289-304, 1969.

LIANG, Y.C.; CHEN, Q.; LIU, Q.; ZHANG, W.H.; DING, R.X. Exogenous silicon (Si) increases antioxidant enzyme activity and reduces lipid peroxidation in roots of salt-stressed barley (*Hordeum vulgare* L.). **Journal of Plant Physiology**, Jena, v. 160, p. 1157-1164, 2003.

LIANG, Y.C.; SUN, W.; ZHU, Y.G.; CHRISTIE, P. Mechanisms of silicon-mediated alleviation of abiotic stresses in higher plants: a review. **Environmental Pollution**, London, v. 147, p. 422-428, 2007.

LIANG, Y.; WONG, J.W.C.; WEI, L. Silicon-mediated enhancement of cadmium tolerance in maize (*Zea mays* L.) grown in cadmium contaminated soil. **Chemosphere**, Oxford, v. 58, n. 4, p. 475-483, 2005.

LIMA, L.M. **Manejo da ferrugem da soja (*Phakopsora pachyrhizi* Sydow & P. Sydow) com fungicidas e silício**. 2006. 81 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2006.

LINDSAY, W.L. **Chemical equilibria in soils**. New York: John Wiley & Sons, 1979. 449 p.

LIU, C.; LI, F.; LUO, C.; LIU, X.; WANG, S.; LIU, T.; LI, X. Foliar application of two silica sols reduced cadmium accumulation in rice grains. **Journal of Hazardous Materials**, Amsterdam, v. 161, n. 2-3, p. 1466-1472, 2009.

LIU, W.; YANG, Y.S.; ZHOU, Q.; XIE, L. LI, P.; SUN, T., Impact assessment of cadmium contamination on rice (*Oryza sativa* L.) seedlings at molecular and population levels using multiple biomarkers, **Chemosphere**, Oxford, v. 67, p. 1155-1163, 2007.

LOMBI, E.; ZHAO, F.J.; DUNHAM, S.J.; McGRATH, S.P. Phytoremediation of heavy metal-contaminated soils: natural hyperaccumulation versus chemically enhanced phytoextraction. **Journal of Environmental Quality**, Madison, v. 30, n. 13, p. 1919-1926, 2001.

LOZANO-RODRIGUEZ, E.; HERNÁNDEZ, L.E.; BONAY, P.; CARPENA-RUIZ, R.O. Distribution of cadmium in shoots and root tissues of maize and pea plants: physiological disturbances. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 48, n. 306, p. 123-128, 1997.

MA, J.F.; TAKAHASHI, E. Effect of silicon on the growth and phosphorus uptake of rice. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 126, n. 1, p. 115-119, 1990.

MA, J.F.; MIYAKE, Y.; TAKAHASHI, E. Silicon as a beneficial element for crop plants. In: DATNOFF, L.E.; SNYDER, G.H.; KORNDÖRFER, G.H. (Ed.). **Silicon in agriculture**. Amsterdam: Elsevier, 2001. p. 17-39. (Studies in Plant Science, 8).

MA, J.F.; TAKAHASHI, E. **Soil, fertilizer and plant silicon research in Japan**, 1. ed. Amsterdam: Elsevier Science, 2002. 274 p.

MA, J.F.; MITANI, N.; NAGAO, S.; KONISHI, S.; TAMAI, K.; IWASHITA, T.; YANO, M. Characterization of the silicon uptake system and molecular mapping of the silicon transporter gene in rice. **Plant Physiology**, Rockville, v. 136, p. 3284-3289, 2004a.

MA, J.F. Role of silicon in enhancing the resistance of plants to biotic and abiotic stresses. **Soil Science and Plant Nutrition**, Tokyo, v. 50, p. 11-18, 2004b.

MA, J.F.; TAMAI, K.; YAMAJI, N.; MITANI, N.; KATSUHARA, M.; ISHIGURO, M.; MURATA, Y.; YANO, M. A silicon transporter in rice. **Nature**, London, v. 440, p. 688-691, 2006a.

MA, J.F.; YAMAJI, N. Silicon uptake and accumulation in higher plants. **Trends in Plant Science**, Amsterdam, v. 11, p. 392-397, 2006b.

MA, J.F.; YAMAJI, N.; MITANI, N.; TAMAI, K.; KONISHI, S.; FUJIWARA, T.; KATSUHARA, M.; YANO, M.. An efflux transporter of silicon in rice. **Nature**, London, v. 448, p. 209-212, 2007.

MALAVOLTA, E. **Manual de nutrição mineral de plantas**. São Paulo: Editora Ceres, 2006. 443 p.

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. 2. ed. New York: Academic Press, 1995. 887 p.

MATICHENKOV, V.V.; BOCHARNIKOVA, E.A. The relation between silicon and soil physical and chemical properties. In: DATNOFF, L.E.; SNYDER, G.H.; KORNDÖRFER G.H. (Ed.). **Silicon in agriculture**. Amsterdam: Elsevier, 2001. p. 209-219. (Studies in Plant Science, 8).

MATTIAZZO-PREZOTTO, M.E. **Comportamento de cobre, Cd, crômio, níquel e zinco adicionados a solos de clima tropical em diferentes valores de pH**. 1994. 197 p. Tese (Livre-Docência) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1994.

MAUAD, M. **Desenvolvimento e marcha de absorção de silício em plantas de arroz sob condição de déficit hídrico e adubação silicatada**. 2006. 107 p. Tese (Doutor em Agronomia) - Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita Filho, Botucatu, 2006.

MCGRATH, S.P.; ZHAO, F.J. Phytoextraction of metals and metalloids from contaminated soils. **Current Opinion in Biotechnology**, Oxford, v. 14, n. 15, p. 277-282, 2003.

MCKEAGUE, J.A.; CLINE, M.G. Sílica in soils. **Advances in Agronomy**, San Diego, v. 15, n. 21, p. 339-397. 1963.

MITANI, N.; JIAN, F.M.; IWASHITA, T. Identification of the silicon form in xylem sap of rice (*Oryza sativa* L.). **Plant and Cell Physiology**, Tokyo, v. 46, p. 279-283, 2005.

MITANI, N.; MA, J.F. Uptake system of silicon in different plant species. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 56, n. 414, p. 1255-1261, 2005.

MITANI, N.; MA, J.F.; IWASHITA, T. Identification of the silicon form in xylem sap of rice (*Oryza sativa* L.) **Plant and Cell Physiology**, Tokyo, v. 46, n. 2, p. 279-283, 2005.

MITANI, N.; YAMAJI, N.; MA, J. F. Characterization of substrate specificity of a rice silicon transporter, Lsi1. **European Journal of Physiology**, Heidelberg, v. 456, n.4, p. 679-686, 2008.

- MIYAKE, Y.; TAKAHASHI, E. Effect of silicon on the growth of soybean plants in a solution culture. **Soil Science and Plant Nutrition**, Tokyo, v. 31, n. 4, p. 625-636, 1985.
- MOBIN, M.; KHAN, N.A. Photosynthetic activity, pigment composition and antioxidative response of two mustard (*Brassica juncea*) cultivars differing in photosynthetic capacity subjected to cadmium stress. **Journal of Plant Physiology**, Jena, v. 164, p. 601-610, 2007.
- MORAES, S.R.G.; ALVES, E.; POZZA, A.A.A.; CARVALHO, J.G.; LIMA, P.H.; BOTELHO, A.O. Efeito de Fontes de Silício na Incidência e na Severidade da Antracnose do Feijoeiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 31, n. 1, p. 69-75, 2006.
- MOTOMURA, H.; MITA, N.; SUZUKI, M. Silica accumulation in long-lived leaves of *Sasa veitchii* (Carrière) Rehder (Poaceae–Bambusoideae). **Annals of Botany**, Oxford, v. 90, p. 149–152, 2002.
- MOYA, J.L.; ROS, R.; PICAZO, I. Influence of cadmium and nickel on growth, net photosynthesis and carbohydrate distribution in rice plants. **Photosynthesis Research**, Dordrecht, v. 36, n. 2, p. 75-80, 1993.
- NASCIMENTO, C.W.A.E.; PEREIRA, J.B.M. Absorção e distribuição de cádmio e micronutrientes em cultivares de feijoeiro expostas a dose de cádmio. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 32, n. 12, p. 1303-1308, 1997.
- NATIONAL COMPANY OF FOOD SUPPLY COMPANY - CONAB. **Brasilian crop assessment**: grains - third estimate. National Supply Company. Brasília: CONAB, 2008. Disponível em: [www.conab.gov.br](http://www.conab.gov.br). Acesso em: 28/03/2009.
- NEUMANN, D.; DE FIGUEIREDO, C. A novel mechanism of silicon uptake. **Protoplasma**, Leipzig, v. 220, p. 59-67, 2002.
- NEUMANN, D.; NIEDEN, U. Silicon and heavy metal tolerance of higher plants. **Phytochemistry**, Oxford, v. 56, p. 685–692, 2001.
- NEUMANN, D.; ZUR NEIDEN, U.; LICHENBERGER, O.; LEOPOLD, I.; SCHWIEGER, W. Heavy metal tolerance of *Minuartia verna*. **Journal of Plant Physiology**, Jena, v. 151, p. 101–108, 1997.
- NIKOLIC, M.; NIKOLIC, N.; LIANG, Y., KIRKBY, E.A.; ROMHELD, V. Germanium-68 as an Adequate Tracer for Silicon Transport in Plants. Characterization of Silicon Uptake in Different Crop Species. **Plant Physiology**, Rockville, v. 143, p. 495–503, 2007.
- NISHIZONO, H.; ICHIKAWA, H.; SUZUKI, S.; ISHII, F. The role of the root cell wall in the heavy metal tolerance of *Athrium yokoscense*. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 101, p. 15–20, 1987.
- NOLLA, A.; KORNDORFER, G.H.; COELHO, L. Efficiency of calcium silicate and carbonate in soybean disease contro. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 29, p. 11-53, 2006.

- NWUGO, C.C.; HUERTA, A.J. Effects of silicon nutrition on cadmium uptake, growth and photosynthesis of rice plants exposed to low-level cadmium. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 311, p. 73–86, 2008b.
- NWUGO, C.C.; HUERTA, A.J. Silicon-induced cadmium resistance in rice (*Oryza sativa* L.). **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, Malden, v. 171, n. 6, p. 841-848, 2008a.
- OLIVERIA, L.A.; ABREU JUNIOR, C.H.; FERNANDES, H.M.G.; CARNEIRO, J.M.T. Silicon (<sup>30</sup>Si) isotope analysis by ICP-MS. In: INTERNATIONAL NUCLEAR ATLANTIC CONFERENCE – INAC, 2007, Santos, SP. Rio de Janeiro: ABEN, 2007. 1 CD-ROM.
- OPFERGELT, S.; CARDINAL, D.; HENRIET, C.; ANDRÉ, L.; DELVAUX, b. Silicon isotope fractionation between plant parts in banana: *In situ* vs. *In vitro*. **Journal of Geochemical and Exploration**, Amsterdam, v. 88, p. 224-227, 2006a.
- OPFERGELT, S.; CARDINAL, D.; HENRIET, C.; DRAYE, X.; ANDRÉ, L.; DELVAUX, B. Silicon isotope fractionation between plant parts in banana (*Musa* ssp) grown in a continuous nutrient flow device. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.285, p. 333–345, 2006b.
- PAGE, V.; FELLER, U. Selective transport of zinc, manganese, nickel, cobalt and cadmium in the root system and transfer to the leaves in young wheat plants. **Annals of Botany**, Oxford, v. 96, n. 3, p. 425-434, 2005.
- PAGE, V.; WEISSKOPF, L.; FELLER, U. Heavy metals in white lupin: uptake, root-to-shoot transfer and redistribution within the plant. **New Phytologist**, London, v. 171, n. 3, p. 329–341, 2006.
- PARK, J.J.; KIM, K.W.; PARK, T.J.; PARK, E.W; KIM, Y. Solid-state NMR Spectroscopy of Silicon-treated Rice with Enhanced Host Resistance against Blast. **Analytical Sciences**, Tokyo, v. 22, p. 645-648, 2006.
- PERFUS-BARBEOCH, L.; LEONHARDT, N.; VAVASSEUR, A.; FORESTIER, C. Heavy metal toxicity: cadmium permeates through calcium channels and disturbs the plant water status. **Plant Journal**, Oxford, v. 32, p. 539-548, 2002.
- POSCHENRIEDER, C.; GUNSE, B.; BARCELO, J. Influence of cadmium on water relations, stomatal resistance, and abscisic acid content in expanding bean leaves. **Plant Physiology**, Rockville, v. 90, p. 1365-1371, 1989.
- POSTEK, M.T. The occurrence of sílica in leaves of *Magnólia grandiflora*. **Botanical Gazette**, Chicago, v. 142, n. 1, p. 124-134, 1981.
- PRASSAD, M.N.V. Cadmium toxicity and tolerance in vascular plants. **Environmental and Experimental Botany**, Oxford, v. 35, p. 525–545, 1995.
- RAFI, M.M.; EPSTEIN, E. Silicon absorption by wheat (*Triticum aestivum* L.) **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 211, p. 223-230, 1999.
- RAIJ, B. van; CAMARGO, O.A. Sílica solúvel em solos. **Bragantia**, Campinas, v. 32, n. 11, p. 223-236, 1973.

- RANGANATHAN, S.; SUVARCHALA, V.; RAJESH, Y.B.R.D.; PRASAD, M.S.; PADMAKUMARI, A.P.; VOLETI, S.R. Effects of silicon sources on its deposition, chlorophyll content, and disease and pest resistance in rice. **Biologia Plantarum**, Praha, v. 50, n. 4, p. 713-716, 2006.
- RAUSER, W.E. Phitochelatins and related pepitides. Structure. Biosynthesis and funcion. **Plant Physiology**, Rockville, v. 109, p. 1141-1149, 1995.
- RAVEN, P.H.; EVERT, R.F.; EICHHORN, S.E. **Biologia vegetal**. 7. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2007.
- RAVEN, J.A. The transport and function of silicon in plants. **Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society**, Cambridge, v. 58, p. 179-207, 1983.
- RAVEN, J.A. Cycling silicon-the role of accumulation in plant. **New Phytologist**, London, v. 158. p. 419-421, 2003.
- RAVEN, J.A. Silicon transport at the cell and tissue level. In: DATNOFF, L.E.; SNYDER, G.H.; KORNDÖRFER, G.H. (Ed.). **Silicon in agriculture**. Amsterdam: Elsevier, 2001. p. 41-55. (Studies in Plant Science, 8).
- REIS, M.A.; ARF, O.; SILVA, M.G.; SÁ, M.E.; BUZETTI, S. Aplicação de silício em arroz de terras altas irrigado por aspersão. **Acta Scientiarum. Agronomy**, Maringá, v. 30, n. 1, p. 37-43, 2008.
- RICHMOND, K.E.; SUSSMAN, M. Got silicon? The non-essential beneficial plant nutrient. **Current Opinion in Plant Biology**, London, v. 6, p. 268-272, 2003.
- RIESEN, O.; FELLER, U.R.S. Redistribution of nickel, cobalt, manganese, zinc, and cadmium via the phloem in young and maturing wheat. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 28, n. 3, p. 421-430, 2005.
- RIVETTA, A.; NEGRINI, N.; COCUCCI, M. Involvement of Ca<sup>2+</sup>-calmodulin in Cd<sup>2+</sup> toxicity during the early phases of radish (*Raphanus sativus* L.) seed germination. **Plant Cell and Enviroment**, Oxford, v. 20, p. 600-608, 1997.
- RODRIGUES, F.A.; MCNALLY, D.J.; DATNOFF, L.E.; JONES, J.B.; LABBE, C.; BENHAMOU, N.; MENZIES, J.G. Silicon enhances the accumulation of diterpenoid phytoalexins in rice: a potential mechanism for blast resistance. **Phytopathology**, St. Paul, v. 94, n. 2, p. 177-183, 2004.
- ROMERO-PUERTAS, M.C.; MCCARTHY, I.; SANDALIO, L.M.; PALMA, J.M.; CORPAS, F.J.; GOMEZ, M.; DEL RIO, L.A. Cadmium toxicity and oxidative metabolism of pea leaf peroxisomes. **Free Radical Research**, London, v. 31, p. 25-31, 1999.
- SAMUELS, A.L.; GLASS, A.D.M.; EHRET, D.L.; MENZIES, J.G. Distribution of silicon in cucumber leaves during infection by powdery mildew fungus (*Sphaerotheca fuliginea*). **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v. 69, n. 1, p. 140-146, 1991.

- SANDALIO, L.M.; DALURZO, H.C.; GOMEZ, M.; ROMERO- PUERTAS, M.C.; DEL RIO, L.A. Cadmium-induced changes in the growth and oxidative metabolism of pea plant. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 52, p. 2115-2126, 2001.
- SANGSTER, A.G.; PARRY, D.W. Endodermal silicon deposits and their linear distribution on in developing roots of *Sorghum bicolor* (L.) Moench. **Annals of Botany**, Oxford, v. 40, p. 361-371, 1999.
- SANITÁ DI TOPPI, L.; GABBRIELLI R. Response to cadmium in higher plants. **Environmental and Experimental Botany**, Oxford, v. 41, n. 5 p. 105–130, 1999.
- SANITÁ DI TOPPI, L.; LAMBARDI, M.; PAZZAGLI, L.; CAPPUGI, G.; DURANTE, M.; GABBRIELLI, R., Response to cadmium in carrot in vitro plants and cell suspension cultures. **Plant Science**, Amsterdam, v. 137, p. 119–129, 1998.
- SAS STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM. **Introductory guide for personal computers**. Version 6. 12. ed. Cary: SAS Institute Inc., 1999.
- SAVANT, N.K.; SNYDER, G.H.; DATNOFF, L.E. Silicon management and sustainable rice production. **Advances in Agronomy**, San Diego, v. 58, p. 151-199, 1997.
- SCANDALIOS, J.G. Oxygen stress and superoxide dismutases. **Plant Physiology**, Rockville, v. 101, p. 7-12, 1993.
- SCHMIDT, R.E.; ZHANG, X.; CHALMERS, D.R. Response of photosynthesis and superoxide dismutase to silica applied to creeping bentgrass grown under two fertility levels. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 22, n. 11, p. 1763-1773, 1999.
- SHAH, K.; DUBEY, R.S. Effect of cadmium on RNA level as well as activity and molecular forms of ribonuclease in growing rice seedling. **Plant Physiology and Biochemistry**, Paris, v. 33, n. 5, p. 577-584, 1995.
- SHEWMAKER, G.E.; MAYLAND, H.F.; ROSENAU, R.C.; ASAY, K.H.J. Silicon in C-3 grasses: effects on forage quality and sheep preference. **Journal of Range Management**, Baltimore, v. 42, p. 122-127, 1989.
- SHI, G.R.; CAI, Q.S. Photosynthetic and anatomic responses of peanut leaves to cadmium stress. **Photosynthetica**, Praha, v. 46, n. 4, p. 627-630, 2008.
- SHI, X.; ZHANG, C.; WANG, L.; ZHANG, F. Effect of Si on the distribution of Cd rice seedlings. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 272, p. 479-482, 2005.
- SIEDLECKA, A.; KRUPA, Z. Cd/Fe interactions in higher plants – Its consequences for the photosynthetic apparatus. **Photosynthetica**, Praha, v. 36, n. 3, p. 321-331, 1999.
- SIMONOVA, E.; HENSELOVA, E.; MASAROVICOVA, E.; KOHANOVA, J. Comparison of tolerance of *Brassica juncea* and *Vigna radiata* to cadmium. **Biologia Plantarum**, Praha, v.51, n. 3, p. 488–492, 2007.
- SNYDER, G.H.; MATICHENKOV, V.V.; DATNOFF, L.E. Silicon. In: BARKER, A.V.; PILBEAN, D.J. (Ed.). **Handbook of plant nutrition**. Boca Raton: CRC Press, 2007. p. 551-566.

SOMMER, M.; KACZOREK, D.; KUZYAKOV, Y.; BREUER, J. Silicon pools and fluxes in soils and landscapes: a review. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, Malden, v. 169, p. 310–329, 2006.

SOUZA, J.F.; DOLDER, H.; CORTELLAZZO, A.L. Effect of excess cadmium and zinc ions on roots and shoots of maize seedlings. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 28, p. 1923-1931, 2005.

STIBOROVA, M. Cadmium ions affect the quaternary structure of ribulose-1, 5-bisphosphate carboxylase from barley leaves. **Biochemie und Physiologie der Pflanzen**, Jena, v. 183, n. 5, p. 371–378, 1988.

STIBOROVA, M.; DOUBRAVOVA, M.; BREZNINOVA, A.; FRIEDRICH, A. Effect of heavy metal ions on growth and biochemical characteristics of photosynthesis of barley *Hordeum vulgare* L. **Photosynthetica**, Praha, v. 20, p. 418-425, 1986.

STUMPF, M.A.; HEATH, M.C. Cytological studies of the interaction between the cowpea rust fungus and silicon-depleted French bean plants. **Physiological Plant Pathology**, London, v. 27, p. 369- 385, 1985.

SUN, L.; WU, L.H.; DING, T.P.; TIAN, S.H. Silicon isotope fractionation in rice plants, an experimental study on rice growth under hydroponics conditions. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 304, p. 291-300, 2008.

TAKAHASHI, E. Uptake mode and physiological functions of silica. In: MATUSUO, T.; KUMAZAWA, K.; ISHII, R.; ISHIHARA, K.; HIRATA, H. **Science of the rice plant physiology**. 2. Physiology. Nobunkyo: Food and Agriculture Policy Research Center, 1995. cap. 5, p. 420-433.

TAKAHASHI, E.; MA, J.F.; MIYAKE, Y. The possibility of silicon as an essential element for higher plants. **Comments on Agricultural and Food Chemistry**, London, v. 2, p. 99-122. 1990.

TISDALE, S.L.; NELSON, W.J.; BEATON, J.D. **Soil fertility and fertilizers**. New York: Macmillan Publishing Company, 1993. p. 202-331.

TREDER, W.; CIESLINSKI, G. Effect of silicon application on cadmium uptake and distribution in strawberry plants grown on contaminated soils. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 28, n. 6, p. 917-929, 2005.

TRIVELIN, P.C.O. **Utilização do nitrogênio pela cana-de-açúcar: Três casos estudados com o uso do traçador <sup>15</sup>N**. 2000. 143 f. Tese (Livre-Docência em Isótopos Estáveis) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2000.

UMEMURA, Y.; HISHIDA, J.; AKAZAWA, T.; URITANI, I. Effect of silicon compounds on plant enzymes involved in phosphorus metabolism. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, St. Louis, v. 92, p. 392-392, 1961.

USEPA. Method 3051 e 3052A: Micro-wave assisted acid digestion of sediments sludges, soils and oils. In: \_\_\_\_\_. **Sw-846**: Test methods for evaluation solid waste physical and chemical methods. Washington: USEPA, 1998.

- VAN RAIJ, B. **Fertilidade do solo e adubação**, Piracicaba: Ceres; POTAFOS, 1991. 343 p.
- VOLK, R.J.; KAHN, R.P.; WEINTRAUB, R.L. Silicon content of the rice plant as a factor influencing its resistance to infection by the rice blast fungus, *Piricularia oryzae*. **Phytopathology**, St. Paul, v. 48, p. 179-184, 1958.
- WAGNER, G.J. Accumulation of cadmium in crop plants and its consequences to human health. **Advances in Agronomy**, San Diego, v. 51, p. 173–212, 1993.
- WALKER, C.D.; LANCE, R.C.M., Silicon accumulation and <sup>13</sup>C composition as indices of water-use efficiency in barley cultivars. **Australian Journal of Plant Physiology**, Melbourne, v. 18, p. 427–434, 1991.
- WANG, L.; WANG, W.; CHEN, Q.; CAO, W.; LI, M.; ZHANG, F. Silicon-induced cadmium tolerance of rice seedlings. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 23, n. 10, p. 1397–1406, 2000.
- WIESE, H.; NIKOLIC, M.; RÖMHELD V. Silicon in plant nutrition - Effects on zinc, manganese and boron leaf concentrations and compartmentation. In: SATTELMACHER, B.; HORST, W.J. (Ed.). **The apoplast of higher plants: compartment of storage, transport and reactions**. London: Springer, 2007. p. 33-47.
- WILLIAMS, D.E.; VLAMIS, J. The effect of silicon on yield and manganese-54 uptake and distribution in the leaves of barley plants grown in culture solutions. **Plant Physiology**, Rockville, v. 32, n. 5, p. 404–409, 1957.
- WOLF, G. **Isotopes in biology**. New York: Academic Press, 1969. 173 p.
- WONG, M.K.; CHUAN, G.K.; KOH, L.L.; ANG, K.P.; HEW, C.S. The uptake of cadmium by *Brassica chinensis* and its effect on plant zinc and iron distribution. **Environmental and Experimental Botany**, Oxford, v. 24, n. 2, p. 189-195, 1984.
- WHO. **Cadmium, air quality guidelines**. 2. ed. Copenhagen: Regional Office for Europe, 2000. 302 p.
- XUE, D.W.; CHEN, M.C.; ZHANG, G.P. Mapping of QTLs associated with cadmium tolerance and accumulation during seedling stage in rice (*Oryza sativa* L.) **Euphytica**, Wageningen, v. 165, n. 3, p. 587-596, 2009.
- YAMAJI, N.; MITANI, N.; MA, J.F. A transporter regulating silicon distribution in rice shoots. **The Plant Cell**, Baltimore, v. 20, p. 1381-1389, 2008.
- YOSHIDA, S.; OHNISHI, Y.; KITAGISHI, K. Histochemistry of silicon in rice plant. **Soil Science and Plant Nutrition**, Tokyo, v. 8, p. 107-111, 1962.
- ZHANG, C.; WANG, L.; NIE, Q.; ZHANG, W.; ZHANG, F. Long-term effects of exogenous silicon on cadmium translocation and toxicity in rice (*Oryza sativa* L.). **Environmental and Experimental Botany**, Oxford, v. 62, p. 300-307, 2008.
- ZHAO, X.L.; MASAIHIKO, S.C. Amelioration of cadmium polluted paddy soils by porous hydrated calcium silicate. **Water, Air, and Soil Pollution**, Dordrecht, v. 83, n. 1-4, p. 309-315, 2007.

ZUCCARINI, P. Effects of silicon on photosynthesis, water relations and nutrient uptake of *Phaseolus vulgaris* under NaCl stress. **Biologia Plantarum**, Praha, v. 52, n. 1, p.157-160, 2008.