

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA
GOIANO – *CÂMPUS* RIO VERDE – GO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS -
AGRONOMIA

SILÍCIO E ÓXIDO NÍTRICO COMO ATENUADORES DO
ESTRESSE SALINO EM ALFACE E FEIJOEIRO

Autor: Vítor Martins Veneziano
Orientador: Prof. Dsc. Carlos Ribeiro Rodrigues

RIO VERDE-GO

Outubro de 2022

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA
GOIANO – *CÂMPUS* RIO VERDE – GO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS -
AGRONOMIA

SILÍCIO E ÓXIDO NÍTRICO COMO ATENUADORES DO
ESTRESSE SALINO EM ALFACE E FEIJOEIRO

Autor: Vítor Martins Veneziano
Orientador: Prof. Dsc. Carlos Ribeiro Rodrigues

Tese apresentada como parte das exigências para obtenção do título de DOUTOR EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS - AGRONOMIA no Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias - Agronomia do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Campus Rio Verde – Área de concentração Produção Vegetal Sustentável do Cerrado.

RIO VERDE-GO

Outubro de 2022

Sistema desenvolvido pelo ICMC/USP
Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema Integrado de Bibliotecas - Instituto Federal Goiano

Vs Veneziano, Vítor Martins
SILÍCIO E ÓXIDO NÍTRICO COMO ATENUADORES DO
ESTRESSE SALINO EM ALFACE E FEIJOEIRO / Vítor Martins
Veneziano; orientador Carlos Ribeiro Rodrigues; co-
orientador Gustavo Castoldi. -- Rio Verde, 2022.
93 p.

Tese (Doutorado em Ciências Agrárias - Agronomia)
-- Instituto Federal Goiano, Campus Rio Verde, 2022.

1. Salinidade. 2. Fluorescência. 3. Silicato de
Potássio. 4. Nitroprussiato de sódio. 5. Nitrogênio.
I. Ribeiro Rodrigues, Carlos, orient. II. Castoldi,
Gustavo, co-orient. III. Título.

TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR PRODUÇÕES TÉCNICO-CIENTÍFICAS NO REPOSITÓRIO INSTITUCIONAL DO IF GOIANO

Com base no disposto na Lei Federal nº 9.610, de 19 de fevereiro de 1998, AUTORIZO o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano a disponibilizar gratuitamente o documento em formato digital no Repositório Institucional do IF Goiano (RIIF Goiano), sem ressarcimento de direitos autorais, conforme permissão assinada abaixo, para fins de leitura, download e impressão, a título de divulgação da produção técnico-científica no IF Goiano.

IDENTIFICAÇÃO DA PRODUÇÃO TÉCNICO-CIENTÍFICA

Tese (doutorado)

Dissertação (mestrado)

Monografia (especialização)

TCC (graduação)

Artigo científico

Capítulo de livro

Livro

Trabalho apresentado em evento

Produto técnico e educacional - Tipo:

Nome completo do autor:

Matrícula:

Título do trabalho:

RESTRIÇÕES DE ACESSO AO DOCUMENTO

Documento confidencial: Não Sim, justifique:

Informe a data que poderá ser disponibilizado no RIIF Goiano: / /

O documento está sujeito a registro de patente? Sim Não

O documento pode vir a ser publicado como livro? Sim Não

DECLARAÇÃO DE DISTRIBUIÇÃO NÃO-EXCLUSIVA

O(a) referido(a) autor(a) declara:

- Que o documento é seu trabalho original, detém os direitos autorais da produção técnico-científica e não infringe os direitos de qualquer outra pessoa ou entidade;
- Que obteve autorização de quaisquer materiais inclusos no documento do qual não detém os direitos de autoria, para conceder ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano os direitos requeridos e que este material cujos direitos autorais são de terceiros, estão claramente identificados e reconhecidos no texto ou conteúdo do documento entregue;
- Que cumpriu quaisquer obrigações exigidas por contrato ou acordo, caso o documento entregue seja baseado em trabalho financiado ou apoiado por outra instituição que não o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano.

Local / /
Data



Assinatura do autor e/ou detentor dos direitos autorais

Ciente e de acordo:



Assinatura do(a) orientador(a)



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SECRETARIA DE EDUCAÇÃO PROFISSIONAL E TECNOLÓGICA
INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA GOIANO

Ata nº 100/2022 - SREPG/CMPR/CPG-RV/DPGPI-RV/CMPRV/IFGOIANO

ATA Nº/98

BANCA EXAMINADORA DE DEFESA DE TESE

Aos vinte e sete dias do mês de outubro do ano de dois mil e vinte e dois, às 13:30h, reuniram-se os componentes da Banca Examinadora: sob a presidência do(a) primeiro(a), Prof. Dr. Carlos Ribeiro Rodrigues (Presidente); Prof. Dr. Leandro Carlos (Avaliador interno); Prof^a. Dra. June Faria Scherrer Menezes (Avaliadora externa); Prof. Dr. Rilner Alves Flores (Avaliador externo) e Prof. Dr. Gustavo Castoldi em sessão pública realizada no IF Goiano - Campus Rio Verde, para procederem a avaliação da defesa de Tese, em nível de Doutorado, de autoria de **VÍTOR MARTINS VENEZIANO**, discente do Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias - Agronomia do Instituto Federal Goiano - Campus Rio Verde. A sessão foi aberta pelo(a) presidente da Banca Examinadora, Prof. Dr. Carlos Ribeiro Rodrigues (Presidente), que fez a apresentação formal dos membros da Banca. A palavra, a seguir, foi concedida o(a) autor (a) da Tese para, em 40 min., proceder à apresentação de seu trabalho. Terminada a apresentação, cada membro da banca arguiu o(a) examinado(a), tendo-se adotado o sistema de diálogo sequencial. Terminada a fase de arguição, procedeu-se a avaliação da defesa. Tendo-se em vista as normas que regulamentam o Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias - Agronomia, e procedidas às correções recomendadas, a Tese foi APROVADA, considerando-se integralmente cumprido este requisito para fins de obtenção do título de **DOCTOR(a) EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS-AGRONOMIA**, na área de concentração Produção Vegetal Sustentável no Cerrado, pelo Instituto Federal Goiano - Campus Rio Verde. A conclusão do curso dar-se-á quando da entrega na secretaria do PPGCA-AGRO da versão definitiva da Tese, com as devidas correções. Assim sendo, esta ata perderá a validade se não cumprida essa condição, em até **60** (sessenta) dias da sua ocorrência. A Banca Examinadora recomendou a publicação dos artigos científicos oriundos dessa Tese em periódicos de circulação nacional e/ou internacional, após procedida as modificações sugeridas. Cumpridas as formalidades da pauta, a presidência da mesa encerrou esta sessão de defesa de Tese de Doutorado, e para constar, eu, Vanilda Maria Campos, secretária do PPGCA-AGRO, lavrei a presente Ata, que, após lida e achada conforme, será assinada pelos membros da Banca Examinadora.

Prof. Dr. Carlos Ribeiro Rodrigues (Presidente)

Prof. Dr. Leandro Carlos (Avaliador interno)

Prof^a. Dra. June Faria Scherrer Menezes (Avaliadora externa)

Prof. Dr. Rilner Alves Flores (Avaliador externo)

Prof. Dr. Gustavo Castoldi (Avaliador interno)

Documento assinado eletronicamente por:

- **June Faria Scherrer Menezes**, June Faria Scherrer Menezes - Professor Avaliador de Banca - Universidade de Rio Verde (01815216000178), em 28/10/2022 09:57:38.
- **Leandro Carlos**, PROFESSOR ENS BASICO TECN TECNOLOGICO, em 27/10/2022 18:47:54.
- **Gustavo Castoldi**, PROFESSOR ENS BASICO TECN TECNOLOGICO, em 27/10/2022 17:42:11.
- **Rilner Alves Flores**, Rilner Alves Flores - Professor Avaliador de Banca - Universidade Federal de Goiás (01567601000143), em 27/10/2022 17:34:30.
- **Carlos Ribeiro Rodrigues**, PROFESSOR ENS BASICO TECN TECNOLOGICO, em 27/10/2022 17:21:35.

Este documento foi emitido pelo SUAP em 06/10/2022. Para comprovar sua autenticidade, faça a leitura do QRCode ao lado ou acesse <https://suap.ifgoiano.edu.br/autenticar-documento/> e forneça os dados abaixo:

Código Verificador: 432198

Código de Autenticação: e9970c8bf0



INSTITUTO FEDERAL GOIANO
Campus Rio Verde
Rodovia Sul Goiana, Km 01, Zona Rural, 01, Zona Rural, RIO VERDE / GO, CEP 75901-970
(64) 3624-1000



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SECRETARIA DE EDUCAÇÃO PROFISSIONAL E TECNOLÓGICA
INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA GOIANO

Documentos 114/2022 - SREPG/CMPR/CPG-RV/DPGPI-RV/CMPRV/IFGOIANO

USO DE SILÍCIO E ÓXIDO NÍTRICO COMO ATENUADORES DO ESTRESSE SALINO NO FEIJOEIRO E NA ALFACE

Autor: Vítor Martins Veneziano
Orientador: Dr. Carlos Ribeiro Rodrigues

TITULAÇÃO: Doutorado em Ciências Agrárias-Agronomia, Área de Concentração em Produção Vegetal Sustentável no Cerrado

APROVADO em, 27 de outubro de 2022.

Prof. Dr. Carlos Ribeiro Rodrigues (Presidente)
Prof. Dr. Leandro Carlos (Avaliador interno)
Profª. Dra. June Faria Scherrer Menezes (Avaliadora externa)
Prof. Dr. Rilner Alves Flores (Avaliador externo)
Prof. Dr. Gustavo Castoldi (Avaliador interno)

Documento assinado eletronicamente por:

- June Faria Scherrer Menezes, June Faria Scherrer Menezes - Professor Avaliador de Banca - Universidade de Rio Verde (01815216000178), em 28/10/2022 09:59:15.
- Leandro Carlos, PROFESSOR ENS BASICO TECN TECNOLOGICO, em 27/10/2022 18:48:04.
- Gustavo Castoldi, PROFESSOR ENS BASICO TECN TECNOLOGICO, em 27/10/2022 17:42:17.
- Rilner Alves Flores, Rilner Alves Flores - Professor Avaliador de Banca - Universidade Federal de Goiás (01567601000143), em 27/10/2022 17:35:08.
- Carlos Ribeiro Rodrigues, PROFESSOR ENS BASICO TECN TECNOLOGICO, em 27/10/2022 17:27:01.

Este documento foi emitido pelo SUAP em 06/10/2022. Para comprovar sua autenticidade, faça a leitura do QRCode ao lado ou acesse <https://suap.ifgoiano.edu.br/autenticar-documento/> e forneça os dados abaixo:

Código Verificador: 432200
Código de Autenticação: 12d9466f38



INSTITUTO FEDERAL GOIANO
Campus Rio Verde
Rodovia Sul Goiana, Km 01, Zona Rural, 01, Zona Rural, RIO VERDE / GO, CEP 75901-970
(64) 3624-1000

DEDICO

A Deus,

Por me conceder todas as condições de realizar meus sonhos.

À minha família e amigos, por sempre me apoiarem.

Aos meus avôs Domingos Veneziano (in memoriam),

João Martins (in memoriam) e

À minha avó Eurides Botelho (in memoriam),

Por cuidarem de mim.

OFEREÇO

À minha esposa Danielle Sousa Sabino,

À minha mãe Gislaine Martins,

Ao meu pai Donaldo Botelho Veneziano e

À minha avó Laura de Jesus.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por me conceder uma vida repleta de amigos e com uma família maravilhosa.

Agradeço à minha mãe Gislaine Martins e ao meu pai Donaldo Botelho Veneziano, por serem exemplos para mim, pela criação que me deram, por me apoiarem em todas as minhas decisões e por serem pessoas incríveis.

À minha avó Laura de Jesus, pelos conselhos, por sempre ter me ajudado e apoiado e por ser a pessoa mais guerreira que eu conheço.

À minha esposa Danielle Sousa Sabino, por sempre estar ao meu lado nos momentos mais incríveis e, também nos mais difíceis. Por me proporcionar tantas alegrias e por ser uma mulher incrível.

A todos os meus amigos, que mesmo os vendo pouco, sei que sempre estão lá para desfrutarmos de momentos de alegria e com quem eu sei que posso contar sempre.

Aos meus colegas de laboratório, que sempre me ajudaram, Thomas Jefferson, Guyanlukia Brito Alves, Polyanna Ribeiro Trindade, Kássia de Paula Barbosa, Vera Lúcia Quintino, Tâmara Pontes Abreu, Renato Gouveia, Raphael Lopes Couto, Pâmela Dávila Cardozo Dias, por colaborarem com a condução dos meus experimentos, pela ajuda nas análises e pelos bons momentos compartilhados.

Ao meu orientador, Carlos Ribeiro Rodrigues, por ter me guiado nos últimos anos, pelos ensinamentos, pelas oportunidades de aprendizado e pela confiança depositada em mim.

Ao professor Gustavo Castoldi, pelos ensinamentos, pela ajuda e companheirismo nos últimos anos.

A todos os professores e colegas que de alguma maneira impactaram a minha trajetória durante os anos de doutorado.

BIOGRAFIA DO AUTOR

Vítor Martins Veneziano, nascido em Bauru – SP no dia 26 de maio de 1988. Concluiu o ensino fundamental e o segundo grau no Colégio Petrópolis, em São Bernardo do Campo – SP nos anos de 2002 e 2005, respectivamente.

Concluiu em 2011, a graduação em Agronomia, pela Universidade Estadual Paulista – Unesp, Campus de Botucatu - SP.

De 2011 a 2013 trabalhou com o mercado de grãos na Cargill e em 2014 trabalhou com fertilizantes na TimacAgro, em Rio Verde - GO. Em 2015 trabalhou na Bunge, em Primavera do Leste – MT.

Em fevereiro de 2017, defendeu sua dissertação e obteve o diploma de Mestre em Ciências Agrárias – Agronomia. Em 2018 ingressou no curso de Doutorado em Ciências Agrárias – Agronomia, no IFGoiano – Campus Rio Verde. No ano de 2022, defendeu sua tese de doutorado, parte indispensável para a obtenção do diploma de Doutor em Ciências Agrárias – Agronomia.

ÍNDICE GERAL

ÍNDICE DE TABELAS	vii
ÍNDICE DE FIGURAS	ix
ÍNDICE DE APÊNDICES	ix
LISTA DE SÍMBOLOS, SIGLAS, ABREVIACÕES E UNIDADES	x
RESUMO.....	xi
ABSTRACT	xii
1. INTRODUÇÃO GERAL	1
1.1. Salinidade dos solos	1
1.2. Silício	2
1.3. Óxido nítrico	3
2. REFERÊNCIAS.....	4
3. OBJETIVOS	8
3.1.GERAL.....	8
3.2.ESPECÍFICOS.....	8
4. CAPÍTULO I.....	9
SILÍCIO COMO ATENUADOR DO ESTRESSE SALINO EM FEJJOEIRO	9
4.1.INTRODUÇÃO.....	12
4.2.METODOLOGIA.....	14
4.3.RESULTADOS	16
4.4.DISCUSSÃO	26
4.5.CONCLUSÃO.....	32
4.6.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	32
5. CAPÍTULO II	38
SILÍCIO E ÓXIDO NÍTRICO COMO ATENUADORES DO ESTRESSE SALINO EM ALFACE	38
5.1.INTRODUÇÃO.....	41
5.2.METODOLOGIA.....	42
5.3.RESULTADOS	46
5.4.DISCUSSÃO	59
5.5.CONCLUSÃO.....	63
5.6.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	64
6. CONCLUSÃO GERAL.....	69
7. APÊNDICES A: CAPÍTULO I.....	71
8. APÊNDICES B: CAPÍTULO II	71

ÍNDICE DE TABELAS

CAPÍTULO I

TABELA 1 Parâmetros de Fluorescência de Clorofila <i>a</i> nas folhas de <i>Phaseolus vulgaris</i> L. cv. BR-IPA 10, cultivado em solução nutritiva com diferentes concentrações de Si e NaCl em V4 e R6: Taxa líquida do fechamento dos centros de reação do PSII (M_0), área acima da curva F_0 a F_m , representa a quantidade de aceptores de elétrons (AREA), quantidade de energia necessária para fechar todos os centros de reação do PSII (S_M), número de vezes que a Quinona <i>a</i> foi reduzida em relação ao tempo zero (N), eficiência quântica do PSII (Φ_{P0}), energia dissipada (Φ_{NP0}), probabilidade de a energia de excitação mover um elétron após a Quinona <i>a</i> (Ψ_0), probabilidade de a energia de um fóton absorvido mover um elétron após a Quinona <i>a</i> (Φ_{E0}), fluxo de absorção (ABS), fluxo de captura (TR_0), e fluxo de dissipação (DI_0).	20
--	----

ÍNDICE DE FIGURAS

CAPÍTULO I

- FIGURA 1** Teores dos pigmentos fotossintéticos clorofila *a* (A e B), *b* (C) e total (D) e carotenoides totais (D) nas folhas de *Phaseolus vulgaris* L. cv. BR-IPA 10, cultivado em solução nutritiva com diferentes concentrações de Si e NaCl aos 25 e 33 dias após a semeadura (DAS). 17
- FIGURA 2** Parâmetros de Fluorescência de Clorofila *a* inicial (F0) (A e B), a 2 milissegundos (FJ) (C e D), a 60 milissegundos (FI) (E e F) e máxima (FM) (G) nas folhas de *Phaseolus vulgaris* L. cv. BR-IPA 10, cultivado em solução nutritiva com diferentes concentrações de Si e NaCl em V4 e R6..... 19
- FIGURA 3** Crescimento de *Phaseolus vulgaris* L. cv. BR-IPA 10 cultivado em solução nutritiva com diferentes concentrações de Si com e sem NaCl, nos estádios V4 e R6: (A) área foliar (AF) (cm² planta⁻¹); (B) massa seca de folha (MSF) (g planta⁻¹); (C) haste (MSH) (g planta⁻¹); (D) parte aérea (MSPA) (g planta⁻¹); (E) raiz (MSR) (g planta⁻¹) e (F) total (MST) (g planta⁻¹)...... 22
- FIGURA 4** Crescimento de *Phaseolus vulgaris* L. cv. BR-IPA 10 cultivado em solução nutritiva com diferentes concentrações de Si e NaCl, nos estádios V4 e R6: (A e B) relação massa seca de parte aérea: massa seca de raiz (MSPA:MSR) e (C e D) área foliar específica (AFS) (cm² g⁻¹); e (E) taxa de crescimento absoluto (TCA) (g dia⁻¹); (F) taxa de crescimento relativo (TCR) (g g⁻¹ dia⁻¹) e (G) taxa assimilatória líquida (TAL) (mg cm⁻² dia⁻¹) entre V4 e R6..... 23
- FIGURA 5** Teores foliares de nitrogênio total (A) (g kg⁻¹), amoniacal (N-NH₄⁺) (B) (g kg⁻¹) e nítrico (N-NO₃⁻+NO₂) (C) (g kg⁻¹) e Si (D) (%) em *Phaseolus vulgaris* L. cv. BR-IPA 10 cultivado em solução nutritiva com diferentes concentrações de Si (0, 1, 2, 3 e 4 mmol L⁻¹) e NaCl (0 e 60 mmol L⁻¹) em V4 e R6..... 25

CAPÍTULO II

FIGURA 1 Parâmetros de fluorescência da clorofila *a*: inicial (F_0) (A), máxima (F_M) (B), a 2 milissegundos (F_I) (C), variável (F_V) (D), variável relativa a 2 milissegundos (V_I) (E), variável relativa a 60 milissegundos (V_I) (F), relação F_M/F_0 (G) e relação F_V/F_0 (H). Letras maiúsculas distintas diferem os tratamentos com e sem estresse por NaCl, dentro de cada tratamento de indução de resistência. Letras minúsculas distintas diferem os tratamentos de indução de resistência dentro de cada nível de tratamento de estresse por NaCl, pelo teste t LSD (15% de probabilidade).....47

FIGURA 2 Parâmetros de fluorescência da clorofila *a*: taxa líquida do fechamento dos centros de reação do fotossistema II (M_0) (A), quantidade de aceptores de elétrons (AREA) (B), área total acima da cinética OJIP (FIX AREA) (C), quantidade de energia necessária para fechar todos os centros de reação do PSII (S_M) (D), quantidade de energia necessária para reduzir a Quinona *a* uma única vez (S_s) (E) e quantas vezes a Quinona *a* foi reduzida em relação ao tempo zero (N-Fluorpen) (F). Letras maiúsculas distintas diferem os tratamentos com e sem estresse por NaCl, dentro de cada tratamento de indução de resistência. Letras minúsculas distintas diferem os tratamentos de indução de resistência dentro de cada nível de tratamento de estresse por NaCl, pelo teste t LSD (15% de probabilidade).48

FIGURA 3 Parâmetros de fluorescência da clorofila *a*: eficiência máxima do fotossistema II (Φ_{Po}) (A), probabilidade de a energia de excitação mover um elétron após a Quinona *a* (ψ_0) (B), probabilidade de a energia de um fóton absorvido mover um elétron após a Quinona *a* (Φ_{Eo}) (C), rendimento quântico médio de reações fotoquímicas primárias (Φ_{Pav}) (D) e índice de desempenho (PIABS) (E). Letras maiúsculas distintas diferem os tratamentos com e sem estresse por NaCl, dentro de cada tratamento de indução de resistência. Letras minúsculas distintas diferem os tratamentos de indução de resistência dentro de cada nível de tratamento de estresse por NaCl, pelo teste t LSD (15% de probabilidade).49

FIGURA 4 Parâmetros de fluorescência da clorofila *a*: fluxo de absorção (ABS) (A), fluxo de captura (TR₀) (B), fluxo de transporte de elétrons (ET₀) (C) e fluxo de dissipação (DI₀) (D). Letras maiúsculas distintas diferem os tratamentos com e sem estresse por NaCl, dentro de cada tratamento de indução de resistência, pelo teste t LSD (15% de probabilidade)50

FIGURA 5 Índice de clorofila obtido pelo método DMSO (Chl Total (ug cm⁻²)) (A). Índices obtidos com o Dualex: Clorofila (Chl-Dualex) (B), índice de equilíbrio do nitrogênio (NBI) (C) e flavonoides (D). Letras maiúsculas distintas diferem os tratamentos com e sem estresse por NaCl, dentro de cada tratamento de indução de resistência. Letras minúsculas distintas diferem os tratamentos de indução de resistência dentro de cada nível de tratamento de estresse por NaCl, pelo teste t LSD (15% de probabilidade).....51

FIGURA 6 Potencial osmótico (PO (MPa)) (A), malondialdeído (MDA (nmol g⁻¹ MF)) (B) e conteúdo relativo de água (CRA) (C). Letras maiúsculas distintas diferem os tratamentos com e sem estresse por NaCl, dentro de cada tratamento de indução de resistência. Letras minúsculas distintas diferem os tratamentos de indução de resistência dentro de cada nível de tratamento de estresse por NaCl, pelo teste t LSD (15% de probabilidade).....52

FIGURA 7 Índices obtidos com o IRGA: transpiração foliar (E) (A), concentração interna de carbono (C_i) (B), fotossíntese líquida (A) (C), taxa de transporte de elétrons (ETR) (D), relação da fotossíntese líquida por carbono interno (A/C_i) (E), relação da fotossíntese líquida por transpiração foliar (A/E) (F), condutância estomática (*g_s*) (G) e eficiência quântica efetiva (Y) (H). Letras maiúsculas distintas diferem os tratamentos com e sem estresse por NaCl, dentro de cada tratamento de indução de resistência. Letras minúsculas distintas diferem os tratamentos de indução de resistência dentro de cada nível de tratamento de estresse por NaCl, pelo teste t LSD (15% de probabilidade)54

FIGURA 8 Atividade das enzimas ascorbato peroxidase - APX (μmol de ácido ascórbico $\text{min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ de proteína) (A), superóxido dismutase (Unidade de SOD $\text{min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ proteína) (B), catalase - CAT (μmol H_2O_2 $\text{min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ proteína) (C), peroxidase - POX (μmol purpurogalina $\text{min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ proteína) (D) e nitrato redutase - NR (μg de nitrito $\text{g}^{-1} \text{h}^{-1}$) (E). Letras maiúsculas distintas diferem os tratamentos com e sem estresse por NaCl, dentro de cada tratamento de indução de resistência. Letras minúsculas distintas diferem os tratamentos de indução de resistência dentro de cada nível de tratamento de estresse por NaCl, pelo teste t LSD (15% de probabilidade). 55

FIGURA 9 Teores foliares de nitrogênio (N-Total) (A), nitrogênio amoniacal (N-NH_4^+) (B), nitrogênio nítrico (N-NO_3 e N-NO_2) (C), silício (Si) (D), sódio (Na) (E), potássio (K) (F), cálcio (Ca) (G) e magnésio (Mg) (H). Letras maiúsculas distintas diferem os tratamentos com e sem estresse por NaCl, dentro de cada tratamento de indução de resistência. Letras minúsculas distintas diferem os tratamentos de indução de resistência dentro de cada nível de tratamento de estresse por NaCl, pelo teste t LSD (15% de probabilidade).....57

ÍNDICE DE APÊNDICES

APÊNDICE A: CAPÍTULO I

FIGURA 1 Planta de (*Phaseolus vulgaris* L. cv. BR-IPA 10) sem NaCl (A) e com NaCl (B).71

APÊNDICE B: CAPÍTULO II

FIGURA 1 Planta de *Lactuca sativa* L. cv Grandes Lagos 659 com NaCl (A) e (C) e sem NaCl (B) e (D)71

LISTA DE SÍMBOLOS, SIGLAS, ABREVIACÕES E UNIDADES

Símbolo / Sigla	Significado μ
Na	Sódio
Cl	Cloro
Si	Silício
ERO's	Espécies reativas de oxigênio
ON	Óxido nítrico
ABA	Ácido abiscísico
SNP	Nitroprussiato de sódio
MDA	Malondialdeído
SOD	Superóxido dismutase
POX	Peroxidase
CAT	Catalase
APX	Ascorbate peroxidase
NaCl	Cloreto de sódio
L	Litro
N	Nitrogênio
CO ₂	Dióxido de carbono
Ca(NO ₃) ₂	Nitrato de cálcio
PSII	Fotossistema II
Qa	Quinona a
DMSO	Dimetil sulfóxido
H ₂ O ₂	Peróxido de hidrogênio
NaOH	Hidróxido de sódio
KCl	Cloreto de sódio
MgO	Óxido de magnésio
H ₂ SO ₄	Ácido sulfúrico
AF	Área foliar
MSF	Massa seca de folhas
MSH	Massa seca da haste
MSPA	Massa seca da parte aérea
MSR	Massa seca de raiz
MST	Massa seca total
TCA	Taxa de crescimento absoluto

TCR	Taxa de crescimento relativo
TAL	Taxa de assimilação líquida
NH_4^+	Amônio
NO_3^-	Nitrato
NO_2^-	Nitrito
NBI	Índice de balanço de nitrogênio
PO	Potencial osmótico
MDA	Malondialdeído
Chl	Clorofila
NR	Nitrato reductase
K	Potássio
Ca	Cálcio
Mg	Magnésio

RESUMO

VENEZIANO, VÍTOR MARTINS. Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde – GO, novembro de 2022. **Silício e óxido nítrico como atenuadores do estresse salino em alface e feijoeiro.** Orientador: DSc. Carlos Ribeiro Rodrigues.

Esta tese, composta de dois capítulos, objetivou avaliar os efeitos deletérios da salinidade sob plantas de feijoeiro e alface, bem como os possíveis efeitos benéficos do Si e do NO em aliviar o estresse causado pelo NaCl. Ambos os estudos foram conduzidos em casa de vegetação. No experimento com plantas de feijão, foi induzido o estresse salino com a adição de 60 mmol L⁻¹ de NaCl na solução nutritiva e para os tratamentos de indução de resistência foram utilizadas cinco doses de silício (Si) (0; 1; 2; 3; 4 mmol L⁻¹ de Si). De maneira geral a salinidade reduziu os teores de pigmentos fotossintéticos, os teores de nitrogênio e o acúmulo de massa seca. Com o aumento das doses de Si, houve incremento nos teores dos pigmentos fotossintéticos, na produção de matéria seca e nos teores de N. No experimento com plantas de alface, o tratamento com Si foi realizado com a adição de 1,5 mmol L⁻¹ de Si, o estresse salino foi induzido com a adição de 100 mmol L⁻¹ de NaCl na solução nutritiva e o tratamento com NO foi feito com a pulverização de 50 mL de nitroprussiato de sódio na dose de 100 µmol L⁻¹ de NO. De maneira geral, a salinidade reduziu a transpiração foliar e a fotossíntese, aumentou a peroxidação de lipídios e a atividade das enzimas SOD e POX. A aplicação isolada de Si aumentou a atividade da enzima NR e reduziu a atividade das enzimas SOD e POX. Já a aplicação conjunta de Si + NO aumentou a transpiração foliar, reduziu a fluorescência máxima e reduziu o teor de sódio nas plantas sob estresse salino.

Palavras-chave: Salinidade, fluorescência, silicato de potássio, nitroprussiato de sódio, nitrogênio

ABSTRACT

VENEZIANO, VÍTOR MARTINS. Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde – GO, November 2022. **Silicon and nitric oxide as saline stress attenuators in lettuce and bean.** Supervisor: DSc. Carlos Ribeiro Rodrigues.

This thesis, composed of two chapters, aimed to evaluate the deleterious effects of salinity on bean and lettuce plants, as well as the possible beneficial effects of Si and NO in relieving the stress caused by NaCl. Both studies were carried out in a greenhouse. In the experiment with bean plants, saline stress was induced with the addition of 60 mmol L⁻¹ of NaCl in the nutrient solution and for the resistance induction treatments, five doses of silicon (Si) were used (0; 1; 2; 3; 4 mmol L⁻¹ of Si). In general, salinity reduced the levels of photosynthetic pigments and nitrogen as well as the dry mass accumulation. With the increase of Si doses there was an increase in the photosynthetic pigments levels, in the dry matter production and in the N levels. In the experiment with lettuce plants, the treatment with Si was carried out with the addition of 1.5 mmol L⁻¹ of Si, saline stress was induced with the addition of 100 mmol L⁻¹ of NaCl in the nutrient solution and the treatment with NO was carried out by spraying 50 mL of sodium nitroprussiate at a dose of 100 µmol L⁻¹ of NO. In general, salinity reduced leaf transpiration and photosynthesis, increased lipid peroxidation and the activity of SOD and POX enzymes. The isolated application of Si increased the NR enzyme activity and reduced the SOD and POX enzymes activities. On the other hand, the joint application of Si + NO increased leaf transpiration, reduced maximum fluorescence and reduced sodium content in plants under saline stress.

Keywords: Salinity, fluorescence, potassium silicate, sodium nitroprusside, nitrogen

1. INTRODUÇÃO GERAL

1.1. Salinidade dos solos.

A salinidade é a medida da quantidade de sal presente no solo e de modo geral, pode ser classificada como primária e secundária. A salinidade primária é um processo natural, em que há deposição de sais por um longo período, pelo intemperismo das rochas, chuva, vento e alta evaporação na superfície (Khan *et al.*, 2019; Arif *et al.*, 2020). Já a salinidade secundária ocorre pela atividade antropogênica como desmatamento e irrigação em excesso com água contendo sais (Arif *et al.*, 2020).

O processo de salinização pode resultar em perdas de recursos naturais do solo, o que impacta a produção agrícola e o meio ambiente, eventualmente envolvendo problemas para a saúde humana e socioculturais (Thaker *et al.*, 2021). A salinidade do solo é mundialmente um dos maiores fatores de estresse abiótico que pode limitar o crescimento e a produtividade das culturas (Ahmad *et al.*, 2019). Atualmente, estima-se que cerca de 1,13 bilhões de hectares são afetados por sais (Hossain, 2019) além disso, estima-se que até meados do século XXI, metade das terras férteis serão afetadas pela salinidade (Shahid *et al.*, 2018).

A salinidade causa estresse osmótico, desbalanço iônico, deficiência nutricional, estresse oxidativo, bem como redução da fotossíntese, culminando em redução do crescimento e produtividade das plantas (Arif *et al.*, 2020). Além disso, a salinidade aumenta a absorção de elementos em grande quantidade, como o sódio (Na^+) e o cloro (Cl^-), que têm efeitos negativos na fisiologia, desenvolvimento e crescimento das plantas (Khan *et al.*, 2019). O estresse salino afeta a produtividade das culturas com diferentes intensidades, dependendo da concentração de sal, da duração do estresse, da cultura e seu estágio de desenvolvimento (Munss *et al.*, 2020).

Ao longo dos anos a salinidade tem causado preocupação com relação a redução das áreas agricultáveis e a segurança alimentar, aumentando problemas relacionados aos conflitos por recursos naturais (Sahab *et al.*, 2021). A agricultura sofre grande pressão para suprir a crescente demanda de alimentos, e a exploração dos solos salinos poderia ser uma oportunidade de superar os desafios da segurança alimentar (Zulfiqar *et al.*, 2022).

1.2. Silício (Si)

O silício (Si) é o segundo elemento mais abundante da Terra e ocorre naturalmente na forma de minerais complexos de silicato (Khan *et al.*, 2019). Embora o silício (Si) ainda não seja considerado um elemento essencial para as plantas (Epstein & Bloom, 2006; Masrchner, 2011), sua aplicação exógena tem sido uma abordagem utilizada para aumentar a resposta das plantas estresses bióticos e abióticos, incluindo a salinidade (Camargo, 2016; Arif *et al.*, 2021).

Em condições salinas, o Si tem sido apontado como grande indutor de resistência às plantas, pois proporciona proteção ao aparato fotossintético, reduz os efeitos deletérios das espécies reativas de oxigênio (EROs) na planta, além de aumentar a concentração de compostos naturais de defesa do vegetal (Feng *et al.*, 2009; Moussa, 2006; Parveen & Ashraf, 2010; Rady *et al.* 2019; Yu *et al.* 2019; Taïbi *et al.* 2021). Além disso, o Si também contribui para o crescimento das plantas aumentando as repostas adaptativas como, atividade antioxidante, absorção de minerais, taxa fotossintética e status hídrico (Khan *et al.*, 2019).

A aplicação de Si reduz o acúmulo de EROs, aumentando a atividade das enzimas antioxidantes catalase, peroxidase e superóxido dismutase (Zhang *et al.*, 2019). O Si serve como molécula sinalizadora, que faz a remoção das EROs, aumenta a estabilidade das membranas e reduz o extravasamento de eletrólitos (Arif *et al.*, 2021). Além disso, a aplicação de Si promove o acúmulo de carotenoides, que servem como antioxidante, e reduz as EROs e inibe o estresse oxidativo (Frazão *et al.*, 2020).

A aplicação de Si aumenta o turgor das folhas, reduz o potencial osmótico das células, induzindo a osmorregulação durante situações de estresse (Kafi *et al.*, 2021; Arif *et al.*, 2021). O Si aumenta os teores de proteína, prolina, carbono, nitrogênio e glicina betaína durante períodos de estresse, e ajuda a manter o balanço hídrico, o metabolismo e a atividade celular das plantas (Arif *et al.*, 2021). Somando a isso, a aplicação de Si também aumenta o teor de clorofila, a concentração interna de carbono, a condutância estomática e ainda forma fina camada na epiderme das folhas, que mantém o status hídrico e regula a transpiração e trocas gasosas (Abdeelaal *et al.*, 2020; Dehghanipoodeh *et al.*, 2018).

Diversas vias de defesa relacionadas a síntese de fitormônios e solutos compatíveis são desencadeadas pelo Si, contra estresses abióticos (Mir *et al.*, 2020). A aplicação de Si leva ao aumento na expressão de genes relacionadas à defesa e aumento

no acúmulo de compostos de defesa como fitoalexinas e compostos fenólicos (Mir *et al.*, 2022). Em alguns estudos foi relatado que o Si aumenta a síntese de fitormônios para regular os processos fisiológicos das plantas cultivadas sob condições de estresse abiótico (Zhu and Gong, 2014; Kim *et al.*, 2017). Os principais fitormônios regulados pelo Si em condições de estresse abiótico incluem ácido abscísico, giberelinas, auxinas, citocininas, brassinosteroides, ácido salicílico, ácido jasmônico e etileno (Arif *et al.*, 2021).

1.3. Óxido Nítrico (NO)

O NO é uma molécula gasosa, extremamente reativa, que desempenha papéis essenciais no crescimento e desenvolvimento das plantas, bem como na resposta contra diferentes estresses abióticos, incluindo a salinidade (Singh *et al.*, 2019). O mais importante processo de produção de NO pelas plantas é através da redução do nitrato pela enzima nitrato redutase (Fancy *et al.*, 2017). Pode ter efeito benéfico ou deletério, dependendo de sua concentração e local de produção (Alnusairi *et al.* 2021).

O NO desempenha papel vital na resposta ao estresse salino modificando as enzimas antioxidativas, as vias de respiração e fotorrespiração e os sistemas antioxidantes (Fancy *et al.*, 2017). Também há relatos de que o NO interage com outras moléculas sinalizadoras como o cálcio, com o pH e com fosfolipídios, estimulando o fechamento estomático induzido pelo ácido abscísico (ABA) (Sun *et al.*, 2019).

Existe evidências que a aplicação de doadores de NO protege as plantas do estresse salino por manter a homeostase dos íons, regular o acúmulo de osmólitos, proteger contra o estresse oxidativo e melhorar os parâmetros fisiológicos e bioquímicos (Wani *et al.*, 2021). A aplicação de 150 uM de nitroprussiato de sódio (SNP) em plantas de *Capsicum annuum* L. sob estresse salino, reduziu os teores de malondialdeído (MDA) e de H₂O₂ e aumentou o conteúdo relativo de água e a atividade de enzimas antioxidantes (SOD, POX, CAT) (Shams *et al.*, 2019). Em plantas de *Jatropha curcas* L., a aplicação de 75 uM de SNP aumentou a atividade das enzimas superóxido dismutase, peroxidase e glutaciona redutase e reduziu os danos oxidativos (Gadelha *et al.*, 2017).

Atualmente o NO é reconhecido como uma molécula gasosa que interage com outras moléculas sinalizadoras, alterando a atividade de proteínas, reduzindo o conteúdo de glutaciona e acumulando prolina, que facilita o combate ao estresse provocado pela salinidade (Khator *et al.*, 2020). Diversos trabalhos revelam que a aplicação de SNP como

doador de NO, gera efeitos benéficos no mecanismo antioxidante e no metabolismo de espécies reativas de oxigênio em diferentes espécies de plantas (Yadu *et al.*, 2017; Campos *et al.*, 2019; Khator *et al.*, 2020; Alnusairi *et al.*, 2021). O SNP também aumenta o conteúdo de água e de prolina nas plantas durante condições de seca, além de reduzir os níveis de malondialdeído (Cechin *et al.*, 2015).

A aplicação conjunta de Si e NO demonstrou ter efeitos benéficos no crescimento de raiz, bem como nos teores de N, P, K, Ca e Mg, em plantas submetidas a déficit hídrico (Bakir *et al.*, 2022). Além de melhorar a absorção de nutrientes em plantas sob déficit hídrico, a aplicação de Si com NO reduz a peroxidação de lipídios e a temperatura das folhas, aumenta a condutância estomática, o conteúdo relativo de água e o teor de clorofila (Bolat *et al.*, 2022). Em plantas sob condição de estresse por arsênio, a aplicação conjunta de Si e NO reduz a translocação e acúmulo de arsênio, melhora o sistema antioxidante, o que ajuda na desintoxicação das ERO's (Ahmad *et al.*, 2021).

2. REFERÊNCIAS

- ABDELAAL, K. A., MAZROU, Y. S., & HAFEZ, Y. M. (2020). Silicon foliar application mitigates salt stress in sweet pepper plants by enhancing water status, photosynthesis, antioxidant enzyme activity and fruit yield. *Plants*, 9(6), 733.
- AHMAD, A., KHAN, W. U., SHAH, A. A., YASIN, N. A., NAZ, S., ALI, A., ... & BATOOL, A. I. (2021). Synergistic effects of nitric oxide and silicon on promoting plant growth, oxidative stress tolerance and reduction of arsenic uptake in *Brassica juncea*. *Chemosphere*, 262, 128384.
- AHMAD, R. HUSSAIN, S., ANJUM, M.A., KHALID, M.F., SAQIB, M., ZAKIR, I., HASSAN, A., FAHAD, S., AND AHMAD, S. (2019). "Oxidative Stress and Antioxidant Defense Mechanisms in Plants Under Salt Stress," in *Plant Abiotic Stress Tolerance*. Springer, 191–205. doi: 10.1007/978-3-030-06118-0_8
- ALMEIDA, D. M., OLIVEIRA, M. M., AND SAIBO, N. J. (2017). Regulation of Na⁺ and K⁺ homeostasis in plants: towards improved salt stress tolerance in crop plants. *Genet. Mol. Biol.* 40, 326–345. doi: 10.1590/1678-4685-gmb-2016-0106
- ALNUSAIRI, G. S., MAZROU, Y. S., QARI, S. H., ELKELISH, A. A., SOLIMAN, M. H., EWEIS, M., ... & ELNAHHAS, N. (2021). Exogenous nitric oxide reinforces photosynthetic efficiency, osmolyte, mineral uptake, antioxidant, expression of stress-responsive genes and ameliorates the effects of salinity stress in wheat. *Plants*, 10(8), 1693.
- ARIF, Y., SINGH, P., BAJGUZ, A., ALAM, P., & HAYAT, S. (2021). Silicon mediated abiotic stress tolerance in plants using physio-biochemical, omic approach and cross-talk with phytohormones. *Plant Physiology and Biochemistry*, 166, 278-289.

- ARIF, Y., SINGH, P., SIDDIQUI, H., BAJGUZ, A., & HAYAT, S. (2020). Salinity induced physiological and biochemical changes in plants: An omic approach towards salt stress tolerance. *Plant Physiology and Biochemistry*, 156, 64-77.
- BAKIR, A. G., BOLAT, I., KORKMAZ, K., HASAN, M. M., & KAYA, O. (2022). Exogenous Nitric Oxide and Silicon Applications Alleviate Water Stress in Apricots. *Life*, 12(9), 1454.
- BOLAT, I., BAKIR, A. G., KORKMAZ, K., GUTIÉRREZ-GAMBOA, G., & KAYA, O. (2022). Silicon and Nitric Oxide Applications Allow Mitigation of Water Stress in Myrobalan 29C Rootstocks (*Prunus cerasifera* Ehrh.). *Agriculture*, 12(8), 1273.
- CAMARGO, M. S. (2016). Efeito do silício na tolerância das plantas aos estresses bióticos e abióticos. *Informações Agronômicas*, n. 155, p. 1-8
- CAMPOS, F. V., OLIVEIRA, J. A., PEREIRA, M. G., & FARNESE, F. S. (2019). Nitric oxide and phytohormone interactions in the response of *Lactuca sativa* to salinity stress. *Planta*, 250(5), 1475-1489.
- CECHIN I, CARDOSO GS, FUMIS TDF, CORNIANI N (2015) Nitric oxide reduces oxidative damage induced by water stress in sunflower plants. *Bragantia* 74: 200–206
- DEGHANIPOODEH, S., GHOBADI, C., BANINASAB, B., GHEYSARI, M., & SHIRANIBIDABADI, S. (2018). Effect of silicon on growth and development of strawberry under water deficit conditions. *Horticultural Plant Journal*, 4(6), 226-232.
- EPSTEIN E; BLOMM AJ. (2006). *Nutrição mineral de plantas: princípios e perspectivas*. Londrina: Editora Planta, 403p.
- FANCY, N. N., BAHLMANN, A. K., & LOAKE, G. J. (2017). Nitric oxide function in plant abiotic stress. *Plant, Cell & Environment*, 40(4), 462-472.
- FENG, J. P., SHI, Q. H., AND WANG, X. F. (2009). Effects of exogenous silicon on photosynthetic capacity and antioxidant enzyme activities in chloroplast of cucumber seedlings under excess manganese. *Agricultural Sciences in China*, v.8, p.40-50. doi:10.1016/S1671-2927(09)60007-9
- FRAZÃO, J. J., PRADO, R. D. M., DE SOUZA JÚNIOR, J. P., & ROSSATTO, D. R. (2020). Silicon changes C: N: P stoichiometry of sugarcane and its consequences for photosynthesis, biomass partitioning and plant growth. *Scientific reports*, 10(1), 1-10.
- GADELHA, C. G., DE SOUZA MIRANDA, R., ALENCAR, N. L. M., COSTA, J. H., PRISCO, J. T., & GOMES-FILHO, E. (2017). Exogenous nitric oxide improves salt tolerance during establishment of *Jatropha curcas* seedlings by ameliorating oxidative damage and toxic ion accumulation. *Journal of plant physiology*, 212, 69-79.
- HOSSAIN, M. S. (2019). Present scenario of global salt affected soils, its management and importance of salinity research. *Int. Res. J. Biol. Sci*, 1(1), 1-3.
- KAFI, M., NABATI, J., AHMADI-LAHIJANI, M. J., & OSKOEIAN, A. (2021). Silicon compounds and potassium sulfate improve salinity tolerance of potato plants through instigating the defense mechanisms, cell membrane stability, and accumulation of osmolytes. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 52(8), 843-858.

- KHAN, A., KHAN, A. L., MUNEEER, S., KIM, Y. H., AL-RAWAHI, A., & AL-HARRASI, A. (2019). Silicon and salinity: cross-talk in crop mediated stress tolerance mechanisms. *Frontiers in Plant Science*, v. 10, p. 1429. doi: 10.3389/fpls.2019.01429
- KHATOR, K., & SHEKHAWAT, G. S. (2020). Nitric oxide mitigates salt-induced oxidative stress in Brassica juncea seedlings by regulating ROS metabolism and antioxidant defense system. *3 Biotech*, 10(11), 1-12.
- KIM, Y. H., KHAN, A. L., WAQAS, M., & LEE, I. J. (2017). Silicon regulates antioxidant activities of crop plants under abiotic-induced oxidative stress: a review. *Frontiers in Plant Science*, 8, 510.
- MARSCHNER, H. (Ed.). (2011). *Marschner's mineral nutrition of higher plants*. Academic press.
- MIR, R. A., BHAT, B. A., YOUSUF, H., ISLAM, S. T., RAZA, A., RIZVI, M. A., ... & ZARGAR, S. M. (2022). Multidimensional Role of Silicon to Activate Resilient Plant Growth and to Mitigate Abiotic Stress. *Frontiers in Plant Science*, 13, 819658.
- MOUSSA, H.R. (2006). Influence os exogenous application of silicon on physiological response of salt-stressed maize (*Zea mays* L.). *International Journal of Agriculture & Biology*, v.8, 293-297.
- MUNNS, R., DAY, D. A., FRICKE, W., WATT, M., ARSOVA, B., BARKLA, B. J., ... AND TYERMAN, S. D. (2020). Energy costs of salt tolerance in crop plants. *New Phytologist*, 225(3), 1072-1090. doi:10.1111/nph.15864
- PARVEEN, N., ASHRAF, M. (2010). Role of silicon in mitigating the adverse effects of salt stress on growth and photosynthetic attributes of two maize (*Zea mays* L.) cultivars grown hydroponically. *Pakistan Journal of Botany*, v.42, p.1675-1684.
- RADY MM, ELRYS AS, ABO EL-MAATI MF, DESOKY ESM. (2019). Interplaying roles of silicon and proline effectively improve salt and cadmium stress tolerance in *Phaseolus vulgaris* plant. *Plant Physiology and Biochemistry*. 139:558–568. doi:10.1016/J.PLAPHY.2019.04.025
- SAHAB, S., SUHANI, I., SRIVASTAVA, V., CHAUHAN, P. S., SINGH, R. P., & PRASAD, V. (2021). Potential risk assessment of soil salinity to agroecosystem sustainability: Current status and management strategies. *Science of The Total Environment*, 764, 144164.
- SHAHID, S. A., ZAMAN, M., AND HENG, L., (2018). “Soil salinity: historical perspectives and a world overview of the problem,” in *Guideline for Salinity Assessment, Mitigation and Adaptation Using Nuclear and Related Techniques* (Springer, Cham), 43–53. doi: 10.1007/978-3-319-96190-3_2
- SHAMS, M., EKINCI, M., ORS, S., TURAN, M., AGAR, G., KUL, R., & YILDIRIM, E. (2019). Nitric oxide mitigates salt stress effects of pepper seedlings by altering nutrient uptake, enzyme activity and osmolyte accumulation. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 25(5), 1149-1161.

SINGH, S., KUMAR, V., KAPOOR, D., KUMAR, S., SINGH, S., DHANJAL, D. S., ... & SINGH, J. (2020). Revealing on hydrogen sulfide and nitric oxide signals co-ordination for plant growth under stress conditions. *Physiologia Plantarum*, 168(2), 301-317.

SUN, L. R., YUE, C. M., & HAO, F. S. (2019). Update on roles of nitric oxide in regulating stomatal closure. *Plant signaling & behavior*, 14(10), e1649569.

TAÏBI K, AIT ABDERRAHIM L, BOUSSAID M, BISSOLI G, TAÏBI F, ACHIR M, SOUANA K, MULET JM. (2021). Salt-tolerance of *Phaseolus vulgaris* L. is a function of the potentiation extent of antioxidant enzymes and the expression profiles of polyamine encoding genes. *South African Journal of Botany*. 140:114–122. doi:10.1016/J.SAJB.2021.03.045

THAKER, N. P., BRAHMBATT, N., & SHAH, K. (2021). Review impact of soil salinity on ecological, agriculture and socioeconomic concerns. *Int. J. Adv. Res*, 9, 979-986.

WANI, K. I., NAEEM, M., CASTROVERDE, C. D. M., KALAJI, H. M., ALBAQAMI, M., & AFTAB, T. (2021). Molecular mechanisms of nitric oxide (NO) signaling and reactive oxygen species (ROS) homeostasis during abiotic stresses in plants. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(17), 9656.

YADU S, DEWANGAN TL, CHANDRAKAR V, KESHAVKANT S (2017) Imperative roles of salicylic acid and nitric oxide in improving salinity tolerance in *Pisum sativum* L. *Physiol Mol Biol Plants* 23:43–58

YU, S., YU, L., HOU, Y., ZHANG, Y., GUO, W., AND XUE, Y. (2019). Contrasting effects of NaCl and NaHCO₃ stresses on seed germination, seedling growth, photosynthesis, and osmoregulators of the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Agronomy*, 9(8), 409.

ZHANG, Y., LIANG, Y., ZHAO, X., JIN, X., HOU, L., SHI, Y., & AHAMMED, G. J. (2019). Silicon compensates phosphorus deficit-induced growth inhibition by improving photosynthetic capacity, antioxidant potential, and nutrient homeostasis in tomato. *Agronomy*, 9(11), 733.

ZHU, Y., & GONG, H. (2014). Beneficial effects of silicon on salt and drought tolerance in plants. *Agronomy for sustainable development*, 34(2), 455-472.

ZULFIQAR, F., NAFEES, M., CHEN, J., DARRAS, A., FERRANTE, A., HANCOCK, J. T., ... & SIDDIQUE, K. H. (2022). Chemical priming enhances plant tolerance to salt stress. *Frontiers in Plant Science*, 13.

3. OBJETIVOS

3.1. Geral

Objetivou-se avaliar os efeitos da salinidade sob plantas de feijoeiro e de alface, bem como os possíveis efeitos benéficos do Si e do NO em aliviar o estresse causado pelo NaCl.

3.2. Específicos

- Avaliar a fluorescência da clorofila *a*, a concentração de pigmentos fotossintéticos, a nutrição nitrogenada e a produção de massa seca em plantas de feijoeiro sob condições de estresse salino por NaCl, com e sem tratamento com Si;
- Avaliar a fluorescência da clorofila *a*, o conteúdo relativo de água, o potencial osmótico, concentração de clorofila, atividade de enzimas e teor de nutrientes em plantas de alface sob condições de estresse salino por NaCl, com e sem o tratamento com Si e NO.

4. CAPÍTULO I:

SILÍCIO COMO ATENUADOR DO ESTRESSE SALINO EM FEIJOEIRO

RESUMO - Com o objetivo de verificar o efeito do silício (Si) em plantas de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L. cv. BR-IPA 10) sob estresse salino por NaCl, foi conduzido experimento em casa de vegetação, em que as plantas foram cultivadas em vasos com solução nutritiva. As plântulas, obtidas por propagação sexuada, foram selecionadas quanto à uniformidade e transferidas para vasos de 10 L com solução nutritiva de Hoagland a 100% da força iônica com os tratamentos, recebendo aeração constante. O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso em esquema fatorial 5 x 2, sendo cinco concentrações de Si na solução nutritiva (0; 1; 2; 3; 4 mmol L⁻¹ de Si) e duas concentrações de NaCl (0 e 60 mmol L⁻¹ de NaCl) com quatro repetições, totalizando 40 vasos com 4 plantas cada. Nos estádios de desenvolvimento V4 e R6 foram avaliados os teores dos pigmentos fotossintéticos, fluorescência, crescimento e teores foliares de N e Si. As plantas cultivadas com NaCl apresentaram menores teores de pigmentos fotossintéticos, menor acúmulo de matéria seca e menores teores de N e Si, quando comparadas às plantas cultivadas sem NaCl, demonstrando os efeitos negativos da salinidade. Com o aumento das doses de Si, houve incremento nos teores dos pigmentos fotossintéticos, na produção de matéria seca e nos teores de N e Si das plantas cultivadas com NaCl. Nas plantas sob estresse salino, a dose máxima de Si (4 mmol L⁻¹), foi capaz de dobrar o teor de clorofila *a* e aumentar em 57% a produção de massa seca total.

Palavras-chave: Cloreto de sódio, fluorescência, silicato de potássio, nitrogênio

SILICON AS A SALINE STRESS RELIEF IN BEANS

ABSTRACT – In order to verify the effect of silicon (Si) on bean plants (*Phaseolus vulgaris* L. cv. BR-IPA 10) under saline stress by NaCl, an experiment was carried out in a greenhouse, in which the plants were grown in pots with nutrient solution. The seedlings, obtained by seeds, were selected for uniformity, and transferred to 10 L pots with Hoagland's nutrient solution at 100% of the ionic strength with the treatments, receiving constant aeration. The experimental design was completely randomized in a 5 x 2 factorial scheme, with five concentrations of Si in the nutrient solution (0; 1; 2; 3; 4 mmol L⁻¹ of Si) and two concentrations of NaCl (0 and 60 mmol L⁻¹ of NaCl) with four replications, which totals 40 pots with 4 plants each. In the development stages V4 and R6, the levels of photosynthetic pigments, fluorescence, growth and leaf contents of N and Si were evaluated. Plants grown with NaCl had lower levels of photosynthetic pigments, lower dry matter accumulation and lower N and Si levels, when compared to plants grown without NaCl, which demonstrates the negative effects of salinity. With the increase of Si doses, there was an increase in the photosynthetic pigments levels, in the dry matter production and in the N and Si levels of plants cultivated with NaCl. Si reduced the deleterious effects of salinity, although it was unable to match the results obtained by plants without salinity stress.

Keywords: Sodium chloride, Fluorescence, Potassium silicate, Nitrogen.

4.1. INTRODUÇÃO

O feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.) é uma leguminosa amplamente cultivada em países tropicais e subtropicais, e representa importante fonte de proteínas, carboidratos, fibras, vitaminas e minerais (Zhang *et al.*, 2020). Na safra 2020/2021, o Brasil teve uma área cultivada com feijão de 2,92 milhões de hectares com a produção de 2,87 milhões de toneladas, sendo a região Nordeste responsável pela produção de 0,59 milhões de toneladas (Conab, 2021).

Na região Nordeste do Brasil ocorrem solos com acúmulo de sais em elevadas concentrações, tendo como origem os processos pedogenéticos e, também, a ação antrópica, principalmente por erros na adubação e irrigação das culturas (Freire; Freire, 2007). A salinidade do solo é mundialmente um dos maiores fatores de estresse abiótico que pode limitar o crescimento e a produtividade das culturas (Ahmad *et al.*, 2019a). Atualmente, estima-se que cerca de 1,13 bilhões de hectares são afetados por sais (Hossain, 2019) além disso, estima-se que até meados do século XXI, metade das terras férteis serão afetadas pela salinidade (Shahid *et al.*, 2018).

A salinidade causa desbalanço iônico, efeito osmótico, insuficiência do uso da água e deficiência nutricional, que em último caso leva ao estresse oxidativo nas plantas (Rehman *et al.*, 2019). Além do estresse oxidativo, a salinidade aumenta a absorção de elementos em grande quantidade, como o sódio (Na^+) e o cloro (Cl^-), que têm efeitos negativos na fisiologia, desenvolvimento e crescimento das plantas (Khan *et al.*, 2019). Segundo Richards (1954), os solos salinos são caracterizados por terem condutividade elétrica da solução acima de 4 dS m^{-1} . Altos níveis de salinidade podem afetar não só o crescimento das plantas, produção de biomassa, fotossíntese e eficiência do uso da água, mas pode levar a toxicidade por íons, reduzindo a produtividade agrícola (Shahid *et al.*, 2018).

O estresse salino reduz a germinação e o crescimento do feijoeiro em concentrações de NaCl no meio de cultivo igual e superior a 60 mmol L^{-1} (Rady *et al.*, 2019; Yu *et al.*, 2019; Taïbi *et al.*, 2021). Plantas de feijoeiro comum sob estresse salino ($> 120 \text{ mmol L}^{-1}$ de NaCl) apresentam redução dos teores de pigmentos fotossintéticos, da taxa fotossintética, da transpiração e da condutância estomática, porém, têm aumento da concentração interna de CO_2 (Yu *et al.*, 2019). Esses efeitos são atribuídos ao aumento do estresse oxidativo pelo aumento da produção de formas reativas de oxigênio nas

plantas, que resultam em desestruturação do cloroplasto e consequente redução da taxa fotossintética.

Com a proposta de avaliar os possíveis danos causados pelo estresse salino, tem-se tornado cada vez mais comum a determinação da cinética da fluorescência da clorofila *a*. Este é um método não invasivo, que permite determinar alterações no metabolismo fotossintético por meio de alguns parâmetros como a eficiência fotossintética e a dissipação de energia na forma de calor e fluorescência (Adhikari *et al.*, 2019). Alguns parâmetros determinados na cinética da fluorescência da clorofila *a* como F_0 (fluorescência mínima), F_M (fluorescência máxima), F_v (variação da fluorescência) e Φ_{NP0} (energia dissipada na forma de calor ou fluorescência), possuem alta correlação com os danos causados pela salinidade (Pradhan *et al.*, 2018).

Embora o silício (Si) ainda não seja considerado elemento essencial para as plantas (Epstein & Bloom, 2006; Maschner, 2011), sua aplicação exógena tem sido uma abordagem utilizada para aumentar a resposta das plantas à salinidade (Almeida *et al.*, 2017). Em condições salinas, o Si tem sido apontado como grande indutor de resistência às plantas, pois proporciona proteção ao aparato fotossintético, reduz os efeitos deletérios das formas reativas de oxigênio na planta, além de aumentar a concentração de compostos naturais de defesa do vegetal (Feng *et al.*, 2009; Moussa, 2006; Parveen & Ashraf, 2010; Rady *et al.*, 2019; Yu *et al.*, 2019; Taïbi *et al.*, 2021).

A mitigação dos efeitos do estresse salino pelo Si, ocorre pela manutenção da condutância estomática, transpiração, fotossíntese líquida, permeabilidade da membrana e níveis de clorofila (Coskun *et al.*, 2016). O Si é capaz de modificar o processo de trocas gasosas, reduzir a atividade das espécies reativas de oxigênio e aumentar os níveis de clorofila, que por consequência aumenta também a fotossíntese. No entanto, essas melhorias dependem da espécie da planta, do nível de estresse salino e dos níveis de Si aplicados (Khan *et al.*, 2019).

Na agricultura brasileira o Si apresenta grande potencial, uma vez que promove a estabilidade e o aumento da produtividade das culturas agrícolas (Crusciol *et al.*, 2009). Dentre essas culturas, destaca-se o feijoeiro, por ser classificado como planta intermediária em relação ao acúmulo de Si (Ma & Yamaji, 2006).

Assim, na presente pesquisa estudou-se a hipótese de haver correlação positiva entre o Si e a concentração de pigmentos fotossintéticos, fluorescência de clorofila, nutrição nitrogenada e produção de matéria seca em plantas de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) sob condições de estresse salino provocado por NaCl.

4.2. METODOLOGIA

O experimento foi conduzido em casa de vegetação, em que foi realizado o cultivo do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) cv. BR-IPA 10, adaptada a região Nordeste, em vasos contendo 10 L de solução nutritiva de Hoagland (Hoagland & Arnon, 1950) e os tratamentos, com aeração constante.

As sementes foram semeadas em bandejas que continham areia lavada umedecida com solução de $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ a $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$. Após a emissão da primeira folha definitiva as plantas foram transplantadas para bandejas com solução nutritiva de Hoagland a 25% da concentração final. Posteriormente, a força iônica foi aumentada gradativamente a cada dois dias, para 50%, 75%, e 100%. Em seguida, as plantas foram selecionadas quanto a uniformidade e transplantadas quatro para cada recipiente contendo 10 L de solução nutritiva com os tratamentos.

O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso em esquema fatorial 5×2 , sendo cinco concentrações de silício (Si) na solução nutritiva (0; 1; 2; 3 e 4 mmol L^{-1} de Si) e duas concentrações de NaCl (0 e 60 mmol L^{-1} de NaCl) com 4 repetições, totalizando 40 vasos com 4 plantas cada. As doses de Si foram aplicadas via solução de silicato de potássio (K_2SiO_3 : 171 g L^{-1} de Si; 210 g L^{-1} de K_2O ; $\text{pH} = 12$ e $d = 1,4 \text{ g cm}^{-3}$). Na solução que continha silicato de potássio, foi feito o equilíbrio da quantidade de potássio, pela redução da quantidade de nitrato de potássio e reposição do nitrogênio com a adição de ácido nítrico.

Foram realizadas duas coletas durante a condução da cultura: 1ª) em V4, estágio de pleno crescimento vegetativo; 2ª) em R6, estágio de florescimento. Foram utilizadas duas plantas por coleta. Nas primeiras folhas completamente expandidas foram obtidos os parâmetros da fluorescência de clorofila com auxílio de fluorômetro portátil FluorPEN 100 FP100® (Roháček, 2002) e estimado os índices de fluorescência da cinética OJIP da curva de Kurtsky (Strasser *et al.*, 2000).

Os parâmetros de fluorescência são: (**F₀**): a intensidade da fluorescência inicial no momento de ativação dos pigmentos fotossintéticos do complexo antena; (**F₁**): a intensidade da fluorescência a 2 milissegundos, tempo esse necessário para o início da liberação de O_2 pela reação de Hill; (**F_I**): a intensidade da fluorescência a 60 milissegundos, tempo necessário para a transferência de energia para o *pool* de plastoquinonas; (**F_M**): a intensidade da fluorescência máxima em que todos os centros de reação do fotossistema II (PSII) estão abertos; (**M₀**): taxa líquida do fechamento dos

centros de reação do PSII; **(AREA)**: a área sobre a curva de fluorescência (F_0) e (F_M), corresponde à quantidade de aceptores de elétrons (Murata *et al.*, 1966); **(S_M)**: a medida de energia necessária para fechar todos os centros de reação do PSII e **(N)**: o número de *turn-over*, ou seja, quantas vezes a Q_a foi reduzida em relação ao tempo zero (t_0) (Strasser *et al.*, 2000).

Os índices relativos à Eficiência Quântica (ϕ) obtida pelo aparelho FluorPEN FP100 são: **(ϕ_{PO})**: eficiência quântica do PSII, ou seja, dissipação causada pela utilização da energia para a redução do NADP; **(ϕ_{NPO})**: eficiência não quântica que representa a energia dissipada na forma de calor, fluorescência ou para outros sistemas; **(ψ_0)**: eficiência pela qual a energia fixada move-se pela Q_a para a cadeia transportadora de elétrons e **(ϕ_{EO})**: eficiência que um *photon* absorvido moverá um elétron pela cadeia transportadora de elétrons (Strasser *et al.*, 2000).

Os Fluxos Específicos de Energia são: **(ABS)**: fluxo de *photons* absorvidos pelos pigmentos; **(DI)**: fluxo de *photons* dissipados na forma de calor, de fluorescência ou para outros sistemas; **(TR₀)**: fluxo de energia preso no centro de reação do PSII para o processo fotoquímico e **(ET₀)**: fluxo de energia correspondente ao transporte além da Q_a (Strasser *et al.*, 2000).

Nas mesmas folhas foram determinados os teores de clorofila *a*, clorofila *b*, clorofila total e carotenoides totais. No dia da coleta das plantas foram retirados cinco discos de 169,72 mm² da primeira folha completamente expandida, pesados e estimada a área foliar específica (cm² g⁻¹). Após, no escuro, os discos foram imersos em 7,0 mL de dimetil-sulfóxido (DMSO) e incubados por 30 min a 70°C (Hiscox & Israelstam, 1979). Após o resfriamento foram adicionados mais 3 mL de DMSO, perfazendo o volume final de 10 mL. As absorbâncias das soluções resultantes foram obtidas em espectrofotômetro a 480, 640 e 665 nm. Os teores de pigmentos foram estimados a partir das equações propostas por Wellburn (1994).

Em cada período de avaliação, V4 e R6, as plantas foram coletadas e separadas as folhas, caule e raízes. Em seguida, todo o material foi lavado em água destilada e secos em estufa de circulação forçada de ar a 65-70°C até o peso constante e pesado para determinação de massa seca de folha, de caule, de raiz, da parte aérea e total (g planta⁻¹). Também foram estimados a taxa de crescimento absoluto, taxa de crescimento relativo e a taxa de assimilação líquida entre V4 e R6 (Benicasa, 2003).

Após pesado, o material seco das folhas foi moído em moinho tipo Willey com peneira de 2 mm de abertura e destinado à análise química de tecido vegetal para a estimativa dos teores foliares de silício, nitrogênio total e mineral amoniacal e nitrato mais nitrito. Os teores de Si nos tecidos vegetais foram extraídos via digestão com H₂O₂

e NaOH em autoclave (1 atm) por 1 hora e determinação colorimétrica (Elliott and Snyder 1991). Os teores de nitrogênio total foram extraídos via digestão sulfúrica e destilação em destilador micro-Kjeldahl e determinados por titulometria com solução de HCl 0,001 mol_c L⁻¹ (Malavolta et al. 1997). O nitrogênio nítrico (nitrato + nitrito) e amoniacal foram extraídos em 1,0 g de massa seca com 15 mL de KCl 1 mol L⁻¹ e destilação sequencial, em destilador micro-Kjeldahl, com 0,2 g de MgO calcinado para obtenção do nitrogênio amoniacal, seguido da adição de 0,2 g de liga de Devarda no mesmo extrato para extração sequencial e obtenção do nitrogênio nítrico (nitrato + nitrito). Após, foram realizadas as determinações do nitrogênio amoniacal e nítrico por titulometria com H₂SO₄ 0,0025 mol_c L⁻¹ (Tedesco et al. 1995).

Os dados obtidos de cada coleta foram submetidos à análise de variância e de regressão polinomial de 1° e 2° grau em função das doses de Si na solução nutritiva e de Scott Knot a (5% de probabilidade) para os tratamentos com e sem estresse salino no programa estatístico R (R CORE TEAM 2022) com auxílio do pacote *ExpDes.pt* (Ferreira et al., 2021).

4.3. RESULTADOS

Em V4, as plantas sob estresse salino aumentaram os teores de clorofila *a* com as concentrações de Si e as plantas sem estresse reduziram os teores de clorofila *a* até a concentração de 2,39 mmol L⁻¹ de Si (Figura 1 A). Já em R6, houve alteração dos teores de clorofila *a* apenas com a salinidade, e as plantas com estresse salino apresentaram os menores teores de clorofila *a* (Figura 1 B). Em V4 não houve influência dos tratamentos nos teores de clorofila *b* e em R6 houve efeito apenas da salinidade, em que as plantas sob estresse salino apresentaram os menores valores de clorofila *b* (Figura 1 C). Em V4 e R6 os teores de clorofila total e de carotenoides sofreram influência apenas do NaCl, em que as plantas sob estresse salino apresentaram os menores teores de clorofila total e de carotenoides (Figuras 1 D e E).

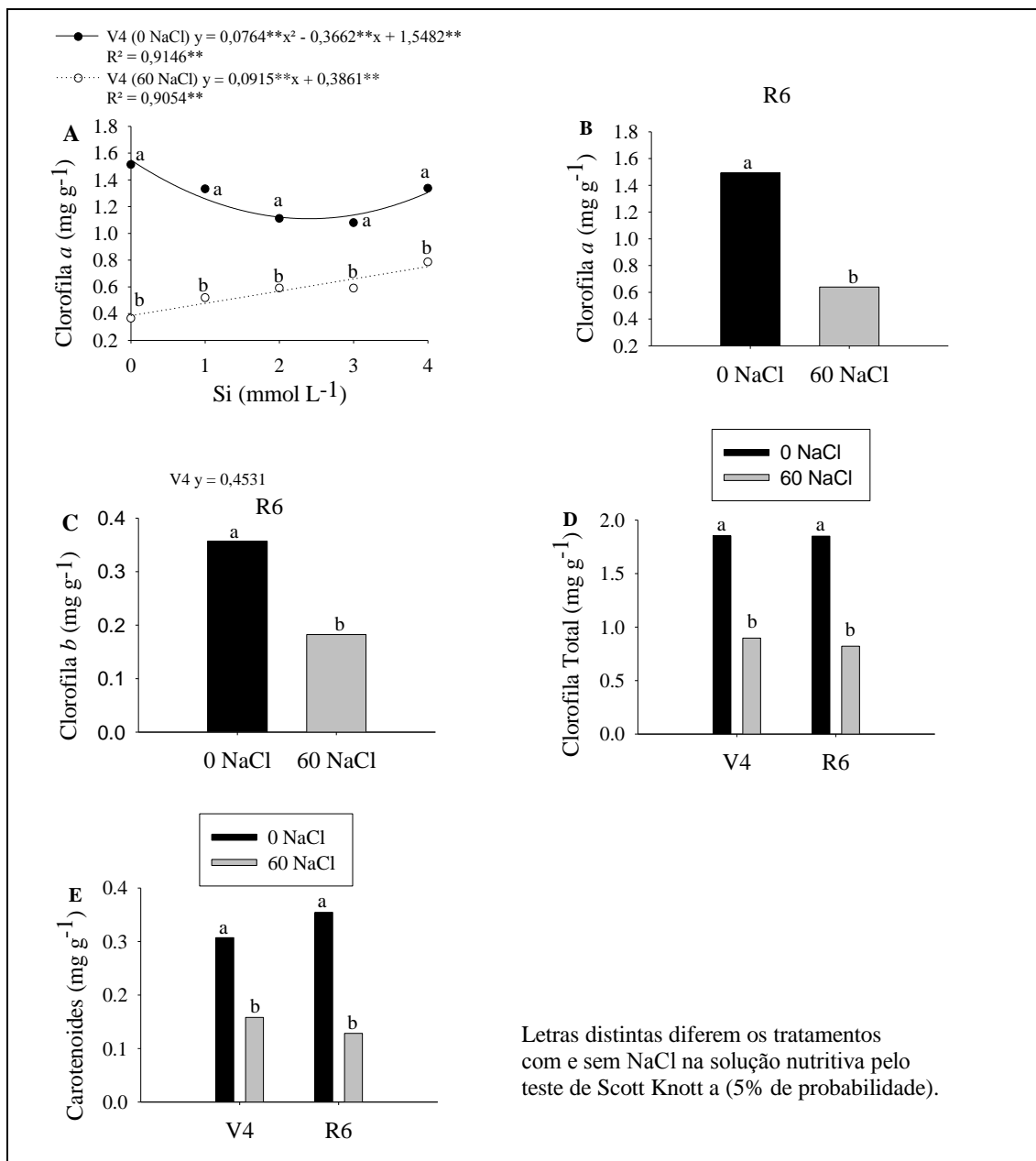


FIGURA 1. Teores dos pigmentos fotossintéticos clorofila *a* (A e B), *b* (C) e total (D) e carotenoides totais (E) nas folhas de *Phaseolus vulgaris* L. cv. BR-IPa 10, cultivado em solução nutritiva com diferentes concentrações de Si e NaCl aos 25 e 33 dias após a semeadura (DAS).

A Fluorescência mínima (F_0) está associada a perda de energia quando os fótons estão sendo interceptados pelos complexos antena. Em V4, independente do estresse salino houve redução da F_0 com o aumento das concentrações de Si na solução nutritiva (Figura 2 A). Ainda em V4, as plantas sem NaCl apresentaram maiores valores de F_0 do que as plantas cultivadas com NaCl (Figura 2B). Em R6, as plantas cultivadas sem NaCl obtiveram incremento de F_0 até a dose de 3,21 mmol L⁻¹ de Si e as plantas cultivadas com NaCl apresentaram incremento de F_0 apenas até a dose de 1,67 mmol L⁻¹ de Si, seguido de queda (Figura 2A).

Quando há o início da liberação de O_2 pela reação de Hill, a perda de energia na forma de fluorescência (F_J) alterou com o NaCl e as concentrações de Si isoladamente em V4. Semelhante a F_0 , houve menor F_J nas plantas cultivadas sob o estresse (Figura 2 D). Também em V4 houve redução da F_J até a concentração de $2,44 \text{ mmol L}^{-1}$ de Si, seguido de aumento, independente do estresse salino (Figura 2 C). Já em R6 houve interação entre Si e NaCl, em que as plantas sem NaCl apresentaram incremento linear com as doses de Si e as plantas com NaCl apresentaram redução linear com as doses de Si (Figura 2C).

A perda de energia na forma de fluorescência quando o elétron está sendo transferido para o pool de plastoquinonas (F_I) alterou com o Si e o NaCl na solução nutritiva em V4 e R6. Em V4 houve redução da F_I com o aumento da concentração de Si, e em R6 houve aumento da F_I com o aumento da concentração de Si, independente do estresse salino (Figura 2 E). Em V4 a maior F_I foi obtida nas plantas sob estresse salino, e em R6 não houve efeito do NaCl sobre a F_I (Figura 2 F).

A fluorescência máxima (F_M) alterou somente em V4 com a interação entre as concentrações de Si e NaCl no meio. Em V4 foi obtido o menor valor de F_M no tratamento sem Si e sem NaCl (Figura 2 G). As plantas cultivadas sem estresse não ajustaram equação da F_M em função das concentrações do Si no meio, enquanto nas plantas sob estresse houve redução da F_M com o aumento das concentrações de Si, até $2,78 \text{ mmol L}^{-1}$ de Si (Figura 2 G). Em R6 não houve efeito dos tratamentos sobre a F_M , com o valor médio obtido de 2765,02 (Figura 2 G).

A M_0 é a taxa líquida do fechamento dos centros de reação do fotossistema II, que é indicativo da ultraestrutura dos cloroplastos, ou seja, da organização da organela, e quanto menor, possivelmente maior é o número de centros de reação ativos possibilitando maior ciclagem das reações redox nos centros de reação. A M_0 apresentou variação significativa em função do NaCl apenas em V4, e as plantas cultivadas sob estresse obtiveram os menores valores (Tabela 1).

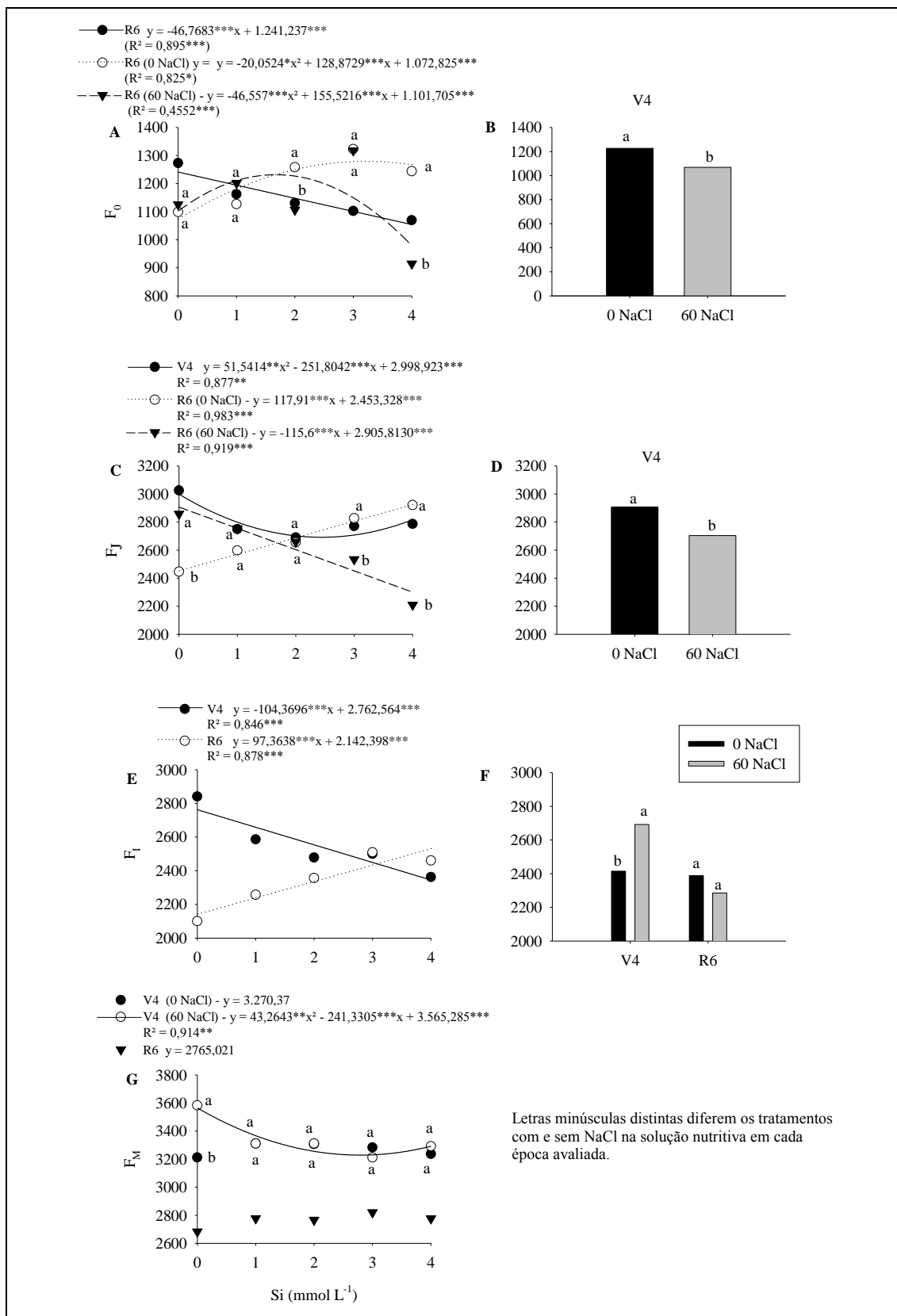


FIGURA 2. Parâmetros de Fluorescência de Clorofila *a* inicial (F_0) (A e B), a 2 milissegundos (F_J) (C e D), a 60 milissegundos (F_I) (E e F) e máxima (F_M) (G) nas folhas de *Phaseolus vulgaris* L. cv. BR-IPA 10 cultivado em solução nutritiva com diferentes concentrações de Si e NaCl em V4 e R6.

A M_0 é a taxa líquida do fechamento dos centros de reação do fotossistema II, que é indicativo da ultraestrutura dos cloroplastos, ou seja, da organização da organela, e

quanto menor, possivelmente maior é o número de centros de reação ativos possibilitando maior ciclagem das reações redox nos centros de reação. A M_0 apresentou variação significativa em função do NaCl apenas em V4, e as plantas cultivadas sob estresse obtiveram os menores valores (Tabela 1).

TABELA 1 Parâmetros de Fluorescência de Clorofila *a* nas folhas de *Phaseolus vulgaris* L. cv. BR-IPA 10, cultivado em solução nutritiva com diferentes concentrações de Si e NaCl em V4 e R6: Taxa líquida do fechamento dos centros de reação do PSII (M_0), área acima da curva F_0 a F_m , representa a quantidade de aceptores de elétrons (AREA), quantidade de energia necessária para fechar todos os centros de reação do PSII (S_M), número de vezes que a Quinona *a* foi reduzida em relação ao tempo zero (N), eficiência quântica do PSII (Φ_{P0}), energia dissipada (Φ_{NP0}), probabilidade de a energia de excitação mover um elétron após a Quinona *a* (Ψ_0), probabilidade de a energia de um fóton absorvido mover um elétron após a Quinona *a* (Φ_{E0}), fluxo de absorção (ABS), fluxo de captura (TR_0), e fluxo de dissipação (DI_0).

NaCl	M_0		AREA(x10 ⁶)		S_M		N	
	V4	R6	V4	R6	V4	R6	V4	R6
0	1,85 a ¹	1,88 ^{ns}	7,62 ^{ns}	8,47 ^{ns}	398,44 ^{ns}	491,15 ^{ns}	859,63 ^{ns}	1037,35 ^{ns}
60	1,66 b	1,88 ^{ns}	8,07 ^{ns}	7,77 ^{ns}	366,05 ^{ns}	508,80 ^{ns}	755,52 ^{ns}	1073,53 ^{ns}
	Φ_{P0}		Φ_{NP0}		Ψ_0		Φ_{E0}	
	V4	R6	V4	R6	V4	R6	V4	R6
0	0,62 b	0,59 ^{ns}	0,39 a	0,41 ^{ns}	0,14 b	0,11 ^{ns}	0,09 b	0,06 ^{ns}
60	0,66 a	0,58 ^{ns}	0,34 b	0,42 ^{ns}	0,20 a	0,10 ^{ns}	0,13 a	0,06 ^{ns}
	ABS		TR_0		ET_0		DI_0	
	V4	R6	V4	R6	V4	R6	V4	R6
0	3,56 ^{ns}	3,60 ^{ns}	2,16 ^{ns}	2,11 ^{ns}	0,31 b	0,22 ^{ns}	1,40 a	1,49 ^{ns}
60	3,17 ^{ns}	3,71 ^{ns}	2,08 ^{ns}	2,09 ^{ns}	0,42 a	0,21 ^{ns}	1,09 b	1,62 ^{ns}

¹Letras minúsculas distintas diferem os tratamentos com e sem NaCl na solução nutritiva pelo teste de Scott Knott (5% de probabilidade).

^{ns}Não significativo pelo teste de F.

Os índices de eficiência quântica do fotossistema II (Φ_{P0}), energia dissipada (Φ_{NP0}), probabilidade de a energia de excitação mover um elétron após a Quinona *a* (Ψ_0) e probabilidade de a energia de um fóton absorvido mover um elétron após a Quinona *a* (Φ_{E0}) das folhas do feijoeiro apresentaram variação significativa somente em função das concentrações de NaCl na solução nutritiva em V4 (Tabela 1). A maior Φ_{P0} foi obtida nas plantas cultivadas em solução nutritiva com NaCl. Consequentemente, os maiores valores da Φ_{NP0} foram obtidos nos tratamentos sem NaCl no meio (Tabela 1). Para Ψ_0 e Φ_{E0} os maiores valores foram obtidos pelas plantas com estresse salino (Tabela 1).

As variáveis AREA, S_M , N, ABS e TR_0 não obtiveram diferença com as doses de Si e nem com a presença ou ausência de NaCl na solução nutritiva (Tabela 1). Para ET_0 foi encontrado o maior valor nas plantas cultivadas com NaCl em V4 e para DI_0 o maior valor foi encontrado em plantas cultivadas sem NaCl em V4 (Tabela 1).

A área foliar (AF), a massa seca de folha (MSF), haste (MSH), parte aérea (MSPA), raiz (MSR) e total (MST) das plantas cultivadas sem NaCl foram maiores que das plantas sob o estresse salino nos dois períodos avaliados (Figuras 3 A a F).

Em V4, a área foliar (AF) e a massa seca de folha (MSF) apresentaram incremento linear com as doses de Si nas plantas cultivadas com NaCl (Figuras 3 A e B). Em R6, a AF e a MSF apresentaram redução linear com as doses de Si nas plantas cultivadas sem NaCl (Figuras 3 A e B). Para as plantas sem NaCl em V4 e as plantas com NaCl em R6, não houve ajuste das equações (Figuras 3 A e B).

Em V4, a massa seca da haste (MSH) apresentou redução linear com o aumento da concentração de Si nas plantas sem NaCl e apresentou incremento linear com as concentrações de Si nas plantas com NaCl (Figura 3C). Em R6, as plantas sem NaCl apresentaram redução da MSH até a concentração de 2,12 mmol L⁻¹ de Si e as plantas com NaCl apresentaram incremento linear com as concentrações de Si (Figura 3C).

A massa seca da parte aérea (MSPA) apresentou incremento linear com as concentrações de Si nas plantas cultivadas com NaCl, tanto em V4 quanto em R6 (Figura 3 D). Já as plantas cultivadas sem NaCl apresentaram redução da MSPA em V4 até a concentração de 3,03 mmol L⁻¹ de Si e em R6 até a concentração de 2,56 mmol L⁻¹ de Si (Figura 3 D).

A massa seca de raiz (MSR) e a massa seca total (MST) apresentaram incremento linear com as concentrações de Si nas plantas cultivadas com NaCl, tanto em V4 quanto em R6 (Figuras 3 E e F). Em R6 as plantas sem NaCl apresentaram redução da MSR até a concentração de 1,55 mmol L⁻¹ de Si e redução da MST até a concentração de 2,09 mmol L⁻¹ de Si (Figuras 3 e F).

De maneira geral, o aumento da concentração de Si na solução nutritiva foi capaz de aumentar a produção de matéria seca das plantas cultivadas sob condição de estresse salino por NaCl, mas não ao ponto de igualar às plantas sem estresse salino.

A relação MSPA:MSR em V4 alterou somente em função do NaCl no meio com os menores valores obtidos com 60 mmol L⁻¹ de NaCl (Figura 4 A). Em R6 houve alteração significativa da relação MSPA:MSR com a interação entre as concentrações de Si e NaCl na solução nutritiva.

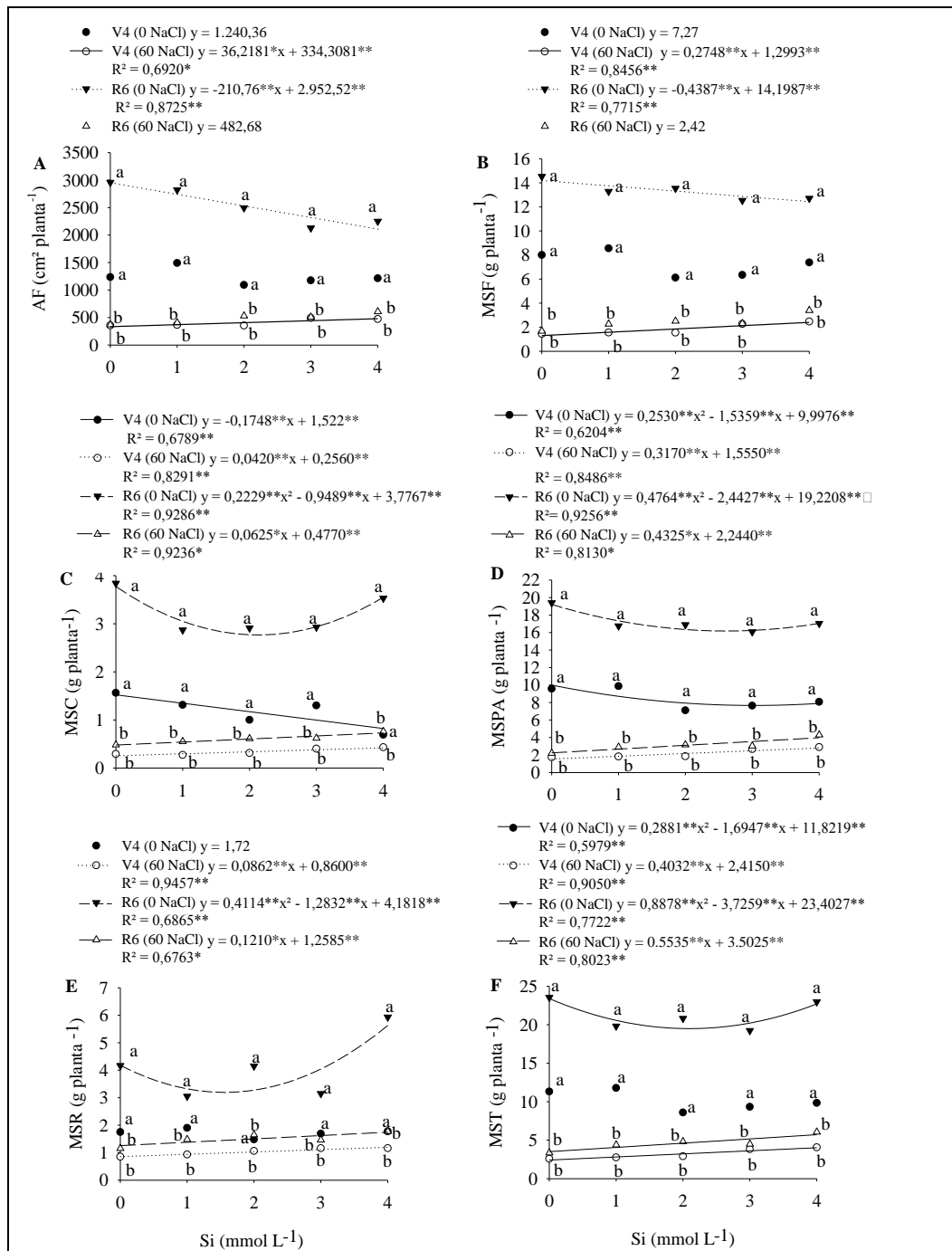


FIGURA 3 Crescimento de *Phaseolus vulgaris* L. cv. BR-IPA 10 cultivado em solução nutritiva com diferentes concentrações de Si com e sem NaCl, nos estádios V4 e R6: **(A)** área foliar (AF) (cm² planta⁻¹); **(B)** massa seca de folha (MSF) (g planta⁻¹); **(C)** haste (MSH) (g planta⁻¹); **(D)** parte aérea (MSPA) (g planta⁻¹); **(E)** raiz (MSR) (g planta⁻¹) e **(F)** total (MST) (g planta⁻¹).

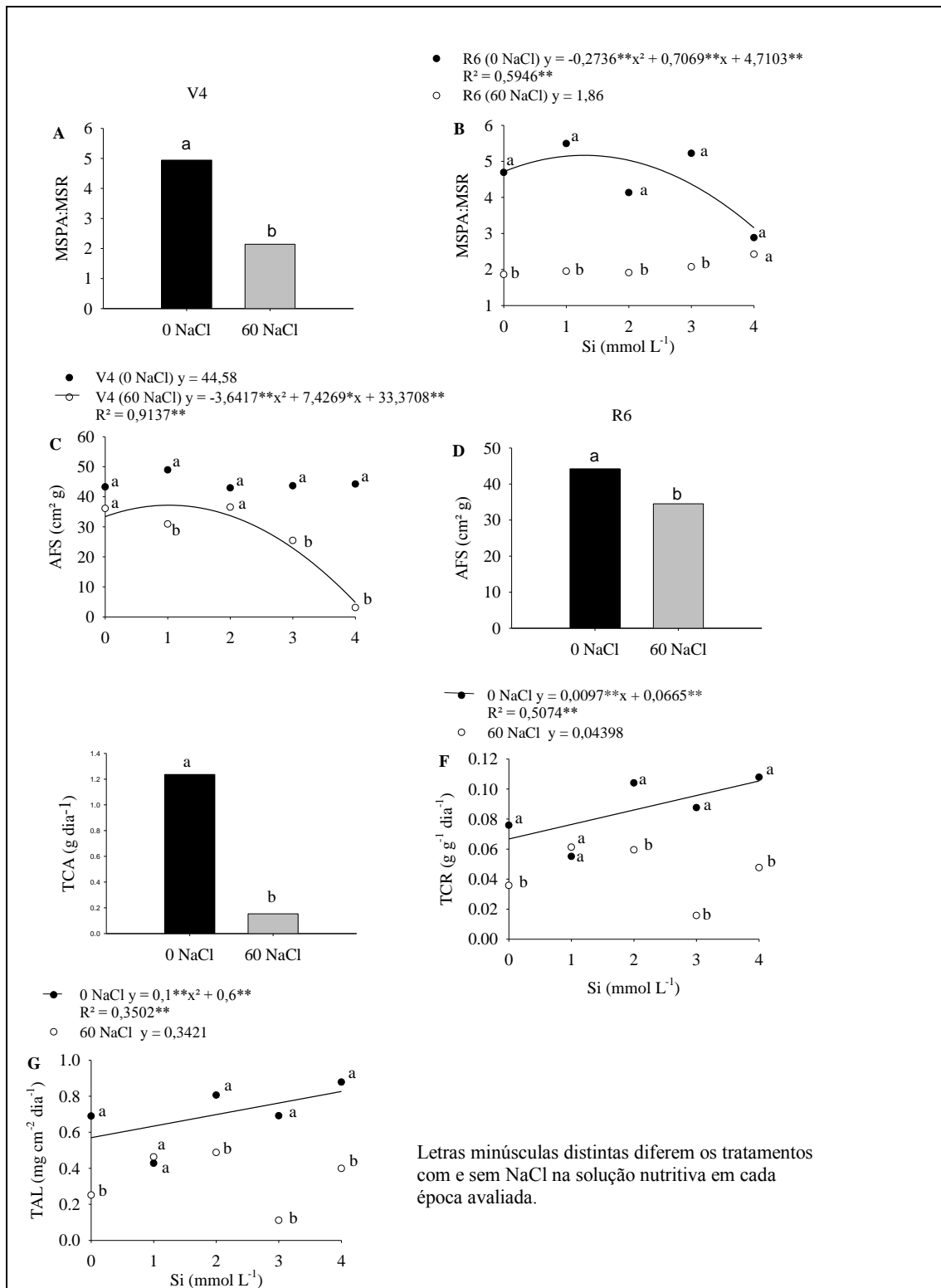


FIGURA 4 Crescimento de *Phaseolus vulgaris* L. cv. BR-IPA 10 cultivado em solução nutritiva com diferentes concentrações de Si e NaCl, nos estádios V4 e R6: **(A e B)** relação massa seca de parte aérea: massa seca de raiz (MSPA:MSR) e **(C e D)** área foliar específica (AFS) ($\text{cm}^2 \text{g}^{-1}$); e **(E)** taxa de crescimento absoluto (TCA) (g dia^{-1}); **(F)** taxa de crescimento relativo (TCR) ($\text{g g}^{-1} \text{dia}^{-1}$) e **(G)** taxa assimilatória líquida (TAL) ($\text{mg cm}^{-2} \text{dia}^{-1}$) entre V4 e R6.

A relação MSPA:MSR em V4 teve interferência significativa apenas com relação ao estresse salino, em que as plantas cultivadas sem NaCl apresentaram maior relação

MSPA:MSR do que as plantas cultivadas com NaCl (Figura 4 A). Em R6, a relação MSPA:MSR apresentou ajuste quadrático, com incremento até a dose de $1,29 \text{ mmol L}^{-1}$ de Si, seguido de redução, nas plantas sem NaCl (Figura 4 B). Para as plantas com NaCl em R6, não houve ajuste da equação para a relação MSPA:MSR (Figura 4 B).

Em V4 a área foliar específica (AFS) das plantas com NaCl apresentou incremento até a concentração de $1,01 \text{ mmol L}^{-1}$ de Si, seguido de redução e para as plantas sem NaCl não houve ajuste da equação (Figura 4 C). Em R6 a AFS apresentou variação significativa apenas pelo estresse salino, em que as plantas sem NaCl obtiveram os maiores valores (Figura 4 D). A taxa de crescimento absoluto (TCA) não apresentou diferenças significativas com relação as concentrações de Si e nem com o estresse salino por NaCl (Figura 4 E). A taxa de crescimento relativo (TCR) e a taxa assimilatória líquida (TAL), apresentaram incremento linear com as concentrações de Si para as plantas cultivadas sem NaCl e para as plantas cultivadas com NaCl não houve ajuste das equações (Figuras 4 F e G).

Os teores foliares de nitrogênio total, amoniacal (N-NH_4^+) e nitrato mais nitrito ($\text{N-NO}_3^- + \text{NO}_2$) foram superiores nas plantas sem NaCl, independente da concentração de Si na solução nutritiva (Figuras 5 A, B e C). O teor foliar de N total ajustou ao modelo quadrático em função das concentrações de Si para todas as épocas avaliadas, com e sem o estresse (Figura 5 A).

Em V4 as plantas sob estresse salino obtiveram ajuste quadrático dos teores foliares de N-NH_4^+ , com incremento até a concentração de $1,89 \text{ mmol L}^{-1}$ de Si e nas plantas sem NaCl houve redução linear com as concentrações de Si. Em R6, as plantas com NaCl obtiveram aumento linear dos teores de N-NH_4^+ com as concentrações de Si e para as plantas sem NaCl não houve ajuste da equação (Figura 5 B).

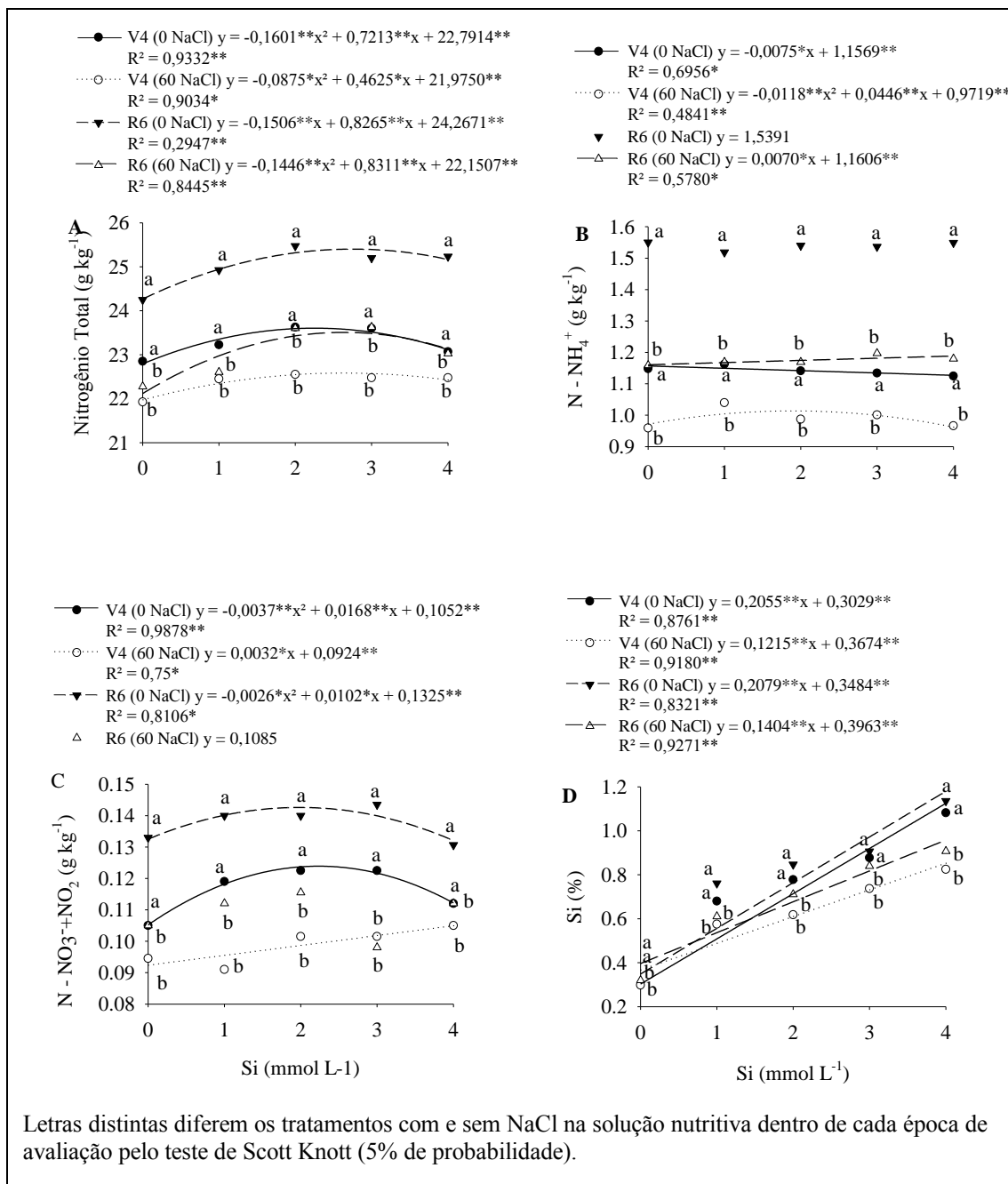


FIGURA 5 Teores foliares de nitrogênio total (A) (g kg^{-1}), amoniacal (N-NH_4^+) (B) (g kg^{-1}) e nítrico ($\text{N-NO}_3^- + \text{NO}_2^-$) (C) (g kg^{-1}) e Si (D) (%) em *Phaseolus vulgaris* L. cv. BR-IPA 10 cultivado em solução nutritiva com diferentes concentrações de Si (0, 1, 2, 3 e 4 mmol L^{-1}) e NaCl (0 e 60 mmol L^{-1}) em V4 e R6.

Nas plantas sem estresse salino, os teores de nitrato mais nitrito ajustaram aos modelos quadráticos em função do Si, com incremento até a concentração de 2,27 e 1,96 mmol L^{-1} de Si, em V4 e R6 respectivamente (Figura 5 C). Sob estresse salino houve aumento linear dos teores foliares de nitrato mais nitrito em V4, e em R6 não houve alteração dos valores em função das concentrações de Si (Figura 5 C).

Os teores de Si nas plantas aumentaram linearmente com as concentrações do elemento na solução nutritiva (Figura 5 D). A diferença das plantas com e sem NaCl é o

menor incremento nos teores de Si e menores coeficientes angulares dos modelos quando as plantas estavam sob o estresse salino (Figura 5 D). Com exceção das plantas cultivadas sem Si na solução nutritiva, todas as demais obtiveram maiores teores foliares quando cultivadas na ausência do estresse (Tabela 1). Na presença do NaCl e sem Si na solução houve maior teor foliar de Si nas plantas sob o estresse, e pode ser explicado pelo menor crescimento dessas plantas levando ao aumento dos teores de Si por efeito de concentração.

4.4. DISCUSSÃO

Em V4 as plantas estavam em pleno desenvolvimento vegetativo, ou seja, estavam em plena atividade fotossintética, sendo os principais drenos os novos tecidos vegetativos, como novos ramos e folhas. Em R6 as plantas estavam na fase reprodutiva, em que flores e vagens são os principais drenos metabólicos e é normal o início da senescência das folhas mais velhas. Visualmente, as plantas sob estresse salino por NaCl apresentavam folhas mais velhas com avançado estágio de senescência, quando comparadas com as plantas sem estresse (Apêndice A).

Em geral, em V4 e R6 as plantas sob estresse salino apresentaram os menores teores de pigmentos fotossintéticos (Figura 1). Diversos trabalhos relatam a redução nos teores dos pigmentos fotossintéticos causados pelo estresse salino em diferentes culturas (Alsamadany *et al.*, 2022; Qados, 2011; Alasvandyari e Mahdavi, 2018; Hamani *et al.*, 2020; Hayat *et al.*, 2012). Nestes trabalhos os autores apontam que o estresse salino reduziu os teores dos pigmentos fotossintéticos pela inibição da sua biossíntese, pelo aumento da taxa de degradação desses pigmentos e por danos oxidativos que causam danos às membranas dos cloroplastos.

Em V4 houve efeito do Si nos teores de clorofila *a*, com redução nas plantas sem estresse salino e aumento nas plantas sob estresse salino. Todavia, o aumento dos teores de clorofila *a* nas plantas sob estresse salino e com a maior dose de Si (4 mmol L⁻¹) não foi suficiente para igualar os obtidos nas plantas sem estresse (Figura 1 A). Em plantas de *Vigna radiata* L. sob estresse salino por NaCl, a suplementação com Si promoveu aumento nos teores de clorofila e carotenoides pela deposição de Si na parede celular, que resultou em folhas mais eretas, e a maior interceptação da luz para o processo

fotossintético (Murad e Muneer, 2022). Outros trabalhos realizados em condições de estresse salino, também relatam o efeito benéfico do Si sobre os pigmentos fotossintéticos (Li *et al.*, 2015; Lemos Neto *et al.*, 2020), e os autores atribuem esses resultados à redução dos danos oxidativos mediada pelo Si.

Em R6 só foi obtido alteração dos teores de clorofila *a*, *b* e total e de carotenoides totais com o estresse, em que os menores valores foram obtidos nas plantas sob estresse salino (Figuras 1 B, C, D e E). A falta de resposta aos tratamentos com Si pode estar relacionada a fase de desenvolvimento e início da senescência observadas em algumas plantas.

Nas plantas sem estresse salino houve redução dos teores de clorofila *a* com o aumento das concentrações de Si. Isso pode ter ocorrido pela melhor arquitetura foliar, o que permite maior interceptação de luz, e a redução dos teores de clorofila *a* como mecanismo de defesa ao estresse oxidativo. Esses resultados estão de acordo com os resultados obtidos por Harizanova & Koleva-Valkova (2019) e Sousa *et al.* (2010). Os autores atribuem esse resultado a melhor arquitetura da planta, com maior interceptação de luz que levou a redução nos teores de clorofila, como mecanismo de defesa contra o estresse oxidativo.

A maior perda de energia na forma de fluorescência (F_0 e F_I) (Figuras 2 A e C) nas plantas sem NaCl e nutridas com Si pode ser explicada pela maior interceptação de luz ou mesmo pelo aumento de pigmentos dos complexos antena desconectados dos centros de reação do fotossistema II. Em *Beta vulgaris* L. com deficiência de ferro, foi observado aumento da F_0 , que foi atribuído a partes dos complexos antena estarem desconectadas dos centros de reação dos fotossistemas dois (Morales *et al.*, 2001). O estudo feito em mutantes de *Chlamydomonas reinhardtii*, que não tinham os monômeros CP26 e CP29, observou aumento de F_0 pela desconexão entre o complexo antena e o centro de reação do fotossistema dois, o que aumentou a dissipação da energia absorvida na forma de fluorescência (Cazzinga *et al.*, 2019).

Em V4 a maior F_I obtida nas plantas sob estresse salino (Figura 2 F) é um indicativo de que o NaCl pode ter levado a alterações no aparato fotossintético a partir do centro de reação do fotossistema II. A F_M reduziu nas plantas sob estresse em V4, indicando efeito benéfico do Si, reduzindo as perdas de energia na forma de fluorescência. Estudos mostram o efeito benéfico do Si melhorando os parâmetros de fluorescência (Khan *et al.*, 2016; Al Murad & Muneer, 2022).

Muitos estudos apontam para o aumento da fluorescência e redução na eficiência quântica do fotossistema dois em plantas sob estresse salino (Ahmad *et al.*, 2019b; Alasvandyari e Mahdavi, 2018; Hameed *et al.*, 2021). Porém, nem sempre a eficiência quântica do fotossistema II é confiável como indicador do estresse salino. Alguns trabalhos demonstram que a eficiência quântica não foi afetada pelo estresse salino (Brugnoli e Lauteri, 1991; Brugnoli e Björkman, 1992). Em plantas de *Phaseolus vulgaris* cultivadas sob diferentes doses de NaCl (de 0 a 200 mmol L⁻¹) houve aumento da eficiência do fotossistema II até a dose de 80 mmol L⁻¹ de NaCl (Zanandrea *et al.*, 2006). Os autores relatam baixo efeito do estresse salino isolado sobre o fotossistema II, mas quando combinado com estresse por alta incidência luminosa, induz a danos.

A exposição das folhas à radiação excessiva pode levar a danos no fotossistema, sendo que a orientação e o ângulo das folhas interferem diretamente na interceptação da luz, na eficiência do fotossistema II e nos danos causados a ele (Werner *et al.*, 2002). No presente estudo, as plantas sem estresse salino apresentaram maiores valores de F_0 e F_J , com menor eficiência quântica do fotossistema II (Φ_{P0}), indicando a fotoinibição. Sob o excesso de luz observa-se a fotoinibição dinâmica, em que a taxa fotossintética permanece inalterada, mas a eficiência quântica diminui pela dissipação do excesso de energia, que é considerado um mecanismo de proteção (Taiz *et al.*, 2017). As plantas cultivadas sem estresse salino podem ter apresentado maior nível de proteção do fotossistema pela redução da eficiência quântica do fotossistema II (Φ_{P0}), mas com a manutenção da taxa fotossintética, que pode ser comprovada pelo maior crescimento (Figuras 3 A a F). Em outros trabalhos, esse aumento da eficiência fotossintética com plantas nutridas com Si foi justificado pelo aumento da concentração interna de CO₂ (Detmann *et al.*, 2012) e manutenção da estabilidade da membrana dos tilacoides (Wang *et al.*, 2019).

Esse resultado indica que a fotoinibição, representada pela menor eficiência do fotossistema II, atuou como mecanismo de proteção ao estresse oxidativo, não causando danos que pudessem prejudicar a produção de massa seca. Alguns autores relatam que os efeitos deletérios da fotoinibição dependem do balanço entre os danos causados e a capacidade de regeneração do fotossistema II, principalmente ligados a síntese da proteína D1 (Guidi *et al.*, 2019; Murata & Nishiyama, 2017). A inibição da síntese de novo, especialmente da proteína D1, indica deficiência no reparo do fotossistema II em condições de estresse salino (Hameed *et al.*, 2021). Em cianobactérias *Synechocystis* sp. sob estresse salino, houve inibição da síntese de novo da proteína D1 e de outras proteínas, impedindo a reparação do fotossistema II (Allakhverdiev *et al.*, 2002).

Em condições de estresse, alguns genes relacionados a fotossíntese têm a sua expressão aumentada na presença de Si. Isso, aumenta o número de centros de reação do fotossistema II abertos, e resulta no aumento do uso da energia na cadeia transportadora de elétrons, e aumento da eficiência fotoquímica (Rastogi *et al.*, 2021). O Si também reduz a produção de espécies reativas de oxigênio e aumenta a produção de compostos antioxidantes (Kim *et al.*, 2017). A redução na peroxidação de lipídeos mediada pelo Si, também ajuda a manter a integridade das membranas (Rastogi *et al.*, 2021), preservando a estrutura dos cloroplastos.

O aumento da área foliar, da massa seca de folha, massa seca de caule e massa seca de raiz com o Si nas plantas sob estresse em V4, confirma seu efeito benéfico no feijoeiro comum sob o estresse salino. Todavia o incremento na área foliar e na massa seca de folha não foram suficientes para as plantas obterem valores semelhantes às plantas sem estresse salino. O efeito benéfico do Si no aumento da produção de massa seca foi observado em plantas sob estresse por excesso de nitrato e sob estresse salino (Gou *et al.*, 2020; Golezani *et al.*, 2015; Li *et al.*, 2015), em que os resultados são justificados pelo aumento da taxa fotossintética e da atividade de enzimas antioxidantes, redução dos danos oxidativos e menor absorção de sódio.

A ausência do efeito do Si em R6 sob a massa seca de folha e área foliar pode ser explicado pelo efeito deletério das plantas expostas a período prolongado de estresse. Todavia, ainda foi obtido aumento da massa seca de caule e massa seca de raiz nas plantas sob estresse em R6 com o aumento do Si no meio (Figuras 3 C e D). Já o efeito negativo do Si em R6 nas plantas sem estresse salino pode estar associado com a sílica depositada próximo aos estômatos, reduzindo as trocas gasosas, e, com isso reduz também a concentração de CO₂ e conseqüentemente a fotossíntese. Em plantas de *Theobroma cacao* L. a aplicação foliar de 3 mg mL⁻¹ de SiO₂ reduziu a condutância estomática e a transpiração pela formação de uma fina camada de Si na superfície da folha, que dificultou o processo de difusão (Zanetti *et al.*, 2016). Outro trabalho demonstrou que plantas com aplicação de Si obtiveram redução da condutância cuticular pela deposição de Si na cutícula, e redução da condutância estomática devido a deposição de Si na parede celular das células guarda (Vandegeer *et al.*, 2020).

A redução da massa seca da parte aérea (MSPA) e aumento da massa seca de raiz (MSR) das plantas sem estresse salino e com Si explica a forte redução da relação MSPA:MSR. O aumento da massa seca de raiz também foi observado nas plantas sob estresse e pode ser um mecanismo de resistência ao estresse pelo NaCl, pois aumenta o

acúmulo do Na nas raízes e diminui o transporte para a parte aérea. O aumento do crescimento do sistema radicular das plantas é um resultado importante, pois permite a exploração de maior volume de solo e em profundidade, e aumenta a resistência em condições de estresse. Em dois genótipos de *Cynodon dactylon* L. (C43 e C198) as plantas cultivadas sob estresse salino por NaCl apresentaram maior relação raiz / parte aérea do que as plantas sem estresse, que indica maior alocação de metabólitos e energia nas raízes (Hu *et al.*, 2012). Em experimento realizado com treze variedades de *Triticum* spp., as plantas sob estresse salino por NaCl apresentaram redução no número de folhas e aumento no número de raízes novas e no número total de raízes adventícias (Robin *et al.*, 2016). Em ambos os trabalhos, os autores atribuem os resultados a maior necessidade das plantas em explorar novas regiões do solo em busca de água e nutrientes do que em crescimento da parte aérea e fixação de carbono, nesses ambientes salinos. Além disso, eles também alegam haver maior sensibilidade das folhas ao estresse salino em comparação às raízes.

As plantas cultivadas sob estresse salino apresentaram os menores teores de nitrogênio total, nítrico e amoniacal (Figuras 5 A, B e C). Em estresse salino por NaCl a absorção de nitrogênio é inibida provavelmente pelo efeito antagonista dos íons do sal com o nitrato (NO_3^-) e o amônio (NH_4^+), pela redução na transpiração, redução na absorção de água pelas raízes pelas alterações osmóticas, pelos danos nas membranas das raízes e pela menor demanda de nitrogênio devido a menor taxa de crescimento (Ashraf *et al.*, 2018). Com suplementação de 2 mM de Na_2SiO_3 , foi observada a redução nos teores de Si nas plantas com estresse salino, provavelmente pela competição pela absorção desses íons (Lemos Neto *et al.*, 2020).

Nas plantas sem estresse e aos 25 DAS houve redução do nitrogênio amoniacal com o aumento do Si na solução nutritiva (Figura 5 B), o que contrasta com o aumento do nitrogênio total e nítrico (Figuras 5 A e C, respectivamente). A redução do nitrogênio amoniacal pode estar associada a maior eficiência de uso do nitrogênio, principalmente nos processos de biossíntese de proteínas e enzimas. Já nas plantas sob estresse houve aumento linear do nitrogênio nítrico e incremento do nitrogênio amoniacal e total até 1,89 e 2,64 mmol L^{-1} de Si, respectivamente (Figura 5 B e A).

Em condições de estresse salino há aumento na demanda energética pelo aumento da fotorrespiração, transporte de íons e turnover das proteínas envolvidas na fotossíntese e nos compostos de defesa (Munns *et al.*, 2020). Segundo Schreiber & Desveaux (2008), após a indução de resistência, tanto por patógenos e condições de estresse abiótico, como salinidade, quanto por aplicação de compostos de defesa, como o Si, são biossintetizadas

proteínas que iniciam uma série de reações em cascata com consequente acúmulo de formas reativas de oxigênio e óxido nítrico. Assim, não só há custo energético, como também, pode ocorrer um dreno de nitrogênio no metabolismo, mediado pela biossíntese de proteínas envolvidas no processo de indução de resistência e de óxido nítrico. Segundo Herms & Mattson (1992) e Dietrich *et al.*, (2005) o custo energético e metabólico da indução de resistência pode afetar negativamente o desenvolvimento das plantas reduzindo a disponibilidade de metabólicos primários (energia) e de nitrogênio para as plantas quando cultivadas em solos com baixa disponibilidade desse nutriente. Os autores ainda relatam que a alocação de energia e metabolito para a síntese “de novo” de compostos de defesa está diretamente ligada ao metabolismo e a relação fonte:dreno de nitrogênio nas plantas.

Em geral, as plantas sem estresse aumentaram as perdas de energia na forma de fluorescência com o aumento de Si na solução, principalmente nas fases iniciais do processo de interceptação e transferência da energia luminosa nos complexos antena, o que pode estar associado às clorofilas desconectadas. Isso resultou em excesso de energia que acabou sendo dissipado na forma de fluorescência, e aumentou F_0 e F_j . Com isso, houve menor eficiência quântica do fotossistema II (Φ_{P_0}) e maior fluxo de dissipação (DI_0). Porém, essa maior dissipação de energia na forma de fluorescência serviu como mecanismo de proteção do fotossistema II, e possibilitou às plantas a manutenção das taxas fotossintéticas, resultando em maior crescimento. Essa energia perdida também pode ter sido suficiente para ativar o processo de defesa das plantas com biossíntese de enzimas antioxidativas e reduziu o nitrogênio amoniacal.

As plantas sob estresse salino, apresentaram menores teores de pigmentos fotossintéticos, e ocasionou menor interceptação de luz, consequentemente menor taxa de fechamento dos centros de reação (M_0). Isso possibilitou melhor fluxo de elétrons (ET_0) e melhor eficiência quântica do fotossistema II (Φ_{P_0}). Porém, os efeitos deletérios da salinidade refletiram em menor crescimento das plantas. Foi possível observar o efeito protetivo do Si contra o estresse salino pelo aumento dos teores dos pigmentos fotossintético, redução da fluorescência e aumento do crescimento das plantas, mas não foi suficiente para igualar os resultados obtidos pelas plantas sem NaCl.

4.5. CONCLUSÃO

No presente trabalho, o NaCl na concentração de 60 mmol L⁻¹ teve efeito negativo nas plantas de *Phaseolus vulgaris* L. cv. BR-IPA 10, e reduziu em 76% o teor de clorofila *a*, em 66% o teor de carotenoides e em 77% a produção de massa seca. O efeito protetor do Si sobre os efeitos deletérios da salinidade foi mais observado na fase vegetativa, em que a dose máxima de Si dobrou o teor de clorofila *a* e aumentou em 57% a produção de massa seca nas plantas sob estresse salino.

4.6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADHIKARI, N. D., SIMKO, I., AND MOU, B. (2019). Phenomic and physiological analysis of salinity effects on lettuce. *Sensors*, 19(21), 4814. doi: 10.3390/s19214814
- AHMAD P, AHANGER MA, ALAM P, ALYEMENI MN, WIJAYA L, ALI S, ASHRAF M. (2019a). Silicon (Si) Supplementation Alleviates NaCl Toxicity in Mung Bean (*Vigna radiata* L. Wilczek) Through the Modifications of Physio-biochemical Attributes and Key Antioxidant Enzymes. *Journal of Plant Growth Regulation* [Internet]. [accessed 2022 Jun 7] 38(1):70–82. <https://doi.org/10.1007/S00344-018-9810-2/FIGURES/6>
- AHMAD, R. HUSSAIN, S., ANJUM, M.A., KHALID, M.F., SAQIB, M., ZAKIR, I., HASSAN, A., FAHAD, S., AND AHMAD, S. (2019b). "Oxidative Stress and Antioxidant Defense Mechanisms in Plants Under Salt Stress," in *Plant Abiotic Stress Tolerance*. Springer, 191–205. doi: 10.1007/978-3-030-06118-0_8
- AL MURAD, M. AND MUNEER, S. (2022) Silicon Supplementation Modulates Physiochemical Characteristics to Balance and Ameliorate Salinity Stress in Mung Bean. *Front. Plant Sci.* 13:810991. doi: 10.3389/fpls.2022.810991
- ALASVANDYARI, F., and MAHDAVI, B. (2018). Effect of glycine betaine and salinity on photosynthetic pigments and ion concentration of safflower. *Desert*, 23(2), 265-271.
- ALLAKHVERDIEV, S. I., NISHIYAMA, Y., MIYAIRI, S., YAMAMOTO, H., INAGAKI, N., KANESAKI, Y., AND MURATA, N. (2002). Salt stress inhibits the repair of photodamaged photosystem II by suppressing the transcription and translation of *psbA* genes in *Synechocystis*. *Plant Physiology*, 130(3), 1443-1453 <https://doi.org/10.1104/pp.011114>
- ALMEIDA, D. M., OLIVEIRA, M. M., AND SAIBO, N. J. (2017). Regulation of Na⁺ and K⁺ homeostasis in plants: towards improved salt stress tolerance in crop plants. *Genet. Mol. Biol.* 40, 326–345. doi: 10.1590/1678-4685-gmb-2016-0106
- ALSAMADANY, H., MANSOUR, H., ELKELISH, A., AND IBRAHIM, M. F. (2022). Folic Acid Confers Tolerance against Salt Stress-Induced Oxidative Damages in Snap Beans through Regulation Growth, Metabolites, Antioxidant Machinery and Gene Expression. *Plants*, 11(11), 1459. doi:10.3390/plants11111459

- ASHRAF, M., SHAHZAD, S. M., IMTIAZ, M., and RIZWAN, M. S. (2018). Salinity effects on nitrogen metabolism in plants—focusing on the activities of nitrogen metabolizing enzymes: A review. *Journal of Plant Nutrition*, 41(8), 1065-1081. doi: 10.1080/01904167.2018.1431670
- BENINCASA, M. M. P. (2003). Análise de crescimento de plantas: noções básicas. Jaboticabal: FUNEP, 42 p.
- BRUGNOLI, E.; BJÖRKMAN O. (1992). Growth of cotton under continuous salinity stress: influence on allocation pattern, stomatal and non-stomatal components of photosynthesis and dissipation of excess light energy. *Planta*, New York, v.187, p.335-345. doi: 10.1007/BF00195657.
- BRUGNOLI, E.; LAUTERI, M. (1991). Effects of salinity on stomatal conductance, photosynthetic capacity and carbon isotope discrimination of salt-tolerant (*Gossypium hirsutum* L.) and salt-sensitive (*Phaseolus vulgaris* L.) C3 non-alophytes. *Plant Physiology*, Rockeville, v.95, p.628-635. doi: 10.1104/pp.95.2.628.
- CAZZANIGA, S., KIM, M., BELLAMOLI, F., JEONG, J., LEE, S., PEROZENI, F., ... AND BALLOTTARI, M. (2020). Photosystem II antenna complexes CP26 and CP29 are essential for nonphotochemical quenching in *Chlamydomonas reinhardtii*. *Plant, cell & environment*, 43(2), 496-509. doi:10.1111/pce.13680
- CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento (2021) – *Acompanhamento da safra brasileira grãos*, Safra 2021/2022 – Segundo levantamento, Novembro 2021.
- COSKUN, D., BRITTO, D. T., HUYNH, W. Q., AND KRONZUCKER, H. J. (2016). The role of silicon in higher plants under salinity and drought stress. *Frontiers in Plant Science*. 7, 1072. Front. doi:10.3389/fpls.2016.01072
- CRUSCIOL, C. A., PULZ, A. L., LEMOS, L. B., SORATTO, R. P., AND LIMA, G. P. (2009). Effects of silicon and drought stress on tuber yield and leaf biochemical characteristics in potato. *Crop Science*. p. 949-954. 2009. doi:10.2135/cropsci2008.04.0233
- DETMANN K. C., ARAÚJO W.L., MARTINS S. C. V., SANGLARD L. M. V. P., REIS J. V., DETMANN E., RODRIGUES FÁ, NUNES-NESE A., FERNIE A. R., DAMATTA F. M. (2012). Silicon nutrition increases grain yield, which, in turn, exerts a feed-forward stimulation of photosynthetic rates via enhanced mesophyll conductance and alters primary metabolism in rice. *New Phytologist* [Internet]. [accessed 2022 Jun 3] 196(3):752–762. <https://doi.org/10.1111/J.1469-8137.2012.04299.X>
- DIETRICH, R., PLOSS, K., AND HEIL, M. (2005). Growth responses and fitness costs after induction of pathogen resistance depend on environmental conditions. *Plant, Cell & Environment*, 28(2), 211-222.
- ELLIOTT C. L., AND SNYDER G. H. (1991). Autoclave-Induced Digestion for the Colorimetric Determination of Silicon in Rice Straw. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* [Internet]. [accessed 2022 Jul 18] 39(6):1118–1119. https://doi.org/10.1021/JF00006A024/ASSET/JF00006A024.FP.PNG_V03
- EPSTEIN E; BLOMM AJ. (2006). *Nutrição mineral de plantas: princípios e perspectivas*. Londrina: Editora Planta, 403p.
- FENG, J. P., SHI, Q. H., AND WANG, X. F. (2009). Effects of exogenous silicon on photosynthetic capacity and antioxidant enzyme activities in chloroplast of cucumber

seedlings under excess manganese. *Agricultural Sciences in China*, v.8, p.40-50. doi:10.1016/S1671-2927(09)60007-9

FERREIRA EB, CAVALCANTI PP, NOGUEIRA DA. (2021). ExpDes.pt: Pacote Experimental Designs (Portuguese Brazilian). R package version 1.2.1. <https://CRANR-project.org/package=ExpDes.pt>.

FREIRE, M. B. G. S. AND FREIRE, F. J. (2007). Fertilidade do solo e seu manejo em solos afetados por sais. In: NOVAIS, R. F.; et al. (ed.). *Fertilidade do solo*. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo. p. 929-954.

GHASSEMI-GOLEZANI, K., LOTFI, R., AND NAJAFI, N. (2015). Some Physiological Responses of Mungbean to Salicylic Acid and Silicon under Salt Stress. *Advances in BioResearch*, 6(4). doi: 10.15515/abr.0976-4585.6.4.713

GOU, T., YANG, L., HU, W., CHEN, X., ZHU, Y., GUO, J., AND GONG, H. (2020). Silicon improves the growth of cucumber under excess nitrate stress by enhancing nitrogen assimilation and chlorophyll synthesis. *Plant physiology and biochemistry*, 152, 53-61. doi:10.1016/j.plaphy.2020.04.031

GUIDI, L., LO PICCOLO, E., AND LANDI, M. (2019). Chlorophyll fluorescence, photoinhibition and abiotic stress: does it make any difference the fact to be a C3 or C4 species?. *Frontiers in plant science*, 10, 174. doi: 10.3389/fpls.2019.00174

HAMANI, A. K. M., WANG, G., SOOTHAR, M. K., SHEN, X., GAO, Y., QIU, R., AND MEHMOOD, F. (2020). Responses of leaf gas exchange attributes, photosynthetic pigments and antioxidant enzymes in NaCl-stressed cotton (*Gossypium hirsutum* L.) seedlings to exogenous glycine betaine and salicylic acid. *BMC Plant Biology*, 20(1), 1-14. doi:10.1186/s12870-020-02624-9

HAMEED, A., AHMED, M. Z., HUSSAIN, T., AZIZ, I., AHMAD, N., GUL, B., AND NIELSEN, B. L. (2021). Effects of salinity stress on chloroplast structure and function. *Cells*, 10(8), 2023. doi: 10.3390/cells10082023

HARIZANOVA, A., AND KOLEVA-VALKOVA, L. (2019). Effect of silicon on photosynthetic rate and the chlorophyll fluorescence parameters at hydroponically grown cucumber plants under salinity stress. *Journal of Central European Agriculture*, 20(3), 953-960. doi: 10.5513/jcea01/20.3.2312

HAYAT, S., MAHESHWARI, P., WANI, A. S., IRFAN, M., ALYEMENI, M. N., AND AHMAD, A. (2012). Comparative effect of 28 homobrassinolide and salicylic acid in the amelioration of NaCl stress in Brassica juncea L. *Plant physiology and biochemistry*, 53, 61-68. doi:10.1016/j.plaphy.2012.01.011

HERMS, D. A., AND MATTSON, W. J. (1992). The dilemma of plants: to grow or defend. *The quarterly review of biology*, 67(3), 283-335.

HISCOX, J.D., ISRAELSTAM, G.F. (1979) A method for the extraction of chlorophyll from leaf tissue without maceration. *Canadian Journal of Botany*, v. 57, p.1332-1334. doi:10.1139/b79-163

HOAGLAND, D.R., ARNON, D.I. (1950). The water culture method of growing plants without soil. University of California, Berkeley, 32 p.

HOSSAIN, M. S. (2019). Present scenario of global salt affected soils, its management and importance of salinity research. *Int. Res. J. Biol. Sci*, 1(1), 1-3.

- HU, L., HUANG, Z., LIU, S., AND FU, J. (2012). Growth response and gene expression in antioxidant-related enzymes in two bermudagrass genotypes differing in salt tolerance. *Journal of the American society for horticultural science*, 137(3), 134-143. doi: 10.21273/jashs.137.3.134
- KHAN, A., KHAN, A. L., MUNEER, S., KIM, Y. H., AL-RAWAHI, A., AND AL-HARRASI, A. (2019). Silicon and salinity: cross-talk in crop mediated stress tolerance mechanisms. *Frontiers in Plant Science*, v. 10, p. 1429. doi: 10.3389/fpls.2019.01429
- KHAN, W. U. D., AZIZ, T., HUSSAIN, I., RAMZANI, P. M. A., AND REICHENAUER, T. G. (2016). Silicon: a beneficial nutrient for maize crop to enhance photochemical efficiency of photosystem II under salt stress. *Archives of Agronomy and Soil Science*, 63(5), 599-611. doi:10.1080/03650340.2016.1233322
- KIM, Y. H., KHAN, A. L., WAQAS, M., AND LEE, I. J. (2017). Silicon regulates antioxidant activities of crop plants under abiotic-induced oxidative stress: a review. *Frontiers in Plant Science*, 8, 510. doi: 10.3389/fpls.2017.00510
- LEMONS NETO, H. D. S., DE ALMEIDA GUIMARÃES, M., MESQUITA, R. O., SOUSA FREITAS, W. E., DE OLIVEIRA, A. B., DA SILVA DIAS, N., AND GOMES-FILHO, E. (2021). Silicon supplementation induces physiological and biochemical changes that assist lettuce salinity tolerance. *Silicon*, 13(11). doi:10.1007/s12633-020-00715-8
- LI, H., ZHU, Y., HU, Y., HAN, W., AND GONG, H. (2015). Beneficial effects of silicon in alleviating salinity stress of tomato seedlings grown under sand culture. *Acta physiologiae plantarum*, 37(4), 1-9. doi: 10.1007/s11738-015-1818-7
- MA, J.F., YAMAJI, N. (2006). Silicon uptake and accumulation in higher plants. *Plant Science*, v.11, p.392-397. doi:10.1016/j.tplants.2006.06.007
- MALAVOLTA E, VITTI GC, OLIVEIRA SA de. (1997). *Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações*. 2ª ed. Piracicaba-SP: POTAFOS.
- MARSCHNER, H. (Ed.). (2011). *Marschner's mineral nutrition of higher plants*. Academic press.
- MORALES, F., MOISE, N., QUÍLEZ, R., ABADÍA, A., ABADÍA, J., AND MOYA, I. (2001). Iron deficiency interrupts energy transfer from a disconnected part of the antenna to the rest of Photosystem II. *Photosynthesis Research*, 70(2), 207-220.
- MOUSSA, H.R. (2006). Influence os exogenous application of silicon on physiological response of salt-stressed maize (*Zea mays* L.). *International Journal of Agriculture & Biology*, v.8, 293-297.
- MUNNS, R., DAY, D. A., FRICKE, W., WATT, M., ARSOVA, B., BARKLA, B. J., ... AND TYERMAN, S. D. (2020). Energy costs of salt tolerance in crop plants. *New Phytologist*, 225(3), 1072-1090. doi:10.1111/nph.15864
- MURATA, N., AND NISHIYAMA, Y. (2017). ATP is a driving force in the repair of photosystem II during photoinhibition. *Plant, Cell & Environment*, 41(2), 285-299. doi:10.1111/pce.13108
- PARVEEN, N., ASHRAF, M. (2010). Role of silicon in mitigating the adverse effects of salt stress on growth and photosynthetic attributes of two maize (*Zea mays* L.) cultivars grown hydroponically. *Pakistan Journal of Botany*, v.42, p.1675-1684.

- PRADHAN, B., CHAKRABORTY, K., PRUSTY, N., MUKHERJEE, A. K., CHATTOPADHYAY, K., AND SARKAR, R. K. (2018). Distinction and characterisation of rice genotypes tolerant to combined stresses of salinity and partial submergence, proved by a high-resolution chlorophyll fluorescence imaging system. *Functional Plant Biology*, 46(3), 248-261. doi: 10.1071/FP18157.
- QADOS, A. M. A. (2011). Effect of salt stress on plant growth and metabolism of bean plant *Vicia faba* (L.). *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 10(1), 7-15. doi:10.1016/j.jssas.2010.06.002
- R CORE TEAM. (2022). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria [Internet]. [accessed 2022 Apr 8]. <https://www.R-project.org/>
- RADY MM, ELRYS AS, ABO EL-MAATI MF, DESOKY ESM. (2019). Interplaying roles of silicon and proline effectively improve salt and cadmium stress tolerance in *Phaseolus vulgaris* plant. *Plant Physiology and Biochemistry*. 139:558–568. doi:10.1016/J.PLAPHY.2019.04.025
- RASTOGI, A., YADAV, S., HUSSAIN, S., KATARIA, S., HAJIHASHEMI, S., KUMARI, P., AND BRESTIC, M. (2021). Does silicon really matter for the photosynthetic machinery in plants...?. *Plant Physiology and Biochemistry*, 169, 40-48. doi:10.1016/j.plaphy.2021.11.004
- REHMAN, S., ABBAS, G., SHAHID, M., SAQIB, M., FAROOQ, A. B. U., HUSSAIN, M., MURTAZA B., AMJAD M., NAEEM M. A., FAROOQ A. (2019). Effect of salinity on cadmium tolerance, ionic homeostasis and oxidative stress responses in conocarpus exposed to cadmium stress: Implications for phytoremediation. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 171, 146–153. doi: 10.1016/j.ecoenv.2018.12.077
- RICHARDS, L.A. (ed.) (1954). Diagnosis and improvements of saline and alkali soils. USDA. *Agriculture Handbook* 60.
- ROBIN, A. H. K., MATTHEW, C., UDDIN, M. J., AND BAYAZID, K. N. (2016). Salinity-induced reduction in root surface area and changes in major root and shoot traits at the phytomer level in wheat. *Journal of Experimental Botany*, 67(12), 3719-3729. doi:10.1093/jxb/erw064
- ROHÁČEK, K. (2002). Chlorophyll fluorescence parameters: the definitions photosynthetic meaning, and mutual relationships. *Photosynthetica*, v. 40, p.13-29.
- SCHREIBER, K., AND DESVEAUX, D. (2008). Message in a bottle: chemical biology of induced disease resistance in plants. *The Plant Pathology Journal*, 24(3), 245-268 doi:10.5423/PPJ.2008.24.3.245
- SHAHID, S. A., ZAMAN, M., AND HENG, L., (2018). “Soil salinity: historical perspectives and a world overview of the problem,” in *Guideline for Salinity Assessment, Mitigation and Adaptation Using Nuclear and Related Techniques* (Springer, Cham), 43–53. doi: 10.1007/978-3-319-96190-3_2
- SOUSA, J. V., RODRIGUES, C. R., LUZ, J. M. Q., SOUSA, V. B. F., DE CARVALHO, P. C., RODRIGUES, T. M., AND DE BRITO, C. H. (2010). Silicato de potássio via foliar no milho: fotossíntese, crescimento e produtividade. *Bioscience Journal*, 26(4).
- STRASSER, R. J., SRIVASTAVA, A., AND TSIMILLI-MICHAEL, M. (2000). The fluorescence transient as a tool to characterize and screen photosynthetic samples.

In *Probing photosynthesis: mechanisms, regulation and adaptation*. Eds Yunus, M., Pathre, U. and Mohanty, P. Chapter 25, pp. 445-483. Taylor and Francis, London, UK.

TAÏBI K, AIT ABDERRAHIM L, BOUSSAID M, BISSOLI G, TAÏBI F, ACHIR M, SOUANA K, MULET JM. (2021). Salt-tolerance of *Phaseolus vulgaris* L. is a function of the potentiation extent of antioxidant enzymes and the expression profiles of polyamine encoding genes. *South African Journal of Botany*. 140:114–122. doi:10.1016/J.SAJB.2021.03.045

TAIZ, L., ZEIGER, E., MOLLER, I. M., AND MURPH, A. (2017). Fisiologia e desenvolvimento vegetal. Porto Alegre: Artmed, 858p.

TEDESCO MJ, GIANELLO C, BISSANI CA, BOHNEN H, VOLKWEISS SJ. (1995). Análise de Solo, Plantas e outros materiais. 2a Edição rev e amp. Porto Alegre-RS: Departamento de Solos, UFRGS

VANDEGEER, R. K., ZHAO, C., CIBILS-STEWART, X., WUHRER, R., HALL, C. R., HARTLEY, S. E., ... AND JOHNSON, S. N. (2021). Silicon deposition on guard cells increases stomatal sensitivity as mediated by K⁺ efflux and consequently reduces stomatal conductance. *Physiologia Plantarum*, 171(3), 358-370. doi:10.1111/ppl.13202

WANG, Y., ZHANG, B., JIANG, D., AND CHEN, G. (2019). Silicon improves photosynthetic performance by optimizing thylakoid membrane protein components in rice under drought stress. *Environmental and Experimental Botany*, 158, 117-124. doi:10.1016/j.envexpbot.2018.11.022

WELLBURN, A. R. (1994). The spectral determination of chlorophylls a and b, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. *Journal of plant physiology*, 144(3), 307-313.

WERNER, C., CORREIA, O., AND BEYSCHLAG, W. (2002). Characteristic patterns of chronic and dynamic photoinhibition of different functional groups in a Mediterranean ecosystem. *Functional Plant Biology*, 29(8), 999-1011. doi:10.1071/PP01143

YU, S., YU, L., HOU, Y., ZHANG, Y., GUO, W., AND XUE, Y. (2019). Contrasting effects of NaCl and NaHCO₃ stresses on seed germination, seedling growth, photosynthesis, and osmoregulators of the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Agronomy*, 9(8), 409.

ZANANDREA, I., DE LIMA NASSI, F., TURCHETTO, A. C., BRAGA, E. J. B., PETERS, J. A., AND BACARIN, M. A. (2006). Efeito da salinidade sob parâmetros de fluorescência em *Phaseolus vulgaris* L. *Current Agricultural Science and Technology*, 12(2).

ZANETTI, L. V., MILANEZ, C. R. D., GAMA, V. N., AGUILAR, M. A. G., SOUZA, C. A. S., CAMPOSTRINI, E., ... AND FIGUEIREDO, F. A. M. M. D. A. (2016). Leaf application of silicon in young cacao plants subjected to water deficit. *Pesquisa agropecuária brasileira*, 51, 215-223. doi:10.1590/S0100-204X2016000300003

ZHANG, M., ZHANG, S., YE, M., JIANG, L., VALLEJOS, C. E., AND WU, R. (2020). The genetic control of leaf allometry in the common bean, *Phaseolus vulgaris*. *BMC genetics*, v. 21, n. 1, p. 1-14. doi:10.1186/s12863-020-00838-2

5. CAPÍTULO II:

SILÍCIO E ÓXIDO NÍTRICO COMO ATENUADORES DO ESTRESSE SALINO EM ALFACE

RESUMO – Com o objetivo de verificar o efeito do silício (Si) e do óxido nítrico (NO) em plantas de alface (*Lactuca sativa* L. cv. Grandes Lagos 659) sob estresse salino por NaCl, foi conduzido experimento em casa de vegetação, em que as plantas foram cultivadas em vasos com solução nutritiva. As plantas, obtidas por meio de sementes, foram selecionadas quanto a uniformidade e transferidas para vasos com 4 L de solução nutritiva de Hoagland a 100% da força iônica com os tratamentos de Si. Aos 35 dias após a germinação foi induzido o estresse salino com a aplicação de 100 mmol L^{-1} de NaCl na solução nutritiva. Após 24 horas foi realizada a pulverização do NO e 24 horas depois foram realizadas as avaliações e coletas. O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso em esquema fatorial 4x2 sendo, quatro tratamentos (T1 – testemunha; T2 – presença de silício (Si) ($1,5 \text{ mmol L}^{-1}$); T3 – aplicação de óxido nítrico (NO) ($100 \mu\text{mol L}^{-1}$); T4 – presença de silício e aplicação de óxido nítrico (Si + NO) nas concentrações $1,5 \text{ mmol L}^{-1}$ e $100 \mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente, e duas condições (sem e com estresse salino) e com cinco repetições. A salinidade reduziu a transpiração foliar de $10 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ para $1,6 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ e a aplicação de Si + NO aumentou a transpiração foliar para $3,2 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, nas plantas sob estresse salino. Com a salinidade também houve redução de 43% da fotossíntese líquida, aumento de 47% da peroxidação de lipídios e aumento de 10% e 47% da atividade das enzimas SOD e POX, respectivamente. A aplicação isolada de Si aumentou em 49% a atividade da enzima NR e reduziu em 16% e 23% a atividade das enzimas POX e SOD, respectivamente. Já a aplicação conjunta de Si + NO reduziu a F_M em 5,6% e reduziu em 35% o teor de sódio nas plantas sob estresse salino.

Palavras-chave: Salinidade, fluorescência, silicato de potássio, nitroprussiato de sódio

SILICON AND NITRIC OXIDE AS SALINE STRESS ATTENUATORS IN LETTUCE

ABSTRACT – In order to verify the effect of silicon (Si) and nitric oxide (NO) on lettuce plants (*Lactuca sativa* L. cv. Grandes Lagos 659) under saline stress by NaCl, an experiment was carried out in a greenhouse, in which the plants were grown in pots with nutrient solution. The plants, obtained from seeds, were selected for uniformity, and transferred to pots with 4 L of Hoagland's nutrient solution at 100% ionic strength with Si treatments. At 35 days after germination, saline stress was induced with the application of 100 mmol L⁻¹ of NaCl in the nutrient solution. After 24 hours, nitric oxide (NO) was sprayed and 24 hours later, evaluations and collections were performed. The experimental design was completely randomized in a 4x2 factorial scheme, with four treatments (T1 - control; T2 - presence of silicon (Si) (1,5 mmol L⁻¹); T3 - application of nitric oxide (NO) (100 μmol L⁻¹); T4 - presence of silicon and application of nitric oxide (Si + NO) at concentrations of 1,5 mmol L⁻¹ and 100 μmol L⁻¹, respectively, and two conditions (without and with osmotic stress) and with five repetitions. Salinity reduced leaf transpiration from 10 mmol m⁻² s⁻¹ to 1.6 mmol m⁻² s⁻¹ and the application of Si + NO increased leaf transpiration to 3.2 mmol m⁻² s⁻¹ in plants under salt stress. With salinity, there was also a 43% reduction in net photosynthesis, a 47% increase in lipid peroxidation and a 10% and 47% increase in the activity of SOD and POX enzymes, respectively. The isolated application of Si increased the activity of the NR enzyme by 49% and reduced the activity of the POX and SOD enzymes by 16% and 23%, respectively. The joint application of Si + NO reduced the F_M by 5.6% and reduced the sodium content by 35% in plants under saline stress.

Key words: Salinity, fluorescence, potassium silicate, sodium nitroprusside.

5.1. INTRODUÇÃO

Mundialmente, um dos maiores fatores de estresse abiótico que pode limitar o crescimento e a produtividade das culturas é a salinidade do solo (Ahmad *et al.*, 2019). Atualmente, estima-se que cerca de 1,13 bilhões de hectares são afetados por sais (Hossain, 2019) e, além disso, estima-se que até meados do século XXI, metade das terras férteis serão afetadas pela salinidade (Shahid *et al.*, 2018). Ao longo dos anos a salinidade tem causado preocupação com relação a redução das áreas agricultáveis e a segurança alimentar, aumentando problemas relacionados a conflitos por recursos naturais (Sahab *et al.*, 2021).

Segundo Richards (1954), os solos salinos são caracterizados por terem condutividade elétrica da solução acima de 4 dS m^{-1} . A salinidade causa desbalanço iônico, estresse osmótico e deficiência nutricional, que leva a estresse oxidativo nas plantas (Arif *et al.*, 2020). Além disso, a salinidade pode aumentar a absorção de elementos como o sódio (Na^+) e o cloro (Cl^-), que têm efeitos negativos na fisiologia, o que afeta o crescimento das plantas, produção de biomassa, fotossíntese, eficiência do uso da água e leva a redução da produtividade agrícola (Shahid *et al.*, 2018; Khan *et al.*, 2019).

Diversas estratégias têm sido utilizadas para aumentar a tolerância das plantas ao estresse salino, visando alcançar a segurança alimentar nas diferentes regiões do mundo (Zulfiqar *et al.*, 2022). O silício (Si) é considerado um elemento não essencial, que apresenta efeitos protetivos nas plantas contra os efeitos deletérios de estresses abióticos (Mir *et al.*, 2022). Em condições salinas, o Si tem sido apontado como grande indutor de resistência às plantas, pois proporciona proteção ao aparato fotossintético, reduz os efeitos deletérios das formas reativas de oxigênio na planta, além de aumentar a concentração de compostos naturais de defesa do vegetal (Feng *et al.*, 2009; Moussa, 2006; Parveen & Ashraf, 2010; Rady *et al.*, 2019; Yu *et al.*, 2019; Taïbi *et al.*, 2021). O Si é capaz de modificar o processo de trocas gasosas, reduzir a atividade das espécies reativas de oxigênio e aumentar os níveis de clorofila, o que por consequência aumenta também a fotossíntese. No entanto, essas melhorias dependem da espécie da planta, do nível de estresse salino e dos níveis de Si aplicados (Khan *et al.*, 2019).

O óxido nítrico (NO) é uma molécula gasosa, reconhecida por ter papel importante na sinalização das plantas, nos processos de crescimento e desenvolvimento e na resposta a vários estresses ambientais, incluindo a salinidade (Ali *et al.*, 2017; Ren *et al.*, 2020).

A redução dos efeitos deletérios da salinidade pelo NO foi identificada em diversas plantas pelo aumento da atividade de mecanismos antioxidantes, manutenção das relações hídricas e do balanço iônico, modulação do fechamento estomático e manutenção da fotossíntese (Ali *et al.*, 2017; Ren *et al.*, 2020; Santisree *et al.*, 2015). Em plantas sob condições de estresse, o NO atua como molécula sinalizadora, promovendo mecanismos de defesa, alterando a expressão de genes e induzindo a síntese de enzimas antioxidantes (Singh *et al.*, 2019).

Alface (*Lactuca sativa* L.) é a hortaliça folhosa mais cultivada e consumida no mundo, sendo rica em macro e micronutrientes, antioxidantes e polifenóis (Shatilov *et al.*, 2019; Naressi *et al.*, 2022). O último dado oficial divulgado pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), apurou que em 2017 o Brasil colheu 671,5 mil toneladas de alface em 86,9 mil hectares, movimentando 1,7 bilhões de reais (Kist *et al.*, 2022). A alface é considerada uma planta moderadamente sensível à salinidade, com redução da produtividade de 13% a cada dS m^{-1} acima de $1,3 \text{ dS m}^{-1}$ (Grieve *et al.*, 2012).

Assim, na presente pesquisa estudou-se a hipótese de haver efeito do Si e do NO sobre a concentração de pigmentos fotossintéticos, fluorescência de clorofila, parâmetros fotossintéticos, enzimas antioxidativas, peroxidação de lipídeos e nutrição de plantas de alface (*Lactuca sativa* L.) sob estresse salino provocado por NaCl.

5.2. METODOLOGIA

O experimento foi conduzido em casa de vegetação, em que foi realizado o cultivo de alface (*Lactuca sativa* L.) cv. Grandes Lagos 659, em vasos contendo 4 L de solução nutritiva de Hoagland (Hoagland & Arnon, 1950) e os tratamentos, com aeração constante.

As sementes foram semeadas em bandejas que continham espuma fenólica umedecida com solução de $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ a $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$. Após a emissão da primeira folha definitiva as plantas foram colocadas em bandejas com solução nutritiva de Hoagland a 25% da concentração final. Posteriormente, a força iônica foi aumentada gradativamente a cada dois dias, para 50%, 75%, e 100%. Em seguida, as plantas foram selecionadas quanto a uniformidade e transplantadas individualmente para cada recipiente contendo 4 L de solução nutritiva com os tratamentos. A cada dois dias foi

medido o pH e a condutividade elétrica e a água foi repostada diariamente, mantendo-se o volume de 4 L por vaso.

O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso em esquema fatorial 4x2 sendo, quatro tratamentos (T1 – testemunha; T2 – presença de silício (Si); T3 – aplicação de óxido nítrico (NO); T4 – presença de silício e aplicação de óxido nítrico (Si + NO) e duas condições (sem e com estresse osmótico) e com cinco repetições. Como fonte de Si foi utilizado o silicato de potássio, na concentração de 1,5 mmol L⁻¹ de Si e como fonte de ON, foi utilizado o nitroprussiato de sódio-SNP (100 μmol L⁻¹). Na solução que continha silicato de potássio, foi feito o equilíbrio da quantidade de potássio, pela redução da quantidade de nitrato de potássio e reposição do nitrogênio com a adição de ácido nítrico.

O Si estava presente na solução nutritiva dos vasos desde o início e o NO foi pulverizado sobre as plantas posteriormente. Aos 35 dias após a germinação foi induzido ao estresse salino com a aplicação de 100 mmol L⁻¹ de NaCl na solução nutritiva. Após 24 horas foi realizada a pulverização de 50 mL de SNP (100 μmol L⁻¹) e 24 horas depois foram realizadas as avaliações e coletas.

Na primeira folha completamente expandida de cada planta foram obtidos os índices de clorofila, flavonoides e índice de equilíbrio de nitrogênio (NBI), com o aparelho Dualex, os parâmetros de fluorescência da clorofila com auxílio de fluorômetro portátil FluorPEN 100 FP100® (Roháček, 2002) e estimado os índices de fluorescência da cinética OJIP da curva de Kurtsky (Strasser *et al.*, 2000).

Os parâmetros de fluorescência são: (**F₀**): a intensidade da fluorescência inicial no momento de ativação dos pigmentos fotossintéticos do complexo antena; (**F_J**): a intensidade da fluorescência a 2 milissegundos, tempo esse necessário para o início da liberação de O₂ pela reação de Hill; (**F_I**): a intensidade da fluorescência a 60 milissegundos, tempo necessário para a transferência de energia para o *pool* de plastoquinonas; (**F_M**): a intensidade da fluorescência máxima em que todos os centros de reação do PSII estão abertos; (**F_v**): fluorescência variável; (**M₀**): taxa líquida do fechamento dos centros de reação do fotossistema II; (**V_J**): fluorescência variável relativa a 2 ms; (**V_I**): Fluorescência variável relativa a 60 ms; (**F_M/F₀**): produção quântica basal dos processos não fotoquímicos no fotossistema II; (**F_v/F₀**): eficiência quântica potencial do PSII; (**F_v/F_m**): Rendimento quântico potencial; (**AREA**): a área sobre a curva de fluorescência (F₀) e (F_M), corresponde à quantidade de aceptores de elétrons (Murata *et al.*, 1966); (**FIX AREA**): área total acima da cinética OJIP – entre F40μ e F1s (**S_M**): a

medida de energia necessária para fechar todos os centros de reação do PSII; (**Ss**): quantidade de energia necessária para reduzir a Q_a uma única vez e (**N**): o número de *turn-over*, ou seja, quantas vezes a Q_a foi reduzida em relação ao tempo zero (t_0) (Strasser *et al.*, 2000).

Os índices relativos à Eficiência Quântica (ϕ) obtida pelo aparelho FluorPEN FP100 são: (**ϕ_{P0}**): eficiência quântica do PSII, ou seja, dissipação causada pela utilização da energia para a redução do NADP; (**ϕ_{NP0}**): eficiência não quântica que representa a energia dissipada na forma de calor, fluorescência ou para outros sistemas; (**ψ_0**): eficiência pela qual a energia fixada move-se pela Q_a para a cadeia transportadora de elétrons; (**ϕ_{E0}**): eficiência que um *photon* absorvido moverá um elétron pela cadeia transportadora de elétrons; (**ϕ_{Pav}**): rendimento quântico médio de reações fotoquímicas primárias e (**ΠABS**): Índice de desempenho (Strasser *et al.*, 2000).

Os Fluxos Específicos de Energia são: (**ABS**): fluxo de *photons* absorvidos pelos pigmentos; (**DI**): fluxo de *photons* dissipados na forma de calor, de fluorescência ou para outros sistemas; (**TR₀**): fluxo de energia preso no centro de reação do PSII para o processo fotoquímico e (**ET₀**): fluxo de energia correspondente ao transporte além da Q_a (Strasser *et al.*, 2000).

Em folhas completamente expandidas foram coletados 10 discos de 0,5 cm de diâmetro para a determinação do conteúdo relativo de água (Catsky, 1974). A determinação do potencial osmótico foi realizada em amostras de folhas previamente congeladas a -20°C , após a coleta. Os valores de potencial osmótico foram obtidos mediante o uso da equação de Van't Hoff (Souza *et al.*, 2012), e os resultados convertidos para MPa.

Foi utilizado um analisador de gás por infravermelho (IRGA) para a determinação da transpiração foliar (E), fotossíntese líquida (A), concentração interna de carbono (C_i), taxa de transporte de elétrons (ETR), relação da fotossíntese líquida por carbono interno (A/C_i), relação da fotossíntese líquida por transpiração foliar (A/E), condutância estomática (g_s) e eficiência quântica efetiva (Y).

Folhas completamente expandidas foram coletadas, colocadas em nitrogênio líquido e posteriormente armazenadas em freezer a -80°C , para a determinação da peroxidação de lipídios, medida pelo conteúdo de malondialdeído (MDA) e atividade das enzimas nitrato redutase (NR), ascorbato peroxidase (APX), catalase (CAT), peroxidase (POX) e superóxido dismutase (SOD). O conteúdo de malondialdeído foi determinado pela reação do ácido tiobarbitúrico, segundo método descrito por Du e Bramlage (1992).

A atividade da enzima nitrato redutase foi determinada de acordo com a metodologia descrita por Hageman e Reed (1980). A atividade da enzima ascorbato peroxidase foi determinada pela taxa de oxidação do ascorbato a 290 nm (Nakamo e

Asada, 1981). A atividade da peroxidase foi determinada pela taxa de produção de purpurogalina a 420 nm, com um coeficiente de extinção molar de $2,47 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ (Chance e Maehley, 1955). A atividade da enzima catalase foi determinada pela decomposição de H_2O_2 no primeiro minuto de reação a 240 nm, utilizando o coeficiente de extinção molar de $36 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ (Havir e Mchale, 1987). A atividade da superóxido dismutase foi determinada pela inibição da fotorredução do p-nitro tetrazólio a 560 nm (Giannopolitis e Ries, 1977).

As folhas restantes foram lavadas em água destilada e secas em estufa de circulação forçada de ar a $65\text{-}70^\circ\text{C}$, até peso constante. Em seguida, o material foi moído em moinho tipo Willey e destinado a análise química de tecido vegetal para determinação dos teores foliares de silício, nitrogênio total, mineral amoniacal, nitrato mais nitrito, cálcio, magnésio e potássio.

Os teores de Si foram extraídos via digestão com H_2O_2 e NaOH em autoclave (1 atm) por 1 hora e determinação colorimétrica (Elliott and Snyder 1991). Os teores de nitrogênio total foram extraídos via digestão sulfúrica e destilação em destilador micro-Kjeldahl e determinados por titulometria com solução de HCl $0,001 \text{ molc L}^{-1}$ (Malavolta et al. 1997). O nitrogênio nítrico (nitrato + nitrito) e amoniacal foram extraídos em 1,0 g de massa seca com 15 mL de KCl 1 mol L^{-1} e destilação sequencial, em destilador micro-Kjeldahl, com 0,2 g de MgO calcinado para obtenção do nitrogênio amoniacal, seguido da adição de 0,2 g de liga de Devarda no mesmo extrato para extração sequencial e obtenção do nitrogênio nítrico (nitrato + nitrito). Após, foram realizadas as determinações do nitrogênio amoniacal e nítrico por titulometria com H_2SO_4 $0,0025 \text{ molc L}^{-1}$ (Tedesco et al., 1995). Os teores foliares de cálcio, magnésio e potássio foram determinados de acordo com a metodologia descrita por Malavolta (1997).

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e teste de média (t LSD 15% de probabilidade) com o auxílio do programa estatístico R (R CORE TEAM 2022).

5.3. RESULTADOS

A fluorescência inicial (F_0), a máxima (F_M) e a fluorescência que ocorre no mesmo momento que se inicia a liberação de O_2 pela reação de Hill (F_J) (Strasser *et al.*, 2000) foram menores nas plantas sob o estresse (Figura 1 A, B e C, respectivamente). Os tratamentos de indução de resistência alteraram a F_M e F_J (Figuras 1 B e C, respectivamente).

A F_M foi menor nas plantas que receberam a aplicação do Si + NO (Figura 1 B). A F_J teve interação entre o estresse e os tratamentos de indução. Nas plantas sob o estresse a aplicação de Si + NO proporcionou redução dos valores da F_J , assemelhando-se às plantas do tratamento Controle (Figura 1 C). Nas plantas sem estresse pelo NaCl, todos os tratamentos de indução de resistência (Si, NO e Si + NO) obtiveram os menores valores (Figura 1 C).

A fluorescência variável (F_V), que representa a amplitude da fluorescência pela diferença entre a F_M e F_0 , obteve o mesmo comportamento da F_M . Houve efeito isolado dos tratamentos, e as plantas sob o estresse salino e as que receberam os tratamentos de indução com Si + NO obtiveram os menores valores (Figura 1 D).

A amplitude da fluorescência a 2 (V_J) e a 60 (V_I) milissegundos, alteraram somente com o estresse tendo os menores valores nas plantas sob estresse pelo NaCl (Figuras 1 E e F, respectivamente).

A produção quântica basal dos processos não fotoquímicos no fotossistema II (F_M/F_0) e a eficiência quântica potencial do fotossistema II (F_V/F_0) foram maiores nas plantas sob o estresse pelo NaCl (Figuras 1 G e H, respectivamente).

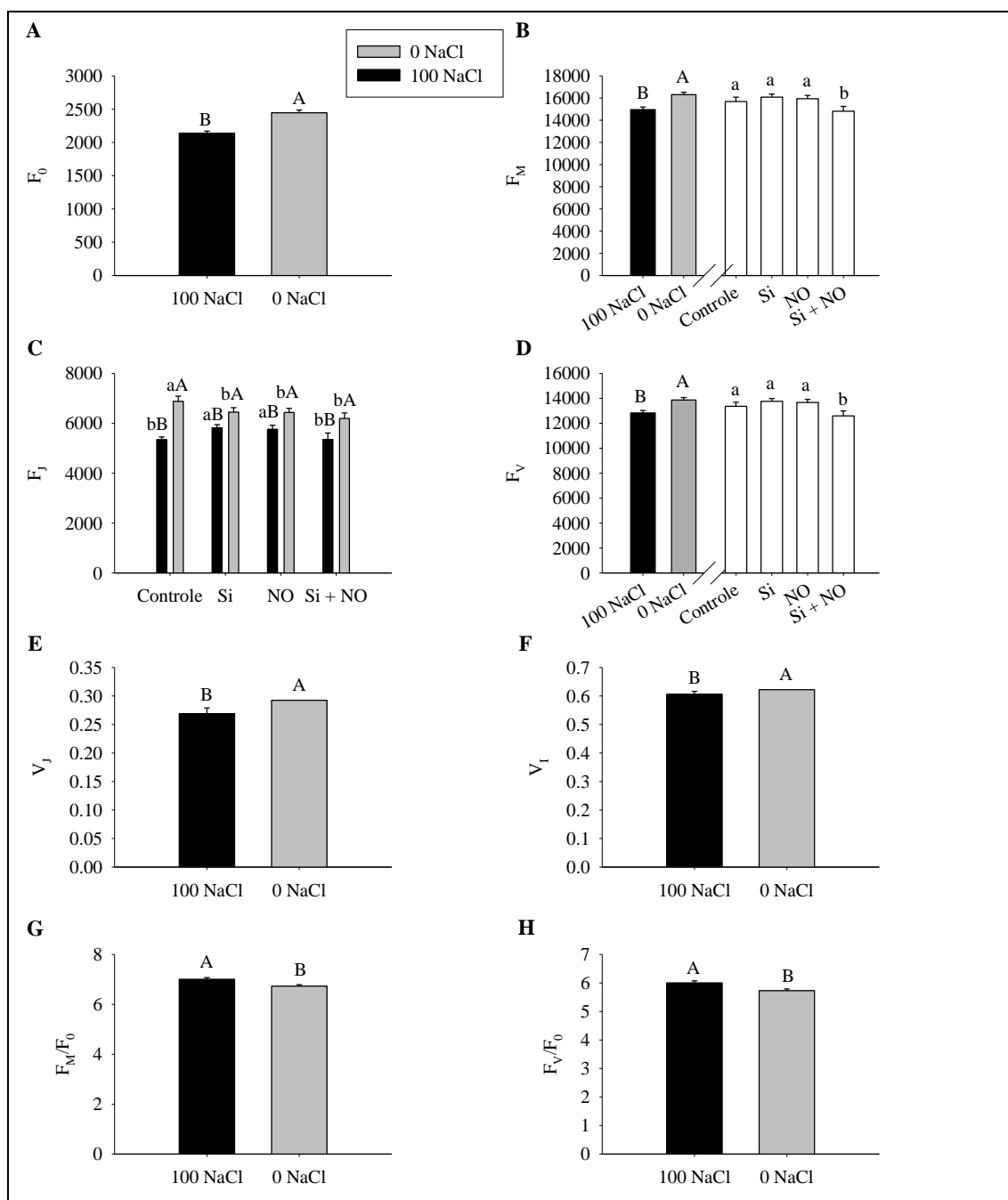


Figura 1. Parâmetros de fluorescência da clorofila *a*: inicial (F_0) (A), máxima (F_M) (B), a 2 milissegundos (F_j) (C), variável (F_V) (D), variável relativa a 2 milissegundos (V_j) (E), variável relativa a 60 milissegundos (V_i) (F), relação F_M/F_0 (G) e relação F_V/F_0 (H). Letras maiúsculas distintas diferem os tratamentos com e sem estresse por NaCl, dentro de cada tratamento de indução de resistência. Letras minúsculas distintas diferem os tratamentos de indução de resistência dentro de cada nível de tratamento de estresse por NaCl, pelo teste t LSD (15% de probabilidade).

A taxa líquida de fechamento dos centros de reação do fotossistema II (M_o), que é um indicativo da ultraestrutura do cloroplasto, a quantidade total de aceptores (AREA), a quantidade de energia necessária para fechar todos os centros de reação do fotossistema II (S_M) e quantas vezes a quinona *a* foi reduzida em relação ao tempo zero, ou *turn-over* da quinona *a* (N) foram menores nas plantas sob estresse (Figuras 2 A, B, D e F,

respectivamente). A quantidade de energia necessária para reduzir a quinona *a* uma única vez (S_S) foi menor nas plantas sem o estresse (Figura 2 E).

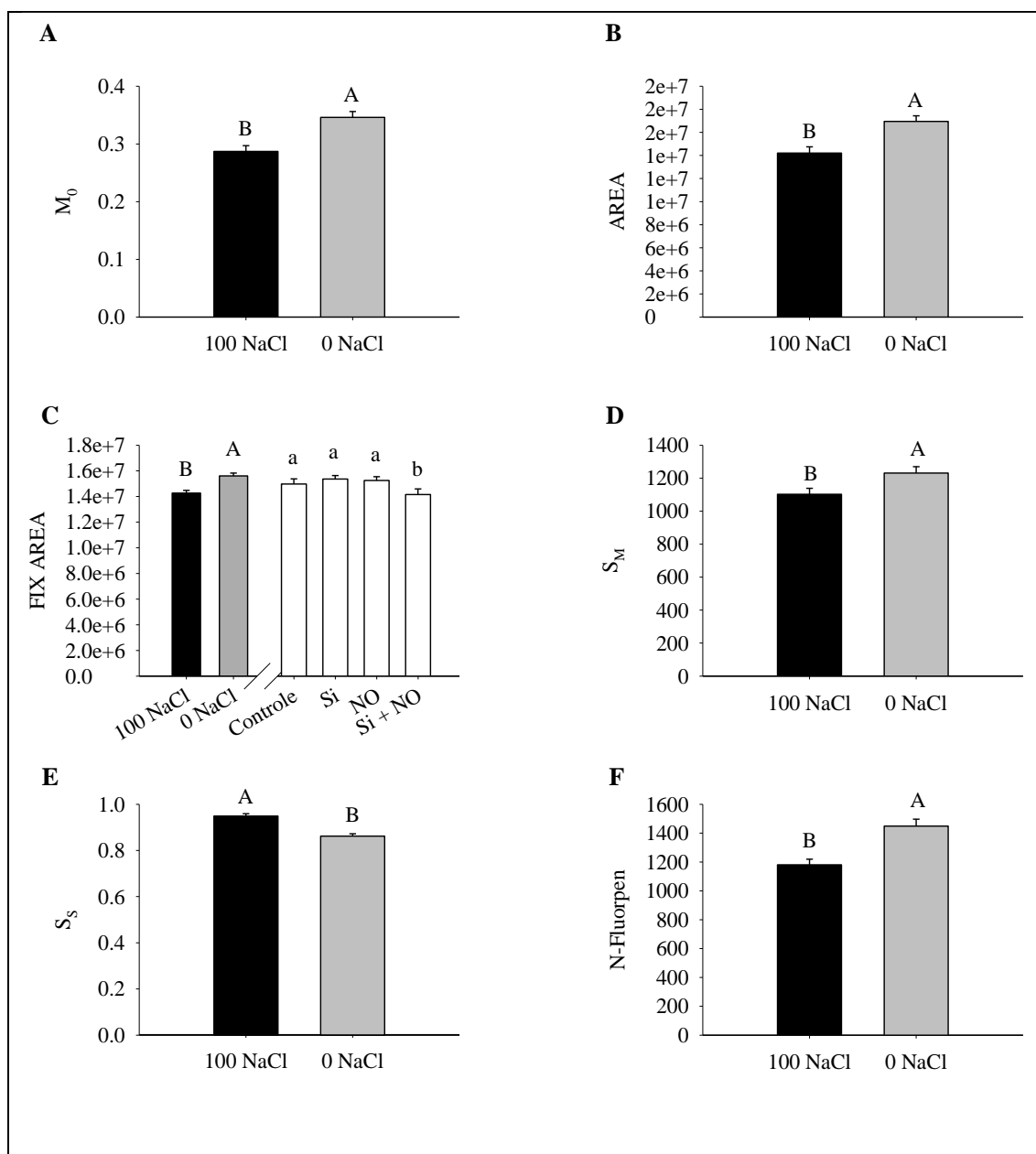


Figura 2. Parâmetros de fluorescência da clorofila *a*: taxa líquida do fechamento dos centros de reação do fotossistema II (M_0) (A), quantidade de aceptores de elétrons (AREA) (B), área total acima da cinética OJIP (FIX AREA) (C), quantidade de energia necessária para fechar todos os centros de reação do PSII (S_M) (D), quantidade de energia necessária para reduzir a Quinona *a* uma única vez (S_S) (E) e quantas vezes a Quinona *a* foi reduzida em relação ao tempo zero (N-Fluorpen) (F). Letras maiúsculas distintas diferem os tratamentos com e sem estresse por NaCl, dentro de cada tratamento de indução de resistência. Letras minúsculas distintas diferem os tratamentos de indução de resistência dentro de cada nível de tratamento de estresse por NaCl, pelo teste t LSD (15% de probabilidade).

A eficiência quântica do fotossistema II (Φ_{P0}), a probabilidade da energia de excitação mover um elétron após a quinona *a* (Ψ_0), a probabilidade de um fóton absorvido mover um elétron na cadeia transportados (Φ_{E0}) e o índice de desempenho do fotossistema

II (Φ_{ABS}) foram maiores nas plantas sob o estresse pelo NaCl (Figuras 3 A, B, C e E, respectivamente).

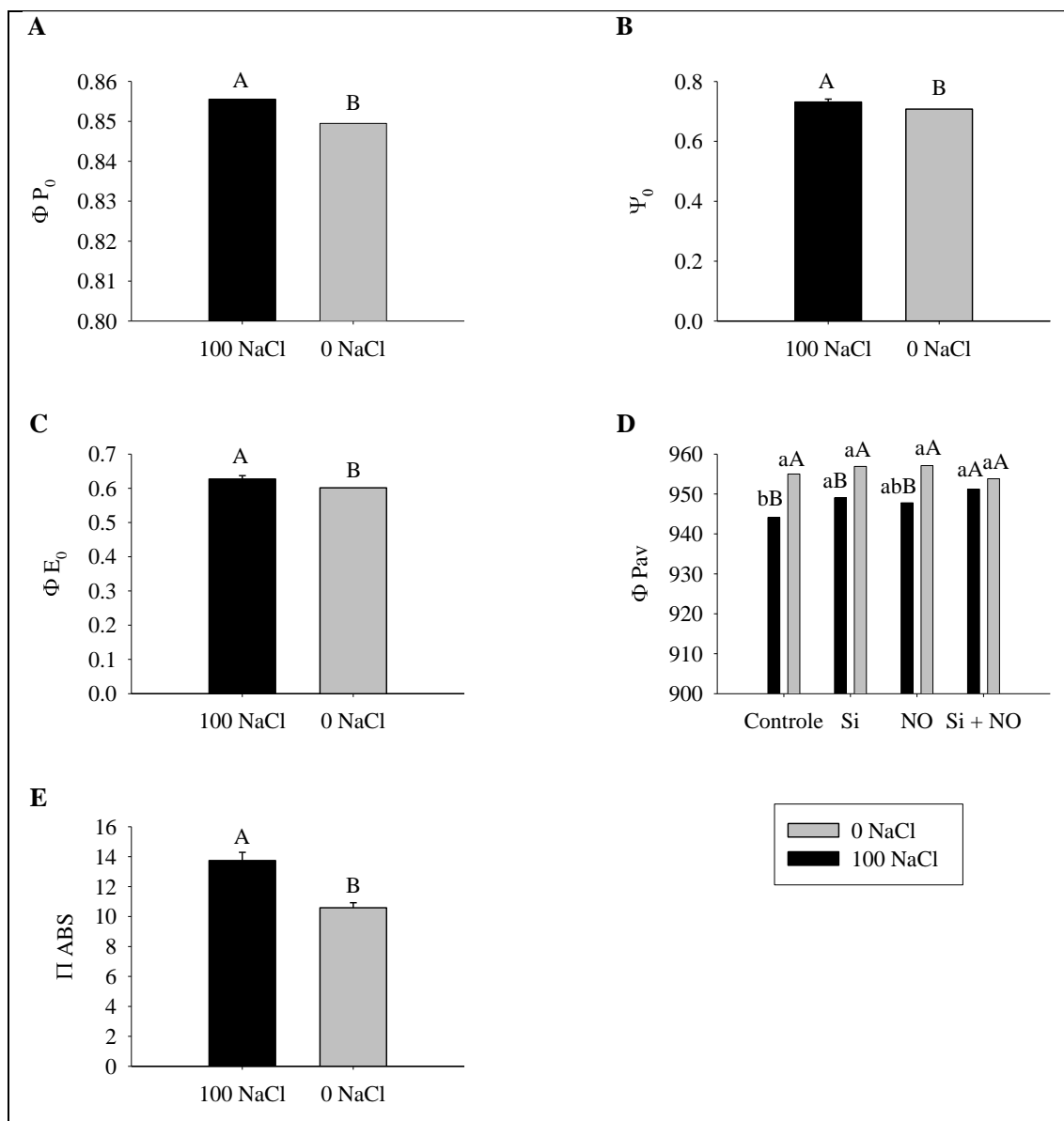


Figura 3. Parâmetros de fluorescência da clorofila *a*: eficiência máxima do fotossistema II (Φ_{P_0}) (A), probabilidade de a energia de excitação mover um elétron após a Quinona *a* (ψ_0) (B), probabilidade de a energia de um fóton absorvido mover um elétron após a Quinona *a* (Φ_{E_0}) (C), rendimento quântico médio de reações fotoquímicas primárias (Φ_{Pav}) (D) e índice de desempenho (Π_{ABS}) (E). Letras maiúsculas distintas diferem os tratamentos com e sem estresse por NaCl, dentro de cada tratamento de indução de resistência. Letras minúsculas distintas diferem os tratamentos de indução de resistência dentro de cada nível de tratamento de estresse por NaCl, pelo teste t LSD (15% de probabilidade).

O rendimento quântico médio de reações fotoquímicas primárias (Φ_{Pav}) alterou com a interação entre os tratamentos de estresse e de indução de resistência (Figura 3 D). Nas plantas sob estresse os tratamentos de indução de resistência com Si e Si+NO obtiveram os maiores valores, seguido das plantas que receberam a aplicação foliar de

fonte de NO e das plantas controle (Figura 3 D). Nas plantas sob estresse e que receberam a aplicação conjunta do Si + NO o aumento do Φ_{Pav} igualou aos obtidos nas plantas sem estresse (Figura 3 D). Nas plantas sem estresse não houve diferença entre as plantas Controle e com os tratamentos de indução a resistência (Figura 3 D).

O fluxo de fótons absorvidos pelos pigmentos (ABS), a taxa com que um fóton fixado reduz a quinona *a* (TR_0), o fluxo de elétrons correspondente ao transporte além da quinona *a* (ET_0) e o fluxo de fótons dissipado na forma de calor (DI_0) foram maiores nas plantas sem o estresse pelo NaCl (Figuras 4 A, B, C e D).

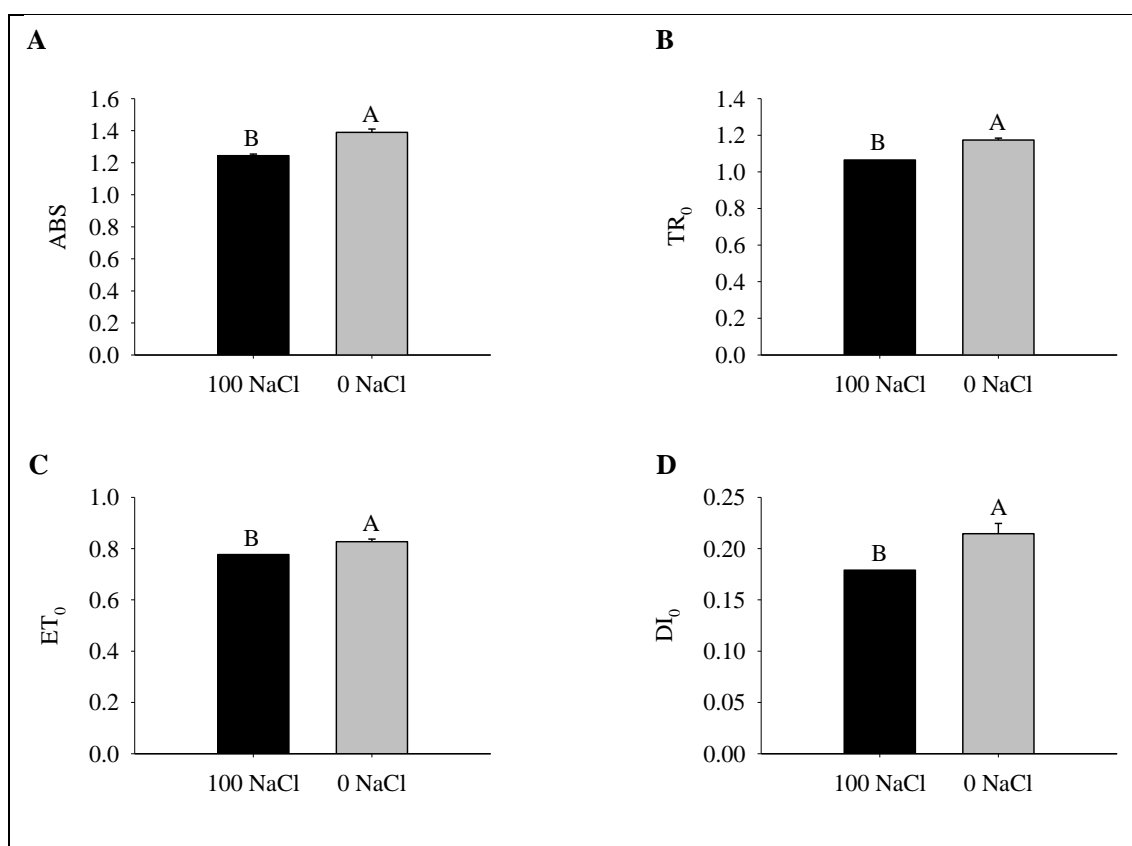


Figura 4. Parâmetros de fluorescência da clorofila *a*: fluxo de absorção (ABS) (A), fluxo de captura (TR_0) (B), fluxo de transporte de elétrons (ET_0) (C) e fluxo de dissipação (DI_0) (D). Letras maiúsculas distintas diferem os tratamentos com e sem estresse por NaCl, dentro de cada tratamento de indução de resistência, pelo teste t LSD (15% de probabilidade).

Os teores de clorofila total obtidos pela extração química (Chl Total) e os índices de clorofila total obtido pelo Dualex (Chl-Dualex) foram maiores nas plantas sob o estresse (Figuras 5 A e B). Os índices de flavonoides obtidos pelo Dualex, também foram maiores nas plantas sob estresse (Figura 5 D). As plantas com a aplicação isolada do Si na solução e de fonte de NO foliar obtiveram os menores valores de flavonoides (Figura 5 D).

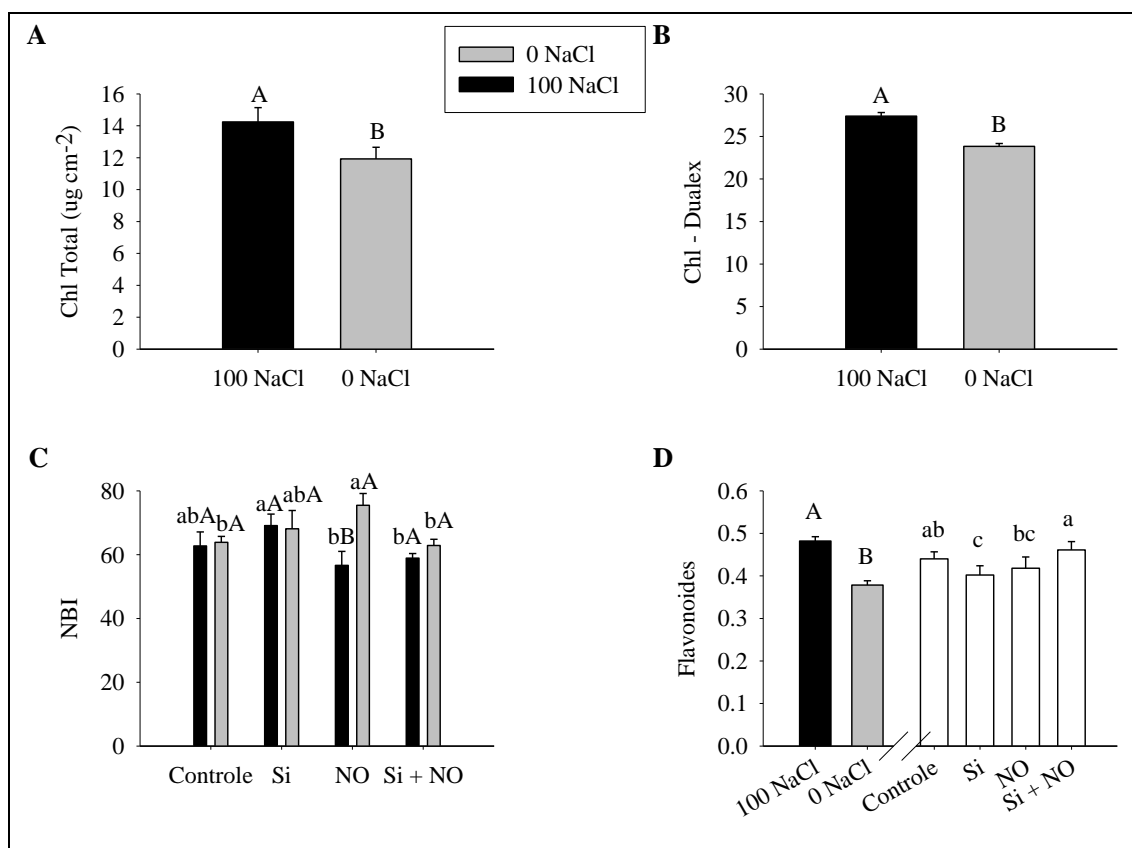


Figura 5. Índice de clorofila obtido pelo método DMSO (Chl Total (ug cm⁻²)) (A). Índices obtidos com o Dualex: Clorofila (Chl-Dualex) (B), índice de equilíbrio do nitrogênio (NBI) (C) e flavonoides (D). Letras maiúsculas distintas diferem os tratamentos com e sem estresse por NaCl, dentro de cada tratamento de indução de resistência. Letras minúsculas distintas diferem os tratamentos de indução de resistência dentro de cada nível de tratamento de estresse por NaCl, pelo teste t LSD (15% de probabilidade).

O índice de balanço de nitrogênio (NBI), que é uma medida indireta da eficiência do uso do nitrogênio (N) pelas plantas alterou com a interação entre os tratamentos do estresse e da indução de resistência (Figura 5 C). Nas plantas sob estresse os maiores valores foram obtidos nas plantas com somente o Si na solução, seguido das plantas controle, não diferindo dos valores obtidos nas plantas sem estresse (Figura 5 C). Nas plantas sem estresse os maiores valores de NBI foram obtidos quando houve a aplicação foliar isolada da fonte do NO, seguido da aplicação isolada do Si na solução, do controle e o menor valor obtido com a aplicação conjunta do Si + NO (Figura 5 D).

O potencial osmótico (PO) alterou apenas com o estresse salino, sendo que o PO foi mais negativo nas plantas cultivadas na presença de NaCl (Figura 6 A). O malondialdeído (MDA) variou com o estresse salino, no qual as plantas cultivadas na presença de NaCl apresentaram os maiores valores de MDA (Figura 6 B).

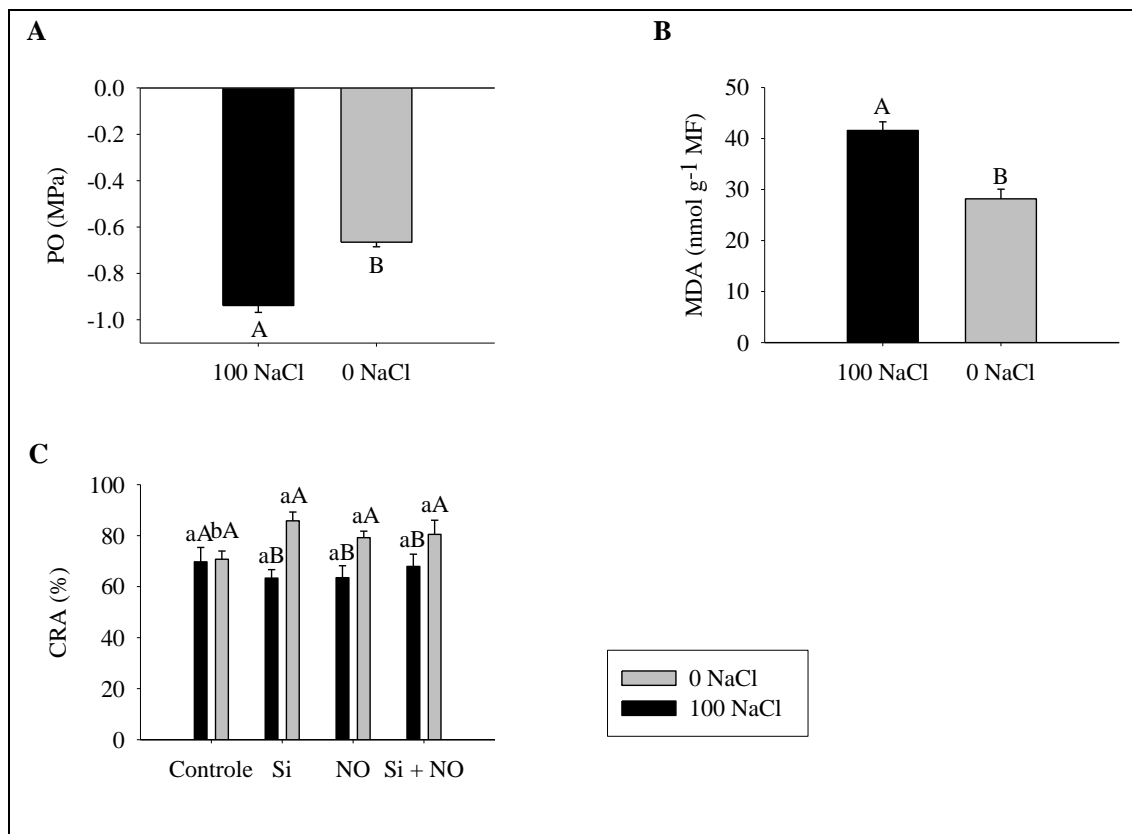


Figura 6. Potencial osmótico (PO (MPa)) (A), malondialdeído (MDA (nmol g⁻¹ MF)) (B) e conteúdo relativo de água (CRA) (C). Letras maiúsculas distintas diferem os tratamentos com e sem estresse por NaCl, dentro de cada tratamento de indução de resistência. Letras minúsculas distintas diferem os tratamentos de indução de resistência dentro de cada nível de tratamento de estresse por NaCl, pelo teste t LSD (15% de probabilidade).

O conteúdo relativo de água (CRA) variou com o estresse e a interação entre esse e os tratamentos de indução de resistência. No tratamento Controle, não houve diferença entre as plantas com e sem estresse salino (Figura 6 C). Nos tratamentos Si, NO e Si + NO as plantas sem estresse salino apresentaram valores maiores de CRA do que as plantas com estresse salino (Figura 6 C). Nas plantas cultivadas com NaCl, não houve diferença entre os tratamentos de indução. Nas plantas cultivadas sem NaCl, o tratamento Controle apresentou o menor valor de CRA, não havendo diferença entre os demais tratamentos (Figura 6 C).

A transpiração foliar (*E*) alterou com o estresse e a interação entre esse e os tratamentos de indução de resistência. As plantas cultivadas sob estresse salino apresentaram menores taxas de transpiração foliar (Figura 7 A). Nas plantas sob estresse salino, o tratamento Si + NO apresentou o maior valor de *E*, não diferindo dos tratamentos Si e NO, enquanto o tratamento Controle apresentou o menor valor, também não diferindo dos tratamentos Si e NO (Figura 7 A). Nas plantas cultivadas sem estresse salino, o

tratamento Controle apresentou o maior valor e não houve diferença entre os demais tratamentos (Figura 7 A).

A concentração interna de carbono (C_i) alterou com o estresse e com a interação desse com os tratamentos de indução de resistência. As plantas cultivadas com NaCl apresentaram valores menores de C_i do que as plantas sem NaCl (Figura 7 B). Nas plantas submetidas ao estresse salino, o tratamento NO apresentou o maior valor, não diferindo do tratamento Si + NO, enquanto o tratamento Controle apresentou o menor valor, não diferindo do tratamento Si (Figura 7 B). Nas plantas sem estresse salino, não houve diferença entre os tratamentos (Figura 7 B).

A fotossíntese líquida (A), a taxa de transporte de elétrons (ETR), a relação da fotossíntese líquida por carbono interno (A/C_i), a condutância estomática (g_s) e a eficiência quântica efetiva (Y) alteraram apenas com o estresse salino, no qual as plantas cultivadas com NaCl apresentaram valores menores que as plantas cultivadas sem NaCl, para todas as variáveis (Figuras 7 C, D, E, G e H).

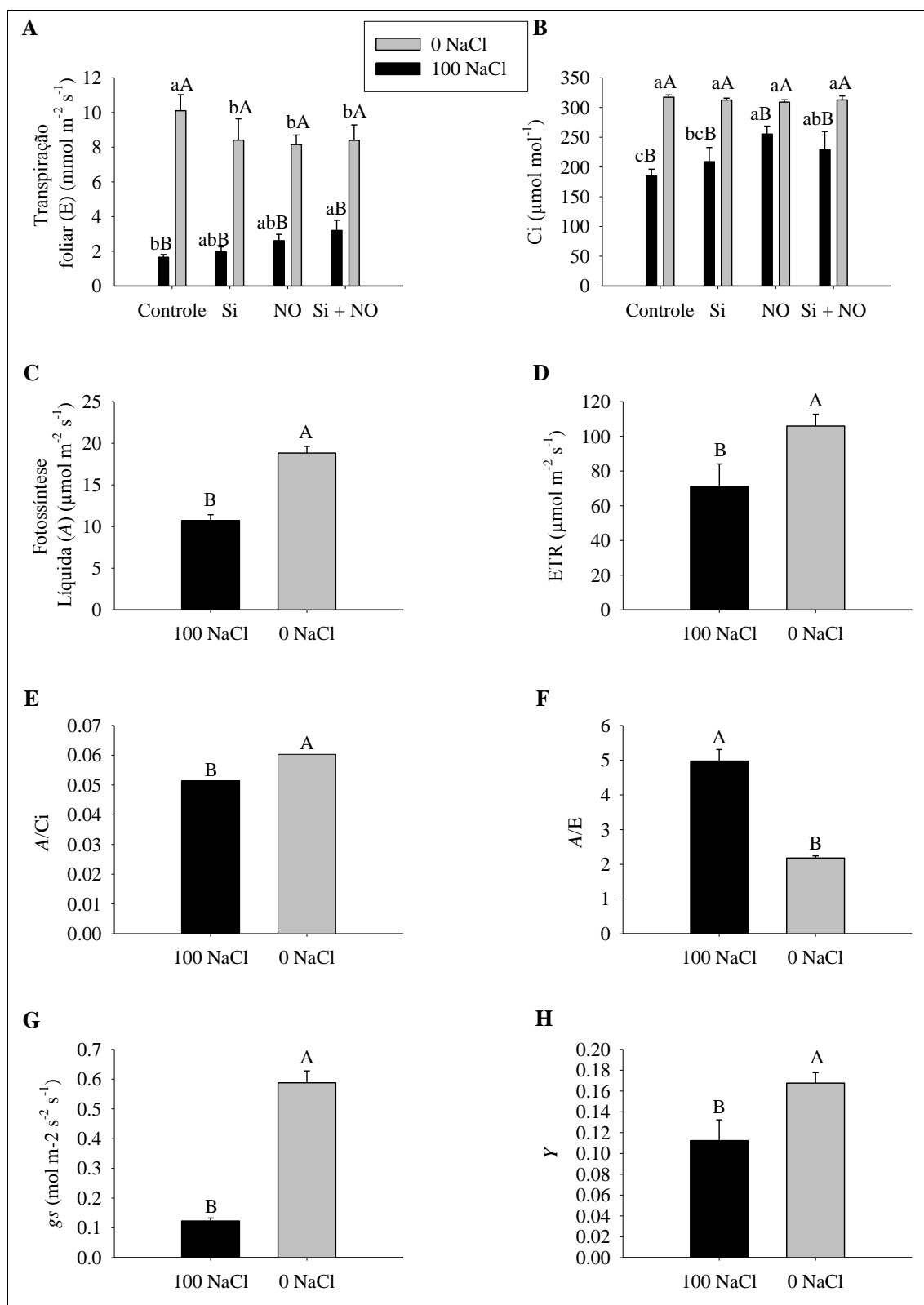


Figura 7. Índices obtidos com o IRGA: transpiração foliar (E) (A), concentração interna de carbono (Ci) (B), fotossíntese líquida (A) (C), taxa de transporte de elétrons (ETR) (D), relação da fotossíntese líquida por carbono interno (A/Ci) (E), relação da fotossíntese líquida por transpiração foliar (A/E) (F), condutância estomática (g_s) (G) e eficiência quântica efetiva (Y) (H). Letras maiúsculas distintas diferem os tratamentos com e sem estresse por NaCl, dentro de cada tratamento de indução de resistência. Letras minúsculas distintas diferem os tratamentos de indução de resistência dentro de cada nível de tratamento de estresse por NaCl, pelo teste t LSD (15% de probabilidade).

A relação da fotossíntese líquida por transpiração foliar (A/E) alterou apenas com o estresse salino, no qual as plantas cultivadas com NaCl apresentaram maior valor de A/E do que as plantas cultivadas sem NaCl (Figura 7 F).

A atividade da enzima ascorbato peroxidase (APX) variou com o estresse salino, no qual as plantas cultivadas na presença de NaCl apresentaram maior atividade da APX do que as plantas cultivadas sem NaCl (Figura 8 A).

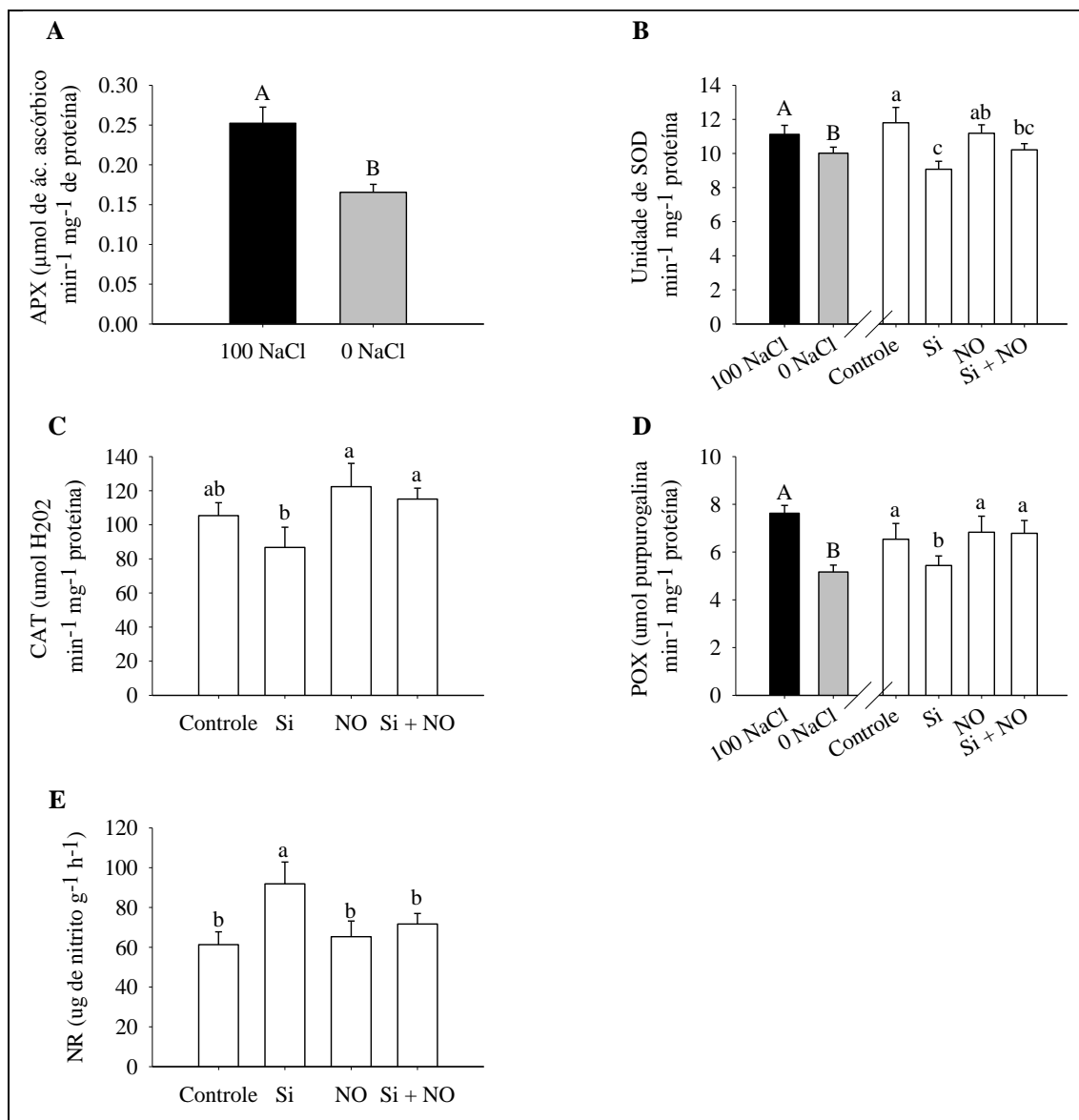


Figura 8. Atividade das enzimas ascorbato peroxidase - APX ($\mu\text{mol de \acute{a}cido asc\acute{o}rbico \text{ min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$ de prote\acute{i}na) (A), super\acute{o}xido dismutase (Unidade de SOD $\text{min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$ prote\acute{i}na) (B), catalase - CAT ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$ prote\acute{i}na) (C), peroxidase - POX ($\mu\text{mol purpurogalina \text{ min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$ prote\acute{i}na) (D) e nitrato redutase - NR ($\mu\text{g de n\acute{i}trito \text{ g}^{-1} \text{ h}^{-1}$) (E). Letras mai\ufasculas distintas diferem os tratamentos com e sem estresse por NaCl, dentro de cada tratamento de indu\c\c{a}o de resist\ec{e}ncia. Letras min\ufasculas distintas diferem os tratamentos de indu\c\c{a}o de resist\ec{e}ncia dentro de cada n\ufascvel de tratamento de estresse por NaCl, pelo teste t LSD (15% de probabilidade).

A atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) variou com o estresse salino e com os tratamentos de indução de resistência. As plantas cultivadas com NaCl apresentaram maior atividade da enzima SOD do que as plantas cultivadas sem NaCl (Figura 8 B). O tratamento Controle apresentou a maior atividade da SOD, não diferenciando do tratamento NO (Figura 8 B). O tratamento Si apresentou a menor atividade da SOD, não diferenciando do tratamento Si + NO (Figura 8 B).

A atividade da enzima catalase (CAT) variou com a indução de resistência, na qual os tratamentos NO e Si + NO apresentaram valores maiores que o tratamento Si, não diferenciando do tratamento Controle (Figura 8 C).

A atividade da enzima peroxidase (POX) variou com o estresse salino e com os tratamentos de indução a resistência. As plantas cultivadas com NaCl apresentaram maior atividade da POX em relação às plantas cultivadas sem NaCl (Figura 8 D). O tratamento de indução de resistência com a aplicação isolada de Si apresentou a menor atividade da enzima POX e os demais tratamentos não diferiram entre si (Figura 8 D).

A atividade da enzima nitrato redutase (NR) variou apenas com os tratamentos de indução de resistência, em que o tratamento com aplicação isolada de Si apresentou o maior valor, não havendo diferença entre os demais tratamentos (Figura 8 E).

Os teores foliares de nitrogênio total (N-Total) alteraram com o estresse e a interação entre esse e os tratamentos de indução de resistência. As plantas cultivadas sem estresse salino obtiveram os maiores teores de N-Total foliar quando receberam a aplicação de NO e Si + NO (Figura 9 A). Nas plantas cultivadas com NaCl na solução, não houve diferença entre os tratamentos de indução de resistência (Figura 9 A). Nas plantas tratadas com NO e Si + NO, os teores de N-Total foram maiores nas plantas sem estresse salino (Figura 9 A).

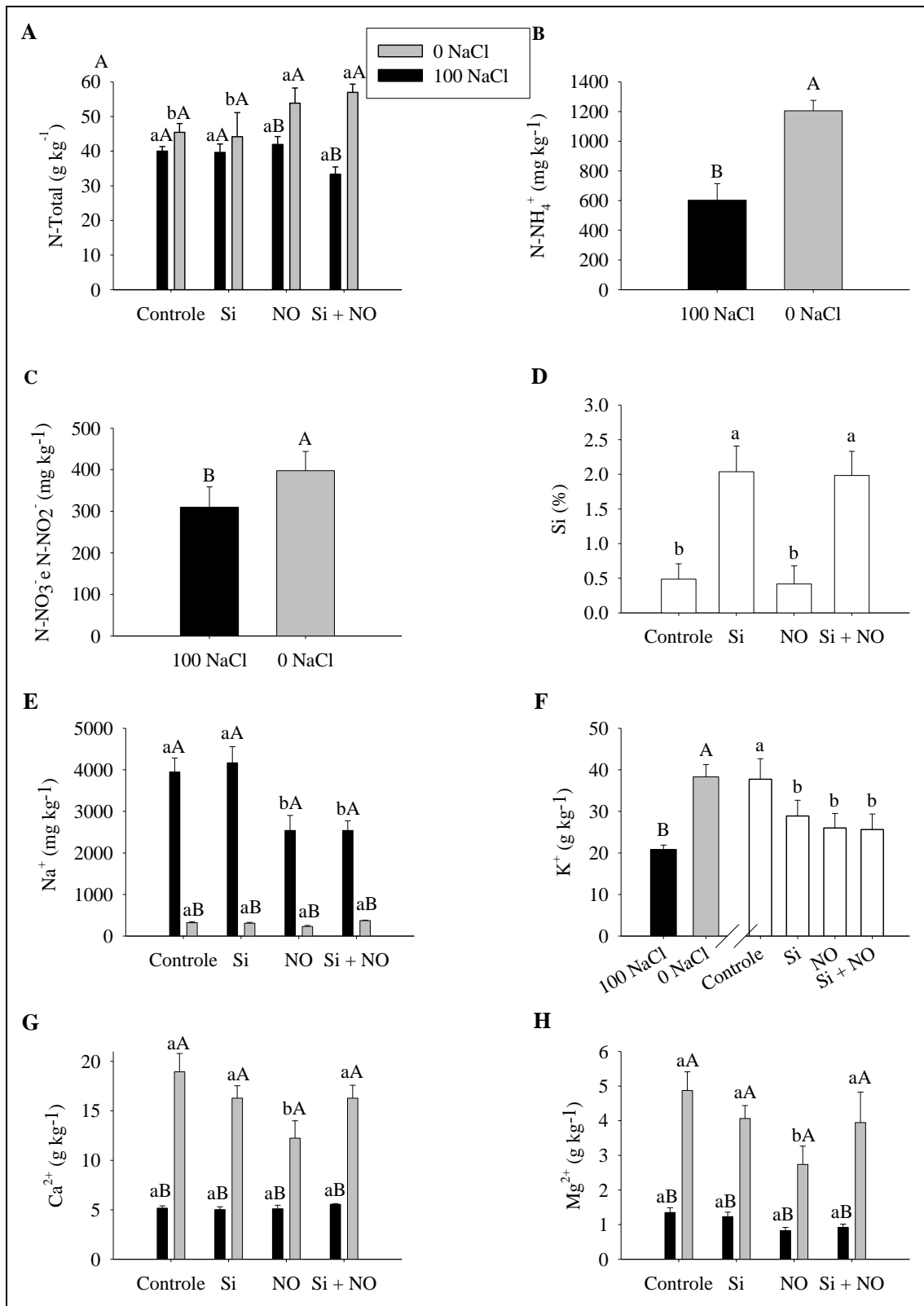


Figura 9. Teores foliares de nitrogênio (N-Total) (A), nitrogênio amoniacal (N-NH₄⁺) (B), nitrogênio nítrico (N-NO₃⁻ e N-NO₂⁻) (C), silício (Si) (D), sódio (Na⁺) (E), potássio (K⁺) (F), cálcio (Ca²⁺) (G) e magnésio (Mg²⁺) (H). Letras maiúsculas distintas diferem os tratamentos com e sem estresse por NaCl, dentro de cada tratamento de indução de resistência. Letras minúsculas distintas diferem os tratamentos de indução de resistência dentro de cada nível de tratamento de estresse por NaCl, pelo teste t LSD (15% de probabilidade).

Os teores foliares de N-NH_4^+ e de N-NO_2^- e N-NO_3^- variaram apenas com relação ao estresse, e as plantas cultivadas sob estresse salino apresentaram os menores teores (Figuras 9 B e C). Os teores foliares de silício (Si) alteraram apenas com os tratamentos de indução de resistência, apresentando os maiores valores nos tratamentos Si e Si + NO, não havendo diferença entre eles (Figura 9 D).

Os teores foliares de sódio (Na) alteraram com o estresse salino, com os tratamentos de indução e com a interação entre eles, sendo que as plantas cultivadas sob estresse salino apresentaram os maiores teores foliares de Na (Figura 9 E). Nas plantas cultivadas com NaCl, os tratamentos Si + NO e NO apresentaram menores teores de Na (Figura 9 E). O teor foliar de Na não apresentou diferença entre os tratamentos nas plantas cultivadas sem estresse salino (Figura 9 E).

Os teores foliares de potássio (K^+) alteraram com o estresse e com os tratamentos de indução de resistência. As plantas cultivadas sob estresse salino apresentaram menores teores de K^+ que as plantas cultivadas sem estresse salino (Figura 9 F). O tratamento Controle apresentou o maior teor de K^+ e os demais tratamentos não diferiram entre si (Figura 9 F).

Os teores foliares de cálcio (Ca^+) e de magnésio (Mg^+) alteraram com o estresse salino, com os tratamentos de indução e com a interação entre eles. As plantas cultivadas em solução com NaCl apresentaram menores teores foliares de Ca^+ e Mg^+ do que as plantas cultivadas sem NaCl (Figura 9 G e H). Nas plantas cultivadas sem NaCl, o tratamento NO apresentou os menores teores de Ca^+ e de Mg e os demais tratamentos não diferiram entre si (Figura 9 G e H). Nas plantas cultivadas com NaCl não houve diferença entre os tratamentos (Figura 9 G e H).

5.4. DISCUSSÃO

Os índices de fluorescência F_0 , F_M , F_J e F_V foram maiores nas plantas cultivadas sem estresse salino (Figuras 1 A, B, C e D). Esse resultado pode ser explicado pelas folhas mais eretas (Apêndice B), que proporcionou maior interceptação de luz, conseqüentemente maior necessidade de dissipação do excesso de energia. A máxima fluorescência em plantas ocorre quando há máxima incidência da radiação fotossinteticamente ativa (Pinto *et al.*, 2017). Os autores relatam também que os maiores valores de fluorescência são observados nas superfícies perpendiculares aos raios de sol e que o aumento do ângulo de incidência da luz, resulta em maiores valores de fluorescência. As plantas sem estresse salino reduziram o teor de clorofila total, como mecanismo de defesa do estresse oxidativo (Sousa *et al.*, 2010; Harizanova & Koleva-Valkova, 2019), semelhante ao observado no presente trabalho (Figuras 5 A e B).

A maior interceptação de luz fez com que as plantas sem estresse salino obtivessem maior valor de M_0 , e indica maior desorganização estrutural do cloroplasto, e maior número de *turn overs* da Q_a (N-Fluorpen) (Figuras 2 A e F, respectivamente). Também houve maior fluxo de absorção (ABS), captura (TR_0) e transporte de elétrons (ET_0), que gerou também maior fluxo de dissipação (Di_0) e menor eficiência quântica do fotossistema II (Φ_{P_0}) (figuras 4 A, B, C e D e Figura 3 A, respectivamente). Isso indica que houve fotoinibição dinâmica, em que a taxa fotossintética permanece inalterada, mas a eficiência quântica diminui pela dissipação do excesso de energia, e é considerado um mecanismo de proteção (Taiz *et al.*, 2017). As plantas cultivadas sem estresse salino podem ter apresentado maior nível de proteção do fotossistema pela redução da eficiência quântica do fotossistema II (Φ_{P_0}) (Figura 3 A), mas com a manutenção da fotossíntese líquida (A) (Figura 7 C).

A manutenção da fotossíntese líquida (Figura 7 A) pode ter ocorrido pela manutenção da condutância estomática (Figura 7 G), da transpiração foliar (Figura 7 A), da concentração interna de carbono (Figura 7 B) e da taxa de transporte de elétrons (Figura 7 D). O oposto ocorreu nas plantas sob estresse salino, que apresentaram menor taxa fotossintética. A salinidade reduz a condutância estomática, dificultando as trocas gasosas, a transpiração e reduz a fotossíntese (Arif *et al.*, 2020). Plantas de *Lactuca sativa* L. sob estresse salino, apresentaram redução da condutância estomática, da transpiração, da concentração interna de CO_2 e da taxa fotossintética, pelos distúrbios nas vias

metabólicas do carbono e reações redox nas membranas dos tilacoides e no ciclo de Calvin (Adhikari *et al.*, 2022).

As plantas sob estresse salino por NaCl apresentaram o maior teor de sódio (Figura 9 E), menor potencial osmótico (Figura 6 A) e maior conteúdo de MDA (Figura 6 B). Em condições de salinidade as plantas enfrentam dificuldades para absorver água, e leva a redução no potencial osmótico e turgor da parte aérea (Betzen *et al.*, 2019). A salinidade causa o acúmulo de íons tóxicos (Na^+), e leva a redução do potencial osmótico e do turgor e acaba por dificultar diversos processos fisiológicos (Arif *et al.*, 2020). O MDA é um produto natural da peroxidação de lipídios e é usado como indicador de danos nas membranas pelas espécies reativas de oxigênio sob condições de estresse (Hnilickova *et al.*, 2021; Kaya *et al.*, 2018). Plantas sob estresse salino têm aumento da produção do radical livre H_2O_2 , causando maiores danos aos lipídios das membranas e instabilidade das mesmas (Alnusairi *et al.*, 2021; Shams *et al.*, 2019).

Além disso, em resposta ao estresse salino, houve aumento da atividade das enzimas antioxidantes APX, SOD e POX (Figuras 8 A, B e D). O aumento da atividade das enzimas antioxidantes sob condições de estresse salino é importante para que as plantas possam lidar com os efeitos deletérios da salinidade através da remoção das espécies reativas de oxigênio (Abdeelaal *et al.*, 2020). Sob estresse salino, maior atividade das enzimas SOD, CAT e APX estão correlacionadas com o aumento da tolerância ao estresse, pois reduz a intensidade do estresse oxidativo (Alnusairi *et al.*, 2021). A desintoxicação das plantas é um processo sequencial, em que primeiramente a SOD converte O_2^- em H_2O_2 e posteriormente as enzimas APX, POX e CAT atuam na eliminação do H_2O_2 (Arif *et al.*, 2020; Barbosa *et al.*, 2014).

Outra resposta ao estresse salino foi o aumento dos flavonoides (Figura 5 D). Em plantas submetidas a estresse salino moderado (50 mM NaCl) e severo (100 mM NaCl), houve aumento do percentual de flavonoides, que aumenta a habilidade das plantas em reduzir os efeitos deletérios do estresse oxidativo induzido pela salinidade (Hossain *et al.*, 2022). Em estudo com 18 diferentes espécies de menta (*Lamiaceas*), todas apresentaram aumento dos conteúdos de flavonoides e compostos fenólicos em condições de estresse salino (Hosseini *et al.*, 2021). Os autores relatam ainda que esses compostos têm ação antioxidante por causa de suas estruturas químicas, que reduzem os danos oxidativos e protegem as células dos efeitos deletérios da salinidade.

As plantas sob estresse salino por NaCl apresentaram os maiores teores de Na^+ e os menores teores foliares de Ca^{2+} , Mg^{2+} , K^+ , N-Total, N- NH_4^+ e N- NO_3^- e NO_2^- (Figuras

9 A a H). A salinidade promove redução da transpiração (Figura 7 A), o que reduz a absorção de nutrientes. Em plantas de *Lactuca sativa* L. houve redução da transpiração e redução da absorção de Ca^{2+} , Mg^{2+} e K^+ sob estresse salino (Campos *et al.*, 2019). A redução na absorção desses nutrientes nas plantas sob estresse salino ocorre pelo estresse osmótico provocado pelo NaCl, e pela competição pelos sítios de absorção ou ainda pela influência do Na^+ e do Cl^- na seletividade das membranas (Gomes *et al.*, 2017; Khoshbakht *et al.*, 2018). Redução nos teores de nitrogênio nas plantas cultivadas com NaCl pode ocorrer pela inibição da absorção pelo efeito antagonista dos íons do sal com o nitrato (NO_3^-) e o amônio (NH_4^+), pela redução na transpiração, redução na absorção de água pelas raízes devido a alterações osmóticas, pelos danos nas membranas das raízes e pela menor demanda de nitrogênio pela menor taxa de crescimento (Ashraf *et al.*, 2018).

O tratamento Si + NO foi capaz de reduzir os índices de fluorescência F_M , F_V e FIX AREA (Figuras 1 B, 1 D e 2 C). Já nas plantas sob estresse salino, o tratamento Si + NO foi capaz de reduzir F_J , igualando ao tratamento controle (Figura 1 C). Em plantas sob condições de déficit hídrico, a aplicação conjunta de Si e NO aumenta o crescimento das raízes, reduz os teores de prolina e MDA e aumenta os teores de nutrientes (Bakir *et al.*, 2022). Isso demonstra que essa interação pode ser uma estratégia para aumentar a qualidade e a produtividade de muitas espécies (Bakir *et al.*, 2022). A aplicação simultânea de Si e NO em plantas sob déficit hídrico aumenta os parâmetros de crescimento e os teores foliares de Ca, Mg, Fe e Zn, podendo ser interessante para a adaptação das plantas às mudanças climáticas (Bolat *et al.* 2022). Os autores sugerem que pode haver sinergismo entre Si e NO, modulando o metabolismo secundário pela maior expressão de genes e ativação de enzimas (Bolat *et al.*, 2022). Todavia a redução da fluorescência nas condições do trabalho não pode ser considerada efeito positivo, já que as plantas que se mantiveram mais eretas, possivelmente interceptaram mais luz. Sendo assim, a aplicação isolada do NO ou do Si proporcionaram maior F_M , F_J , F_V (Figuras 1 B, C e D, respectivamente).

Nas plantas sem estresse salino, em que houve maior interceptação de luz, todos os tratamentos de indução de resistência reduziram a F_J (Figura 1 C) e aumentaram o conteúdo relativo de água (Figura 6 C). A aplicação de Si pode aumentar o conteúdo relativo de água reduzindo as perdas pela transpiração ou até mesmo aumentando a absorção de água pelas raízes (Zhu *et al.*, 2019). O Si pode melhorar os índices de fluorescência por aumentar a atividade do centro de reação do fotossistema II, o que facilita o uso da energia na transferência de elétrons e aumenta a eficiência da conversão

de energia (Zhu *et al.*, 2019). Já o NO leva à manutenção do conteúdo relativo de água devido ao aumento no acúmulo de prolina e açúcares solúveis (Alnusairi *et al.*, 2021). A aplicação de NO melhora os índices de fluorescência em plantas sob estresse salino, aumentando a eficiência do fotossistema II pelo aumento na transcrição de genes que codificam subunidades da rubisco e a proteína D1 do fotossistema II, além de melhorar as trocas gasosas (Sami *et al.*, 2021).

Os tratamentos de indução aumentaram a concentração interna de CO₂ e a transpiração nas plantas sob estresse salino (Figuras 7 B e A, respectivamente). O Si forma uma fina camada na epiderme da folha, que ajuda a regular a transpiração e a troca gasosa, além de aumentar a expressão de proteínas que regulam a condutância estomática (Arif *et al.*, 2021). O NO aumenta a concentração interna de CO₂ por estar envolvido na sinalização de mecanismos de abertura estomática envolvendo o ácido abiscísico (ABA) (Fatma *et al.*, 2016).

Os tratamentos com NO foram capazes de reduzir os teores foliares de Na⁺ nas plantas sob estresse salino (Figura 9 E). O NO reduz o acúmulo de Na⁺ pela inibição da compartimentalização do Na⁺ no vacúolo ou pelo influxo de Na⁺ através das membranas das raízes (Shams *et al.*, 2019). Além disso, o NO é capaz de induzir a expressão de H⁺-PPase e H⁺-ATPase que desintoxicam as células através da troca entre Na⁺ e H⁺ (Wani *et al.*, 2021).

No presente estudo, a aplicação isolada de Si aumentou a atividade do nitrato redutase (Figura 8 E). O Si aumenta o conteúdo de nitrato nas raízes e nas folhas das plantas, e a abundância de nitrato é um dos sinais para as plantas ajustarem a atividade do nitrato redutase (Conceição *et al.*, 2019). A aplicação de Si aumenta a atividade do nitrato redutase, o que aumenta a síntese e acúmulo de metabólitos, alivia os danos causados pelo estresse e reflete um mecanismo de tolerância ao estresse salino (Cui *et al.*, 2021). Em plantas sob estresse salino, o acúmulo de compostos nitrogenados como a alantoína melhora a tolerância ao estresse, o que aumenta a produção de biomassa e a eficiência fotossintética (Irani *et al.*, 2016). A alantoína pode estimular a biossíntese de ácido abiscísico (ABA) e reduzir o acúmulo de espécies reativas de oxigênio, e sugere um papel importante desse composto na tolerância ao estresse (Irani *et al.*, 2016; Kaur *et al.*, 2021).

A aplicação de Si pode promover aumento ou redução da atividade das enzimas antioxidantes, dependendo da espécie da planta e do tipo de estresse (Kim *et al.*, 2017). No presente trabalho, as plantas tratadas com Si obtiveram redução da atividade das enzimas SOD, CAT e POX. Em plantas sob estresse salino, a aplicação de Si reduziu a

atividade das enzimas CAT e POX, indicando a redução no conteúdo de H_2O_2 em nível celular (Kim *et al.*, 2013). O aumento da atividade da redutase do nitrato pode ter reduzido o acúmulo de espécies reativas de oxigênio, o que reduziu a atividade das enzimas antioxidantes e, também, reduziu o teor de flavonoides.

De maneira geral, o estresse salino reduziu a atividade fotossintética da planta, mantendo a eficiência quântica, mas com redução na absorção de nutrientes. Nas plantas sob estresse salino, a aplicação isolada do Si e do NO aumentou a fluorescência em alguns estágios, a transpiração e a concentração interna de CO_2 mas sem alteração da atividade fotossintética. O que destaca é que sob estresse a aplicação do Si isolado ou em conjunto com o NO reduziu a atividade das enzimas antioxidantes SOD, CAT e POX, sendo em maior intensidade quando aplicado o Si isoladamente, indicando que plantas nutridas com Si já apresentam redução de quantidades de formas reativas de oxigênio. Como a aplicação do Si aumentou a atividade do nitrato redutase, e essa enzima pode ser uma das fontes de NO no tecido vegetal para fins de regulação da homeostase (Chamizo-Ampudia *et al.*, 2017), é necessário estudos futuros para avaliar os efeitos do Si no metabolismo do NO nas plantas, como sendo um dos mecanismos bioquímicos de indução de resistência nas plantas.

5.5. CONCLUSÃO

No presente trabalho, o NaCl na concentração de 100 mmol L^{-1} teve efeito negativo nas plantas de *Lacatuca sativa* L. cv. Grandes Lagos 659, e reduziu em 79% a condutância estomática, levando a redução de 41% na concentração interna de carbono, redução de 83% na transpiração foliar e conseqüentemente a redução de 43% na fotossíntese líquida. Com a salinidade, também houve aumento de 47% da peroxidação de lipídios e aumento de 10% e 47% da atividade das enzimas SOD e POX, respectivamente. Os tratamentos de indução de resistência obtiveram alguns resultados positivos, em que a aplicação isolada de Si aumentou em 49% a atividade da enzima NR e reduziu em 16% e 23% a atividade das enzimas POX e SOD, respectivamente. Já a aplicação conjunta de Si + NO reduziu a F_M em 5,6%, reduziu em 35% o teor de sódio e aumentou a transpiração foliar de $1,6 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ para $3,2 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ nas plantas sob estresse salino.

5.6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDELAAL, K. A., MAZROU, Y. S., & HAFEZ, Y. M. (2020). Silicon foliar application mitigates salt stress in sweet pepper plants by enhancing water status, photosynthesis, antioxidant enzyme activity and fruit yield. *Plants*, 9(6), 733.

ADHIKARI, B., OLORUNWA, O. J., & BARICKMAN, T. C. (2022). Salt Stress Affects the Photosynthetic and Chlorophyll Fluorescence Responses in Lettuce (*Lactuca sativa* L.).

AHMAD P, AHANGER MA, ALAM P, ALYEMENI MN, WIJAYA L, ALI S, ASHRAF M. (2019). Silicon (Si) Supplementation Alleviates NaCl Toxicity in Mung Bean [*Vigna radiata* (L.) Wilczek] Through the Modifications of Physio-biochemical Attributes and Key Antioxidant Enzymes. *Journal of Plant Growth Regulation* [Internet]. [accessed 2022 Jun 7] 38(1):70–82. <https://doi.org/10.1007/S00344-018-9810-2/FIGURES/6>

ALI, Q., DAUD, M. K., HAIDER, M. Z., ALI, S., RIZWAN, M., ASLAM, N., ... & ZHU, S. J. (2017). Seed priming by sodium nitroprusside improves salt tolerance in wheat (*Triticum aestivum* L.) by enhancing physiological and biochemical parameters. *Plant physiology and biochemistry*, 119, 50-58.

ALNUSAIRI, G. S., MAZROU, Y. S., QARI, S. H., ELKELISH, A. A., SOLIMAN, M. H., EWEIS, M., ... & ELNAHHAS, N. (2021). Exogenous nitric oxide reinforces photosynthetic efficiency, osmolyte, mineral uptake, antioxidant, expression of stress-responsive genes and ameliorates the effects of salinity stress in wheat. *Plants*, 10(8), 1693.

ARIF, Y., SINGH, P., BAJGUZ, A., ALAM, P., & HAYAT, S. (2021). Silicon mediated abiotic stress tolerance in plants using physio-biochemical, omic approach and cross-talk with phytohormones. *Plant Physiology and Biochemistry*, 166, 278-289.

ARIF, Y., SINGH, P., SIDDIQUI, H., BAJGUZ, A., & HAYAT, S. (2020). Salinity induced physiological and biochemical changes in plants: An omic approach towards salt stress tolerance. *Plant Physiology and Biochemistry*, 156, 64-77.

ASHRAF, M., SHAHZAD, S. M., IMTIAZ, M., & RIZWAN, M. S. (2018). Salinity effects on nitrogen metabolism in plants—focusing on the activities of nitrogen metabolizing enzymes: A review. *Journal of Plant Nutrition*, 41(8), 1065-1081.

BAKIR, A. G., BOLAT, I., KORKMAZ, K., HASAN, M. M., & KAYA, O. (2022). Exogenous Nitric Oxide and Silicon Applications Alleviate Water Stress in Apricots. *Life*, 12(9), 1454.

BARBOSA, M. R., SILVA, M. M. D. A., WILLADINO, L., ULISSES, C., & CAMARA, T. R. (2014). Geração e desintoxicação enzimática de espécies reativas de oxigênio em plantas. *Ciência Rural*, 44, 453-460.

BETZEN, B.M., SMART, C.M., MARICLE, K.L., MARICLE, B.R. (2019). Effects of increasing salinity on photosynthesis and plant water potential in Kansas salt marsh species. *Trans. Kans. Acad. Sci.* 122, 49

- BOLAT, I., BAKIR, A. G., KORKMAZ, K., GUTIÉRREZ-GAMBOA, G., & KAYA, O. (2022). Silicon and Nitric Oxide Applications Allow Mitigation of Water Stress in Myrobalan 29C Rootstocks (*Prunus cerasifera* Ehrh.). *Agriculture*, 12(8), 1273.
- CAMPOS, F. V., OLIVEIRA, J. A., PEREIRA, M. G., & FARNESE, F. S. (2019). Nitric oxide and phytohormone interactions in the response of *Lactuca sativa* to salinity stress. *Planta*, 250(5), 1475-1489.
- CATSKY J (1974) Water saturation deficit (relative water content). In: Slavik B (Ed.) *Methods of studying plant water relations*. Springer-Verlag, Berlin. p.136-154
- CHAMIZO-AMPUDIA, A., SANZ-LUQUE, E., LLAMAS, A., GALVAN, A., & FERNANDEZ, E. (2017). Nitrate Reductase Regulates Plant Nitric Oxide Homeostasis. *Trends in Plant Science*, 22(2), 163- 74.<https://doi.org/10.1016/J.TPLANTS.2016.12.001>
- CHANCE B, MAEHLEY AC (1955) Assay of catalases and peroxidases. *Method Enzymol* 2: 764-775
- CONCEIÇÃO, S. S., OLIVEIRA NETO, C. F. D., MARQUES, E. C., BARBOSA, A. V. C., GALVÃO, J. R., OLIVEIRA, T. B. D., ... & GOMES-FILHO, E. (2019). Silicon modulates the activity of antioxidant enzymes and nitrogen compounds in sunflower plants under salt stress. *Archives of Agronomy and Soil Science*, 65(9), 1237-1247.
- CUI, J., ZHANG, E., ZHANG, X., & WANG, Q. (2021). Silicon alleviates salinity stress in licorice (*Glycyrrhiza uralensis*) by regulating carbon and nitrogen metabolism. *Scientific Reports*, 11(1), 1-12.
- DU Z, BRAMLAGE WJ (1992) Modified thiobarbituric acid assay for measuring lipid oxidation in sugar-rich plant tissue extracts. *J Agric Food Chem* 40: 1566-1570
- ELLIOTT C. L., AND SNYDER G. H. (1991). Autoclave-Induced Digestion for the Colorimetric Determination of Silicon in Rice Straw. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* [Internet]. [accessed 2022 Jul 18] 39(6):1118–1119. https://doi.org/10.1021/JF00006A024/ASSET/JF00006A024.FP.PNG_V03
- FATMA, M., MASOOD, A., PER, T. S., & KHAN, N. A. (2016). Nitric oxide alleviates salt stress inhibited photosynthetic performance by interacting with sulfur assimilation in mustard. *Frontiers in plant science*, 7, 521.
- FENG, J. P., SHI, Q. H., AND WANG, X. F. (2009). Effects of exogenous silicon on photosynthetic capacity and antioxidant enzyme activities in chloroplast of cucumber seedlings under excess manganese. *Agricultural Sciences in China*, v.8, p.40-50. doi:10.1016/S1671-2927(09)60007-9
- GIANNOPOLITIS CN, RIES SK (1977) Superoxide dismutases: I. Occurrence in higher plants. *Plant Physiol* 1977 59: 309–314
- GOMES, M. A. D. C., PESTANA, I. A., SANTA-CATARINA, C., HAUSER-DAVIS, R. A., & SUZUKI, M. S. (2017). Salinity effects on photosynthetic pigments, proline, biomass and nitric oxide in *Salvinia auriculata* Aubl. *Acta Limnologica Brasiliensia*, 29.
- GRIEVE, C. M., GRATTAN, S. R., & MAAS, E. V. (2012). Plant salt tolerance. *ASCE manual and reports on engineering practice*, 71, 405-459.

- HAGEMAN, R. H., & REED, A. J. (1980). Nitrate reductase from higher plants. In *Methods in enzymology* (Vol. 69, pp. 270-280). Academic Press.
- HARIZANOVA, A., & KOLEVA-VALKOVA, L. (2019). Effect of silicon on photosynthetic rate and the chlorophyll fluorescence parameters at hydroponically grown cucumber plants under salinity stress. *Journal of Central European Agriculture*, 20(3), 953-960.
- HAVIR EA, MCHALE NA (1987) Biochemical and developmental characterization of multiple forms of catalase in tobacco leaves. *Plant Physiol* 84: 450-455
- HNILICKOVA, H., KRAUS, K., VACHOVA, P., & HNILICKA, F. (2021). Salinity stress affects photosynthesis, malondialdehyde formation, and proline content in *Portulaca oleracea* L. *Plants*, 10(5), 845.
- HOAGLAND, D.R., ARNON, D.I. (1950). The water culture method of growing plants without soil. University of California, Berkeley, 32 p.
- HOSSAIN, M. S. (2019). Present scenario of global salt affected soils, its management and importance of salinity research. *Int. Res. J. Biol. Sci*, 1(1), 1-3.
- HOSSEINI, S. J., TAHMASEBI-SARVESTANI, Z., PIRDASHTI, H., MODARRES-SANAVY, S. A. M., MOKHTASSI-BIDGOLI, A., HAZRATI, S., & NICOLA, S. (2021). Investigation of yield, phytochemical composition, and photosynthetic pigments in different mint ecotypes under salinity stress. *Food Science & Nutrition*, 9(5), 2620-2643.
- IRANI, S., & TODD, C. D. (2016). Ureide metabolism under abiotic stress in *Arabidopsis thaliana*. *Journal of plant physiology*, 199, 87-95.
- KAUR, H., CHOWRASIA, S., GAUR, V. S., & MONDAL, T. K. (2021). Allantoin: emerging role in plant abiotic stress tolerance. *Plant Molecular Biology Reporter*, 39(3), 648-661.
- KAYA, C., AKRAM, N. A., ASHRAF, M., & SONMEZ, O. (2018). Exogenous application of humic acid mitigates salinity stress in maize (*Zea mays* L.) plants by improving some key physico-biochemical attributes. *Cereal Research Communications*, 46(1), 67-78.
- KHAN, A., KHAN, A. L., MUNEER, S., KIM, Y. H., AL-RAWAHI, A., AND AL-HARRASI, A. (2019). Silicon and salinity: cross-talk in crop mediated stress tolerance mechanisms. *Frontiers in Plant Science*, v. 10, p. 1429. doi: 10.3389/fpls.2019.01429
- KHOSHBAKHT, D., ASGHARI, M. R., & HAGHIGHI, M. (2018). Effects of foliar applications of nitric oxide and spermidine on chlorophyll fluorescence, photosynthesis and antioxidant enzyme activities of citrus seedlings under salinity stress. *Photosynthetica*, 56(4), 1313-1325.
- KIM, Y. H., KHAN, A. L., WAQAS, M., & LEE, I. J. (2017). Silicon regulates antioxidant activities of crop plants under abiotic-induced oxidative stress: a review. *Frontiers in Plant Science*, 8, 510.
- KIM, Y. H., KHAN, A. L., WAQAS, M., SHIM, J. K., KIM, D. H., LEE, K. Y., & LEE, I. J. (2013). Silicon application to rice root zone influenced the phytohormonal and

antioxidant responses under salinity stress. *Journal of Plant Growth Regulation*, 33(2), 137-149.

KIST, B.B., SANTOS, C.E., DE CARVALHO, C. and BELING, R.R. (2022). Anuário Brasileiro de Horti & Fruti. Santa Cruz do Sul: Editora Gazeta, 96 p.

MALAVOLTA E, VITTI GC, OLIVEIRA SA de. (1997). *Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações*. 2ª ed. Piracicaba-SP: POTAFOS.

MIR, R. A., BHAT, B. A., YOUSUF, H., ISLAM, S. T., RAZA, A., RIZVI, M. A., ... & ZARGAR, S. M. (2022). Multidimensional Role of Silicon to Activate Resilient Plant Growth and to Mitigate Abiotic Stress. *Frontiers in Plant Science*, 13, 819658.

MOUSSA, H.R. (2006). Influence os exogenous application of silicon on physiological response of salt-stressed maize (*Zea mays* L.). *International Journal of Agriculture & Biology*, v.8, 293-297.

NAKANO Y, ASADA K (1981) Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase en spinach chloroplasts. *Plant Cell Physiol* 22: 867-880

PARVEEN, N., ASHRAF, M. (2010). Role of silicon in mitigating the adverse effects of salt stress on growth and photosynthetic attributes of two maize (*Zea mays* L.) cultivars grown hydroponically. *Pakistan Journal of Botany*, v.42, p.1675-1684.

PINTO, F., MÜLLER-LINOW, M., SCHICKLING, A., CENDRERO-MATEO, M. P., BALLVORA, A., & RASCHER, U. (2017). Multiangular observation of canopy sun-induced chlorophyll fluorescence by combining imaging spectroscopy and stereoscopy. *Remote sensing*, 9(5), 415.

R CORE TEAM. (2022). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria [Internet]. [accessed 2022 Apr 8]. <https://www.R-project.org/>

RADY MM, ELRYS AS, ABO EL-MAATI MF, DESOKY ESM. (2019). Interplaying roles of silicon and proline effectively improve salt and cadmium stress tolerance in *Phaseolus vulgaris* plant. *Plant Physiology and Biochemistry*. 139:558–568. doi:10.1016/J.PLAPHY.2019.04.025

REN, Y., WANG, W., HE, J., ZHANG, L., WEI, Y., & YANG, M. (2020). Nitric oxide alleviates salt stress in seed germination and early seedling growth of pakchoi (*Brassica chinensis* L.) by enhancing physiological and biochemical parameters. *Ecotoxicology and environmental safety*, 187, 109785.

RICHARDS, L.A. (ed.) (1954). Diagnosis and improvements of saline and alkali soils. USDA. *Agriculture Handbook* 60.

ROHÁČEK, K. (2002). Chlorophyll fluorescence parameters: the definitions photosynthetic meaning, and mutual relationships. *Photosynthetica*, v. 40, p.13-29.

SAHAB, S., SUHANI, I., SRIVASTAVA, V., CHAUHAN, P. S., SINGH, R. P., & PRASAD, V. (2021). Potential risk assessment of soil salinity to agroecosystem sustainability: Current status and management strategies. *Science of The Total Environment*, 764, 144164.

- SAMI, F., SIDDIQUI, H., ALAM, P., & HAYAT, S. (2021). Nitric oxide mitigates the salt-induced oxidative damage in mustard by upregulating the activity of various enzymes. *Journal of Plant Growth Regulation*, 40(6), 2409-2432.
- SANTISREE, P., BHATNAGAR-MATHUR, P., & SHARMA, K. K. (2015). NO to drought-multifunctional role of nitric oxide in plant drought: do we have all the answers?. *Plant Science*, 239, 44-55.
- SANTOS-NARESSI, R., SANTOS-PIMENTEL-OLIVEIRA, L., SANTOS, E. H., FRANCISCO, J. P., & LOPES, A. D. (2022). Iceberg lettuce cultivated in different systems of planting and sources of fertilizer. *Brazilian Journal of Biology*, 84.
- SHAHID, S. A., ZAMAN, M., AND HENG, L., (2018). "Soil salinity: historical perspectives and a world overview of the problem," in *Guideline for Salinity Assessment, Mitigation and Adaptation Using Nuclear and Related Techniques* (Springer, Cham), 43–53. doi: 10.1007/978-3-319-96190-3_2
- SHAMS, M., EKINCI, M., ORS, S., TURAN, M., AGAR, G., KUL, R., & YILDIRIM, E. (2019). Nitric oxide mitigates salt stress effects of pepper seedlings by altering nutrient uptake, enzyme activity and osmolyte accumulation. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 25(5), 1149-1161.
- SHATILOV, M. V., RAZIN, A. F., & IVANOVA, M. I. (2019). Analysis of the world lettuce market. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* (Vol. 395, No. 1, p. 012053). IOP Publishing.
- SINGH, S., KUMAR, V., KAPOOR, D., KUMAR, S., SINGH, S., DHANJAL, D. S., ... & SINGH, J. (2019). Revealing on hydrogen sulfide and nitric oxide signals co-ordination for plant growth under stress conditions. *Physiologia Plantarum*, 168(2), 301-317.
- SOUSA, J. V., RODRIGUES, C. R., LUZ, J. M. Q., SOUSA, V. B. F., DE CARVALHO, P. C., RODRIGUES, T. M., AND DE BRITO, C. H. (2010). Silicato de potássio via foliar no milho: fotossíntese, crescimento e produtividade. *Bioscience Journal*, 26(4).
- SOUZA ER, FREIRE MBGS, CUNHA KPV, NASCIMENTO CWA, RUIZ HA, LINS CMT (2012) Biomass, anatomical change sand osmotic potential in *Atriplex nummularia* L cultivated in sodic saline soil under water stress. *Environ Exp Bot* 82: 20-27
- STRASSER, R. J., SRIVASTAVA, A., AND TSIMILLI-MICHAEL, M. (2000). The fluorescence transient as a tool to characterize and screen photosynthetic samples. In *Probing photosynthesis: mechanisms, regulation and adaptation*. Eds Yunus, M., Pathre, U. and Mohanty, P. Chapter 25, pp. 445-483. Taylor and Francis, London, UK.
- TAÏBI K, AIT ABDERRAHIM L, BOUSSAID M, BISSOLI G, TAÏBI F, ACHIR M, SOUANA K, MULET JM. (2021). Salt-tolerance of *Phaseolus vulgaris* L. is a function of the potentiation extent of antioxidant enzymes and the expression profiles of polyamine encoding genes. *South African Journal of Botany*. 140:114–122. doi:10.1016/J.SAJB.2021.03.045
- TAIZ, L., ZEIGER, E., MOLLER, I. M., AND MURPH, A. (2017). Fisiologia e desenvolvimento vegetal. Porto Alegre: Artmed, 858p.
- TEDESCO MJ, GIANELLO C, BISSANI CA, BOHNEN H, VOLKWEISS SJ. (1995). Análise de Solo, Plantas e outros materiais. 2a Edição rev e amp. Porto Alegre-RS: Departamento de Solos, UFRGS

WANI, K. I., NAEEM, M., CASTROVERDE, C. D. M., KALAJI, H. M., ALBAQAMI, M., & AFTAB, T. (2021). Molecular mechanisms of nitric oxide (NO) signaling and reactive oxygen species (ROS) homeostasis during abiotic stresses in plants. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(17), 9656.

YU, S., YU, L., HOU, Y., ZHANG, Y., GUO, W., AND XUE, Y. (2019). Contrasting effects of NaCl and NaHCO₃ stresses on seed germination, seedling growth, photosynthesis, and osmoregulators of the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Agronomy*, 9(8), 409.

ZHU, Y. X., GONG, H. J., & YIN, J. L. (2019). Role of silicon in mediating salt tolerance in plants: a review. *Plants*, 8(6), 147.

ZULFIQAR, F., NAFEES, M., CHEN, J., DARRAS, A., FERRANTE, A., HANCOCK, J. T., ... & SIDDIQUE, K. H. (2022). Chemical priming enhances plant tolerance to salt stress. *Frontiers in Plant Science*, 13.

6. CONCLUSÃO GERAL

A partir dos dois estudos conduzidos para a realização desta tese, pode-se concluir que:

O NaCl afeta negativamente as plantas de *Phaseolus vulgaris* L. cv. BR-IPA 10 e de *Lacatuca sativa* L. cv. Grandes Lagos 659, e leva a redução da fotossíntese, do crescimento e dos teores de nutrientes foliares. Além disso, há aumento da atividade das enzimas antioxidantes e do teor de flavonoides, como resposta ao estresse oxidativo provocado pela salinidade.

A aplicação de Si pode aliviar os efeitos deletérios da salinidade pelo aumento dos teores dos pigmentos fotossintéticos, redução das perdas de energia na forma de fluorescência, além de aumentar a atividade do nitrato redutase. Pode haver efeito sinérgico entre o Si e o NO na redução das perdas de energia na forma de fluorescência e na redução da absorção de Na⁺.

No presente trabalho foi possível demonstrar alguns efeitos benéficos do Si e do NO em aliviar o estresse causado pela salinidade. No entanto, são necessários estudos futuros para avaliar efeitos sinérgicos entre Si e NO no metabolismo das plantas que possam levar a melhor utilização dos solos salinos.

7. APÊNDICES

7.1. APÊNDICE A: CAPÍTULO I

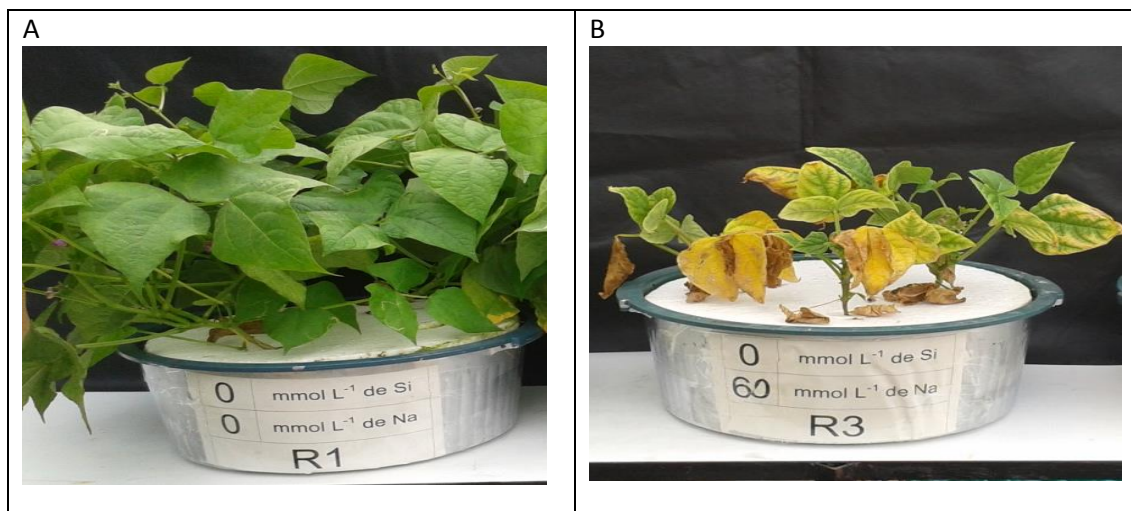


Figura 1. Planta de (*Phaseolus vulgaris* L. cv. BR-IPA 10) sem NaCl (A) e com NaCl (B).

7.2. APÊNDICE B: CAPÍTULO II



Figura 1. Planta de *Lactuca sativa* L. cv. Grandes Lagos 659 com NaCl (A) e (C) e sem NaCl (B) e (D).