

CARLA VERÔNICA CORRÊA

**APLICAÇÃO DE SILÍCIO EM PLANTAS DE TOMATE CULTIVAR MICRO-TOM
SOB DÉFICE HÍDRICO**

Botucatu

2019

CARLA VERÔNICA CORRÊA

**APLICAÇÃO DE SILÍCIO EM PLANTAS DE TOMATE CULTIVAR MICRO-TOM
SOB DÉFICE HÍDRICO**

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agronômicas da Unesp Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de Doutora em Agronomia (Programa de Horticultura).

Orientadora: Carmen Sílvia Fernandes Boaro

Botucatu

2019

C824a Corrêa, Carla Verônica
 Aplicação de silício em plantas de tomate cultivar
 Micro-tom sob déficit hídrico / Carla Verônica Corrêa.
 -- Botucatu, 2019
 112 p.

 Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista
 (Unesp), Faculdade de Ciências Agrônomicas,
 Botucatu
 Orientadora: Carmen Silvia Fernandes Boaro

 1. Silício. 2. Déficit hídrico. 3. Biologia molecular.
 4. Fisiologia. 5. Planta modelo. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp.
Biblioteca da Faculdade de Ciências Agrônomicas, Botucatu. Dados
fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

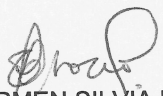
CERTIFICADO DE APROVAÇÃO


Título: “APLICAÇÃO DE SILÍCIO EM PLANTAS DE TOMATE CULTIVAR
MICRO-TOM SOB DÉFICE HÍDRICO”


AUTORA: CARLA VERÔNICA CORRÊA

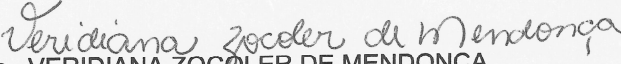
ORIENTADORA: CARMEN SILVIA FERNANDES BOARO


Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em AGRONOMIA
(HORTICULTURA), pela Comissão Examinadora:


Prof.ª Dr.ª CARMEN SILVIA FERNANDES BOARO
Botânica / Instituto de Biociências de Botucatu - UNESP


Prof. Dr. JOÃO DOMINGOS RODRIGUES
Departamento de Botânica / Instituto de Biociências de Botucatu - UNESP


Prof. Dr. JOSÉ FIGUEIREDO PEDRAS
Botânica / Instituto de Biociências de Botucatu - UNESP


Dra. VERIDIANA ZOCOLER DE MENDONÇA
. / Secretaria de Agricultura do Estado de São Paulo - Catanduva/SP


Prof. Dr. EDVALDO APARECIDO AMARAL DA SILVA
Produção e Melhoramento Vegetal / Faculdade de Ciências Agronômicas de Botucatu - UNESP

Botucatu, 12 de fevereiro de 2019.

DEDICO

A DEUS e CRISTO pelo direito à vida e por me ajudar em todos os momentos, pois só eles sabem o que foi chegar até aqui. Por sempre me guiarem e me protegerem, por manterem a integridade de meu espírito, além de abençoarem a terra para que produza seus frutos para que homens e todas as criaturas possam existir.

A minha PRECIOSA FAMÍLIA, Elvira Clara Alves Corrêa, Moisés Corrêa e Cláudia Silvia Corrêa, pelo amor incondicional, pelo exemplo de dignidade, caráter, honestidade, respeito e pelos ensinamentos em cultivar o campo e aos quais devo tudo que aprendi e tudo que sou. Por ensinarem que somos todos iguais, e com isso, me livrarem de sentimentos medíocres como vaidades, preconceitos e superioridades.

Ao meu marido e companheiro, Luís Paulo Benetti Mantoan, por todo carinho, companheirismo e por compartilhar comigo o mais nobre dos sentimentos "O AMOR".

Aos meus sogros Sônia e Rafael por toda confiança e carinho.

A todos os produtores que dedicam à sua vida em *PRODUZIR* o bem mais precioso à humanidade.

IN MEMÓRIA

Aos meus GRANDIOSOS avós Verônica Beluta e Amerides Alves pelo exemplo de caráter, simplicidade e pelo seu amor à agricultura.

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq e a FAPESP (Processo número 2016/13915-5) pela concessão de bolsas e recursos para o desenvolvimento da presente pesquisa.

Ao professor Dr. Edvaldo Aparecido Amaral da Silva pela amizade e por todo apoio e ajuda para o desenvolvimento dessa pesquisa e, principalmente, pelo exemplo de docente e pesquisador.

Ao professor Dr. João Domingos Rodrigues pelo respeito, confiança e apoio, além do exemplo de caráter e profissionalismo.

Ao Pós-doutorando Sérgio Akira pela preciosa ajuda na parte de anatomia.

A Karina Ducatti e Thiago por toda paciência e por me ajudarem na parte de expressão gênica.

Aos técnicos Kléber, André, Zé Du, Diego e Heloísa e seu Áureo, por toda ajuda, paciência e risadas.

Aos amigos Príncilla (“minha irmã de coração”), Veridiana, Lidiane, Janaína, Thaís (Tatá), Priscila, Michelly, Rúbia, Lívia, Natália, Sérgio Akira, Giovanni, Estéfany, Letícia Moreno, Letícia Jorge, Karina Ducatti, Ana Emília, Ana Paulinha, Ana Paula, Sara, Gláucia, Murilo, Nathália, Daniela, Maria Aparecida, Maria do Carmo, Dona Maria, Benedito (em memória), Sofia, Kélly, Adilson, Marcelo, Tiago, Marcela e Francisco por todos os momentos de alegrias e risadas.

A banca, em especial, os professores Dr. Edvaldo Aparecido Amaral da Silva e Dr. João Domingos Rodrigues e Dra. Veridiana Zocoler Mendonça pelas sugestões.

RESUMO

Há grande preocupação com a utilização e conservação dos recursos hídricos. Neste aspecto a agricultura apresenta destaque, devido ao expressivo consumo de água. Além disso, são preocupantes as alterações climáticas caracterizadas por veranicos que comprometem a produção agrícola. Desta forma, busca-se a utilização mais eficiente da água, seja por meio de plantas resistentes à seca, ou de seu cultivo em condições que aumentem a eficiência do uso de água pelas plantas. Assim, pesquisas estão sendo conduzidas com silício por se tratar de um elemento capaz de aumentar a resistência das plantas ao déficit hídrico. No entanto, embora seja conhecido seu efeito benéfico ao reduzir os danos causados por déficit hídrico em vegetais, não se conhecem os mecanismos fisiológicos, enzimáticos, gênicos, hormonais e estruturais relacionados com este elemento. Desta forma, o objetivo desta pesquisa foi verificar possíveis relações do silício com enzimas, genes e hormônios envolvidos na redução de danos causados por déficit hídrico, além da sua deposição nos tecidos vegetais, interferindo na fisiologia do tomate cultivar Micro-Tom. Para isso, foram utilizadas seis concentrações de silício (0.00; 0.50; 1.00; 1.50; 2.00 e 2.50 g L⁻¹ de Si) e três regimes hídricos (sem déficit hídrico, com déficit hídrico e com déficit hídrico e reidratação). A aplicação de silício aumentou a taxa de transpiração, condutância estomática, taxa de assimilação de CO₂, atividade calculada da Rubisco e eficiência do uso da água em plantas com déficit e reidratadas na concentração de 1,00 g L⁻¹ de Si. Também atuou na manutenção da fluorescência da clorofila *a* reduzindo a fluorescência mínima adaptada ao escuro (F_o) e aumentando a máxima adaptada ao escuro (F_M) e o rendimento quântico máximo (F_v/F_M) em plantas estressadas. O elemento em baixas concentrações reduziu a degradação da clorofila *a* em plantas estressadas, e aumentou a atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD), peroxidase (POD) e catalase (CAT), reduzindo a peroxidação lipídica. De modo geral, o déficit hídrico prejudicou as trocas gasosas e a aplicação de silício contribuiu para a manutenção e melhora das trocas gasosas. O Si atuou na fluorescência da clorofila *a*, favorecendo a manutenção do aparato fotossintético e dos pigmentos, contribuindo para a redução

da peroxidação lipídica das membranas em condições de déficit hídrico. Além disso, atuou na expressão gênica das enzimas antioxidantes tanto nas folhas como nas raízes, explicando a maior atividade dessas enzimas e, conseqüentemente, menor peroxidação lipídica tanto em folhas como em raízes de plantas de tomate. O silício também atuou no aumento das concentrações de osmorreguladores como prolina, açúcares solúveis totais e sacarose e aumentou a quebra de amido em açúcares solúveis, favorecendo o ajustamento osmótico e recuperação das plantas com déficit e reidratadas. Também verificou-se efeito do silício no ácido abscísico(ABA), o que influenciou o fechamento estomático e conseqüentemente a eficiência do uso da água. A análise da ultraestrutura celular mostrou o efeito do silício na quebra de amido em açúcares solúveis, além da manutenção dos grana, o que contribuiu para a recuperação das plantas de tomates submetidas ao déficit hídrico e reidratação.

Palavras-chave: genética, trocas gasosas, elementos benéficos, ABA, enzimas antioxidantes, osmólitos, ultraestrutura

ABSTRACT

There is great concern about water resources management, since agriculture stands out, due to its expressive consumption. Furthermore, climate change, as an intense heatwave, affects agricultural productivity. Therefore, water use seems efficient either through plants' resistance to drought or grown under well-developed water management. Lately, silicon studies have been conducted, since it increases plant resistance to water stress, but there is little information on physiological, enzymatic, genetic, hormonal and structural mechanisms related to silicon. Thus, this study aimed to verify possible relationships among silicon and enzymes, genes, hormones involved in the reduction of water stress damage; besides that, deposition in plant tissues that interferes in the species' physiology. For this, six concentrations of silicon (0.00, 0.50, 1.00, 1.50, 2.00 and 2.50 g L⁻¹ of Si) and three water regimes (without water deficit, water deficit and water deficit and rehydration) were used. Results indicated that silicon application increased transpiration rate, stomatal conductance, CO₂ assimilation rate, Rubisco activity and water use efficiency in water stressed plants and rehydrated at 1.00 g L⁻¹ of Si. Also, it maintained chlorophyll fluorescence by reducing dark fluorescence (F_d) and increasing dark maximum (F_M), maximum quantum yield (F_v/F_M), electron transport efficiency (ETE) and quantum yield (φPSII) in water stressed plants. The low Si concentration reduced the degradation of chlorophyll *a* in water stressed plants and increased activity of the enzymes superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POD) and catalase (CAT), reducing lipid peroxidation. In general, the water stress impaired gas exchange, thus silicon application contributed to the maintenance and improvement of it. At low concentrations, Si worked on chlorophyll *a* fluorescence, favouring the maintenance of photosynthetic apparatus and pigments, contributing to lipid peroxidation reduction in membranes under water stress. Additionally, it has been involved in gene expression of antioxidant enzymes in both leaves and roots, explaining the higher activity of these enzymes and, consequently, lower lipid peroxidation in leaves and roots of tomato plants. Silicon also increased the concentration of osmoregulators, such as proline, total soluble sugars and sucrose, and acted on starch breakdown in soluble sugars, favouring osmotic adjustment and plants' recovery under stress and rehydration. It was also verified the performance of the silicon in the ABA synthesis,

which influenced the stomatal closure; consequently, water use efficiency. The analysis of the cellular ultrastructure showed the effect of silicon on the breakdown of starch in soluble sugars, in addition to the maintenance of grana, which contributed to the recovery of tomato plants subjected to water deficit and rehydration.

Keywords: genetics, gas exchange, beneficial elements, ABA, antioxidant enzymes, osmolytes, ultrastructure

SUMÁRIO

RESUMO.....	6
ABSTRACT.....	8
1 INTRODUÇÃO	9
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	11
2 1 Déficit hídrico e silício	11
2 2 Aspectos gerais sobre o silício	13
2 3 Silício nas plantas	14
2 4 Aplicação de silício em condições de défices abióticos	16
2 5 Mudanças fisiológicas e metabólicas promovidas pelo Si e déficit hídrico.....	18
3 MATERIAL E MÉTODOS	21
3 1 LOCALIZAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DA ÁREA EXPERIMENTAL	21
3 2 CONDUÇÃO DO EXPERIMENTO	21
3 3 APLICAÇÃO DE SILÍCIO.....	22
3 4 Controle da irrigação	22
3 5 Tratamentos e delineamento experimental	25
4 Variáveis avaliadas	26
4 1 Teor relativo de água nas folhas (TRA).....	26
4 2 Pigmentos fotossintéticos.....	27
4 3 Fluorescência da clorofila <i>a</i>	27
4 4 Trocas gasosas, eficiência de uso de água e eficiência de carboxilação.....	27
5 Peroxidação lipídica e atividade das enzimas antioxidantes	28
5 1 Peroxidação lipídica	28
5 2 Teores de proteínas totais solúveis.....	29
5 3 Atividade da Superóxido Dismutase (SOD).....	30
5 4 Atividade da Catalase (CAT)	30
5 5 Atividade da Peroxidase (POD).....	31
5 6 Extração e determinação do teor de prolina.....	31
5 7 Extração e determinação de açúcares solúveis totais e sacarose	31
5 8 Extração e determinação de amido.....	32
5 9 Determinação de ácido abscísico (ABA)	33

5 10	Expressão gênica	33
5 11	Microscopia Eletrônica de Transmissão	33
6	Análise estatística.....	35
7	RESULTADOS E DISCUSSÃO	36
7 1	Teor relativo de água (TRA).....	36
7 2	Clorofila <i>a</i>	38
7 3	Fluorescência da Clorofila <i>a</i>	39
7 3 1	Fluorescência da clorofila <i>a</i> as 5:00 horas	39
7 3 2	Fluorescência da clorofila <i>a</i> as 12:00 horas	43
7 3 3	Fluorescência da clorofila <i>a</i> as 17:00 horas.....	45
7 4	Trocas gasosas e eficiência do uso da água	48
7 5	Peroxidação lipídica e Enzimas antioxidantes	55
7 5 1	Folhas	55
7 5 2	Raízes.....	61
7 6 1	Açúcares solúveis totais, sacarose e amido nas folhas	65
7 6 2	Açúcares solúveis totais, sacarose e amido em raízes.....	68
7 7 1	Teores de prolina nas folhas.....	71
7 7 2	Teores de prolina nas raízes	73
7 8 1	Concentração de ácido abscísico (ABA) em folhas	74
7 8 2	Concentração de ácido abscísico (ABA) em raízes	75
7 9 1	Expressão gênica das enzimas antioxidantes em folhas	76
7 9 2	Expressão gênica das enzimas antioxidantes nas raízes	80
7 10	Microscopia eletrônica de transmissão	83
8	CONSIDERAÇÕES FINAIS	85
9	CONCLUSÕES	87
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	89

1 Introdução

O uso da água, na agricultura, vem se tornando polêmico pelo fato de se tratar de um recurso cada vez mais escasso. Além disso, períodos de veranicos podem afetar drasticamente a produtividade agrícola de culturas não irrigadas, quando o déficit hídrico pode interferir, provocando alterações fisiológicas, metabólicas e morfológicas (HASANUZZAMAN et al., 2014). Assim, são muitos os esforços de pesquisadores que buscam alternativas que possam minimizar as perdas por déficit hídrico. Dentre as perspectivas no meio científico a utilização de silício está apresentando resultados satisfatórios.

O silício é considerado um elemento benéfico e sua suplementação vem sendo adotada como eficiente estratégia para aliviar os efeitos negativos do déficit hídrico (MA et al., 2006; LIANG et al., 2007; PILON-SMITS et al., 2009; ZHU e GONG, 2014; CAO et al., 2015). Este elemento contribui para a redução da exigência de água pelas plantas devido à diminuição da transpiração pelo acúmulo de silício abaixo da cutícula foliar em monocotiledôneas (EPSTEIN, 1994; LIANG, 1999). Entre as contribuições do silício relatadas, encontram-se comumente os efeitos na fotossíntese e na fluorescência da clorofila *a* em condições de déficit hídrico. Cao et al., 2015 observaram que a suplementação de silício em plantas de tomate submetidas ao déficit hídrico aumentou a eficiência da fluorescência da clorofila *a* em relação às que foram submetidas ao déficit hídrico sem aplicação de silício. Assim, segundo estes autores, o silício pode estar envolvido em vias metabólicas e fisiológicas que ainda não foram completamente esclarecidas.

Alguns trabalhos científicos também relacionam os benefícios do silício à atividade de enzimas antioxidantes (PEI et al., 2010; CHEN et al., 2011; CAO et al., 2015), no entanto, não esclarecem qual o mecanismo de atuação deste elemento em relação à atividade enzimática e expressão de genes que codificam estas enzimas.

Em condições de déficit observa-se o aumento de prolina e de açúcares solúveis devido à formação de osmólitos que atuam como osmorreguladores (LARCHER, 2006) e de ABA, hormônio sintetizado pelas raízes, que se move

para a parte aérea, atuando no fechamento dos estômatos (FAGAN, 2015). No entanto, não há na literatura informações da relação entre o silício, osmorreguladores e ABA.

Da mesma forma são poucos conhecidos os mecanismos de atuação do silício na expressão gênica e na fotossíntese, em nível de processos fisiológicos, incluindo a abertura e fechamento de estômatos e a organização dos cloroplastos, relação com ABA que é um hormônio envolvido no fechamento dos estômatos em condições de falta de água, na osmorregulação e na ativação de enzimas antioxidantes em condições de déficit hídrico. Assim, embora pesquisas relatem a deposição do silício abaixo da cutícula, atuando como barreira à perda de água, nenhuma explica se há deposição em nível celular e se ocorre efetiva atuação do elemento nas células guardas, quando referem à melhor eficiência do uso da água. Também não há esclarecimento de sua ação nos cloroplastos, embora seja descrito a conservação dessas organelas na presença de silício e em condições de déficit hídrico. Além disso, apesar de estudos registrarem o aumento da atividade de enzimas antioxidantes em plantas submetidas ao déficit hídrico na presença de silício, não explicam se tal aumento se deve à ativação enzimática ou expressão de genes que codificam a formação das mesmas.

Dessa forma, os objetivos da presente pesquisa foram identificar possíveis relações do silício com a expressão de genes, atividade de enzimas antioxidantes, concentração de osmólitos e de ABA. Avaliar o efeito da aplicação de silício no déficit hídrico, nas trocas gasosas e na fluorescência. Analisar a influência do silício em nível celular nas folhas e raízes de plantas de tomate cultivar Micro–Tom (MT).

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Déficit hídrico e silício

A deficiência hídrica é um dos estresses que mais influencia o crescimento da planta, devido à influência da água na divisão e expansão celular. Além disso, o fechamento dos estômatos reduz a transpiração, o que pode aumentar a eficiência no uso de água pelas plantas, porém com comprometimento da assimilação de CO₂ o que leva a redução da taxa fotossintética (STEPONKUS, 1990; KUMAR; SINGH, 1998; HASANUZZAMAN et al., 2014).

O tomate cultivar Micro-Tom por se tratar de uma planta modelo, é muito empregado em pesquisas básicas que buscam descrever os mecanismos fisiológicos, bioquímicos e moleculares (MELO et al., 2009).

Diversas pesquisas abordam a importância do silício, tais como maior resistência aos défices bióticos e abióticos e melhoria da qualidade das culturas agrícolas e produtividade, em uma grande variedade de espécies (RICHMOND e SUSSMAN, 2003; FAUTEUX et al., 2005; MA, et al., 2006; LIANG et al., 2007; MA e YAMAJI, 2008; CAO et al., 2015). Um aspecto importante atribuído ao silício é a sua atuação na arquitetura das plantas, que favorece a fotossíntese, ao proporcionar folhas mais eretas, permitindo maior penetração de luz solar, maior absorção de CO₂, ocorrendo assim maior eficiência e incremento da taxa fotossintética (DEREN et al., 1994; RAFI et al., 1997; CAO, et al., 2015), e manutenção dos cloroplastos, dos pigmentos fotossintéticos, da condutância estomática da planta, mesmo em condições de déficit hídrico (HATTORI et al., 2005; MA e YAMAJI, 2006; CAO, et al., 2015).

Em condições de estresse há aumento da produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) que causam uma cascata de reações oxidativas, resultando na redução de pigmentos como clorofila e destruição de membranas pela peroxidação lipídica (FAROOQ et al., 2013; HUSSAIN et al., 2015; TRIPATHI et al., 2015).

No entanto, formam-se sistemas complexos de proteção para competir com o estresse oxidativo, que consiste de diversas enzimas antioxidantes como a superóxido dismutase, peroxidase e catalase. O efeito benéfico do silício tem sido associado justamente ao aumento da capacidade de defesa antioxidante na

deficiência hídrica (ADREES et al., 2015; ANWAAR et al., 2015; KIM et al., 2017 e CAO et al., 2015).

Em condições de déficit observa-se também o aumento de prolina, e alterações nas concentrações de açúcares solúveis que protegem as células dos processos de desestruturação (LARCHER, 2006). Crusciol et al. (2009) verificaram aumento no teor de prolina e redução nos teores de açúcares solúveis e proteínas em folhas de batata, bem como aumento da produtividade de tubérculos, com aplicação de Si via solo.

Plantas sob condições de déficit revelam aumento da concentração de ABA que é sintetizado pelas raízes, e move-se para a parte aérea via xilema. Como esse transporte se dá pela corrente de transpiração, ocorre regulação da perda de água via controle estomático (FAGAN et al., 2015). Conforme acima registrado, a literatura relata que plantas tratadas com silício apresentam redução dos danos causados pelo déficit hídrico. Também refere que a atuação do ABA ameniza este tipo de déficit. No entanto, não há trabalhos científicos relacionando o silício e o ABA em condições de déficit hídrico.

Embora várias pesquisas abordem os efeitos benéficos do Si, também não foram identificados trabalhos que relacionam a atuação do silício com a expressão de genes relacionados ao déficit hídrico.

Khandekar e Leisner 2011 ao avaliarem a expressão de genes em *Arabidopsis thaliana* observaram aumento na transcrição de genes como MT, PCS; CSD, ATH, AUR e GST na presença de silício mediando déficit causado pelos efeitos tóxicos de cobre.

A maioria das pesquisas aponta que a deposição de silício aumenta o fortalecimento e a rigidez da parede celular melhorando, por exemplo, a interceptação de luz (AGARIE et al., 1998). Os estudos de Cao et al., 2015 mostraram pela microscopia eletrônica a conservação de estruturas como os cloroplastos em plantas de tomateiro submetidas ao déficit hídrico na presença de silício. No entanto, são escassas as pesquisas que relatam a distribuição deste elemento em nível celular nas folhas e raízes em condições com déficit hídrico e presença de silício.

Com base no acima exposto o papel do silício como elemento benéfico é claro quando se considera sua atuação na arquitetura da planta e resistência em condições desfavoráveis bióticas e abióticas, que levam ao déficit. No entanto,

não estão esclarecidas suas atuações em nível celular, organização de tecidos, enzimático, hormonal e gênico.

2.2 Aspectos gerais sobre o silício

O silício é o segundo elemento mais abundante da crosta terrestre e, apesar de, não ser considerado um elemento essencial às plantas, devido ao fato de não atender aos critérios diretos e indiretos de essencialidade, vem apresentando resultados promissores ao favorecer o crescimento e produção das plantas, mesmo em condições de estresse (GUNTZER et al., 2012; HERNANDEZ-APAOLAZA, 2014; MEENA et al., 2014; RIZWAN et al., 2015).

O elemento é classificado como benéfico ou útil para algumas espécies vegetais, não sendo considerado necessário para que a planta finalize o ciclo vegetal. Entretanto, estudos comprovam a eficiência do elemento tanto na melhoria de aspectos relacionados à morfologia e estruturação, quanto ao longo do ciclo de desenvolvimento das plantas, principalmente àquelas acumuladoras de Si, como gramíneas, onde estudos avaliando seu efeito vêm sendo mais intensamente realizados. Entretanto, as pesquisas estão apresentando destaque também nas eudicotiledôneas, que em sua maioria, são classificadas como não acumuladoras (COOKE e LEISHMAN, 2011 e 2016; BALAKHNINA et al., 2012; VAN BOCKHAVEN et al., 2015; ADREES et al., 2015; WANG et al., 2017).

Além da atuação desse elemento diretamente na planta, efeitos relacionados à eficiência do elemento podem ser observados mediante a aplicação de materiais silicatados, os quais atuam positivamente sobre as características físicas, químicas e biológicas do solo, possibilitando, a correção da acidez, neutralização do H e Al tóxico, além da interação com outros nutrientes, aumentando a concentração dos mesmos na solução do solo, proporcionando maior disponibilidade e absorção pela planta de Mg (GUNES et al., 2008; XU et al., 2015), N (DETMANN et al., 2012), K (CHEN et al., 2016), P (EMAM et al., 2014), Ca (MATEOS-NARANJO et al., 2013), Fe (PAVLOVIC et al., 2013), Zn (PASCUAL et al., 2016), Mn (WANG e HAN, 2007), e Cu (GUNES et al., 2008), mesmo em condições de déficit hídrico.

Nas plantas, já é descrito na literatura, que a presença do elemento está relacionada à maior resistência ao acamamento, diminuição dos efeitos do ataque por pragas e doenças, devido alterações na anatomia da planta, como a formação de células epidérmicas mais grossas e lignificadas, além do estímulo a maior produção de fitoalexinas. Destacam-se também, maior resistência as condições adversas, causadas por situações de estresse biótico e abiótico, como menores danos causados pela geada, menor taxa de transpiração (em situações de déficit hídrico), favorecimento de nodulação em leguminosas, ativação da atividade de enzimas e efeitos na composição mineral (LIANG et al., 2015; DEBONA et al., 2017; ETESAMI e JEONG, 2018).

Vários estudos demonstraram efeitos benéficos da aplicação de Si, especialmente em culturas como arroz, cana-de-açúcar, cevada, milho, sorgo e trigo (GONG et al., 2005; HATTORI et al., 2005), que são consideradas acumuladoras desse elemento. No entanto, ainda há controvérsias em relação aos mecanismos pelos quais o silício favorece o desenvolvimento vegetal, mesmo em condições estressantes, principalmente em eudicotiledôneas.

2 3 Silício nas plantas

O silício é absorvido pelas plantas, preferencialmente, na forma de ácido monossilícico (H_4SiO_4), sendo que sua disponibilidade é influenciada pelo pH, temperatura e teor de matéria orgânica do solo (LIANG et al., 2007).

O transporte desse elemento na planta é diretamente dependente das taxas de transpiração e, portanto, realizado via xilema. Esta distribuição varia de acordo com a espécie estudada, podendo ocorrer de maneira uniforme em plantas que acumula pouco Si, como no caso do tomateiro. No entanto, em plantas classificadas como acumuladoras 90% do elemento encontra-se na parte aérea (LIANG et al., 2015). Além disso, de toda a quantidade do elemento acumulado nas plantas, 99% encontra-se na forma de ácido silícico polimerizado e, portanto, de difícil solubilização.

Considera-se, normalmente, que a concentração média de Si nas raízes seja um décimo da concentração no caule, e sua movimentação dentro da planta depende das concentrações presentes na solução do solo, além da taxa

transpiratória do órgão e da espécie em questão (CHANCHAL e MALHOTRA et al., 2016).

As plantas são divididas de acordo com sua capacidade de absorção e acúmulo de Si nos órgãos, sendo altamente variável entre as espécies. Dessa forma, são descritos três grupos. O primeiro grupo corresponde às plantas capazes de acumular entre 100 e 150 g de Si por kg de massa seca. O segundo grupo é representado pelas plantas intermediárias, que apresentam entre 10 e 50 g de Si por kg de massa seca. Enfim, o terceiro grupo corresponde às plantas não-acumuladoras, onde as concentrações de silício são abaixo de 5 g por kg de massa seca.

Dessa forma, plantas como as gramíneas, consideradas acumuladoras, são capazes de absorverem Si da solução do solo de forma passiva, ou seja, o elemento acompanha o fluxo de massa da água. No entanto, plantas consideradas não-acumuladoras, como as eudicotiledôneas, absorvem o Si de forma ativa (ZHANG et al., 2017).

Na literatura, no que diz respeito à atuação do silício no vegetal, destaca-se o fato do Si se acumular na parede celular, possibilitando assim, a formação de dupla camada de sílica-cutícula e sílica-celulose (HAMEED et al., 2013). Essas camadas protetoras apresentam relação positiva com a redução da transpiração pela planta, diminuindo a quantidade de água perdida pela transpiração ao longo do ciclo, tornando a planta menos exigente em água e mais resistente a possíveis situações de seca.

Essas mesmas camadas protetoras, também funcionam como barreira de resistência mecânica à invasão de fungos e bactérias, aumentando a resistência das plantas ao ataque de pragas e doenças. Atualmente, esse é um dos motivos que mais contribuem para a recomendação de aplicação de silício nas lavouras comerciais (HUANG et al., 2011).

Apesar de não ser considerado elemento essencial às plantas, estudos também relatam que a aplicação de Si ao solo, favorece o crescimento e aumento de produtividade das culturas, principalmente por melhorar a disponibilidade de nutrientes do solo.

Pereira Junior et al. (2010), avaliando a influência de doses de Si na cultura da soja não verificaram influência positiva sobre as características vegetativas e também sobre a produtividade final da cultura. Assim, não estão bem definidos

os benefícios do Si sobre as eudicotiledoneas, sendo necessários estudos com as mais variadas espécies cultivadas.

É conhecido na literatura o aumento das taxas fotossintéticas na presença do silício. No entanto, a explicação para esse aumento estaria relacionada ao fato do Si promover melhorias na arquitetura das plantas, proporcionando melhor arranjo das folhas, tornando-as mais eretas e mais resistentes a possíveis acamamentos (AGARIE et al., 1998). No entanto, são poucos os estudos que relacionam o silício com a conservação de membranas das organelas, devido à redução da ação de ERO. Cao et al., 2015, relatou por meio de imagens ultra estruturais, a manutenção dos cloroplastos em plantas de tomateiro submetidas ao déficit hídrico, demonstrando que a atuação do Si não seria apenas na arquitetura da planta.

Assim, o fornecimento de Si pode promover estabilidade na produção das culturas, em razão da maior tolerância aos estresses as quais as plantas são submetidas diariamente. Aumentos de produtividade devido à aplicação de Si são evidenciados por diversas pesquisas, podendo o Si ser empregado como uma prática benéfica e rotineira na agricultura.

2.4 Aplicação de silício em condições de estresses abióticos

Estresses causados por temperaturas extremas, veranicos, metais pesados ou tóxicos, desequilíbrios nutricionais, por exemplo, podem ter seus efeitos reduzidos com o uso do Si (GUNES et al., 2008; XU et al., 2015; CHEN et al., 2016; PASCUAL et al., 2016).

Um dos principais efeitos do Si na redução da toxicidade dos metais e de nutrientes em excesso é a redução da absorção e o transporte de metais nas plantas. Vários estudos relatam a redução da absorção e translocação de metais e dessa forma, aumento da tolerância a metais tóxicos em espécies de plantas tratadas com Si (ANWAAR et al., 2015; KELLER et al., 2015; TRIPATHI et al., 2015). A polimerização de H_4SiO_4 dentro do apoplasto (biosilicificação em plantas) é conhecida por resultar na formação de uma barreira de sílica amorfa (EXLEY, 2015), que pode dificultar a penetração de potenciais tóxicos como Al, Mn, Cd e Zn no simplasto (GUERRIERO et al., 2016). Esta diminuição na absorção de metais na presença de Si pode ser explicada de muitas maneiras. Por exemplo, Si pode desencadear a produção na raiz de exsudatos que

quelatizam os metais e reduzem sua absorção pelas raízes (KIDD et al., 2001). Além disso, esta redução na absorção de metais também pode ser explicada pelo fato do Si reduzir o transporte apoplasmático dos metais diminuindo sua concentração no apoplasma (IWASAKI et al., 2002; ROGALLA e RÖMHELD, 2002; LIANG et al., 2007; YE et al., 2012; KELLER et al., 2015).

Em condições estressantes observa-se que o Si atua no aumento da biossíntese de clorofila e manutenção da fotossíntese (ADREES et al., 2015; IMTIAZ et al., 2016). Estudos demonstram que a aplicação de Si aumenta o conteúdo de clorofila *a*, clorofila *b* e carotenoides e melhora a condutância estomática, reduz a transpiração e aumenta a assimilação de CO₂ mesmo em condições de défices bióticos e abióticos (FAROOQ et al., 2013; HUSSAIN et al., 2015; RIZWAN et al., 2012; TRIPATHI et al., 2015).

Além disso, plantas que recebem aplicações de Si durante seu desenvolvimento, apresentam melhor absorção de micronutrientes como Zn, Fe e Mn e macronutrientes Ca, Mg, P e K, mesmo em condições de déficit, permitindo dessa forma, a manutenção do crescimento vegetal (ADREES et al., 2015; KELLER et al., 2015; MEHRABANJOUANI et al., 2015; TRIPATHI et al., 2015). Feng et al., (2010), observaram que o suprimento de Si diminuiu os efeitos limitantes do estresse no metabolismo de nitrogênio das plantas, aumentando o crescimento e biomassa das plantas.

A aplicação de Si via solo, antes mesmo da instalação das culturas, vem sendo adotada com sucesso. Isso se deve ao fato do Si imobilizar metais tóxicos e aumentar o pH do solo (ADREES et al., 2015; NAEEM et al., 2015). A aplicação de Si no solo altera as suas propriedades que, por sua vez, controlam a disponibilidade de elementos como o alumínio (LIANG et al., 2007; RIZWAN et al., 2012), reduzindo a disponibilidade desse na solução do solo pela formação de complexos de silicatos insolúveis, e complexos de polifenóis de Si (LIANG et al., 2007; GU et al., 2012; SHIM et al., 2014). ZHANG et al. (2013) relataram que a adição de Si diminuiu a proporção de metais prejudiciais as culturas, aumentando a proporção da fração de metais ligados à precipitação e à matéria orgânica, reduzindo assim sua disponibilidade no solo.

3.5 Mudanças fisiológicas e metabólicas promovidas pelo Si e déficit hídrico

O estresse oxidativo ocorre nas plantas quando estas são expostas a qualquer tipo de déficit (KIM et al., 2017). Por outro lado, diminuindo a produção de ERO e aumentando as atividades das enzimas antioxidantes (por exemplo, SOD, POD, CAT e APX), a aplicação de Si pode reduzir o estresse oxidativo nas plantas (ADREES et al., 2015; ANWAAR et al., 2015; KIM et al., 2017). Pesquisas demonstram que a aplicação de Si aumenta consideravelmente a defesa das plantas, pelo fato de alterar as atividades de enzimas antioxidantes.

Plantas em condições de déficit hídrico apresentam estresse osmótico, que limita a absorção de água pela planta e, por sua vez, afeta o conteúdo de água da folha, a condutância estomática, o crescimento foliar (aceleração da senescência foliar e morte da folha) e fotossíntese (diminuição das concentrações de clorofila) e, finalmente, resulta em redução no crescimento das plantas (MUNNS e TESTER, 2008). Além disso, é observado redução dos pigmentos fotossintéticos e alterações no transporte de elétrons entre os fotossistemas. Assim, a fluorescência mínima da folha é alta e fluorescência máxima baixa. Isso significa que ao invés de haver energia para o processo fotossintético, essa energia está sendo perdida na forma de fluorescência e fotorrespiração, o que aumenta a produção de espécies reativas de oxigênio e, conseqüentemente, maiores danos de membranas (CAO et al., 2015; ETESAMI e JEONG, 2018). No entanto, as plantas apresentam estratégias para manter o equilíbrio de água em condições de seca (HORIE et al., 2011). O ajuste osmótico ajuda as plantas a reter água, apesar do baixo potencial hídrico, e assim aliviar o estresse osmótico (OSAKABE et al., 2014). Há relatos que mostram que o Si pode melhorar o balanço hídrico em muitas espécies de plantas (WANG et al., 2015; ZHU et al., 2015), aliviando o estresse osmótico (CHEN et al., 2014). Além disso, vários estudos relataram que plantas tratadas com Si mantêm maior teor de água na folha e condutividade hidráulica da raiz e planta inteira (LIU et al., 2015; YIN et al., 2013).

O Si está envolvido no aumento da expressão de aquaporinas presentes na membrana plasmática, que contribuem para o aumento da absorção de água (LIU et al., 2015; ZHU et al., 2015) e reduz o estresse oxidativo e os danos na membrana. Em estudos, Liu et al. (2014), Liu et al. (2015) e Wanget al. (2015)

observaram que o Si aumentou a absorção de água devido a transcrição de alguns genes de aquaporina (aumentou a expressões de aquaporina). No entanto, os mecanismos de ação do Si alterando a expressão e atividade da aquaporina ainda não são claras (COSKUN et al., 2016).

Além disso o Si pode melhorar o transporte de água e facilitar sua absorção pelas raízes, ajustando o potencial osmótico das células, por meio do acúmulo de osmólitos, como os açúcares solúveis e prolina (LEE et al., 2010; SONOBE et al., 2010; MING et al., 2012), aumentando a condutividade hidráulica. Esta regulação osmótica pode ser uma consequência do acúmulo de açúcares solúveis e aminoácidos. Acúmulo de aminoácidos mediado por Si (como prolina) pode reduzir o potencial osmótico da célula e assim formar um gradiente osmótico, ou seja, aumento na força motriz osmótica na planta. Sonobe et al. (2010) observaram que a aplicação de Si poderia melhorar a absorção de água pela raiz sob condições déficit hídrico, através do acúmulo de açúcares solúveis e aminoácidos. No entanto, no estudo de Wang et al. (2015), os potenciais osmóticos foliares e radiculares não foram diminuído por Si. Este resultado demonstra que o ajuste osmótico não pode ser o único mecanismo pelo qual o Si reduz os efeitos deletérios em plantas submetidas ao déficit hídrico.

As trocas gasosas são altamente influenciadas pelo déficit hídrico (GUPTA e HUANG, 2014). No entanto, o tratamento exógeno de Si possibilita manutenção das trocas gasosas em plantas submetidas ao déficit hídrico (GONG e CHEN, 2012; LIU et al., 2015; RIZWAN et al., 2015). Xie et al. (2015), observaram que o Si melhorou a tolerância do milho ao déficit hídrico, aumentando a taxa fotossintética, a condutância estomática e diminuindo a taxa de transpiração. Os estômatos regulam o nível de água, controlando a taxa de transpiração, especialmente sob a seca (RIZWAN et al., 2015). Além disso, em condições de déficit hídrico, há maior acúmulo de ABA nas folhas, que atua no fechamento estomático e, conseqüentemente, na redução da taxa de transpiração. Segundo Abdalla, 2011 e Chen et al., 2011 a aplicação de Si em aspectos de déficit hídrico promoveu a diminuição da taxa de transpiração e aumento da taxa fotossintética e condutância estomática. Para Rizwan et al., 2015, estudos abrangentes são necessários para determinar outros mecanismos de regulação das trocas gasosas sob déficit hídrico, além da atuação desse elemento em

aspecto bioquímicos como a síntese de osmólitos e expressão de genes relacionados com enzimas antioxidantes.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Localização e caracterização da área experimental

As sementes de tomate Micro-Tom foram cedidas pelo Departamento de Biologia da ESALQ-SP. Essas sementes foram semeadas em substrato específico para olerícolas (Carolina Soil®) e as plantas foram cultivadas em casa de vegetação no Departamento de Botânica, do Instituto de Biociências - UNESP, Campus de Botucatu-SP, onde foram realizadas análises fisiológicas, enzimáticas, de prolina, açúcares solúveis e ABA. Avaliações de microscopia foram realizadas no Centro de Microscopia Eletrônica deste mesmo Instituto e de expressão gênica foram realizadas no Departamento de Melhoramento e Produção Vegetal, pertencente à Faculdade de Ciências Agrônomicas – Campus de Botucatu/UNESP. Durante o desenvolvimento das mudas e das plantas, as temperaturas médias máximas, mínimas e médias foram, respectivamente, 26°C, 15°C e 21°C.

3.2 Condução do experimento

Todo o manejo desde a semeadura até o final do ciclo foi realizado de acordo com o “Manual do Modelo Vegetal Micro-Tom” propostos por Pino et al. (2016); Piotto e Peres (2016).

A semeadura foi feita em vasos de 250 mL, utilizando-se 15 sementes por vaso. As condições ambientais para o cultivo das mudas foram: temperaturas médias máximas foram de 26°C, mínimas de 15°C e média de 21°C.

O transplante foi realizado quando as mudas apresentaram um par de folhas bem desenvolvidas e o segundo já formado para vasos de 160 mL contendo vermiculita e substrato orgânico inerte Plantmax® na proporção 2:1. Após o transplante para os vasos com capacidade igual a 160 mL, na capacidade de campo, foi aplicado ao redor das plantas 0,5 g de Formulado NPK (4-14-8). A adubação foliar foi realizada semanalmente, com auxílio de pulverizador pressurizado de CO₂ com bico do tipo “Leque” e pulverização até o total molhamento com 200 mL L⁻¹ de solução estoque contendo 7 g Peters 20.20.20 + 20 g Ca(NO₃)₂ + 5 g MgSO₄ + 3 g K₂SO₄, dissolvidos em 2 litros de água.

No estabelecimento de déficit hídrico não foi realizada a aplicação de adubação via foliar em qualquer tratamento (com ou sem déficit hídrico).

Foram cultivadas 500 plantas, distribuídas de forma aleatória.

3.3 Aplicação de silício

A variação de silício a que as plantas de tomate foram submetidas caracterizou os tratamentos estudados, ou seja, sem adição do elemento (0) e com adição nas concentrações iguais a 0,5, 1,0, 1,5, 2,0 e 2,5 g L⁻¹, com quatro repetições por tratamento. As concentrações de Si utilizadas nos diferentes tratamentos foram parceladas em quatro aplicações realizadas uma vez por semana, sendo a primeira em plantas com 22 dias após a semeadura e a última no início do florescimento, que ocorreu 59 dias após semeadura. Todas as pulverizações foram realizadas de manhã (7:00 h) com temperaturas médias de 18°C, umidade relativa do ar de 80%.

A aplicação de silício foi realizada via foliar com o auxílio de pulverizador pressurizado de CO₂ com bico do tipo “Leque”, com taxas de vazão de 0,025 a 2500 gpm (0,09 a 9464 l/min) e pressões até 4000 psi (276 bar), empregando o produto “SUPA SILÍCIO” que apresenta 100 g L⁻¹ de Si e 237 g L⁻¹ de K₂O e espalhante adesivo ADESIL[®]. Para evitar a interferência do K presente no produto “SUPA SILÍCIO” sua concentração foi compensada para ser mantida constante, com variação apenas da concentração de Si nos diferentes tratamentos.

Nos tratamentos onde as plantas não foram submetidas ao silício, a pulverização foi realizada apenas com água e espalhante adesivo ADESIL[®].

3.4 Controle da irrigação

Para o estabelecimento do déficit hídrico em plantas de tomate cultivar Micro-Tom foi realizado o monitoramento da perda de água do substrato constituído da mistura vermiculita comercial e substrato orgânico inerte Carolina Soil[®] (2:1), conforme Thameur et al. (2012).

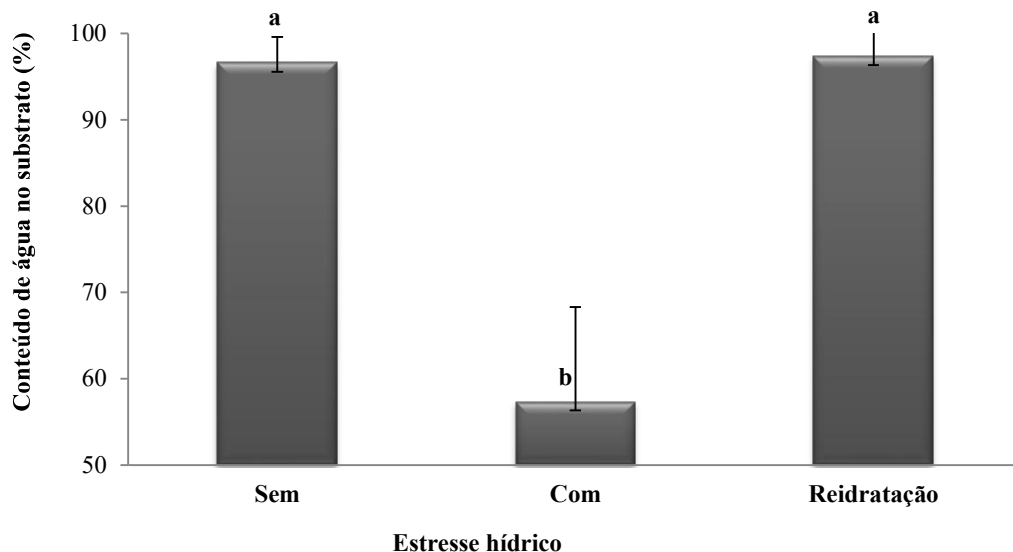
Vinte e cinco vasos com capacidade igual a 160 mL contendo apenas a mistura (vermiculita e substrato), conforme as recomendações do “Manual do Modelo Vegetal Micro-Tom” propostos por Pino et al. (2016); Piotto e Peres

(2016), foram irrigados até a capacidade máxima de retenção de água (100%) e mantidos sem irrigação durante uma noite para liberação de seu excesso. Nesse período, as superfícies dos vasos foram vedadas com papel alumínio para evitar evaporação. Na manhã seguinte os vasos foram pesados e as massas obtidas foram utilizadas como as suas massas na capacidade máxima de retenção de água (100%). A pesagem dos vasos (g) ao longo de todo o experimento comparada com a massa na capacidade máxima de retenção (100%) foi utilizada para o cálculo do conteúdo de água no substrato (CAS) pela fórmula: $CAS = (M_{Tratamento}/M_{100\%}) * 100$, conforme Varone et al., 2012. Esse cálculo possibilitou o controle e a reposição de água para manter os vasos contendo as plantas na sua capacidade máxima de retenção, procedimento realizado diariamente. Os vasos foram mantidos nessa condição, com variação de Si até as plantas atingirem a fase de antese, 59 dias após semeadura, quando se iniciaram os tratamentos com três regimes hídricos. A suspensão de água, portanto, ocorreu na fase de antese que se iniciou aos 59 dias após semeadura e 48 horas depois da aplicação da quarta parcela de Si nos tratamentos. Para o estabelecimento dos três regimes hídricos, as plantas cultivadas com variação de Si foram submetidas a diferentes condições: 1. Sem déficit hídrico. As plantas cultivadas sem déficit hídrico foram irrigadas duas vezes por dia para serem mantidas entre 90 e 100% da capacidade de campo (VARONE et al., 2012). 2. Com déficit hídrico. As plantas cultivadas com déficit hídrico tiveram a irrigação interrompida até a observação da murcha das folhas e assimilação de carbono negativa. 3. Com déficit hídrico e reidratação. As plantas cultivadas com déficit hídrico e reidratação tiveram a irrigação interrompida até a observação da murcha das folhas e assimilação de carbono negativa e após este período foram reidratadas até atingirem entre 90 e 100% da capacidade de campo (VARONE et al., 2012), quando as folhas readquiriram a assimilação de carbono não negativa ou nula.

As avaliações e coletas de material vegetal de todos os tratamentos foram realizadas 48 h após a reidratação.

O monitoramento do CAS para os diferentes regimes hídricos estão descritos na figura 1.

Figura 1. Conteúdo de água no substrato (%) em plantas de tomate cultivar Micro-Tom com diferentes concentrações de Si e submetidas a tratamentos hídricos (sem e com déficit hídrico e com déficit hídrico e reidratada). UNESP/2017. As letras comparam tratamentos hídricos pelo teste Tukey.



O conteúdo de água no substrato dos vasos contendo as plantas cultivadas com variação de Si e sem déficit hídrico e naquelas com déficit hídrico e reidratadas foram iguais a 96,57 e 97,31%, respectivamente. As plantas sem déficit hídrico apresentaram-se com taxa de assimilação positiva e elevada, enquanto as com déficit e reidratadas não apresentaram sinais de déficit, como taxa de assimilação negativa, por terem se recuperado. No entanto, essas últimas apresentaram as bordas das folhas queimadas, como consequência do déficit a que foram submetidas. Em vasos contendo as plantas submetidas à suspensão de água, o conteúdo de água no substrato foi igual, em média, a 57,31% (Figura 1). Nessa condição as plantas apresentaram sinais de deficiência hídrica e estresse, como taxa de assimilação negativa, avaliada por meio de equipamento com sistema aberto de fotossíntese com analisador de CO₂ e vapor d'água por radiação infravermelha (Infra RedGasAnalyser – IRGA, modelo GSF 3000, Wallz).

3.5 Tratamentos e delineamento experimental

As plantas de tomate cultivar Micro-Tom (MT) foram submetidas aos seguintes tratamentos, que combinaram as concentrações de Si (6 concentrações, 0,0, 0,5, 1,0, 1,5, 2,0 e 2,5 g L⁻¹) e três regimes hídricos (sem déficit hídrico, com déficit hídrico e com déficit hídrico e reidratação), em esquema fatorial 6x3, indicados a seguir:

T1: sem aplicação de silício e sem déficit hídrico (Testemunha);

T2: sem aplicação de silício e com déficit hídrico;

T3: sem aplicação de silício + com déficit hídrico e reidratação;

T4: 0,50 g L⁻¹ de silício + sem déficit hídrico;

T5: 1,0 g L⁻¹ de silício + sem déficit hídrico;

T6: 1,50 g L⁻¹ de silício + sem déficit hídrico;

T7: 2,00 g L⁻¹ de silício + sem déficit hídrico;

T8: 2,50 g L⁻¹ de silício + sem déficit hídrico;

T9: 0,50 g L⁻¹ de silício + com déficit hídrico;

T10: 1,00 g L⁻¹ de silício + com déficit hídrico;

T11: 1,50 g L⁻¹ de silício + com déficit hídrico;

T12: 2,00 g L⁻¹ de silício + com déficit hídrico;

T13: 2,50 g L⁻¹ de silício + com déficit hídrico;

T14: 0,50 g L⁻¹ de silício + com déficit hídrico e reidratação;

T15: 1,00 g L⁻¹ de silício + com déficit hídrico e reidratação;

T16: 1,50 g L⁻¹ de silício + com déficit hídrico e reidratação;

T17: 2,00 g L⁻¹ de silício + com déficit hídrico e reidratação;

T18: 2,50 g L⁻¹ de silício + com déficit hídrico e reidratação.

As concentrações de silício se basearam em quantidades já empregadas em gramíneas (arroz, cana), cucurbitáceas (pepino) e solanáceas (tomate) (MENZIES et al., 1992; PUPATTO, 2003; CAO et al. 2015).

O delineamento experimental foi em blocos ao acaso com quatro repetições e doze plantas por repetição, totalizando 500 plantas distribuídas aleatoriamente. Após a determinação de fluorescência e trocas gasosas, duas plantas foram utilizadas para determinação do TRA e pigmentos fotossintéticos em tecidos foliares e seis para as avaliações enzimáticas, hormonais, gênicas, de osmólitos e microscopia. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias

dos tratamentos comparadas pelo teste Tukey. A análise de teste Tukey foi realizada para avaliar o efeito das concentrações de silício e dos regimes hídricos, sem déficit, com déficit e com déficit e reidratadas.

4 VARIÁVEIS AVALIADAS

4.1 Teor relativo de água nas folhas (TRA)

Uma folha completamente expandida de duas plantas por repetição dos tratamentos descritos acima, foram retiradas para avaliar o teor relativo de água na folha (TRA). Para tanto, foram retiradas áreas (2 cm x 2 cm) em duplicata da folha que foram pesadas para determinação da massa fresca (MF). Logo após a pesagem as amostras foram imersas em água deionizada por quatro horas, mantidas em geladeira para a determinação da massa túrgida (MT). A seguir, as amostras foram levadas para estufa de circulação forçada de ar a 70°C até atingirem massa constante para a determinação da massa seca (MS). Os valores das massas obtidas foram usados na fórmula proposta por Weatherley (1949) para cálculo do conteúdo relativo de água das folhas.

$$\text{TRA} = (\text{MF}-\text{MS})/(\text{MT}-\text{MS})\cdot 100.$$

4.2 Pigmentos fotossintéticos

Para determinação do conteúdo de clorofila *a*, discos das folhas das plantas foram coletados e colocados em tubos de ensaio contendo 1 mL de reagente Dimetilformamida. Os tubos de ensaio foram cobertos com papel alumínio e armazenados em refrigeração a 4°C por 24 horas, depois de transferido todo o volume de solução para cubeta, a leitura foi realizada em espectrofotômetro nos comprimentos de onda iguais a 646,8 e 663,8 nm para determinação da clorofila *a*. Os valores dos pigmentos foram determinados pela fórmula abaixo, conforme Lee et al.(1987).

$$\text{Clorofila } a: 12 \times \text{Absorbância a } 663,8 \text{ nm} - 3,11 \times \text{Absorbância a } 646,8 \text{ nm}.$$

4.3 Fluorescência da clorofila a

A fluorescência foi avaliada utilizando-se fluorômetro de pulso modulado (JUNIOR-PAM, Walz®). As avaliações foram realizadas às 5h, 12h e 17h. Com exceção das avaliações realizadas às 5h, as folhas foram aclimatadas por um período de 30 minutos no escuro com papel alumínio. Em seguida, um pulso de saturação de $10000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de DFFF com 0,6 s foi aplicado para a obtenção da F_m (fluorescência máxima adaptada ao escuro) e F_m' (fluorescência máxima adaptada a luz). Além da fluorescência máxima da folha adaptada a luz e ao escuro, também foi obtida F_o (fluorescência mínima adaptada ao escuro) e F_o' (fluorescência mínima adaptada à luz). Entre cada pulso de saturação foi dado um pulso de luz actínica de $1150 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de DFFF de 15 segundos de duração.

Utilizando-se F_m , F_o , F_m' e F_o' foram calculados o rendimento quântico máximo (F_v/F_m) que reflete a habilidade do PSII em oxido-reduzir o acceptor primário QA (quinona A) (KITAJIMA; BUTLER, 1975).

4.4 Trocas gasosas, eficiência de uso de água e eficiência de carboxilação

Foram efetuadas utilizando-se equipamento com sistema aberto de fotossíntese com analisador de CO_2 e vapor d'água por radiação infravermelha (Infra Red Gas Analyser – IRGA, modelo GSF 3000, Walz®). Essas medidas foram realizadas entre 9:00 e 11:00 h, em folhas completamente expandidas, padronizando a luz em $1200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. As medidas foram realizadas em plantas submetidas às diferentes concentrações de Si e, sem déficit hídrico, com déficit hídrico e com déficit hídrico e reidratadas. A concentração de CO_2 de referência utilizada durante as avaliações foi a do ambiente. Durante as avaliações foram coletados os dados de temperatura e umidade relativa do ar utilizando o próprio medidor de trocas gasosas. As características de trocas gasosas analisadas foram: taxa de assimilação de CO_2 (A , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{s}^{-1}$), taxa de transpiração (E , $\text{mmol vapor d'água m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e condutância estomática (G_s , $\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Essas características foram calculadas pelo programa de

análise de dados do equipamento medidor de fotossíntese, que utiliza a equação geral de trocas gasosas de Von Caemmerere Farquhar (1981).

A eficiência do uso da água (EUA), $\mu\text{mol CO}_2 (\text{mmolH}_2\text{O})^{-1}$ foi determinada pela relação entre assimilação de CO_2 e taxa de transpiração e a eficiência de carboxilação (A/C_i), $(\text{mol m}^{-2} \text{cm}^{-1} \text{Pa}^{-1})$, foi determinada pela da relação entre taxa de assimilação de CO_2 e concentração interna de CO_2 na folha.

4.5 Peroxidação lipídica e atividades das enzimas antioxidantes

Seis plantas por repetição foram coletadas e suas partes (folhas, caules e raízes) foram separadas. As diferentes partes coletadas foram acondicionadas em sacos plásticos, embrulhados em papel alumínio. Em seguida as amostras foram congeladas em nitrogênio líquido para paralisar todas as reações e, a seguir, armazenadas em ultra-freezer a -82°C . Posteriormente, essas amostras foram maceradas em moinho criogênico para serem utilizadas nas análises bioquímicas.

4.5.1 Peroxidação lipídica

A peroxidação lipídica foi avaliada utilizando-se metodologia de Heath e Packer (1968). Foram utilizados 100 mg de material fresco macerado em almofariz adicionando-se 2 ml de meio de reação constituído por ácido tiobarbitúrico (0,25%, m/v) e ácido tricloro acético (10%, m/v). A solução, acondicionada em tubos de ensaio vedados e incubados em banho maria a 95°C por 1 hora, foi centrifugada a 12000 rpm por 15 minutos a 25°C . O sobrenadante foi coletado e levado para leitura em espectrofotômetro nos comprimentos de onda 532 e 600 nm. O montante de malondialdeído formado foi calculado utilizando o coeficiente de extinção de $155 \text{mM}^{-1} \text{cm}^{-1}$.

4.5.2 Teores de proteínas totais solúveis

Para a determinação do teor de proteínas totais solúveis foi empregado o método proposto por Bradford (1976). As leituras foram efetuadas em

espectrofotômetro e comparadas com a curva-padrão de caseína a 1%, sendo o teor protéico da amostra expresso em mg de proteína g^{-1} de matéria fresca.

Para tanto, foram utilizados 100 mg de material fresco macerado em 2 ml de tampão fosfato de potássio $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em pH 6,8, com adição de 100 mg de polivinilpolipirrolidona (PVPP) para evitar oxidação das amostras. O material resultante foi centrifugado a 12000 rpm por 15 minutos e o sobrenadante retirado e usado como extrato para determinação da concentração de proteínas.

O reagente de Bradford usado na determinação da concentração de proteínas foi preparado com 100 mg de coomassie brilliant blue G-250 dissolvido em 50 ml de etanol 95%. A essa solução adicionou-se 100 ml de ácido fosfórico 85% (v/v) e a seguir, a mesma foi diluída para um volume final de 1L com água deionizada. A curva padrão utilizada para os cálculos da concentração de proteínas foi preparada utilizando-se 100, 80, 60, 40, 20 e 0 μg de proteína (Caseína), com posterior adição de reagente de Bradford. A solução resultante foi levada para leitura em espectrofotômetro no comprimento de onda igual a 595 nm.

Cinquenta μl do extrato foram colocados em tubos de ensaio, com adição de 2,5 ml de reagente de Bradford. Os tubos foram agitados com o auxílio de vortex e as leituras das amostras foram realizadas em espectrofotômetro no comprimento de onda de 595nm, utilizando água deionizada como branco (BRADFORD, 1976).

4.5.3 Atividade da Superóxido Dismutase (SOD)

A determinação da atividade da SOD é realizada com base na capacidade da enzima inibir a fotorredução do NBT (azul de cloreto de nitrotetrazólio). A atividade foi determinada pela adição de 50 μL de extrato a solução contendo 13 mM de metionina, 75 μL de NBT, 100 nM de EDTA e 2 μM de riboflavina em 3,0 mL de tampão fosfato de potássio 50 mM, pH 7,8. A reação foi iniciada pela iluminação dos tubos, em câmara composta por lâmpadas fluorescentes (15 W), a 25°C. Após 5 minutos de incubação, o final da catálise foi determinado pela interrupção da luz (GIANNOPOLITIS e RIES, 1977). O composto azul formado (formazana) pela fotorredução do NBT foi determinado pela leitura em espectrofotômetro a 560 nm. Uma unidade de SOD é definida como a atividade

da enzima necessária para a inibição de 50% da fotorredução do NBT. Para o cálculo da atividade específica da enzima considera-se a porcentagem de inibição obtida, o volume da amostra e a concentração de proteína na amostra ($\mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$).

4.5.4 Atividade da Catalase (CAT)

Foi realizada em espectrofotômetro com comprimento de onda de 240 nm e monitoramento da variação da absorção do peróxido de hidrogênio, conforme Peixoto et al. (1999). Para o teste, 50 μL de extrato bruto foram adicionados a 950 μL de tampão fosfato de potássio 50 mM, pH 7,0, suplementado com peróxido de hidrogênio na concentração final de 12,5 mM. A variação da absorção (E) foi calculada em intervalo de 80 segundos, sendo a atividade da enzima calculada utilizando-se coeficiente de extinção molar de $39,4 \text{ mM cm}^{-1}$. A atividade específica ($\mu \text{Kat} \mu\text{g prot}^{-1}$) da catalase levou em consideração a concentração de proteína solúvel no teste. As leituras foram realizadas em 4 intervalos de 20 segundos entre cada leitura.

4.5.5 Atividade da Peroxidase (POD)

A atividade da POD foi determinada de acordo com Teisseire e Guy, (2000), sendo utilizados 30 μL de extrato em sistema de reação constituído por 50 mM L^{-1} de tampão fosfato de potássio, pH 6,5; 20 mM L^{-1} de pirogalol e 5 mM L^{-1} de peróxido de hidrogênio totalizando volume igual a 1ml. A reação foi conduzida em temperatura ambiente por 5 minutos. A formação de purpurogalina foi medida em espectrofotômetro a 430nm. O cálculo da atividade específica da POD considerou coeficiente de extinção molar de $2,47 \text{ mM L}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ e o resultado foi expresso em $\mu\text{mol de purpurogalina min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$ de proteína.

4.6 Extração e determinação do teor de prolina

O teor de L-prolina foi determinado utilizando-se o método de Bates et al. (1973), com adaptações. Para o processo de extração foram pesadas 250 mg de

amostras maceradas em nitrogênio líquido as quais foram adicionadas 5 mL de ácido sulfosalicílico (3% em água). Em seguida foi realizada a centrifugação por cinco minutos e o sobrenadante foi coletado e armazenado a -80°C . Para a determinação dos teores de prolina, foram utilizados 2,0 mL do extrato bruto ao qual foram adicionados 2,0 mL de ninhidrina ácida e 2,0 mL de ácido acético glacial. Essa solução foi colocada em tubos “falcon” e mantidos em banho-maria (90°C) por 60 minutos. Após a retirada dos tubos do banho-maria, foram adicionados 2,5 mL de tolueno e submetidos à agitação com o auxílio de vortex. Esses tubos foram mantidos a temperatura ambiente por 30 minutos. Após esse período a parte superior do sobrenadante foi coletada com auxílio de pipeta de “Pasteur” e submetida à leitura em espectrofotômetro a 520 nm. Como referência, foi utilizada curva padrão com L-prolina p.a.

4.7 Extração e determinação de açúcares solúveis totais e sacarose

Folhas e raízes de tomate cultivar Micro-Tom foram maceradas em moinho criogênico, até a obtenção de pó fino. Em seguida, foram pesados 100 mg de material vegetal moído em microtubos com capacidade para 2,0 mL e adicionado 1 mL de etanol 80% e realizada a agitação em vortex. Esses tubos foram acondicionados em banho-maria a 80°C por 15 minutos, deixando os microtubos abertos para não estourar. Em seguida realizou-se a centrifugação a 12.000 xg por 15 minutos a 4°C . O sobrenadante foi transferido para tubos falcon com capacidade de 15 mL. Esse processo foi realizado mais duas vezes, unindo ao final das extrações, os três sobrenadantes e igualando o volume para 4 mL com água deionizada (GARCIA et al., 2006).

Para a determinação dos açúcares solúveis totais foram empregados 100 μL de extrato, sendo adicionados 900 μL de água deionizada e 2000 μL do reativo antrona. Após agitação, os tubos de ensaios contendo o extrato e os reagentes foram colocados em banho-maria em ebulição por 3 minutos. Aguardou-se o esfriamento dos tubos e realizou-se a leitura em espectrofotômetro a 620 nm. Para obter-se o volume ideal de extrato foi utilizada a curva padrão com glicose p.a, seguindo a metodologia de Morris, 1948.

Para a determinação da sacarose foram empregados 20 μL de extrato, sendo adicionados 80 μL de água deionizada e 100 μL de solução de KOH

(30%). Após agitação os tubos de ensaios contendo o extrato e os reagentes foram agitados e colocados em banho-maria em ebulição por 10 minutos. Aguardou-se o esfriamento dos tubos e adicionaram-se 2000 μ L de solução de antrona, levando-os novamente para banho-maria a 40°C por 10 minutos. A solução antrona foi preparada com a diluição de 0,1 g de antrona em 45 mL de ácido sulfúrico p.a. Em seguida, realizou-se a leitura em espectrofotômetro com comprimento de onda de 620 nm. Para obter-se o volume ideal de extrato foi utilizada a curva padrão com sacarose p.a, seguindo a metodologia de Passos (1996).

4.8 Extração e determinação de amido

Após extração de açúcares solúveis e sacarose realizou-se a extração de amido a partir do pellet resultante da extração dos açúcares. A esses foram adicionados 500 μ L de água deionizada e 650 μ L de ácido perclórico (52%), sendo mantidos em banho de gelo e agitação durante 15 minutos. Em seguida todo o material foi transferido para tubos falcon com capacidade de 15mL e adicionados 2000 μ L de água deionizada. Foi realizada a centrifugação a 10.000 xg por 5 minutos a 4°C e coletado o sobrenadante. Esses procedimentos foram realizados duas vezes para a obtenção do substrato empregado na determinação do amido (GARCIA et al., 2006).

Para a determinação amido foram empregados 20 μ L de extrato, sendo adicionados 980 μ L de água deionizada e 2000 μ L do reativo antrona. Após agitação os tubos de ensaios contendo o extrato e os reagentes foram agitados e colocados em banho-maria em ebulição por 3 minutos. Aguardou-se o esfriamento dos tubos e realizou-se a leitura em espectrofotômetro a 620 nm. Para obter-se o volume ideal de extrato foi utilizada a curva padrão com glicose p.a (MORRIS, 1948).

4.9 Determinação de ácido abscísico (ABA)

As amostras de folhas e raízes foram acondicionadas em envelopes de papel alumínio e congeladas em ultra freezer a -80°C, para posterior extração. A

seguir, as amostras foram maceradas em almofariz contendo nitrogênio líquido até se obter pó homogêneo. Foram pesadas 100 mg das amostras e acondicionadas em tubos “ependorf” de 2 mL e adicionados 500 µL de solução com proporção de 40 mL metanol: 40 mL acetonitrila: 20 mL de água Milli-Q: 1 mL de ácido acético, todos padrão HPLC. Em seguida, os tubos foram colocados em banho ultrassom por 30 minutos. Após esse período, realizou-se a centrifugação a 12.000 rpm por 15 minutos e coletou-se o sobrenadante. Esse procedimento foi realizado duas vezes, obtendo-se volume final de aproximadamente 900 µL. Em seguida, as amostras foram injetadas em HPLC com coluna Discovery C18, 24 x 4.6 mm, Supelco, empregando gradiente com acetonitrila (20-70%) em 0,1% (v/v) de ácido trifluoracético, seguindo a metodologia de Bandurska et al.(2017).

4.10 Expressão gênica

O estudo da expressão gênica foi realizado por Reação em Cadeia da Polimerase em Tempo Real. O RNA extraído foi utilizado para confecção de cDNA, por transcrição reversa. A transcrição reversa foi feita a partir de kits de extração, de conversão de mRNA em cDNA e syber green para PCR. A técnica de Real Time - PCR foi realizada com mistura de cDNA, *primer forward* e *primer reverse* desenhados especificamente para os genes de interesse e iQ SYBR *Green supermix* (produto fluorescente). O protocolo de amplificação foi de 3 min a 95° C e 40 ciclos de 15 segundos a 95° C e 1 min a 60° C, seguido por 1 min a 95° C e 1 min a 55° C. Todavia, o protocolo de reação passou por ajustes para melhor desempenho dos *primers*. A presença ou ausência de um transcrito (mRNA) foi determinada pela reação de PCR em tempo real que apresenta detector de fluorescência acoplado a termociclador e a computador, com *software* específico. O método $2^{-\Delta\Delta Ct}$ foi utilizado para o cálculo do nível de expressão gênica (mRNA) dos genes selecionados. Foram empregados dois normalizadores. Foram utilizadas três repetições biológicas para cada tratamento e três repetições técnicas para cada repetição biológica. Todos os genes e normalizadores utilizados no experimento são específicos para Micro-Tom. A expressão dos genes foi em relação ao controle.

Tabela 2. Sequência de primers para a quantificação da expressão gênica das enzimas POD, SOD e CAT.

Gene	Primer forward	Primer reverse		
Actina	GGGATGATATGGAGAAGATATGG	AAGCTCTGGCACTGTCAAAGC	Lau et al., 2005	Folha/raiz
β -6-tubulina	TTGGTTTTGCACCACTGACTTC	AAGCTCTGGCACTGTCAAAGC	Lau et al., 2005	Folha/raiz
Peroxidase	GAATGTGCCAACTGGTAGAAGA	AGCAACGAGACACTCCAATAG	Lau et al., 2005	Folha/raiz
Superóxido dismutase	GCGGGTGACCTGGGAAACAT	CCACAAGTGCTCGTCCAACAAC	Lau et al., 2005	Folha/raiz
Catalase	CTCAAACGCCTGTTATTTGTC	CGTGTCTAGGGAACGACTTAG	Lau et al., 2005	Folha/raiz

4.11 Microscopia eletrônica de transmissão

Amostras de folhas de três plantas por repetição foram fixadas em 2,5% de solução Karnovsky com 0,1 M de tampão fosfato (7,3) a 5°C por 24 h. As amostras foram pós-fixadas com 1% de solução aquosa de tetróxido de ósmio no mesmo tampão por 1 h a 25°C e desidratadas em séries graduadas de acetona e embebidas em resina Araldite (MACHADO e RODRIGUES, 2004). Seções ultrafinas foram fixadas com acetato de uranil e citrato (REYNOLDS, 1963). As amostras foram examinadas em microscópio eletrônico de transmissão Fei Tecnai TM de 80 kV.

5 Análise estatística

Os dados foram submetidos ao teste de normalidade e análise de variância, com médias comparadas por teste Tukey ($p < 0,05$) para verificar o efeito das concentrações de silício e comparação dos regimes hídricos. Foi utilizado o programa Sisvar 5.3.

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 Teor relativo de água (TRA)

Os resultados de teor relativo de água das plantas cultivadas com variação da concentração de Si e submetidas às diferentes condições hídricas podem ser observados na Tabela 3.

Tabela 3. Teor relativo de água (TRA) (%) em plantas de tomate cultivar Micro-Tom com diferentes concentrações de Si e submetidas a tratamentos hídricos (sem e com déficit hídrico e com déficit hídrico e reidratada). UNESP/2017.

Concentrações de silício (g L ⁻¹)	TRA (%)
0,0	84,00 a
0,5	83,79 a
1,0	83,54 a
1,5	84,01 a
2,0	84,12 a
2,5	83,98 a
CV (%)	15,08

Médias seguidas de mesma letra na coluna para cada parâmetro, não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey.

Não houve interação entre concentração de Si e regime hídrico das plantas quando foi avaliado o teor relativo de água. Também não foi observada diferença de conteúdo relativo de água das plantas cultivadas com diferentes concentrações de silício. Quanto ao regime hídrico, às plantas não submetidas ao déficit hídrico, submetidas ao déficit e submetidas ao déficit e reidratadas apresentaram TRA, respectivamente, de 83,12%, 67,85% e 82,7% (Figura 2). As plantas submetidas ao déficit hídrico apresentaram taxa de assimilação negativa. Já as plantas com déficit e reidratadas apresentaram recuperação após 48

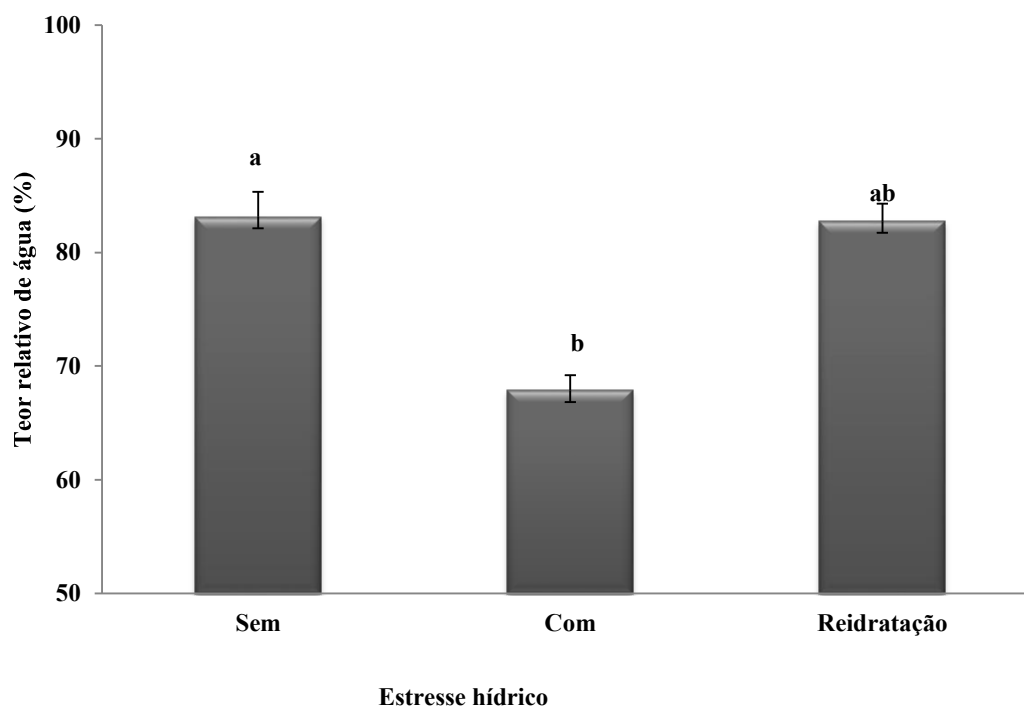
horas, demonstrado pelo TRA, revelando, no entanto, como consequência do déficit queima da borda das folhas.

Segundo Liu et al. (2015), o Si está envolvido no aumento da expressão de aquaporinas presentes na membrana plasmática, que contribuem para o aumento da absorção de água do solo, mesmo em condições de baixa disponibilidade de água.

Em estudos desenvolvidos por Liu et al. (2014), Liu et al. (2015) e Wang et al. (2015), demonstraram que o Si aumentou a absorção de água devido a transcrição de alguns genes de aquaporina (aumentou a express de aquaporina).

Na presente pesquisa não se observou diferença significativa para o conteúdo relativo de água na folha em relação às concentrações de Si. As diferenças foram observadas apenas em relação ao regime hídrico, onde as plantas com déficit apresentaram menores valores, o que era de se esperar, uma vez que, havia baixa disponibilidade de água no solo (Figura 1).

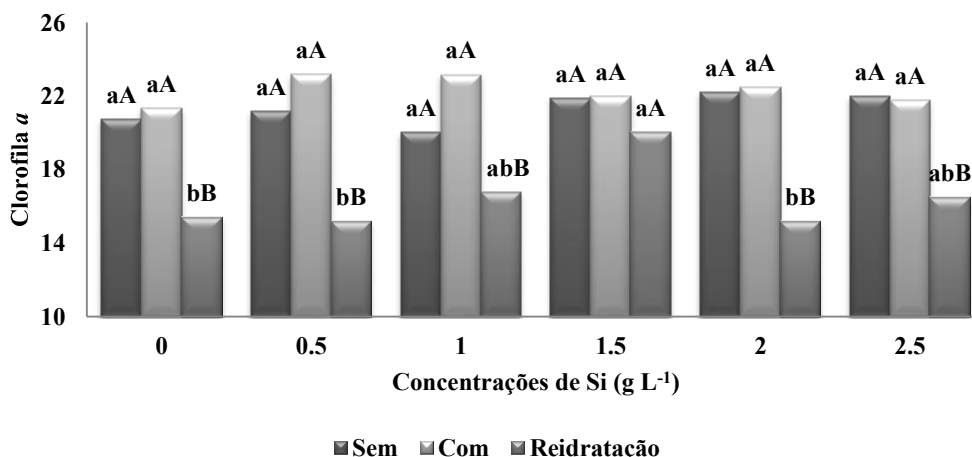
Figura 2. Teor relativo de água (%) em plantas de tomate cultivar Micro-Tom com diferentes concentrações de Si e submetidas a tratamentos hídricos (sem e com déficit hídrico e com déficit hídrico e reidratada). UNESP/2017. As letras comparam tratamentos hídricos pelo teste Tukey.



6.2 Clorofila a

Tanto nas plantas sem déficit hídrico como nas com déficit hídrico não foi observada diferença estatística em relação à clorofila *a*. No entanto, observou-se aumento desse pigmento em plantas com déficit e reidratadas nas concentrações de 1,00, 1,50 e 2,50 g L⁻¹ de Si (Figura 3).

Figura 3. Clorofila *a* ($\mu\text{g cm}^{-2}$) em função do regime hídrico (sem, com e reidratação) e das concentrações de silício (0,0, 0,5, 1,0 1,50, 2,00 2,50) em plantas de tomate cultivar Micro-Tom. UNESP/2017. Letras maiúsculas comparam os regimes hídricos dentro das concentrações de Si e as minúsculas comparam as concentrações de silício dentro do regime hídrico.



A clorofila é o componente essencial para a realização da fotossíntese, pois absorve a energia da luz, principalmente nas regiões do vermelho e azul do espectro luminoso, e a direciona para os fotossistemas (PSI e PSII) (ADREES et al., 2015; IMTIAZ et al., 2016). Cao et al., 2015, afirmam ser o silício fundamental para a manutenção da integridade das membranas, dos cloroplastos e dos tilacóides, atuando de forma positiva na proteção de pigmentos fotossintéticos como a clorofila *a* mesmo em condições de déficit como o promovido pelo déficit hídrico. Tal condição pode ser confirmada por meio dos resultados observados para a peroxidação lipídica (Figura 19), em que plantas que receberam 1,00 g L⁻¹ de silício apresentaram menor desestruturação da membrana. Além disso, o silício atua tanto na expressão de genes como na ativação de enzimas antioxidantes, que favorecem a redução das espécies reativas de oxigênio, que são responsáveis pela desestruturação das membranas (ETESAMI e JEONG, 2018). Assim, como as membranas de estruturas fotossintéticas como os cloroplastos e tilacóides se mantêm íntegras, processos importantes como fotossíntese se mantêm em níveis que possibilitam a recuperação das plantas submetidas ao déficit hídrico e reidratadas. O processo de reidratação de uma planta é estressante, pois como a entrada da água nas células ocorre rapidamente e as membranas celulares encontram-se desestruturadas, ocorre o

rompimento e o colapso das células e de cloroplastos, por exemplo. Assim, é natural observar menores teores de clorofila *a* em plantas com déficit e reidratadas (SITTE, et al., 2018).

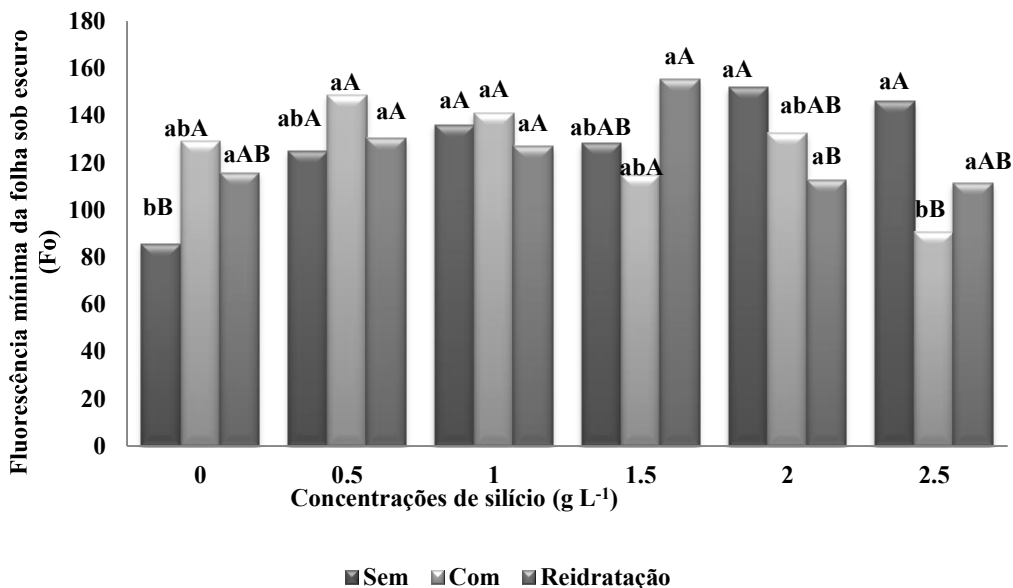
6.3 Fluorescência da Clorofila *a*

Para a determinação de variáveis de fluorescência da clorofila *a* as plantas foram avaliadas aos 35 dias após o transplante das mudas para os vasos onde foram cultivadas nos diferentes tratamentos. As medidas foram realizadas às 5:00, 12:00 e 17:00 horas. Os resultados foram discutidos nos três horários de avaliação. A importância de se realizar as medidas de fluorescência nesses três horários é verificar a ação do déficit hídrico em diferentes condições ambientais, ou seja, temperaturas amenas e umidade alta (5:00 h), temperatura elevada e a umidade baixa (12:00), o que agrava o efeito do déficit hídrico e período em que a temperatura é amena e a umidade baixa (17:00), sendo possível verificar recuperação ou não do aparato fotossintético.

6.3.1 Fluorescência da clorofila *a* às 5:00 horas

Na Figura 4 pode ser observado que plantas sem aplicação de Si e sem déficit hídrico apresentaram menor fluorescência mínima da folha adaptada ao escuro (F_0), comparadas às com déficit e com déficit e reidratadas. Quando a maior concentração de Si foi aplicada, a F_0 foi maior nas plantas sem déficit hídrico. Plantas com déficit e reidratadas apresentaram resultados intermediários. Desta forma, observa-se que para plantas sem déficit hídrico a aplicação de silício não foi benéfica e maiores concentrações do elemento resultaram em aumento de F_0 , atuando nessa variável como fator estressante. No entanto, deve-se ressaltar que, nesse horário as condições climáticas são favoráveis as plantas, pois a umidade é alta e a temperatura é baixa. Além disso, o processo fotossintético não está ocorrendo e assim, não há passagem de elétrons entre os fotossistemas I e II, não sendo possível verificar os efeitos do déficit hídrico.

Figura 4. Fluorescência mínima da folha sob escuro (F_o) às 5 h em função do regime hídrico (sem, com e reidratação) e das concentrações de silício (0,0, 0,5, 1,0 1,50, 2,00, 2,50) em plantas de tomate cultivar Micro-Tom. UNESP/2017. Letras maiúsculas comparam os regimes hídricos dentro das concentrações de Si e as minúsculas comparam as concentrações de silício dentro do regime hídrico.

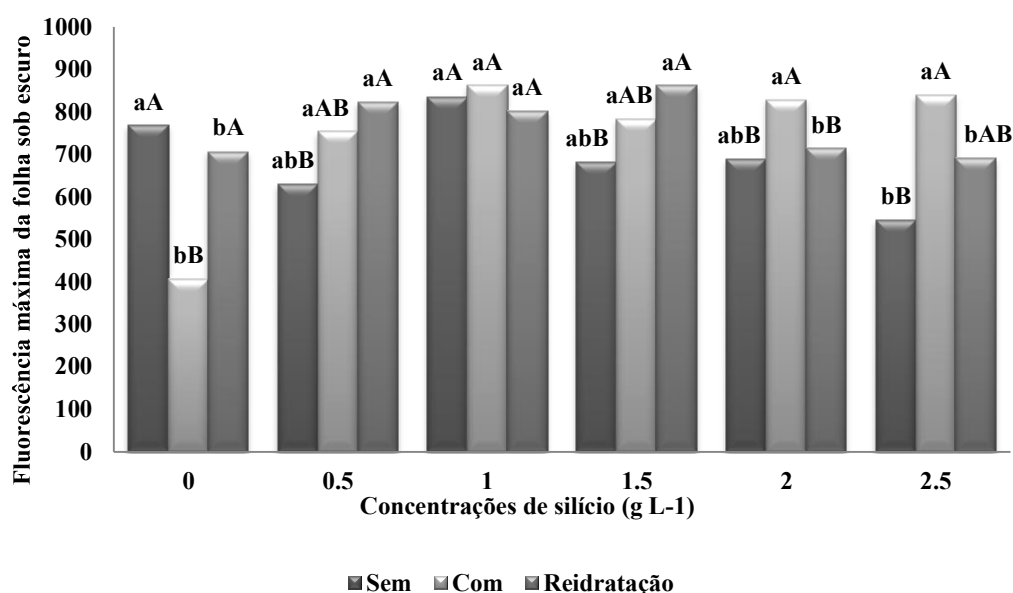


A fluorescência mínima da folha adaptada ao escuro (F_o) aumenta quando o aparato fotoquímico está danificado (PIETRINI et al., 2005). Segundo Ouzounidou (1993), Zlatev e Yordanov (2004) e Efeoğlu et al. (2009), o aumento desta variável serve como indicativo de que houve dano ao centro de reação do fotossistema II (PSII), pois o efeito do déficit causa inibição do ciclo de reparo do PSII em especial na proteína D1 (NISHIYAMA et al., 2006). Assim, a F_o indica que a maior parte da energia que poderia ser usada no transporte de elétrons, está sendo perdida como fluorescência (SITTE et al., 2018). Dessa forma, quanto maiores forem os valores de F_o , mais estressadas encontram-se as plantas.

Em plantas sem déficit hídrico a maior concentração de Si reduziu a fluorescência máxima da folha no escuro (F_M), demonstrando que as maiores concentrações de Si podem ser prejudiciais ao transporte de elétrons. As plantas submetidas ao déficit hídrico e as com déficit hídrico e reidratadas apresentaram fluorescência máxima da folha no escuro (F_M) igual aos das plantas sem déficit

hídrico quando $1,00 \text{ g L}^{-1}$ de silício foi aplicado (Figura 5), demonstrando a importância do Si na manutenção do aparato fotossintético em condições de déficit hídrico. Ao contrário da F_o , os maiores valores de F_M , são indicativos de menores danos no aparato fotossintético e dessa forma, menor perda de energia na forma de fluorescência.

Figura 5. Fluorescência máxima da folha sob escuro (F_M) às 5:00 h em função do regime hídrico (sem, com e reidratação) e das concentrações de silício (0,0, 0,5, 1,0 1,50, 2,00, 2,50) em plantas de tomate cultivar Micro-Tom. UNESP/2017. Letras maiúsculas comparam os regimes hídricos dentro das concentrações de Si e as minúsculas comparam as concentrações de silício dentro do regime hídrico.

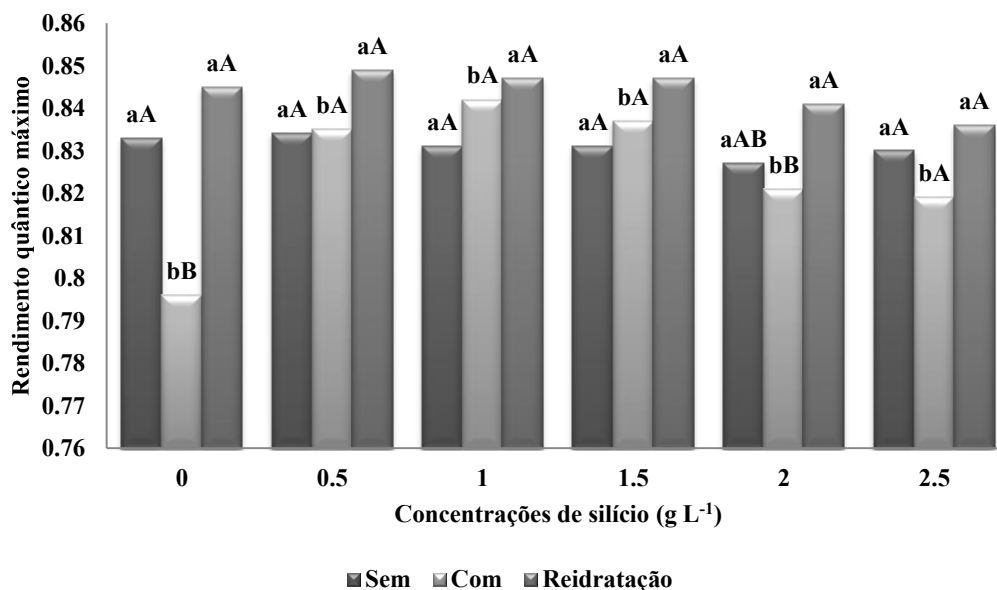


Mesmo em condições de menores temperaturas e maior umidade relativa do ar, fato esse comum às 5:00 h, foi possível verificar que as plantas com déficit hídrico se encontravam estressadas, pois apresentaram maior valor de F_o e menores valores de F_M e F_v/F_M , em especial, na ausência de Si. As plantas submetidas ao déficit hídrico e as com déficit hídrico e reidratadas apresentaram rendimento quântico máximo (F_v/F_M) igual aos das plantas sem déficit hídrico quando $0,50$, $1,00$ e $1,50 \text{ g L}^{-1}$ de silício foram aplicados (Figura 6). O rendimento quântico máximo (F_v/F_M) é usado para detectar perturbações induzidas pelo déficit no aparato fotossintético (BAKER e ROSENQVIST, 2004). O declínio nos valores da fluorescência máxima da folha adaptada ao escuro

(F_M) e do F_v/F_M reflete a menor habilidade do PSII em oxidar-reduzir o aceptor primário QA (quinona A) (PIETRINI et al., 2005; CAO et al., 2015).

Desta forma, a aplicação de silício possibilitou manutenção do aparato fotossintético em plantas com déficit e com déficit seguida de reidratação. Cao et al. (2015), observaram que plantas de tomate submetidas ao déficit hídrico e na presença de silício apresentaram maiores valores de rendimento quântico, quando comparadas as plantas com déficit hídrico e sem Si. Etesami e Jeong (2018) atribuem ao Si a capacidade de atuar em vários modos de ação que reduzem os efeitos danosos causados pelo estresse, inclusive por déficit hídrico. Dessa forma, o Si proporcionaria aumento na biossíntese de sólidos solúveis que atuam como osmorreguladores e osmoprotetores, biossíntese de hormônios que promoveriam crescimento do sistema radicular, o que aumenta a área de exploração de solo e, conseqüentemente, a absorção de água, aumento da atividade de enzimas antioxidantes, o que reduz o estresse oxidativo e manutenção do balanço de água nas plantas tanto por expressão de genes relacionados com aquaporinas, bem como pela presença de osmorreguladores.

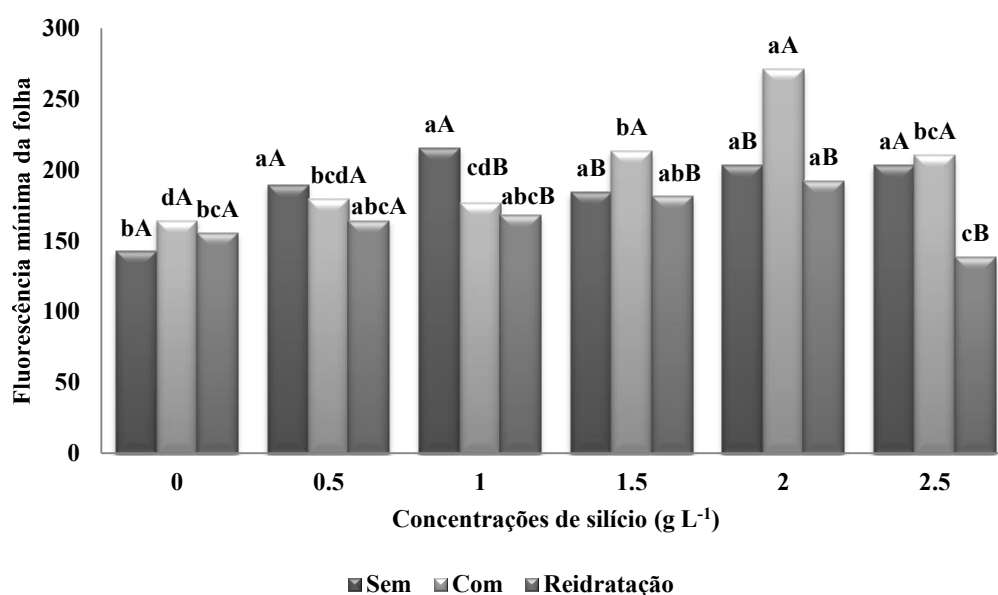
Figura 6. Rendimento quântico máximo (F_v/F_M) às 5 h em função do regime hídrico (sem, com e reidratação) e das concentrações de silício (0,0, 0,5, 1,0 1,50, 2,00, 2,50) em plantas de tomate cultivar Micro-Tom. UNESP/2017. Letras maiúsculas comparam os regimes hídricos dentro das concentrações de Si e as minúsculas comparam as concentrações de silício dentro do regime hídrico.



6.3.2 Fluorescência da clorofila a às 12:00 horas

A fluorescência mínima às 12 h, em plantas sem déficit hídrico e com déficit hídrico foi menor na ausência de Si. Nas plantas com déficit hídrico e reidratadas o menor valor de F_o foi observado na maior concentração de Si (Figura 7).

Figura 7. Fluorescência mínima da folha sob escuro (F_o) às 12 h em função do regime hídrico (sem, com e reidratação) e das concentrações de silício (0,0, 0,5, 1,0 1,50, 2,00, 2,50) em plantas de tomate cultivar Micro-Tom. UNESP/2017. Letras maiúsculas comparam os regimes hídricos dentro das concentrações de Si e as minúsculas comparam as concentrações de silício dentro do regime hídrico.

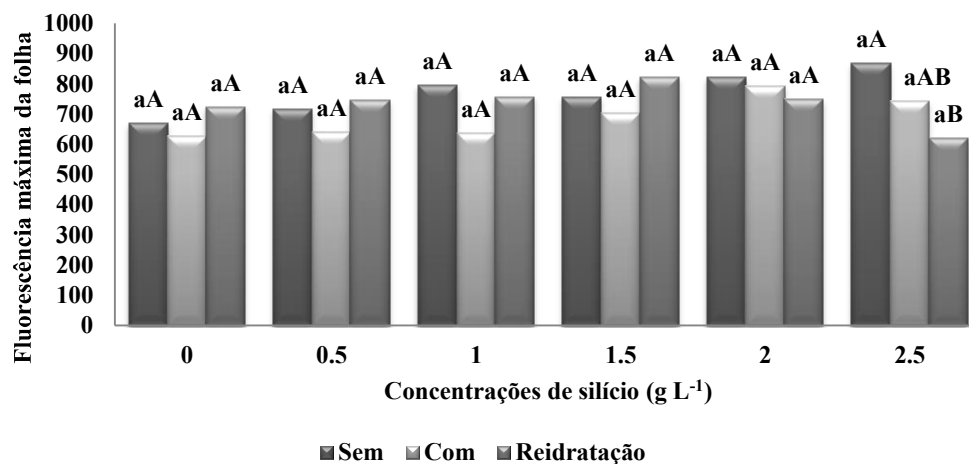


Segundo Zhu e Gong(2014) o Si pode reduzir os danos do aparato fotossintético por diversos mecanismos, como aumento dos pigmentos fotossintéticos, manutenção de membranas como dos cloroplastos e redução de espécies reativas de oxigênio pelo aumento da atividade das enzimas antioxidantes promovidas pelo Si. Além disso, o Si é capaz de promover a redistribuição da energia no PSII de modo a reduzir o excesso de energia nesse fotossistema. Assim, maiores quantidades de energia passam a ser disponibilizadas para o processo fotossintético e menores quantidades seriam

perdas na fluorescência e na fotorrespiração (Cao et al., 2015). Isso é possível devido à maior capacidade de fixação de carbono, resultando no aumento de consumo de elétrons (CAO et al., 2015), uma vez que, o silício atua na manutenção fotossintética mesmo em condições de déficit.

A fluorescência máxima da folha no escuro (F_M), não revelou diferença estatística em relação às concentrações de silício (Figura 8). Além disso, as diferenças entre os regimes hídricos, só foram observadas na maior concentração de Si.

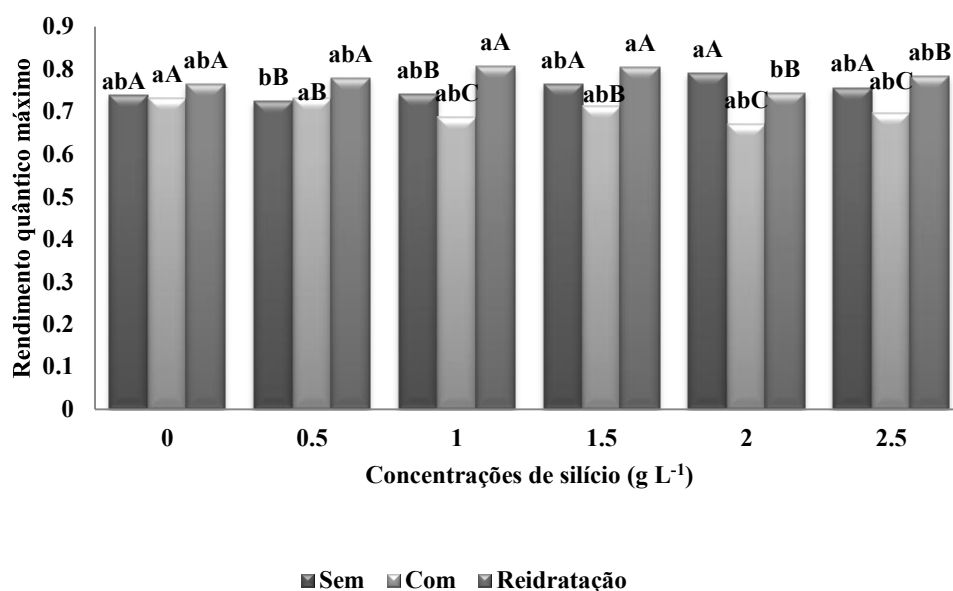
Figura 8. Fluorescência máxima da folha sob escuro (F_M) às 12 h em função do regime hídrico (sem, com e reidratação) e das concentrações de silício (0,0, 0,5, 1,0 1,50, 2,00, 2,50) em plantas de tomate cultivar Micro-Tom. UNESP/2017. Letras maiúsculas comparam os regimes hídricos dentro das concentrações de Si e as minúsculas comparam as concentrações de silício dentro do regime hídrico.



As concentrações de Si não revelaram significativas alterações nos valores de F_V/F_M tanto em plantas sem déficit hídrico como nas com déficit hídrico e com déficit hídrico e reidratadas (Figura 9). As 12:00 h, verificam-se maiores temperaturas e menores umidades relativas do ar, o que agrava o estresse em plantas submetidas ao déficit hídrico. Além disso, é um período durante o dia que as plantas também ficam sujeitas ao estresse pelo excesso de luz. Deve-se enfatizar que a fluorescência da clorofila *a*, é fortemente influenciado pela

quantidade de luz (BAKER e ROSENQVIST, 2004; PIETRINI et al., 2005), o que pode explicar menores influencias tanto das concentrações de Si como dos regimes hídricos.

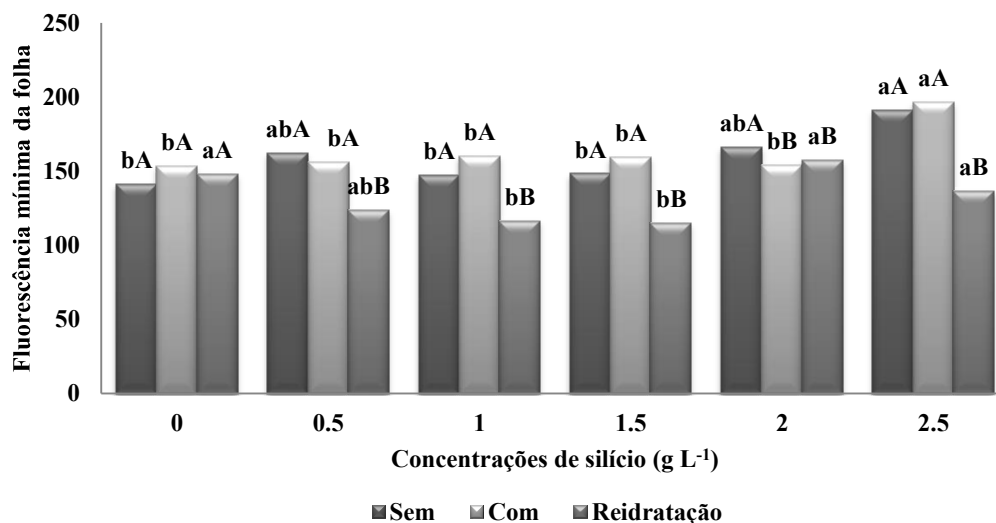
Figura 9. Rendimento quântico máximo (F_v/F_m) às 12 h em função do regime hídrico (sem, com e reidratação) e das concentrações de silício (0,0, 0,5, 1,0 1,50, 2,00, 2,50) em plantas de tomate cultivar Micro-Tom. UNESP/2017. Letras maiúsculas comparam os regimes hídricos dentro das concentrações de Si e as minúsculas comparam as concentrações de silício dentro do regime hídrico.



6.3.3 Fluorescência da clorofila a às 17:00 horas

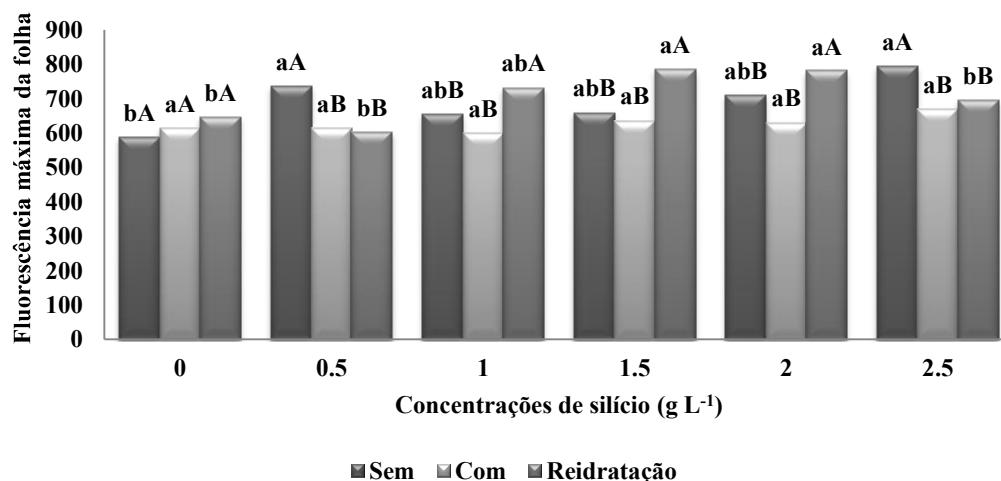
Em plantas sem déficit hídrico e com déficit hídrico verificou-se menores valores de F_o na ausência ou nas concentrações de 0,50, 1,00 e 1,50 g L⁻¹ de Si. No entanto, em plantas com déficit hídrico e reidratadas os menores valores de F_o foram observados nas concentrações de 1,00 e 1,50 g L⁻¹ de Si (Figura 10).

Figura 10. Fluorescência mínima da folha sob escuro (F_o) às 17 h em função do regime hídrico (sem, com e reidratação) e das concentrações de silício (0,0, 0,5, 1,0 1,50, 2,00, 2,50) em plantas de tomate cultivar Micro-Tom. UNESP/2017. Letras maiúsculas comparam os regimes hídricos dentro das concentrações de Si e as minúsculas comparam as concentrações de silício dentro do regime hídrico.



As concentrações de Si favoreceram as plantas sem déficit hídrico. Em plantas com déficit hídrico não foi observada diferença estatística em relação às concentrações de Si. No entanto, em plantas com déficit hídrico e reidratadas foi observado aumento da F_M nas concentrações entre 1,50 e 2,00 g L⁻¹ de Si (Figura 11).

Figura 11. Fluorescência máxima da folha sob escuro (FM) às 17 h em função do regime hídrico (sem, com e reidratação) e das concentrações de silício (0,0, 0,5, 1,0 1,50, 2,00, 2,50) em plantas de tomate cultivar Micro-Tom. UNESP/2017. Letras maiúsculas comparam os regimes hídricos dentro das concentrações de Si e as minúsculas comparam as concentrações de silício dentro do regime hídrico.

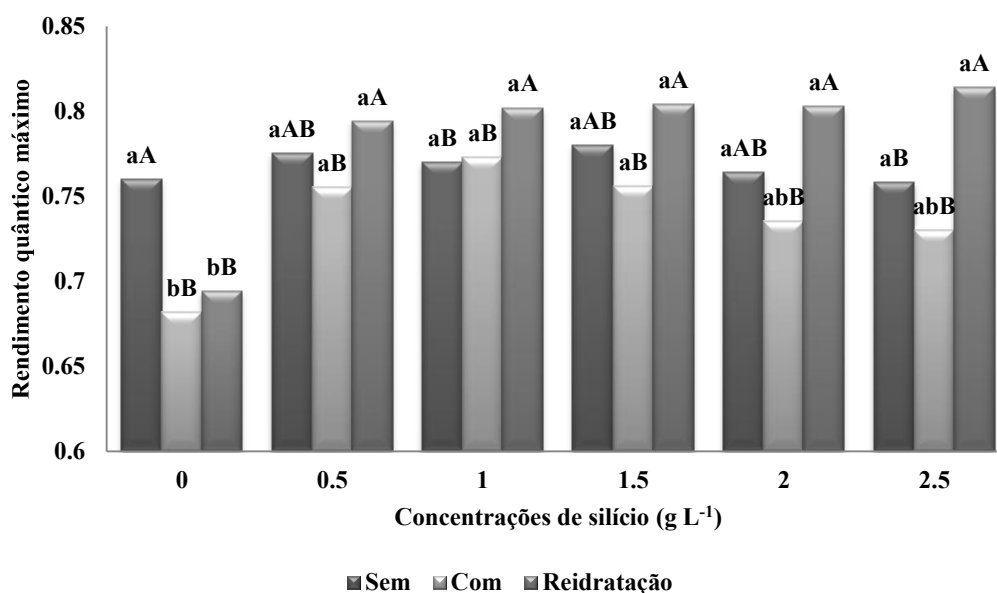


As concentrações de silício não influenciaram o F_V/F_M de plantas sem déficit hídrico. No entanto, a aplicação de silício favoreceu tanto as plantas com déficit hídrico como as com déficit hídrico e reidratadas (Figura 12). Assim, a aplicação de Si via foliar contribuiu para a recuperação do aparato fotossintético ao final do dia mesmo em condições de déficit. As 17:00 h há redução da luminosidade e, dessa forma, foi possível verificar diferenças estatísticas tanto em relação as concentrações de Si como em relação aos regimes hídricos. Como já destacado, o estresse proporcionado pelo excesso de luz é mais intenso do que o promovido pelo déficit hídrico para os parâmetros F_o , F_M e F_V/F_M .

Segundo Etesami e Jeong, 2018, além do silício atuar na manutenção da fotossíntese e aumentar os pigmentos fotossintéticos também atua na redução do estresse oxidativo em condições de déficit hídrico. Realmente, na presente pesquisa verificou-se a manutenção da fotossíntese, redução de peroxidação lipídica, aumento expressão e da atividade de enzimas antioxidantes, aumento de osmólitos e ABA. Assim, o silício ao promover a maior atuação de enzimas antioxidantes e, conseqüentemente redução das espécies reativas de oxigênio, tanto pela melhor distribuição de energia entre os fotossistemas como pela maior

ação de enzimas antioxidantes nas EROs, contribuiu para a redução da degradação da membrana externa dos cloroplastos e dos tilacóides, favorecendo assim, a recuperação das plantas submetidas ao déficit, atuando como elemento benéfico em condições de déficit.

Figura 12. Rendimento quântico máximo (F_v/F_m) às 17 h em função do regime hídrico (sem, com e reidratação) e das concentrações de silício (0,0, 0,5, 1,0 1,50, 2,00, 2,50) em plantas de tomate cultivar Micro-Tom. UNESP/2017. Letras maiúsculas comparam os regimes hídricos dentro das concentrações de Si e as minúsculas comparam as concentrações de silício dentro do regime hídrico.

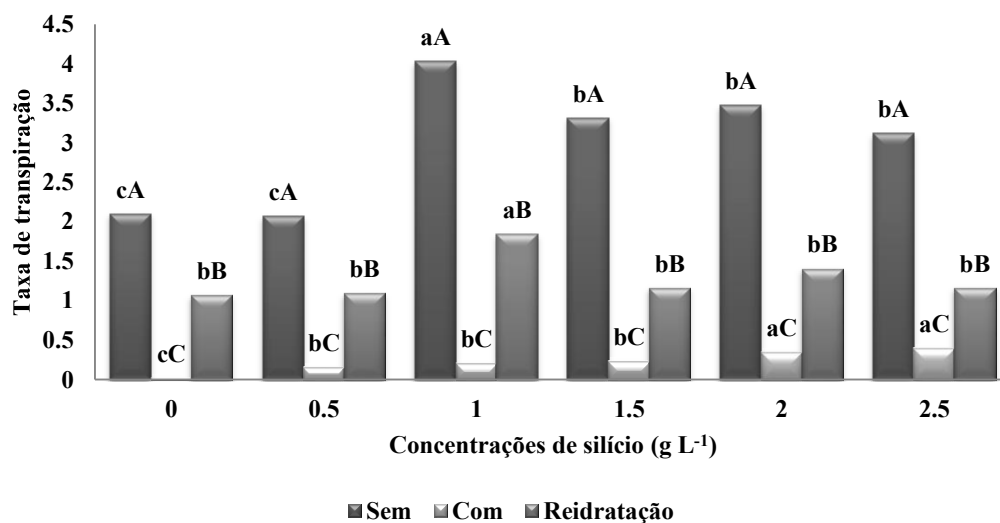


6.4 Trocas gasosas e eficiência do uso da água

A taxa de transpiração das plantas sem déficit hídrico foi maior que a das plantas com déficit hídrico e daquelas com déficit e reidratadas. Isso já era de se esperar, uma vez que, as plantas sem déficit apresentam maiores quantidades de água no solo que as com déficit hídrico (Figura 1). Já em relação às com déficit e reidratadas, embora apresentem quantidades de água no solo próximas das sem déficit hídrico, ainda não apresentaram total recuperação de seu metabolismo, o que reflete em todos os parâmetros das trocas gasosas. Plantas com déficit e reidratadas apresentaram taxas intermediárias entre as demais,

demonstrando recuperação em relação às plantas com déficit, mas não o suficiente para se igualarem as sem déficit. Plantas cultivadas com diferentes concentrações de Si e sem déficit hídrico e plantas com déficit hídrico e reidratadas, apresentaram maior taxa de transpiração na concentração de 1,00 g L⁻¹ de silício. As plantas com déficit hídrico apresentaram aumento de transpiração, com o aumento das concentrações de silício (Figura 13).

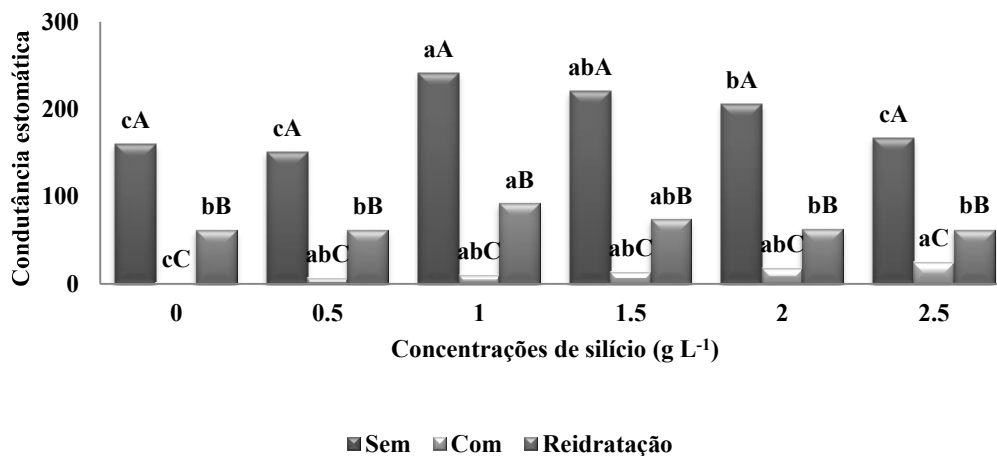
Figura 13. Taxa de transpiração (E , mmol vapor d'água m⁻²s⁻¹) em função do regime hídrico (sem, com e reidratação) e das concentrações de silício (0,0, 0,5, 1,0 1,50, 2,00, 2,50) em plantas de tomate cultivar Micro-Tom. UNESP/2017. Letras maiúsculas comparam os regimes hídricos dentro das concentrações de Si e as minúsculas comparam as concentrações de silício dentro do regime hídrico.



A condutância estomática das plantas sem déficit hídrico foi maior que a das plantas com déficit hídrico e daquelas com déficit e reidratadas. Essas últimas plantas apresentaram condutâncias intermediárias entre as demais. Plantas cultivadas com diferentes concentrações de Si e sem déficit hídrico e plantas com déficit hídrico e reidratadas, apresentaram maior condutância estomática na concentração de 1,00 g L⁻¹ de silício. As plantas com déficit hídrico apresentaram aumento na condutância estomática, com o aumento das concentrações de silício (Figura 14). Esses resultados refletem na transpiração, tanto maior quanto maior a abertura estomática. Claro que essa relação é

dependente da quantidade de água presente no solo e na planta, portanto, influenciada pelo regime hídrico. A abertura e fechamento estomático são influenciados por vários fatores, entre eles, a presença de sais (por exemplo, potássio), ácido abscísico e carboidratos (TAIZ et al., 2017). Em relação às plantas com déficit e reidratadas observaram-se maiores taxas de transpiração e de condutância estomática na concentração de $1,00 \text{ g L}^{-1}$, concentração e regime hídrico em que foram observados maiores teores de açúcares solúveis e menor concentração de ABA, explicando-se maior abertura estomática e, conseqüentemente maior transpiração.

Figura 14. Condutância estomática ($GS, \text{ mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) em função do regime hídrico (sem, com e reidratação) e das concentrações de silício (0,0, 0,5, 1,0 1,50, 2,00 2,50) em plantas de tomate cultivar Micro-Tom. UNESP/2017. Letras maiúsculas comparam os regimes hídricos dentro das concentrações de Si e as minúsculas comparam as concentrações de silício dentro do regime hídrico.



A taxa de assimilação das plantas sem déficit hídrico foi maior que a das plantas com déficit e reidratadas. As plantas com déficit hídrico apresentaram taxa de assimilação nula. Plantas cultivadas com diferentes concentrações de Si e sem déficit hídrico apresentaram maiores taxas de assimilação a partir da concentração de $1,00 \text{ g L}^{-1}$ de Si. No entanto, as com déficit hídrico e reidratadas, apresentaram maior taxa de assimilação na concentração de $1,00 \text{ g L}^{-1}$ de silício (Figura 15). A taxa de assimilação está relacionada, entre outros fatores, com a condutância estomática e transpiração.

A fotossíntese é o principal processo afetado pelo déficit hídrico (CHAVES et al., 2009; HASANUZZAMAN et al., 2013), sendo comum a redução na taxa de assimilação de CO₂ durante a diminuição no potencial hídrico do solo e da folha (SANTOS et al., 2006).

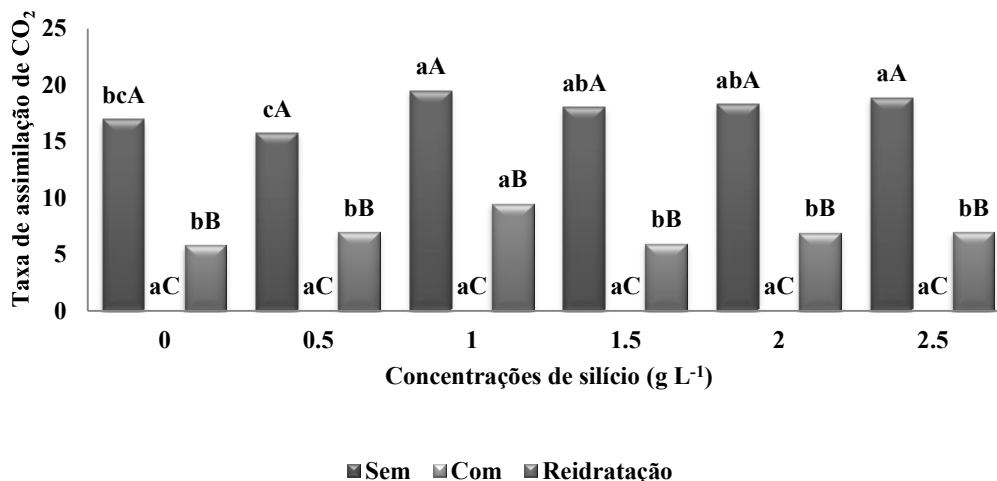
Além disso, o “status” de água na folha interage com a condutância estomática e transpiração, sendo que sob déficit hídrico, é observada correlação entre o potencial hídrico da folha e a condutância estomática, pois o fechamento estomático é a principal resposta contra a perda de água pela transpiração (GILBERT e MEDINA, 2016).

Fechamento estomático limita a perda de água e também restringe a entrada de CO₂, levando a redução da assimilação fotossintética de carbono (DITMAROVÁ et al., 2010), sendo esta resposta conhecida como limitação estomática da fotossíntese (YIN et al., 2005).

Com aumento da intensidade e duração do estresse, limitação da assimilação de carbono passa a ser influenciada também por fatores não estomáticos, como atividade da enzima Rubisco e do processo fotoquímico, que nessas condições se reduzem (SHIMIZU, 2009). O Si é conhecido na literatura por favorecer a manutenção da fotossíntese mesmo em condições de déficit hídrico.

Etesami e Jeong, 2018, registram que vários fatores contribuem para essa manutenção, entre eles redução da degradação de pigmentos fotossintéticos, devido à redução do estresse oxidativo e maior disponibilidade de energia para transporte de elétrons.

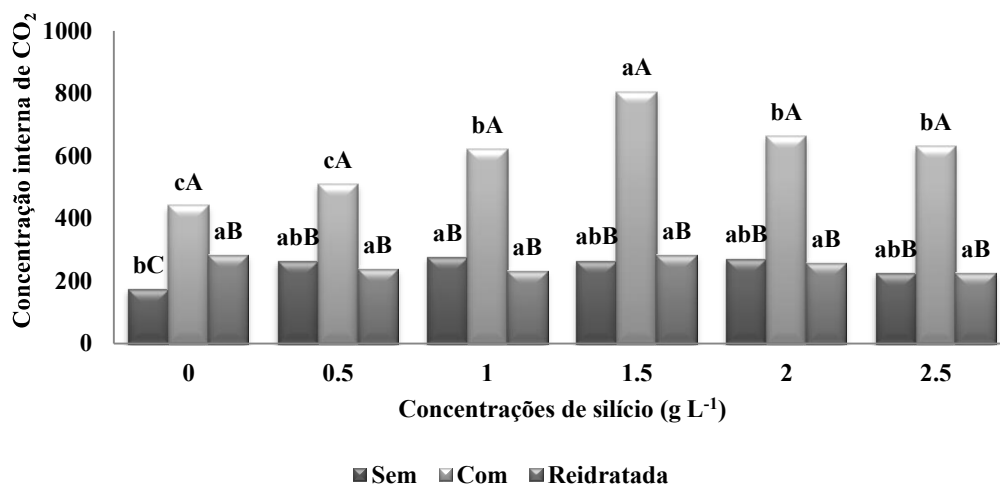
Figura 15. Taxa de assimilação de CO₂ (A, $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$) em função do regime hídrico (sem, com e reidratação) e das concentrações de silício (0,0, 0,5, 1,0 1,50, 2,00, 2,50) em plantas de tomate cultivar Micro-Tom. UNESP/2017. Letras maiúsculas comparam os regimes hídricos dentro das concentrações de Si e as minúsculas comparam as concentrações de silício dentro do regime hídrico.



A maior concentração interna de CO₂ foi observada em plantas com déficit hídrico e que receberam concentrações de Si superiores a 1,00 g L⁻¹. Plantas sem déficit hídrico apresentaram menor taxa de carbono interno na ausência de Si e as com déficit e reidratadas não diferiram das sem déficit quando se utilizou Si, independentemente da concentração do elemento (Figura 16).

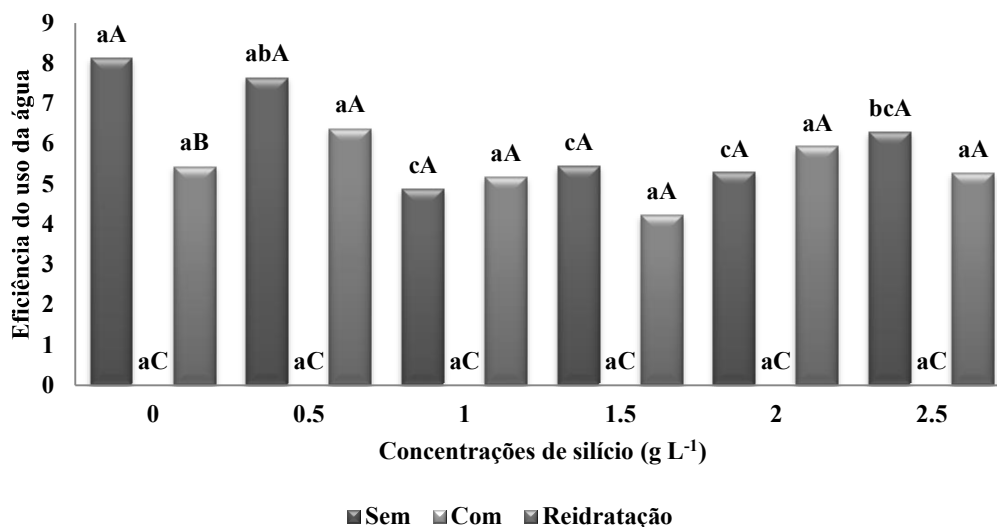
Em plantas com déficit hídrico é de se esperar maior concentração de interna de CO₂. Isso se deve ao fato do estresse limitar a atividade da enzima Rubisco e o processo fotoquímico (SHIMIZU, 2009). Dessa forma, embora haja CO₂ disponível, não ocorre sua utilização no processo fotossintético, pela limitação da enzima Rubisco.

Figura 16. Concentração interna de CO₂ na folha (C_i, μmolCO₂ mol⁻¹ar) em função do regime hídrico (sem, com e reidratação) e das concentrações de silício (0,0, 0,5, 1,0, 1,50, 2,00, 2,50) em plantas de tomate cultivar Micro-Tom. UNESP/2017. Letras maiúsculas comparam os regimes hídricos dentro das concentrações de Si e as minúsculas comparam as concentrações de silício dentro do regime hídrico.



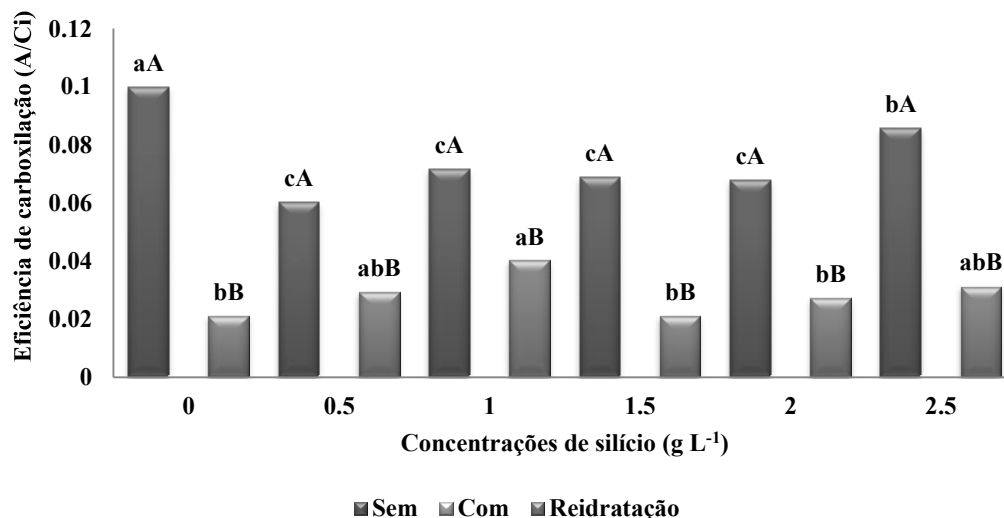
A maior eficiência do uso da água foi observada em plantas sem déficit e na ausência de Si e 0,50 g L⁻¹ de Si via foliar. Em plantas com déficit hídrico e reidratadas a eficiência do uso da água não foi influenciada em relação às concentrações de Si. Nos tratamentos com déficit hídrico, a eficiência do uso da água foi nula, independentemente das concentrações de Si (Figura 17). A eficiência do uso da água é obtida pela relação entre a taxa de assimilação e taxa de transpiração. Dessa forma, quanto maior for a taxa de assimilação e menor for a taxa de transpiração, maior será a eficiência do uso da água. No entanto, nesse experimento observou-se que a taxa de assimilação e de transpiração apresentaram mesmas tendências, ou seja, quando a transpiração aumentou a assimilação também aumentou, o que explica a falta de diferença estatística nas plantas com déficit e reidratadas com diferentes concentrações de Si.

Figura 17. Eficiência do uso da água (EUA, $\mu\text{mol CO}_2 (\text{mmolH}_2\text{O})^{-1}$) em função do regime hídrico (sem, com e reidratação) e das concentrações de silício (0,0, 0,5, 1,0 1,50, 2,00 2,50) em plantas de tomate cultivar Micro-Tom. UNESP/2017. Letras maiúsculas comparam os regimes hídricos dentro das concentrações de Si e as minúsculas comparam as concentrações de silício dentro do regime hídrico.



Em plantas com déficit hídrico não houve eficiência de carboxilação, independentemente, da concentração de Si. Na presença de Si a atividade da enzima Rubisco foi menor em plantas sem déficit hídrico, quando comparadas as plantas que não receberam Si. No entanto, em plantas com déficit hídrico e reidratadas, concentrações de 1,00g L⁻¹ de Si, favoreceu a eficiência de carboxilação (Figura 18).

Figura 18. Eficiência de carboxilação (A/Ci) em função do regime hídrico (sem, com e reidratação) e das concentrações de silício (0,0, 0,5, 1,0 1,50, 2,00 2,50) em plantas de tomate cultivar Micro-Tom. UNESP/2017. Letras maiúsculas comparam os regimes hídricos dentro das concentrações de Si e as minúsculas comparam as concentrações de silício dentro do regime hídrico.



Assim, as taxas mais elevadas de transpiração em plantas sem déficit hídrico e em condições de capacidade de campo estão relacionadas com a maior condutância estomática, dada à elevada disponibilidade de água no substrato. Nessas condições, os estômatos abertos recebem a molécula de CO₂ utilizada na fotossíntese. A taxa de assimilação também se revelou maior nas plantas sem déficit hídrico, menor nas com déficit e intermediária nas com déficit e reidratadas.

As plantas sem déficit hídrico demonstraram maior eficiência de uso da água. Essas plantas, embora tenham apresentado elevada taxa de transpiração, também apresentaram elevada taxa de assimilação, o que resultou na eficiência de uso da água, relação entre taxa de assimilação e de transpiração, maior que as das plantas submetidas aos demais regimes hídricos. Já as plantas cultivadas na presença de déficit hídrico, a falta de água leva à menor condutância, menor transpiração, menor taxa de assimilação e, como consequência baixa eficiência de uso da água. Assim, a deficiência hídrica influenciou as trocas gasosas, em suas variáveis, assimilação, condutância estomática, eficiência de carboxilação, transpiração e eficiência do uso da água.

Concentrações de 1,00 g L⁻¹ de Si favoreceram as plantas com déficit e reidratadas, pois, possibilitou maior taxa de assimilação, condutância estomática e maior atividade da Rubisco. Dessa forma, mesmo sendo submetidas às condições estressantes causadas pelo déficit hídrico, plantas que receberam Si via foliar nessa concentração, apresentaram melhor recuperação das trocas gasosas.

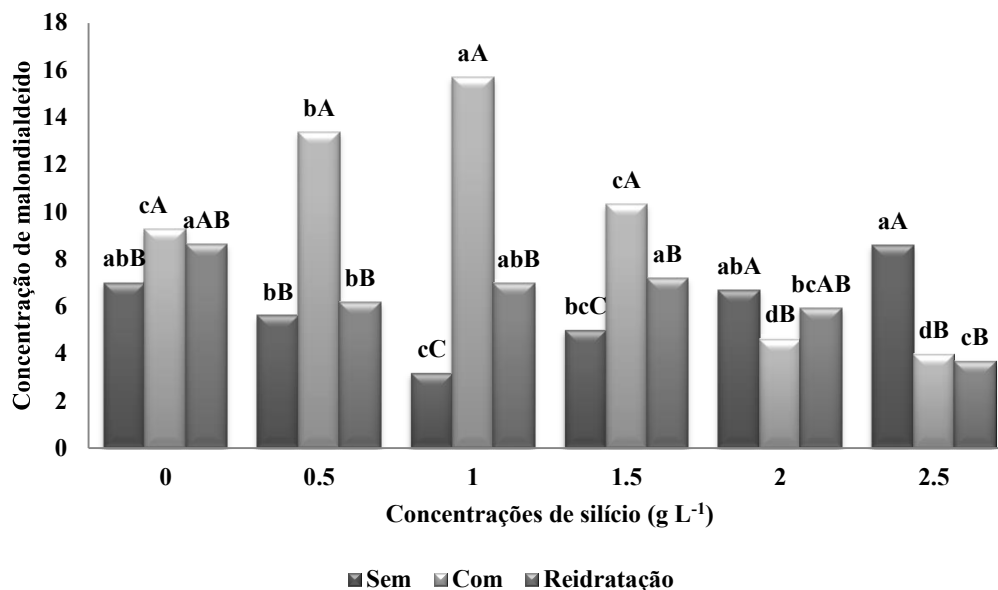
Entre os efeitos positivos promovidos pelo silício em plantas submetidas ao déficit hídrico, encontram-se a manutenção da fotossíntese, devido ao aumento de pigmentos fotossintéticos, conservação de membranas dos cloroplastos e manutenção de parâmetros como taxa de assimilação e condutância (FAROOQ et al., 2013; CAO et al., 2015; HUSSAIN et al., 2015; TRIPATHI et al., 2015; TRIPATHI et al., 2017).

6.5 Peroxidação lipídica e enzimas antioxidantes

6.5.1 Folhas

A concentração de malondialdeído foi maior em plantas com déficit hídrico até as concentrações de 2,00 e 2,50 g L⁻¹ de Si. Para as plantas sem déficit hídrico a menor concentração de malondialdeído ocorreu com a aplicação de 1,00 g L⁻¹ de Si. Em plantas submetidas ao déficit hídrico e seguidas de reidratação foram observadas menores concentrações de malondialdeído nas maiores concentrações de Si. Independentemente do estado hídrico, a aplicação de silício reduziu a peroxidação lipídica. No entanto, com a presença do déficit houve necessidade de maiores concentrações de Si. Observa-se a atuação do Si na ativação das enzimas antioxidantes, que é comprovada com os resultados de expressão gênica, nas quais a aplicação de silício também propiciou alterações. Em plantas, os lipídios presentes nos tilacóides, contêm elevada porcentagem de ácidos graxos poli-insaturados e são suscetíveis a ação das EROs (MOLLER et al., 2007). O déficit por seca, como outros estresses abióticos, leva ao estresse oxidativo por meio do aumento das EROs. As espécies reativas de oxigênio podem alterar o metabolismo da célula por meio de danos oxidativos aos lipídios, proteínas e ácidos nucleicos. As EROs podem também danificar diretamente alguns componentes celulares como o fotossistema II e as membranas lipídicas (KIM et al., 2017).

Figura 19. Concentração de malondialdeído (MDA) (nmol/g) em função do regime hídrico (sem, com e reidratação) e das concentrações de silício (0,0, 0,5, 1,0 1,50, 2,00, 2,50) em plantas de tomate cultivar Micro-Tom. UNESP/2017. Letras maiúsculas comparam os regimes hídricos dentro das concentrações de Si e as minúsculas comparam as concentrações de silício dentro do regime hídrico.



A maior atividade da SOD foi observada em plantas com déficit hídrico e reidratadas na concentração de 2,50 g L⁻¹ de Si. Em plantas sem déficit hídrico não foi observada diferença estatística em relação às concentrações de Si. No entanto, nas plantas com déficit foi observada maior atividade na concentração de 2,50 g L⁻¹ de Si (Figura 20).

A SOD atua sobre os radicais superóxido (O₂⁻), transformando-os em H₂O₂, que por sua vez, serão convertidos em O₂ e H₂O₂. A maior atividade da SOD em plantas submetidas ao déficit hídrico e reidratadas foi observada na concentração de 2,50 g L⁻¹ de Si. Nessa mesma concentração foi observada menor degradação de membrana, representada pela concentração de malondialdeído (Figura 19).

As EROs são uma inevitável consequência do processo aeróbico, sendo subprodutos de processos metabólicos normais dos peroxissomos, cloroplastos e mitocôndrias (APEL e HIRT, 2004). Embora as EROs sejam prejudiciais para as funções celulares causando danos as membranas, proteínas e DNA, podem

atuar na sinalização. As principais EROs são conhecidas como radicais superóxido (O_2^-), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e oxigênio singlete 1O_2 (GRENNAN, 2008).

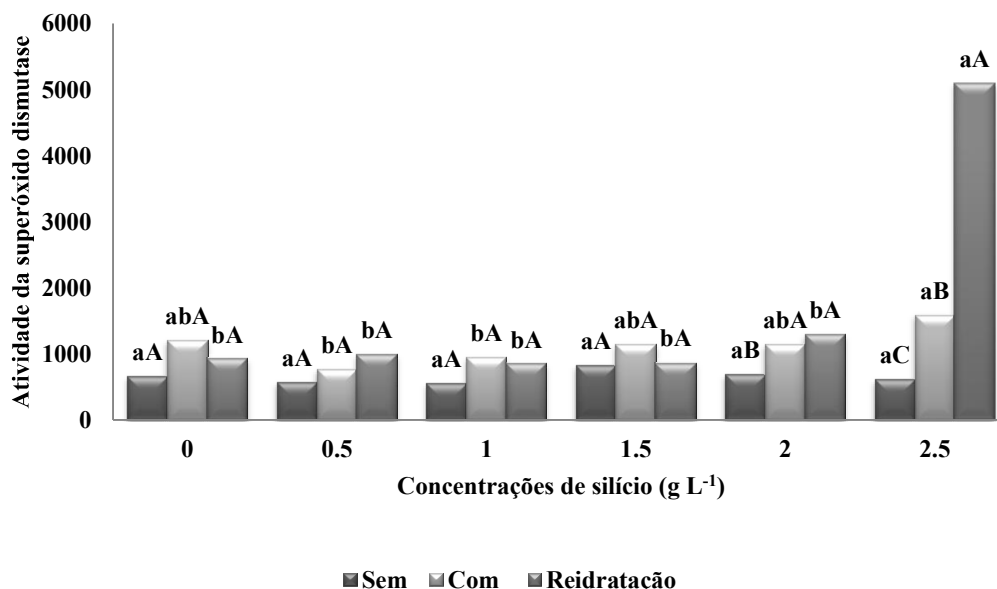
Em plantas submetidas ao déficit hídrico, a fotorrespiração é o processo que gera grande quantidade de H_2O_2 nos peroxissomos (CENTRITTO et al., 2005; LUNA et al., 2005).

Além disso, os elétrons que fluem pela cadeia de transporte de elétrons do cloroplasto podem ser transferidos para o O_2 em condições de déficit hídrico, produzindo O_2^- em uma reação conhecida como reação de Mehler ou ciclo água-água (CHEN et al., 2004).

A capacidade da planta para ativar o sistema de defesa antioxidativo é o principal mecanismo para a resistência contra danos oxidativos causados pelas ERO. Esta resistência é, principalmente, conectada com mudanças nos níveis de atividade de uma ou mais enzimas antioxidantes (DUBEY e CHANDRA, 2003).

Estes mecanismos incluem enzimas antioxidantes, tais como, superóxido dismutase, peroxidases e catalase (WANG e LÜTTGE; RATAJCZAK, 2004).

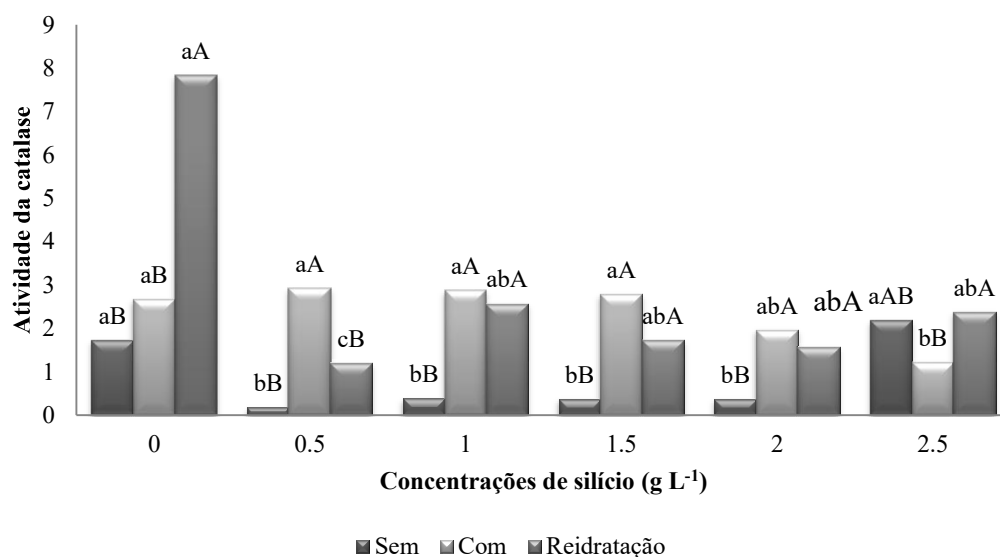
Figura 20. Atividade específica da superóxido dismutase (SOD) (U/mg prot.) em função do regime hídrico (sem, com e reidratação) e das concentrações de silício (0,0, 0,5, 1,0 1,50, 2,00, 2,50) em plantas de tomate cultivar Micro-Tom. UNESP/2017. Letras maiúsculas comparam os regimes hídricos dentro das concentrações de Si e as minúsculas comparam as concentrações de silício dentro do regime hídrico.



Em relação à atividade da CAT verificou-se maior atividade em plantas com déficit e reidratadas sem a aplicação de Si. No entanto, a menor atividade foi verificada em plantas sem déficit hídrico nas concentrações de 0,5 a 2,0 g L⁻¹ de Si. As plantas com déficit hídrico somente apresentaram redução na atividade da CAT na concentração de 2,50 g L⁻¹ de Si. Nas plantas com déficit hídrico e reidratadas a menor atividade da CAT foi observada na concentração de 0,50 g L⁻¹ de Si (Figura 21).

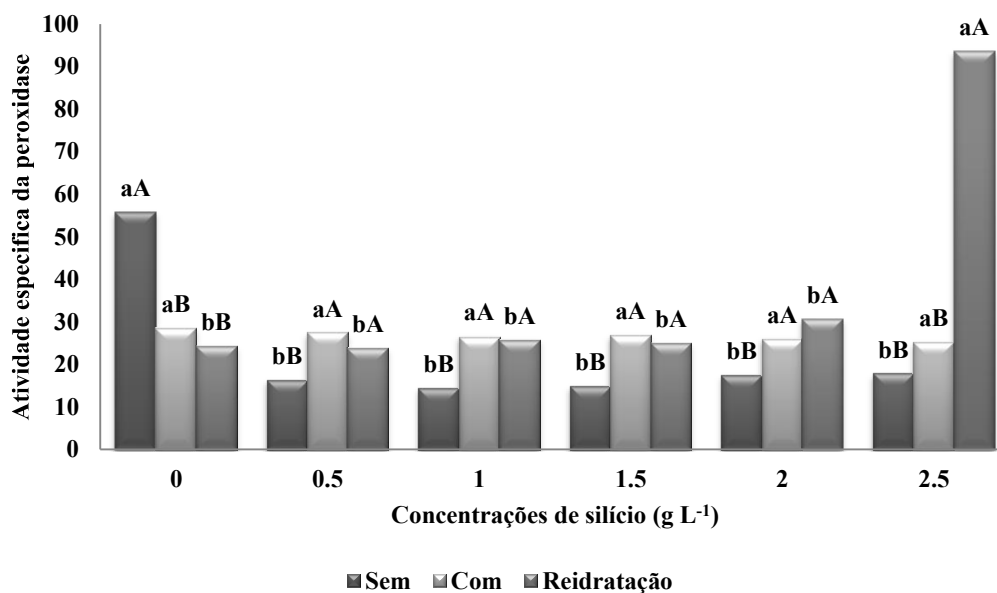
As CAT juntamente com a SOD são consideradas as mais eficientes entre as enzimas antioxidantes. Ambas apresentam função combinada, de modo que a CAT atua no H₂O₂, originado em função da atividade da SOD, transformando em H₂O e O₂ (SCANDALIOS, 1993). Dessa forma, observa-se maior atividade da CAT em plantas com déficit e reidratadas, na ausência de Si, onde a SOD apresentou menor atividade (Figura 20). Maior atividade da POD foi observada em plantas com déficit e reidratadas, com concentração de 2,50 g L⁻¹ de Si (Figura 22).

Figura 21. Atividade específica catalase (CAT) (mKatug prot.) em função do regime hídrico (sem, com e reidratação) e das concentrações de silício (0,0, 0,5, 1,0 1,50, 2,00, 2,50) em plantas de tomate cultivar Micro-Tom. UNESP/2017. Letras maiúsculas comparam os regimes hídricos dentro das concentrações de Si e as minúsculas comparam as concentrações de silício dentro do regime hídrico.



As plantas sem déficit hídrico apresentaram redução da atividade da POD com o aumento das concentrações de silício. Em plantas com déficit hídrico não se verificou variação na atividade enzimática em relação às concentrações de silício. As plantas com déficit e reidratadas apresentaram aumento da atividade enzimática da POD na maior concentração de Si (Figura 22). As peroxidases encontram-se amplamente distribuídas nos vegetais apresentando diversas isoformas que usam diferentes redutores e estão localizadas em diversos compartimentos celulares. De acordo com Inzé e Van Montagu (1995), as peroxidases são consideradas as mais importantes enzimas atuantes na eliminação de H_2O_2 no citosol e nos cloroplastos. Sua atividade é frequentemente aumentada em resposta ao déficit, pois a proteção celular contra as reações oxidativas é uma das principais funções dessa enzima (SIEGEL, 1993), pelo fato das peroxidases decomporem o H_2O_2 produzido nas reações catalisadas pela SOD (BOR et al., 2003).

Figura 22. Atividade específica da peroxidase (POD) ($\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ prot.) em função do regime hídrico (sem, com e reidratação) e das concentrações de silício (0,0, 0,5, 1,0, 1,50, 2,00, 2,50) em plantas de tomate cultivar Micro-Tom. UNESP/2017. Letras maiúsculas comparam os regimes hídricos dentro das concentrações de Si e as minúsculas comparam as concentrações de silício dentro do regime hídrico.

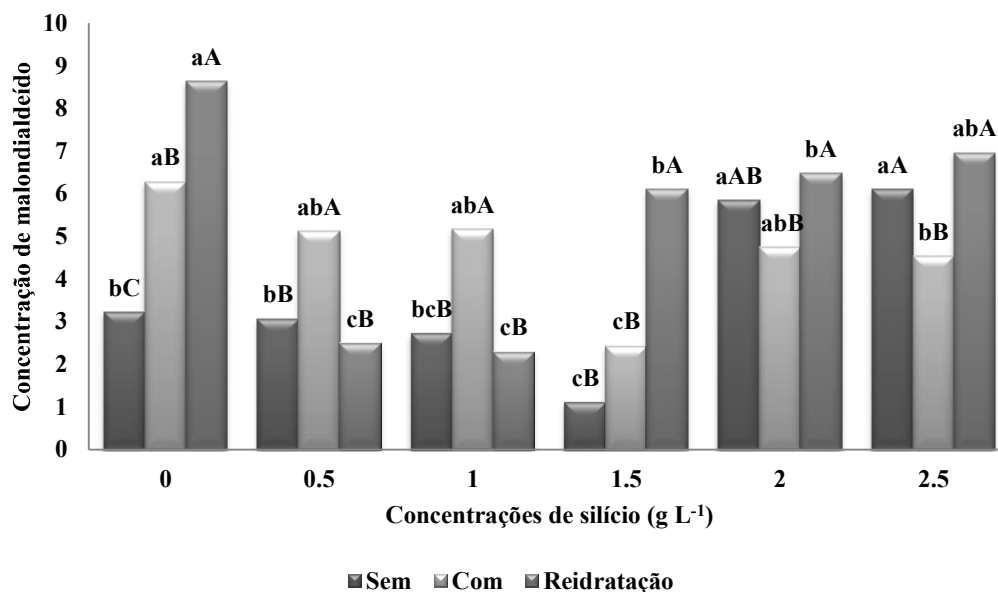


Mudanças no transporte de elétrons fotossintéticos sob seca inevitavelmente levam a formação de radicais superóxido, uma vez que o oxigênio molecular compete com o NADP⁺ pela redução no lado acceptor do fotossistema I (PSI) (CAO et al., 2015), sendo que a limitação da assimilação de CO₂ em plantas sob déficit hídrico causa redução da cadeia de transporte fotossintética. Esse excesso de força redutora determina redirecionamento de energia dos fótons em processos que levam a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs), principalmente na cadeia de transporte de elétrons fotossintética e mitocondrial (MOLLER, 2001). Além disso, em condições de déficit hídrico, a assimilação de carbono declina a favor da fotorrespiração, processo que também gera EROs em grandes quantidades (KIM et al., 2017). Sendo tóxico para as células, as EROs são eficientemente eliminadas pelo sistema antioxidante enzimático que inclui a superóxido dismutase que catalisa a reação do radical superóxido em peróxido de hidrogênio (ZHU e GONG, 2014). Segundo Etesami e Jeong, 2018 o Si é fundamental para a redução de danos de membranas, justamente por propiciar maior atividade das enzimas antioxidantes. Isso foi observado na presente pesquisa em que concentrações de 2,50 g L⁻¹ de Si aumentaram as atividades das enzimas SOD e POD em plantas com déficit e reidratadas, sendo que nessa mesma concentração, verificou-se menor peroxidação lipídica.

6.5.2 Raízes

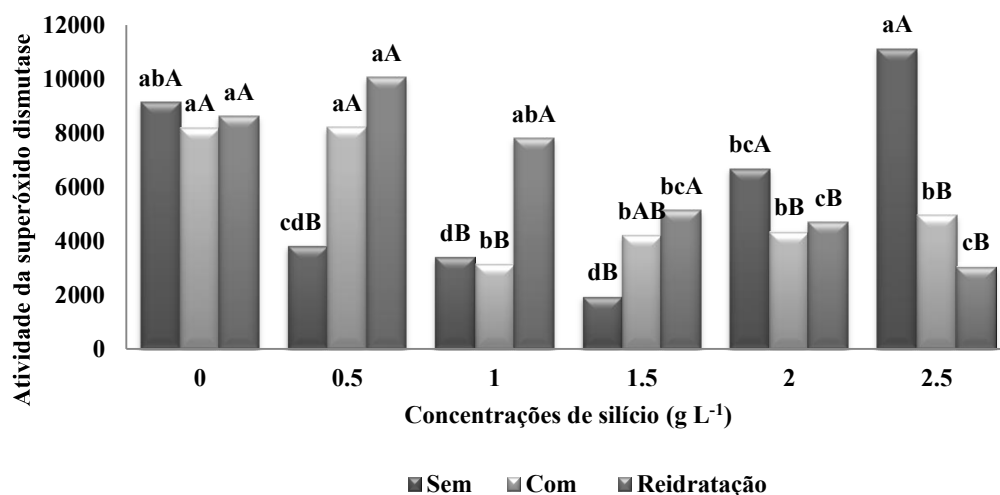
As concentrações de malondialdeído apresentaram valores elevados, tanto na ausência de silício como em concentrações elevadas desse elemento. As plantas sem déficit hídrico apresentaram decréscimo da peroxidação lipídica até a concentração de 1,50 g L⁻¹ de silício. Em plantas com déficit hídrico observou-se redução até a concentração de 1,50 g L⁻¹ de silício. Para as plantas com déficit e reidratadas também se observou redução, com menores valores na concentração de 0,50 g L⁻¹ (Figura 23). Diante esses resultados, pode-se afirmar que o silício atuou na manutenção da integridade da membrana, desde que utilizado em baixas concentrações.

Figura 23. Concentração de malondialdeído (MDA) (nmol/g) em função do regime hídrico (sem, com e reidratação) e das concentrações de silício (0,0, 0,5, 1,0 1,50, 2,00, 2,50) em plantas de tomate cultivar Micro-Tom. UNESP/2017. Letras maiúsculas comparam os regimes hídricos dentro das concentrações de Si e as minúsculas comparam as concentrações de silício dentro do regime hídrico.



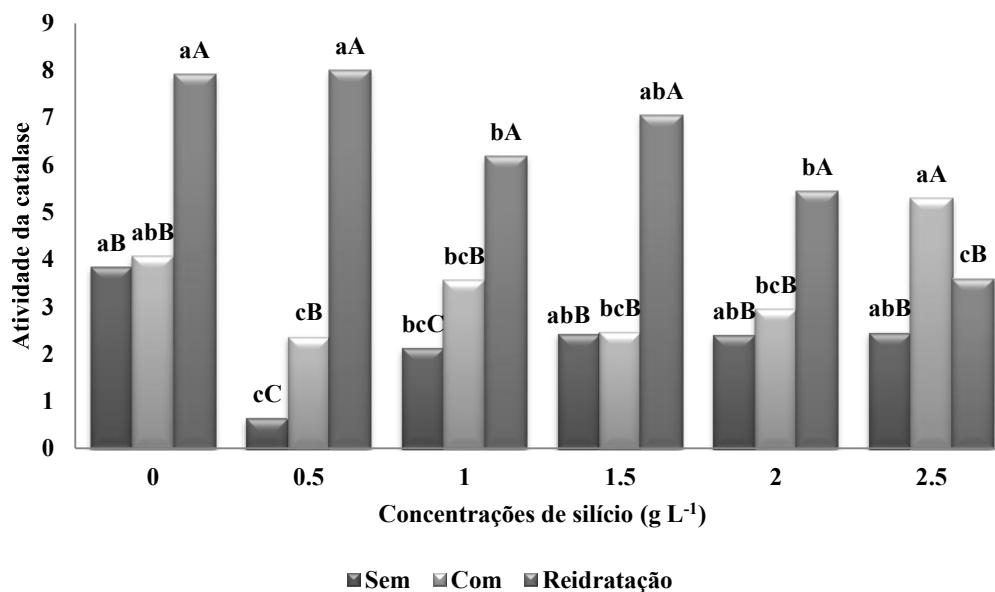
As plantas sem déficit hídrico apresentaram aumento da atividade enzimática da SOD na ausência de Si e na concentração de 2,5 g L⁻¹ de silício (Figura 24). Em plantas com déficit hídrico a maior atividade foi observada na ausência de silício e na concentração de 0,5 g L⁻¹ de Si. Para as plantas com déficit e reidratadas observou-se queda na atividade da SOD com as maiores concentrações de silício.

Figura 24. Atividade específica da superóxido dismutase (SOD) (U/mg prot.) em função do regime hídrico (sem, com e reidratação) e das concentrações de silício (0,0, 0,5, 1,0 1,50, 2,00, 2,50) em plantas de tomate cultivar Micro-Tom. UNESP/2017. Letras maiúsculas comparam os regimes hídricos dentro das concentrações de Si e as minúsculas comparam as concentrações de silício dentro do regime hídrico.



As plantas sem déficit hídrico apresentaram queda, seguida de aumento da atividade enzimática da CAT com o aumento das concentrações de silício (Figura 25). Em plantas com déficit hídrico observou-se redução da atividade da CAT até a concentração de 2,00 g L⁻¹ de silício, seguido de aumento da atividade enzimática. Para as plantas com déficit e reidratadas observou-se queda na atividade da CAT na concentração de 2,50 g L⁻¹ Si.

Figura 25. Atividade específica catalase (CAT) (mKatug prot.) em função do regime hídrico (sem, com e reidratação) e das concentrações de silício (0,0, 0,5, 1,0 1,50, 2,00, 2,50) em plantas de tomate cultivar Micro-Tom. UNESP/2017. Letras maiúsculas comparam os regimes hídricos dentro das concentrações de Si e as minúsculas comparam as concentrações de silício dentro do regime hídrico.



As plantas sem déficit hídrico apresentaram queda, seguida de aumento da atividade enzimática da POD com a elevação das concentrações de silício (Figura 26).

Em plantas com déficit hídrico observou-se redução da atividade da POD com aumento de silício. Para as plantas com déficit e reidratadas observou-se queda na atividade da POD na concentração de 2,5 g L⁻¹.

Dessa forma, maiores atividades das enzimas SOD, CAT e POD foram observadas nas concentrações de 0,50 e 1,00 g L⁻¹ de Si. Nessas mesmas concentrações foram menores as concentrações de malondialdeído, demonstrando-se a atuação dessas enzimas sobre as espécies reativas de oxigênio.

Etesami e Jeong (2018) atribuem ao Si a capacidade de atuar de diferentes formas, auxiliando a redução de efeitos danosos causados pelo estresse, inclusive por déficit hídrico. Dessa forma, o Si poderia proporcionar aumento na biossíntese de sólidos solúveis que atuam como osmorreguladores e osmoprotetores, na biossíntese de hormônios que promoveriam crescimento do

sistema radicular, o que poderá aumentar a área de exploração de solo e, conseqüentemente, na absorção de água, aumento da atividade de enzimas antioxidantes, o que reduz o estresse oxidativo e manutenção do balanço de água nas plantas, tanto por expressão de genes relacionados com aquaporinas, como pela presença de osmorreguladores.

Dessa forma, tanto nas folhas como nas raízes o silício contribuiu para a redução da peroxidação lipídica em plantas com déficit e reidratadas, ou seja, propiciou condições favoráveis para a recuperação dessas plantas.

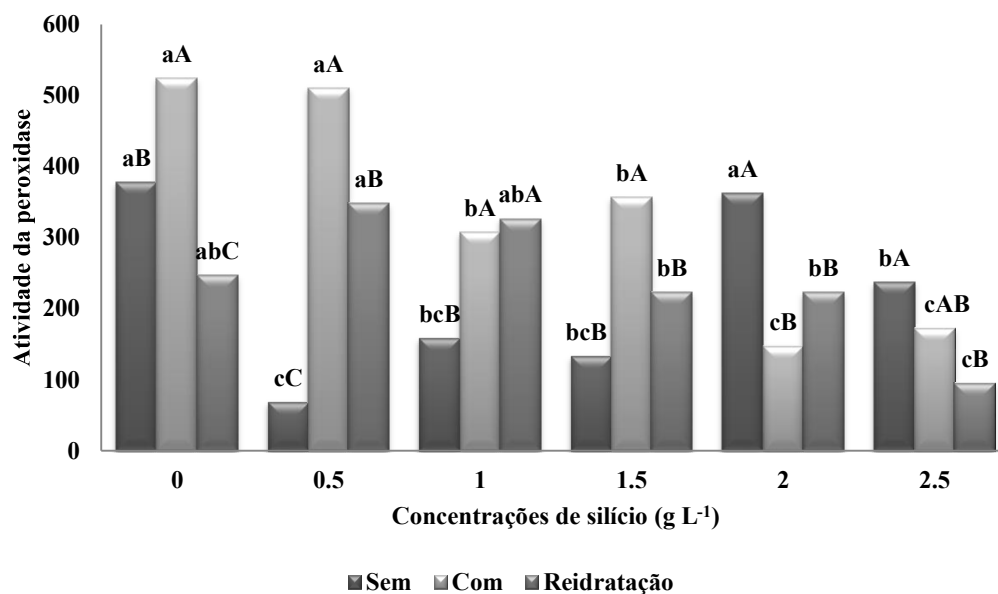
Outro ponto interessante é o fato de terem sido necessárias concentrações maiores de Si nas folhas do que nas raízes para reduzir a peroxidação lipídica.

Possível explicação pode ser encontrada na ação sinérgica entre elevado nível de irradiação e déficit hídrico reduzindo a capacidade do sistema fotossintético para utilizar a radiação incidente.

Tal condição leva a aumento no grau de dano ao aparato fotossintético devido ao acúmulo das espécies reativas de oxigênio (EROs), produzidas na etapa fotoquímica como consequência do estresse (FOYER et al., 1994; WINGLER et al., 2000; ZHOU et al., 2007).

Dessa forma, há formação de maior quantidade de EROs nas folhas, o que explicaria a maior peroxidação e necessidade de maiores concentrações de Si.

Figura 26. Atividade específica da peroxidase (POD) ($\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ prot.) em função do regime hídrico (sem, com e reidratação) e das concentrações de silício (0,0, 0,5, 1,0, 1,50, 2,00, 2,50) em plantas de tomate cultivar Micro-Tom. UNESP/2017. Letras maiúsculas comparam os regimes hídricos dentro das concentrações de Si e as minúsculas comparam as concentrações de silício dentro do regime hídrico.



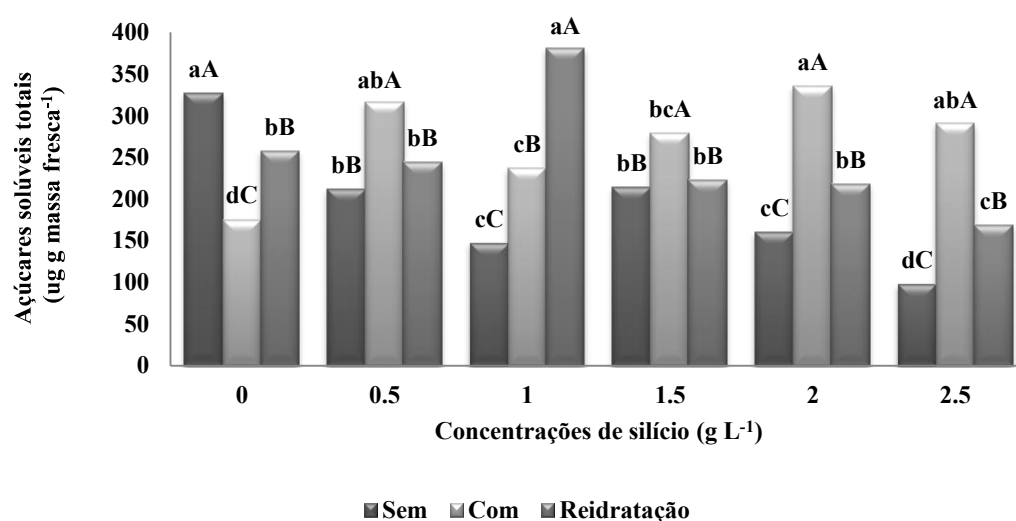
6.6.1 Açúcares solúveis totais, sacarose e amido nas folhas

As concentrações de açúcares solúveis totais, sacarose e amido nas folhas de plantas de tomate cultivar Micro-Tom cultivadas com diferentes concentrações de Si e variação do regime hídrico, apresentaram interação significativa, observadas nas Figuras 27, 28 e 29 que comparam as concentrações de Si dentro dos regimes hídricos.

As concentrações de açúcares solúveis totais das plantas sem déficit hídrico foram maiores na ausência de silício, diminuindo com o aumento da concentração desse elemento. Em geral, as plantas com déficit hídrico e cultivadas com as concentrações de silício apresentaram aumento de açúcares solúveis totais. As plantas com déficit hídrico e reidratadas apresentaram a maior

concentração de açúcares solúveis totais quando a concentração de silício igual a $1,00 \text{ g L}^{-1}$ foi aplicada (Figura 27).

Figura 27. Açúcares solúveis totais em função do regime hídrico (sem, com e reidratação) e das concentrações de silício (0,0, 0,5, 1,0 1,50, 2,00, 2,50) em plantas de tomate cultivar Micro-Tom. UNESP/2017. Letras maiúsculas comparam os regimes hídricos dentro das concentrações de Si e as minúsculas comparam as concentrações de silício dentro do regime hídrico.

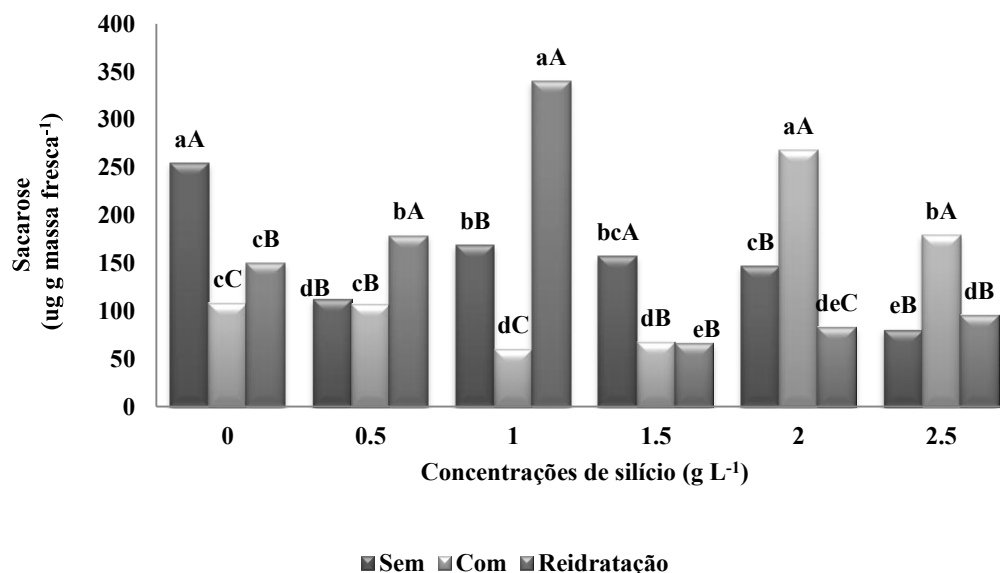


Maiores quantidades de sacarose foram reveladas em plantas com déficit e reidratadas e que receberam a concentração de $1,00 \text{ g L}^{-1}$ de silício via foliar (Figura 28). Os resultados de açúcares solúveis totais e sacarose corroboram com os observados na taxa de assimilação para plantas com déficit e reidratadas (Figura 15), onde as maiores taxas de assimilação foram observadas na concentração de 1 g L^{-1} de Si, ou seja, quanto maior a taxa de assimilação, maior será a produção de carboidratos (Taiz et al., 2017).

Dessa forma, observa-se a participação do Si na síntese de carboidratos, pela manutenção da fotossíntese, mesmo em condições de déficit hídrico e reidratação. Segundo Etesami e Jeong o Si atua na manutenção da fotossíntese em condições de déficit hídrico, pelo fato de reduzir a degradação de clorofilas

pelas espécies reativas de oxigênio e por diminuir a energia perdida por fluorescência e fotorrespiração, devido à passagem de elétrons entre os fotossistemas, fato esse evidenciado na presente pesquisa pela avaliação da fluorescência da clorofila *a*.

Figura 28. Sacarose em função do regime hídrico (sem, com e reidratação) e das concentrações de silício (0,0, 0,5, 1,0 1,50, 2,00, 2,50) em plantas de tomate cultivar Micro-Tom. UNESP/2017. Letras maiúsculas comparam os regimes hídricos dentro das concentrações de Si e as minúsculas comparam as concentrações de silício dentro do regime hídrico.

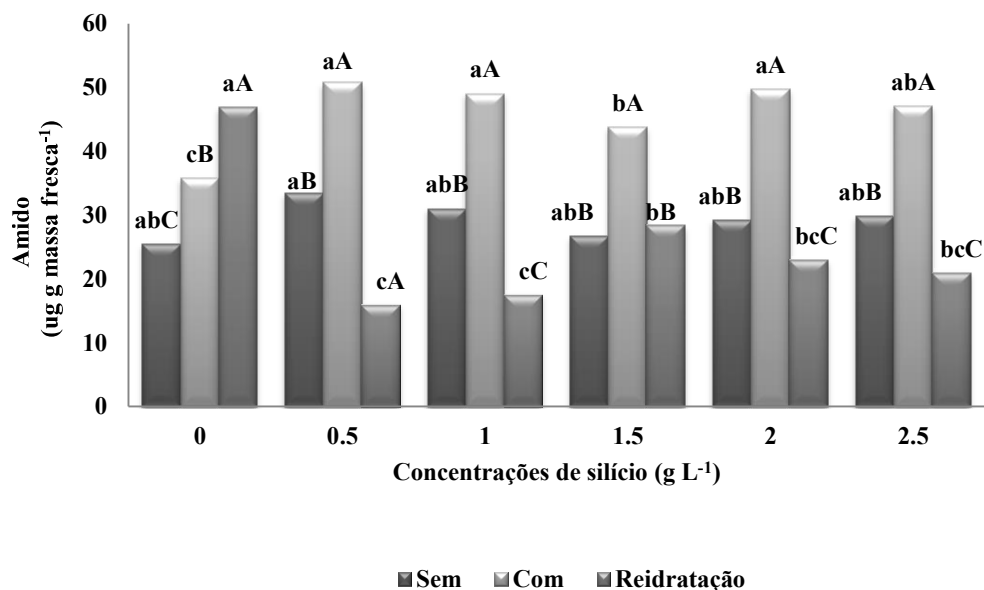


O amido apresentou resultado contrário aos dos açúcares solúveis totais e sacarose. Assim, foram observadas maiores concentrações em plantas com déficit hídrico e que receberam silício. Menores concentrações foram observadas nas plantas com déficit e reidratadas quando aplicado 0,5 e 1,0 g L⁻¹ de Si, sugerindo quebra desse carboidrato insolúvel em carboidratos solúveis (açúcares solúveis e sacarose) que atuam como osmorreguladores e osmoprotetores em condições de déficit hídrico (Figura 29). Em plantas submetidas ao déficit hídrico é comum observar a quebra de amido em açúcares

solúveis com o objetivo de aumentar o potencial osmótico. A utilização de silício em plantas em condições de déficit hídrico regula a biossíntese de solutos que atuam no ajustamento osmótico, aumentando dessa forma, a tolerância da planta ao déficit hídrico (SONOBE et al., 2010; MING et al., 2012; HAJIBOLAND et al., 2016). No entanto, novamente há necessidade de pesquisas que esclareçam a atuação do silício no metabolismo de carboidratos, inclusive em nível molecular (ZHU e GONG, 2014; ETESAMI e JEONG, 2018).

Dessa forma, sugere-se a atuação do Si também junto às enzimas relacionadas com a quebra de amido, uma vez que, na presença de 0,5 e 1,0 g L⁻¹ de Si, houve redução dos teores de amido e aumento dos teores de açúcares solúveis totais e sacarose.

Figura 29. Amido em função do regime hídrico (sem, com e reidratação) e das concentrações de silício (0,0, 0,5, 1,0 1,50, 2,00, 2,50) em plantas de tomate cultivar Micro-Tom. UNESP/2017. Letras maiúsculas comparam os regimes hídricos dentro das concentrações de Si e as minúsculas comparam as concentrações de silício dentro do regime hídrico.



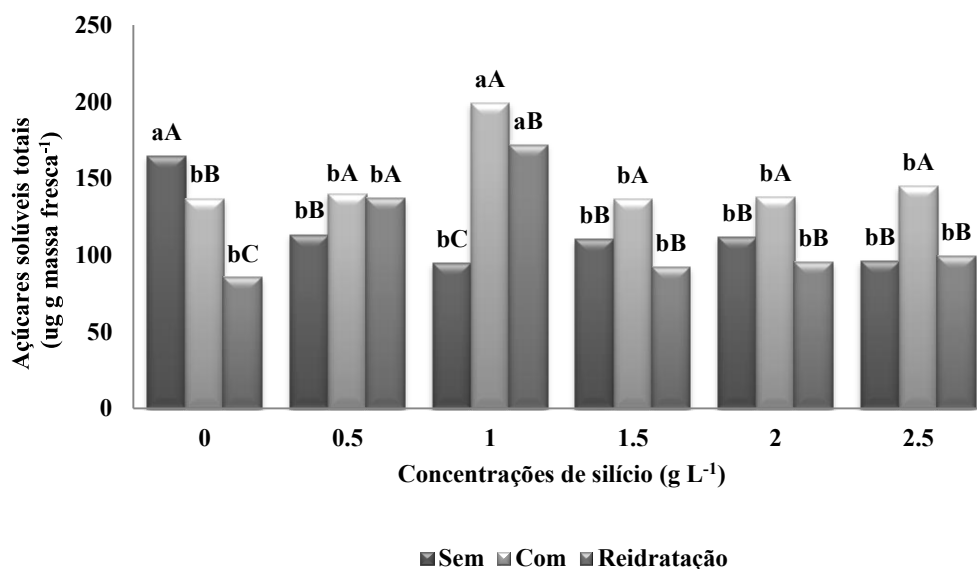
6.6.2 Açúcares solúveis totais, sacarose e amido em raízes

As concentrações de açúcares solúveis totais, sacarose e amido nas raízes de plantas de tomate cultivar Micro-Tom cultivadas com diferentes concentrações de Si e variação do regime hídrico, apresentaram interações significativas, como destacadas nas Figuras 30, 31 e 32 que comparam as concentrações de Si dentro dos regimes hídricos.

As concentrações de açúcares solúveis totais nas raízes das plantas sem déficit hídrico foram maiores na ausência de silício, reduzindo-se com a aplicação desse elemento, apresentando comportamento semelhante às folhas.

As concentrações de açúcares solúveis totais foram maiores em plantas com déficit hídrico e com déficit e reidratadas na concentração igual a 1,00 g L⁻¹ de silício (Figura 30).

Figura 30. Açúcares solúveis totais em função do regime hídrico (sem, com e reidratação) e das concentrações de silício (0,0, 0,5, 1,0 1,50, 2,00, 2,50) em plantas de tomate cultivar Micro-Tom. UNESP/2017. Letras maiúsculas comparam os regimes hídricos dentro das concentrações de Si e as minúsculas comparam as concentrações de silício dentro do regime hídrico.



Os teores de sacarose nas raízes das plantas sem déficit hídrico foram maiores na presença de silício independente das concentrações. Os máximos teores de sacarose em plantas com déficit e reidratadas foram verificadas na concentração de $0,50 \text{ g L}^{-1}$ de silício.

Em plantas com déficit hídrico os maiores teores foram obtidos na concentração $1,00 \text{ g L}^{-1}$ do elemento (Figura 31). Observou-se aumento de sacarose com a utilização de Si independente do regime hídrico.

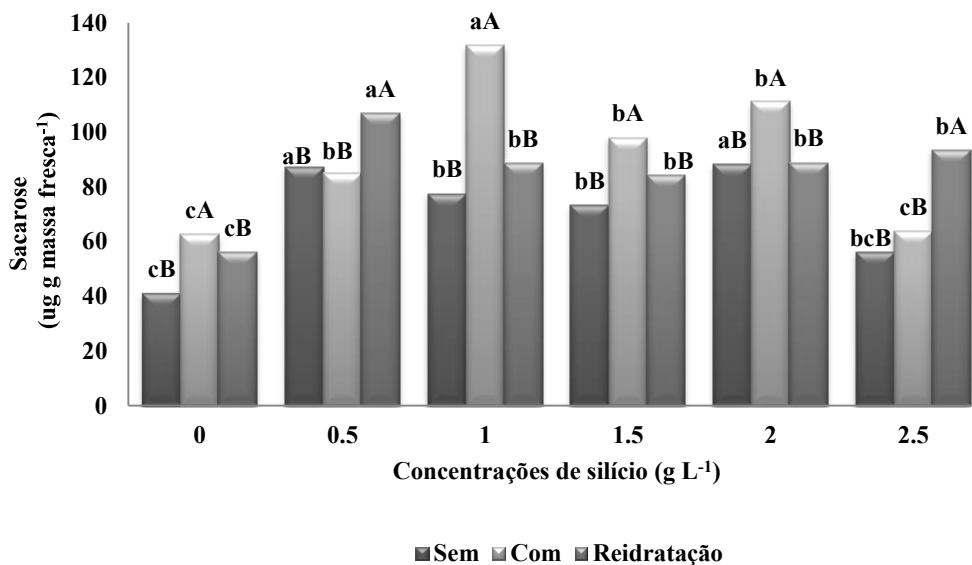
Novamente observa-se que o Si proporcionou variações nos teores de açúcares solúveis totais e sacarose. No entanto verifica-se que em relação ao regime hídrico as plantas com déficit apresentaram maiores teores desses carboidratos, diferindo das folhas, onde as plantas com déficit e reidratadas apresentaram os maiores teores.

Deve-se ressaltar que em condições de déficit hídrico os açúcares solúveis são fundamentais para manter o potencial osmótico da célula (Taiz et al., 2018).

Assim, é de se esperar que plantas com déficit apresentem maiores teores, uma vez que, as células das raízes precisam absorver a água existente no solo e para isso é fundamental a diferença de potencial osmótico.

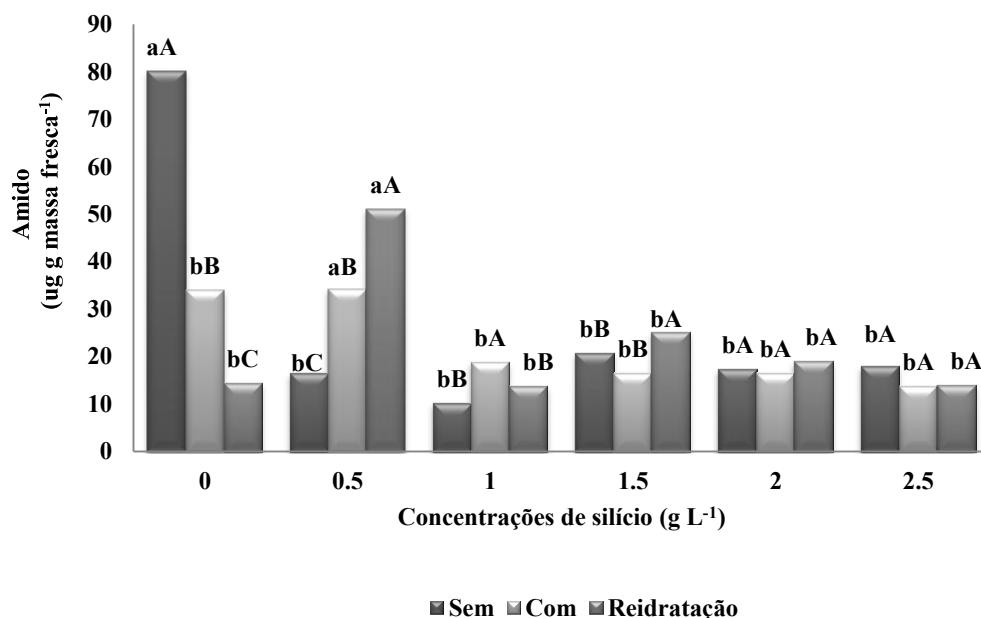
Outro aspecto importante, é que em condições de déficit o crescimento do sistema radicular é intensificado. Dessa forma, a presença desses carboidratos é de extrema importância para esse crescimento.

Figura 31. Sacarose em função do regime hídrico (sem, com e reidratação) e das concentrações de silício (0,0, 0,5, 1,0 1,50, 2,00, 2,50) em plantas de tomate cultivar Micro-Tom. UNESP/2017. Letras maiúsculas comparam os regimes hídricos dentro das concentrações de Si e as minúsculas comparam as concentrações de silício dentro do regime hídrico.



Maiores concentrações de amido foram observadas em plantas sem déficit e na ausência de silício. Raízes de plantas com déficit hídrico e com déficit e reidratadas revelaram maiores concentrações de amido quando pulverizadas com 0,50 g L⁻¹ de Si (Figura 32).

Figura 32. Amido em função do regime hídrico (sem, com e reidratação) e das concentrações de silício (0,0, 0,5, 1,0 1,50, 2,00, 2,50) em plantas de tomate cultivar Micro-Tom. UNESP/2017. Letras maiúsculas comparam os regimes hídricos dentro das concentrações de Si e as minúsculas comparam as concentrações de silício dentro do regime hídrico.



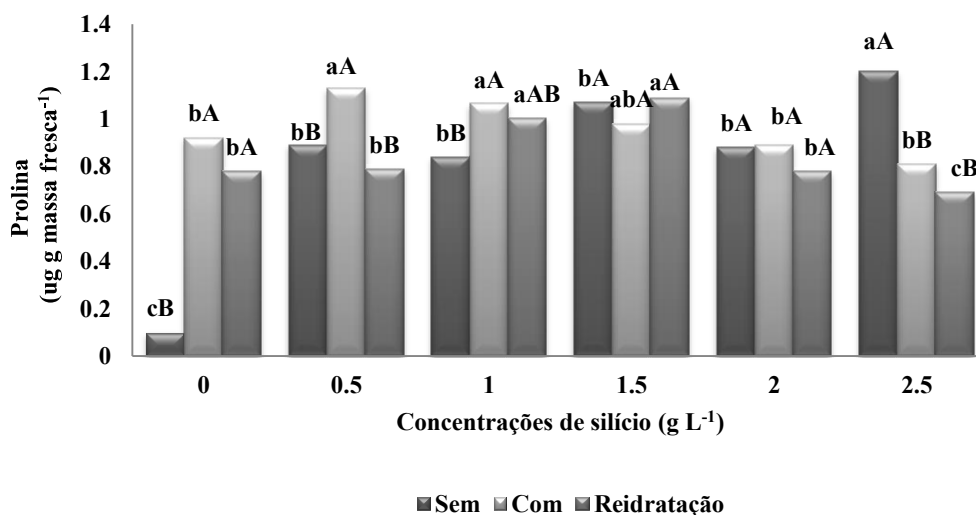
Segundo Ming et al. (2012), o silício aumenta a tolerância das plantas ao déficit hídrico pelo fato de aumentar os níveis de açúcares que minimizam o desequilíbrio osmótico. Um dos possíveis mecanismos de aumento de osmorreguladores nos vegetais é a continuidade da atividade fotossintética na planta mesmo em condições de déficit hídrico (CAO et al., 2015), o que foi confirmado na presente pesquisa em plantas com déficit hídrico e reidratadas que apresentaram maior assimilação de CO₂ na presença de 1,00 g L⁻¹ de silício.

6.7.1 Teores de prolina nas folhas

Os teores de prolina nas folhas de plantas de tomate Micro-Tom cultivadas com diferentes concentrações de Si e variação do regime hídrico, apresentaram interação significativa, observada na Figura 33 que compara as concentrações de Si dentro dos regimes hídricos. O teor de prolina em plantas sem déficit hídrico foi maior na concentração de 2,5 g L⁻¹ de Si. De maneira geral, as concentrações de silício aumentaram os teores de prolina nas plantas com

défice hídrico nas concentrações entre 0,5 e 1,5 g L⁻¹ de Si. Nas plantas com défice e reidratadas os maiores teores de prolina foram verificados nas concentrações de silício entre 1,00 e 1,50 g L⁻¹ (Figura 33).

Figura 33. Teores de prolina em função do regime hídrico (sem, com e reidratação) e das concentrações de silício (0,0, 0,5, 1,0 1,50, 2,00, 2,50) em plantas de tomate cultivar Micro-Tom. UNESP/2017. Letras maiúsculas comparam os regimes hídricos dentro das concentrações de Si e as minúsculas comparam as concentrações de silício dentro do regime hídrico.



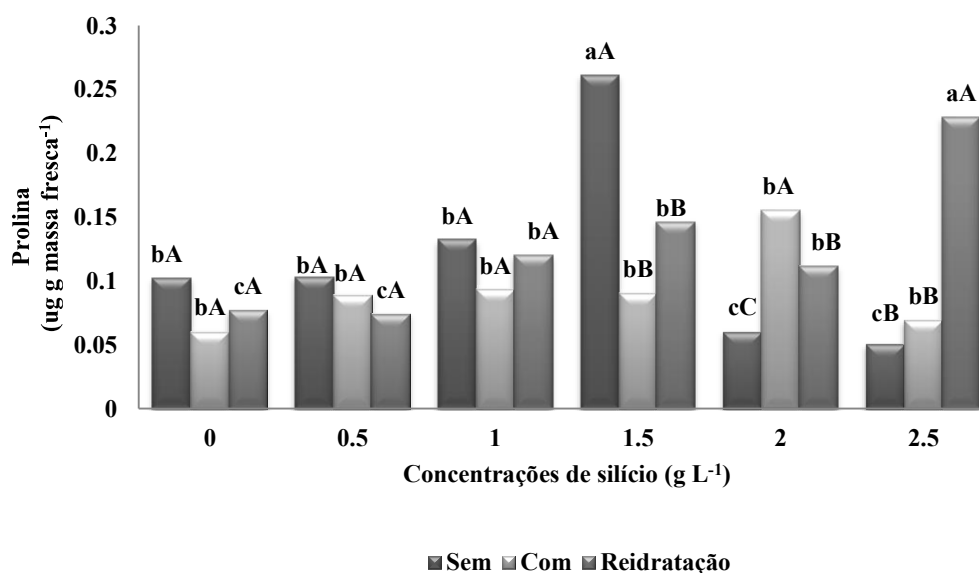
A prolina é um aminoácido que atua na osmorregulação e osmoproteção de membranas e organelas, em condições de défice, principalmente défice hídrico e salino. Além disso, atua reduzindo o potencial osmótico, facilitando o ajuste osmótico em condições de défice (SHRI et al.,2009). Outra função importante atribuída a prolina é o fato de ser reserva de carbono e nitrogênio, essenciais para a sobrevivência e desenvolvimento da planta. Dessa forma, quanto maior for o teor de prolina encontrado em uma planta submetida ao défice hídrico, maior será a resistência da mesma a falta de água. Praveen et al. (2017), relataram aumento de 9% dos teores de prolina em plantas estressadas com arsênio e que receberam silício, quando comparadas as plantas controle. Segundo Ashfaque et al. (2017) o Si aumenta o conteúdo de nitrogênio e de proteínas nas plantas em condições de estresse por propiciar aumento da atividade da enzima nitrato redutase.

6.6.2 Teores de prolina nas raízes

Os teores de prolina nas raízes de plantas de tomate Micro-Tom cultivadas com diferentes concentrações de Si e variação do regime hídrico, também apresentaram interação significativa, observada na Figura 34 que compara as concentrações de Si dentro dos regimes hídricos.

Os teores de prolina em plantas sem déficit hídrico foi maior na concentração de 1,5 g L⁻¹ de Si. As concentrações de silício proporcionaram aumento nos teores de prolina nas plantas com déficit hídrico na concentração de 2,0 g L⁻¹ de Si. As plantas com déficit e reidratadas apresentaram os maiores teores de prolina na concentração de silício de 2,50 g L⁻¹ (Figura 34).

Figura 34. Teores de prolina em função do regime hídrico (sem, com e reidratação) e das concentrações de silício (0,0, 0,5, 1,0 1,50, 2,00, 2,50) em plantas de tomate cultivar Micro-Tom. UNESP/2017. Letras maiúsculas comparam os regimes hídricos dentro das concentrações de Si e as minúsculas comparam as concentrações de silício dentro do regime hídrico.



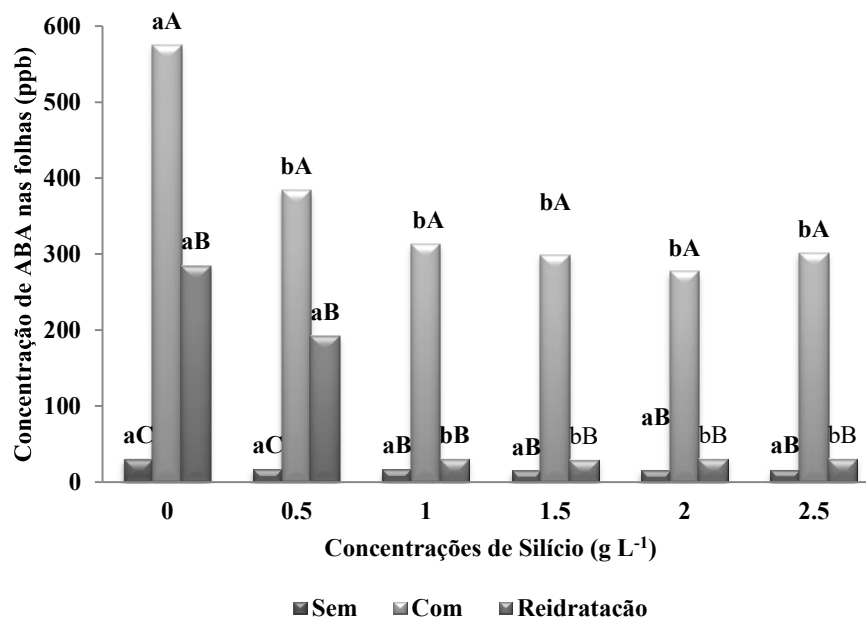
Assim, verifica-se que o silício, embora tenha sido aplicado via foliar, foi capaz de promover alterações também no sistema radicular. O aumento dos teores de prolina nas raízes em condições de déficit possibilita melhor ajustamento osmótico (AHMAD et al.,2012; PANDEY e GUPTA,2015), o que permite a manutenção da sobrevivência do vegetal mesmo em condições de deficiência hídrica. Praveen et al., 2017 observaram aumento dos teores de prolina em *Brassica juncea* em condições de estresse por metais pesados e relatam que a prolina além de atuar no ajuste osmótico, também contribui para a redução do estresse oxidativo, o que diminuiria os danos promovidos pelo déficit hídrico.

6.8.1 Concentração de ácido abscísico (ABA) em folhas

As concentrações de ABA em folhas de plantas de tomate Micro-Tom cultivadas com diferentes concentrações de Si e variação do regime hídrico, apresentaram interação significativa, como observada na Figura 35 que compara as concentrações de Si dentro dos regimes hídricos.

Plantas com déficit hídrico apresentaram as maiores concentrações de ABA, que revelou redução com o aumento das doses de silício. Em plantas com déficit e reidratadas verificou-se redução da concentração do ABA nas maiores doses de silício a partir de 1,00 g L⁻¹.

Figura 35. Concentrações de ácido abscísico (ABA) em função do regime hídrico (sem, com e reidratação) e das concentrações de silício (0,0, 0,5, 1,0 1,50, 2,00, 2,50) em plantas de tomate cultivar Micro-Tom. UNESP/2017. Letras maiúsculas comparam os regimes hídricos dentro das concentrações de Si e as minúsculas comparam as concentrações de silício dentro do regime hídrico.



Estudos de hormônios vegetais em condições de déficit são de extrema importância, uma vez que, demonstram a habilidade da planta em se adaptar as alterações do ambiente (FAHAD et al., 2015). Além disso, estudos registram que o silício pode elevar a resistência das plantas ao déficit hídrico pela possibilidade de promover o ajuste das concentrações de hormônios vegetais (KIM et al., 2014; YIN et al., 2016).

Pei et al., 2010 relataram que a aplicação de silício aumentou a concentração de ABA em trigo submetido ao déficit hídrico, embora não tenham esclarecido o mecanismo de ação.

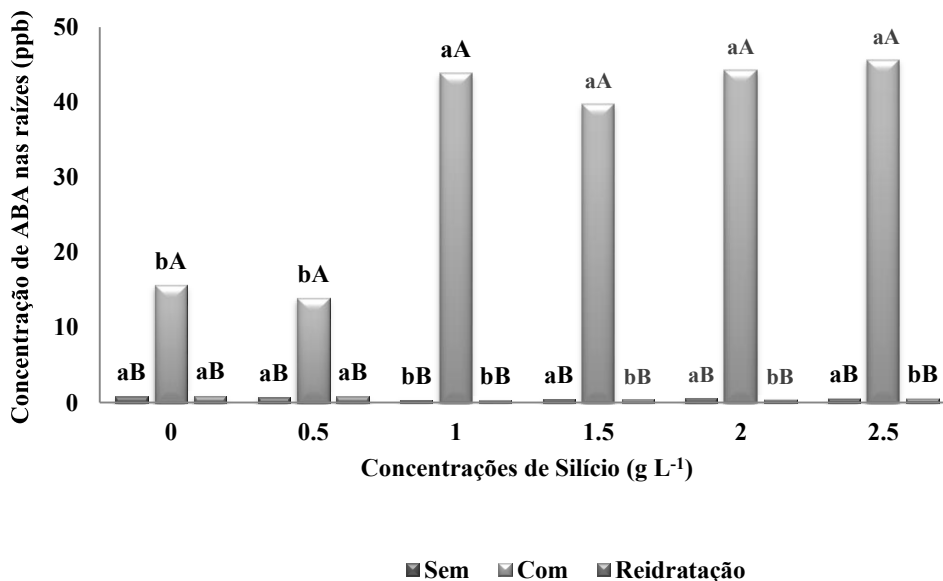
6.8.2 Concentração de ácido abscísico (ABA) em raízes

As concentrações de ABA em raízes de plantas de tomate Micro-Tom apresentaram interação significativa, como observada na Figura 36 que compara as concentrações de Si dentro dos regimes hídricos. Plantas com déficit hídrico

apresentaram as maiores concentrações de ABA, com aumento desse regulador quando Si foi utilizado na concentração igual a 1,00 g L⁻¹.

Em plantas sem déficit hídrico e com déficit e reidratadas verificou-se redução da concentração do ABA a partir da concentração de 1,00 g L⁻¹ de Si. Novamente verifica-se a influência do silício na concentração do ABA, uma vez que, esse hormônio é sintetizado nas raízes e transportado via xilema até as folhas, onde atua na abertura e fechamento estomático. Mesmo aplicando o silício via foliar, observa-se sua influência no sistema radicular, havendo, portanto, atuação desse elemento em todo o vegetal.

Figura 36. Concentrações de ácido abscísico (ABA) em função do regime hídrico (sem, com e reidratação) e das concentrações de silício (0,0, 0,5, 1,0 1,50, 2,00, 2,50) em plantas de tomate cultivar Micro-Tom. UNESP/2017. Letras maiúsculas comparam os regimes hídricos dentro das concentrações de Si e as minúsculas comparam as concentrações de silício dentro do regime hídrico.



Fauteux et al. (2005), relatam que o silício além de interagir com diversos elementos chave na sinalização de mecanismos de resistência ao déficit, também há a possibilidade de estar envolvido no metabolismo de hormônios vegetais, sendo necessárias mais pesquisas com esse foco. Zhu e Gong, 2104,

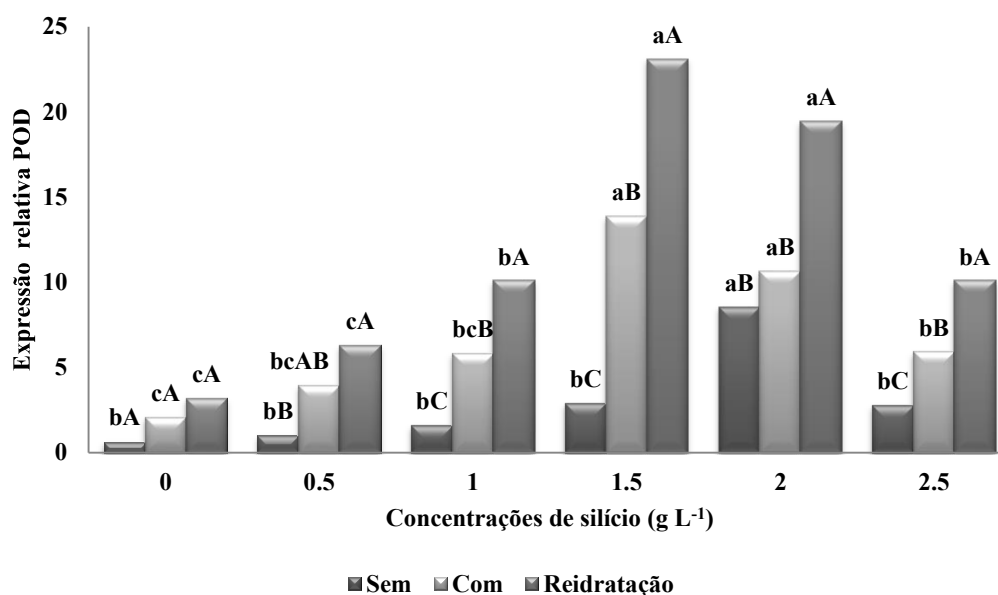
relatam a possibilidade de o silício estar envolvido em processos de sinalização de síntese de hormônios vegetais.

6.9.1 Expressão gênica das enzimas antioxidantes em folhas

As expressões gênicas das enzimas peroxidase (POD), superóxido dismutase (SOD) e catalase (CAT) de plantas cultivadas com diferentes concentrações de Si e variação do regime hídrico revelaram interações significativas, que podem ser observadas nas Figuras 37,38 e 39 que comparam as concentrações de Si dentro dos regimes hídricos.

A expressão gênica da POD das plantas com déficit e reidratadas foi maior que das plantas com e sem déficit hídrico, quando se utilizou o silício. A maior expressão gênica tanto em plantas com déficit hídrico como nas com déficit e reidratadas foi observada nas concentrações de 1,5 e 2,0 g L⁻¹ de silício.

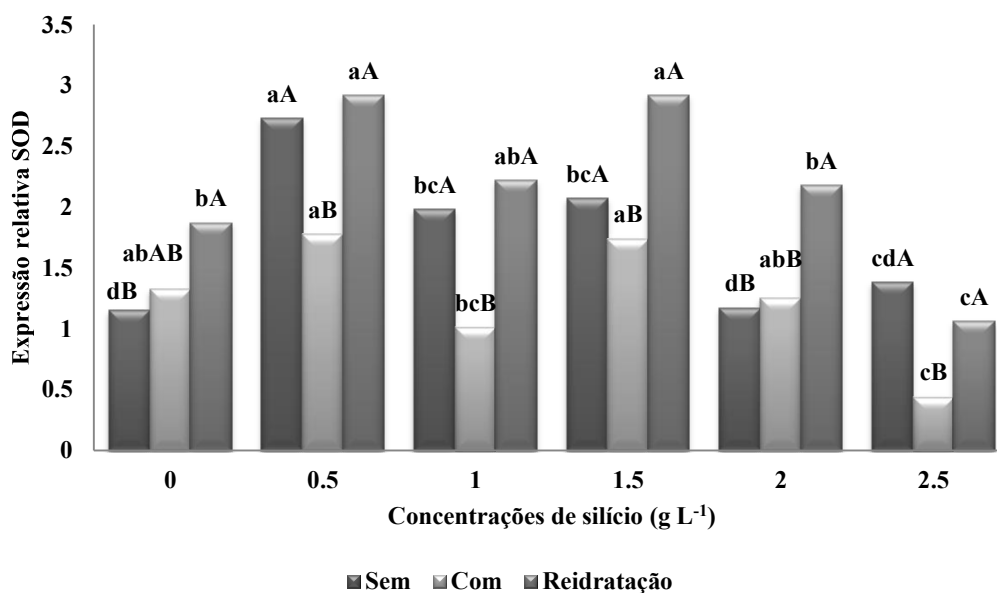
Figura 37. Expressão gênica relativa da enzima POD em função do regime hídrico (sem, com e reidratação) e das concentrações de silício (0,0, 0,5, 1,0 1,50, 2,00, 2,50) em plantas de tomate cultivar Micro-Tom. UNESP/2017. Letras maiúsculas comparam os regimes hídricos dentro das concentrações de Si e as minúsculas comparam as concentrações de silício dentro do regime hídrico.



A expressão gênica relativa da SOD das plantas sem déficit hídrico foi maior na concentração igual a 0,5 g L⁻¹ de silício. As plantas com déficit apresentaram a menor expressão da SOD na concentração igual a 2,5 g L⁻¹ de silício, mantendo, de maneira geral, a expressão nas demais concentrações de Si.

As plantas com déficit e reidratadas apresentaram a menor expressão gênica da SOD na ausência de silício e nas maiores concentrações (2,00 e 2,5 g L⁻¹) (Figura 38). Em geral, as plantas com déficit e reidratadas apresentaram maior expressão gênica da SOD.

Figura 38. Expressão gênica relativa da enzima SOD em função do regime hídrico (sem, com e reidratação) e das concentrações de silício (0,0, 0,5, 1,0 1,50, 2,00, 2,50) em plantas de tomate cultivar Micro-Tom. UNESP/2017. Letras maiúsculas comparam os regimes hídricos dentro das concentrações de Si e as minúsculas comparam as concentrações de silício dentro do regime hídrico.

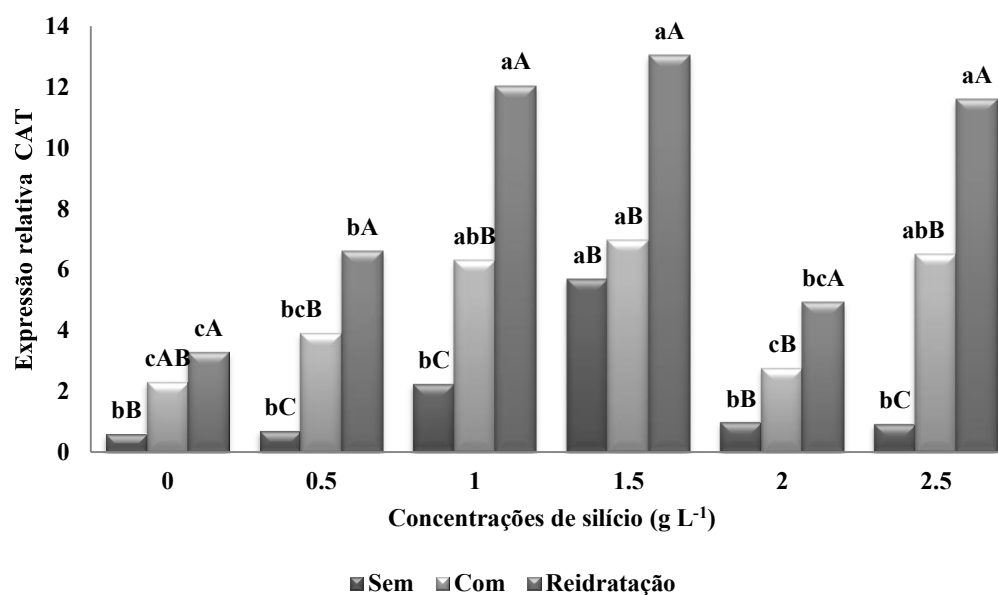


A expressão relativa da CAT das plantas sem déficit hídrico foi maior na concentração de 1,5 g L⁻¹ de silício. As plantas com déficit e com déficit e reidratadas apresentaram a maior expressão nas concentrações de silício iguais

a 1,00, 1,50 e 2,5 g L⁻¹. Em geral, as plantas com déficit e reidratadas apresentaram maior expressão gênica da CAT (Figura 39).

Segundo Ashfaque et al. (2017) o Si propicia aumento da atividade da enzima nitrato redutase, o que contribui para aumentar o conteúdo de nitrogênio e de proteínas nas plantas em condições de estresse. Assim, essa pesquisa demonstra que o Si também intensifica a atividade de enzimas antioxidantes POD, SOD e CAT, por aumentar expressão gênica.

Figura 39. Expressão gênica relativa da enzima CAT em função do regime hídrico (sem, com e reidratação) e das concentrações de silício (0,0, 0,5, 1,0 1,50, 2,00, 2,50) em plantas de tomate cultivar Micro-Tom. UNESP/2017. Letras maiúsculas comparam os regimes hídricos dentro das concentrações de Si e as minúsculas comparam as concentrações de silício dentro do regime hídrico.



Segundo Rahman et al.(2017) o silício atua não apenas em mecanismos fisiológicos, mas também em mecanismos moleculares para auxiliar a recuperação das plantas em condições de déficit. Esses mesmos autores observaram aumento da expressão gênica da glutathione (GSH1) na presença de silício em plantas estressadas com cádmio.

Etesami e Jeong (2018) afirmam que o silício atua nas enzimas antioxidantes POD, SOD e CAT, embora ainda sejam desconhecidos os mecanismos de

interação entre o silício e essas enzimas. Assim, esses autores sugerem inclusive estudos em nível de transcriptoma, objetivando esclarecer os mecanismos pelos quais o silício atuaria na modulação enzimática em condições de déficit, o que foi realizado na presente pesquisa e confirmou a atuação do Si em nível gênico.

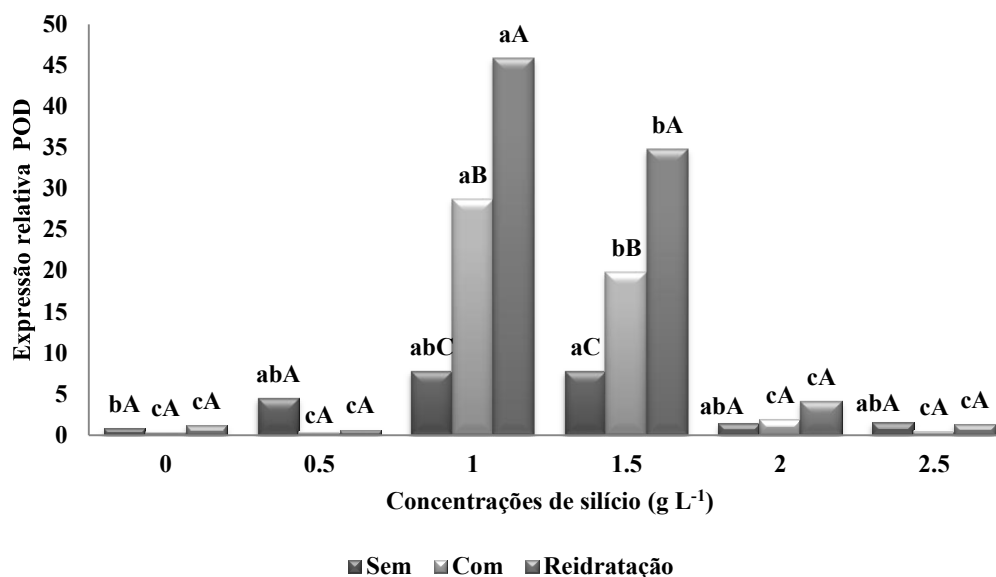
Dessa forma, a presente pesquisa evidencia que o silício aumenta a atividade das enzimas antioxidantes em plantas estressadas, por meio de sua expressão gênica.

6.9.2 Expressão gênica das enzimas antioxidantes em raízes

As expressões gênicas das enzimas peroxidase (POD), superóxido dismutase (SOD) e catalase (CAT) em raízes de plantas cultivadas com diferentes concentrações de Si e variação do regime hídrico revelaram interações significativas, observadas nas Figuras 40, 41 e 42 que comparam as concentrações de Si dentro dos regimes hídricos.

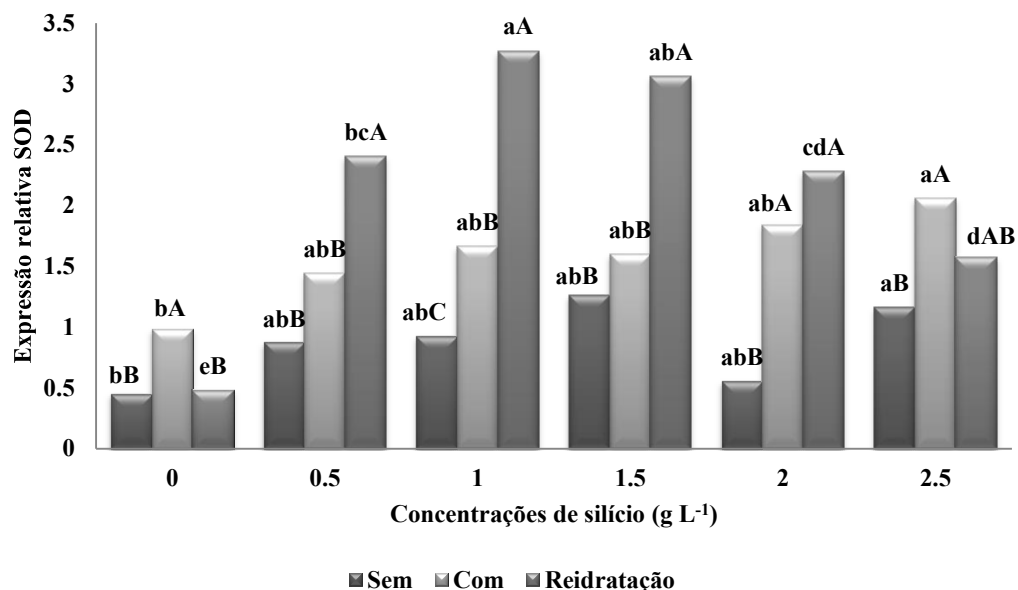
A expressão gênica da POD das raízes de plantas com déficit hídrico e reidratação foi maior que a das plantas com e sem déficit hídrico, quando as concentrações de silício iguais a 1,00 e 1,50 g L⁻¹ foram aplicadas. Na ausência e nas demais concentrações de silício não foram observadas diferenças de expressão nos diferentes regimes hídricos (Figura 40).

Figura 40. Expressão gênica relativa da enzima POD em função do regime hídrico (sem, com e reidratação) e das concentrações de silício (0,0, 0,5, 1,0 1,50, 2,00, 2,50) em plantas de tomate cultivar Micro-Tom. UNESP/2017. Letras maiúsculas comparam os regimes hídricos dentro das concentrações de Si e as minúsculas comparam as concentrações de silício dentro do regime hídrico.



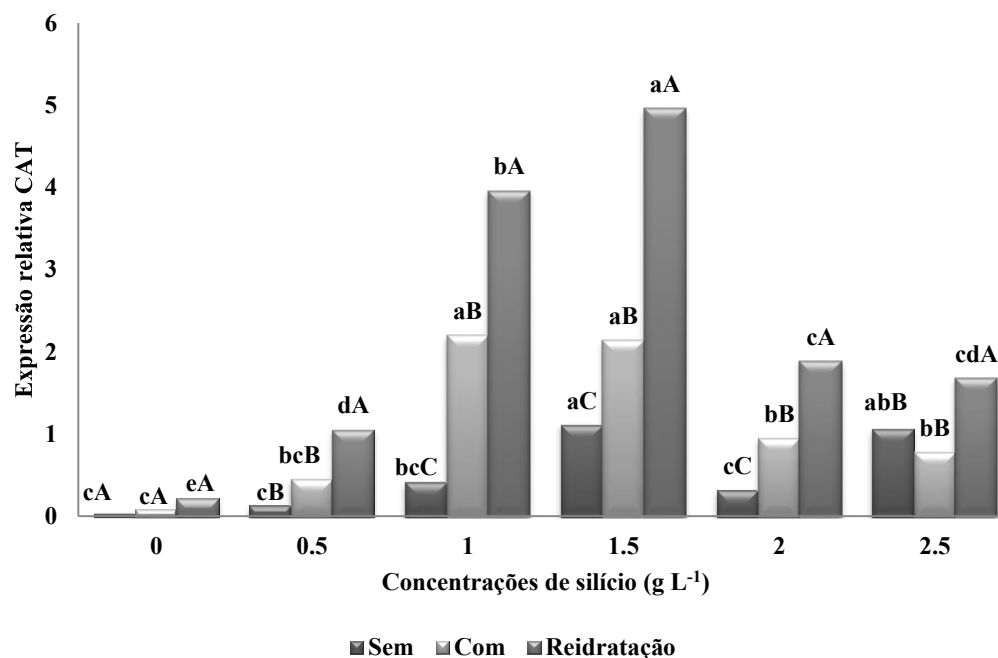
As plantas submetidas ao déficit e reidratadas apresentaram a maior expressão da SOD. Plantas sem déficit hídrico e com déficit, de maneira geral, revelaram maior expressão da SOD com aumento da concentração de silício. As plantas submetidas à déficit hídrico e reidratação apresentaram maior expressão quando concentrações iguais a 1,00 e 1,50 g L⁻¹ de silício foram aplicadas (Figura 41).

Figura 41. Expressão gênica relativa da enzima SOD em função do regime hídrico (sem, com e reidratação) e das concentrações de silício (0,0, 0,5, 1,0 1,50, 2,00, 2,50) em plantas de tomate cultivar Micro-Tom. UNESP/2017. Letras maiúsculas comparam os regimes hídricos dentro das concentrações de Si e as minúsculas comparam as concentrações de silício dentro do regime hídrico.



A expressão gênica da CAT das plantas sem déficit hídrico foi maior na concentração igual a 1,5 g L⁻¹ de silício. As plantas com déficit apresentaram a maior expressão nas concentrações de silício iguais a 1,00 e 1,50 g L⁻¹ e aquelas submetidas à déficit e reidratadas revelaram maior expressão quando 1,50 g L⁻¹ de Si foram aplicados. Quando houve aplicação de Si as plantas com déficit e reidratadas apresentaram maior expressão gênica da CAT (Figura 42).

Figura 42. Expressão gênica relativa da enzima CAT em função do regime hídrico (sem, com e reidratação) e das concentrações de silício (0,0, 0,5, 1,0 1,50, 2,00, 2,50) em plantas de tomate cultivar Micro-Tom. UNESP/2017. Letras maiúsculas comparam os regimes hídricos dentro das concentrações de Si e as minúsculas comparam as concentrações de silício dentro do regime hídrico.



Pesquisa desenvolvida por Praveen et al., 2017, com avaliação de alterações genéticas em *Brassica juncea* submetidas ao déficit por arsênio, demonstrou que plantas estressadas apresentavam maiores alterações do DNA do que plantas estressadas que receberam silício.

Segundo esses pesquisadores na presença de silício ocorreu menor produção de malondialdeído e H₂O₂, redução das alterações do DNA e melhor atuação de enzimas antioxidantes como superóxido dismutase, catalase e ascorbatoperoxidase, reduzindo dessa forma, os efeitos do estresse. No entanto, esses autores não estudaram a expressão gênica, para explicar a relação do silício com a expressão de genes que influenciem a formação e atividade de enzimas antioxidantes como POD, SOD e CAT.

Pelos resultados obtidos na presente pesquisa verifica-se a possibilidade de participação do silício como sinalizador na expressão gênica de enzimas

antioxidantes e, dessa forma, atuando na amenização dos danos causados nas plantas em condições estressantes.

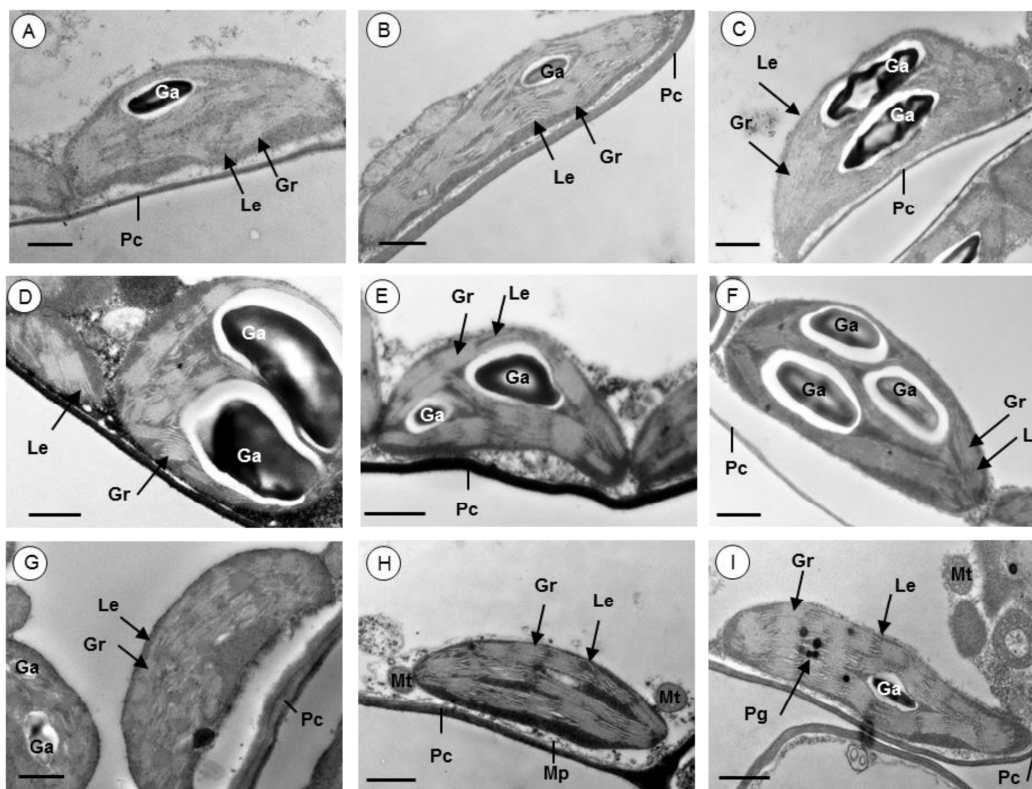
7.9 Microscopia eletrônica de transmissão

As fotos obtidas por meio da microscopia eletrônica de transmissão demonstram a influência dos regimes hídricos e das concentrações de silício na ultraestrutura celular. Pelas imagens é possível verificar maiores quantidades de grânulos de amido em plantas sem déficit hídrico (A, B e C) e em plantas com déficit hídrico (D, E e F).

Em plantas com déficit hídrico e reidratadas, verificam-se grânulos de amido menores e em pequenas quantidades (G, H e I). Dessa forma, observa-se quebra dos grânulos de amido em açúcares solúveis, confirmando os resultados obtidos na quantificação de amido e açúcares, como observados nas figuras 27, 28 e 29.

Outro aspecto ultraestrutural observado é a manutenção dos cloroplastos. Assim, em plantas submetidas ao déficit hídrico e reidratadas e que receberam $1,00 \text{ g L}^{-1}$ de Si apresentam grana mais definidos e organizados do que plantas que foram submetidas ao déficit hídrico e reidratação e não receberam Si.

Figura 44. Ultraestrutura dos cloroplastos em plantas de tomate cultivar Micro-Tom. A: plantas sem estresse + 0,00 g L⁻¹ de Si; B: plantas sem estresse + 0,50 g L⁻¹ de Si; C: plantas sem estresse + 1,00 g L⁻¹ de Si; D: plantas com estresse + 0,00 g L⁻¹ de Si; E: plantas sem estresse + 0,50 g L⁻¹ de Si; F: plantas sem estresse + 1,00 g L⁻¹ de Si; G: plantas reidratadas + 0,00 g L⁻¹ de Si; H: plantas reidratadas + 0,50 g L⁻¹ de Si; I: plantas reidratadas + 1,00 g L⁻¹ de Si. Abreviações: Ga = grão de amido; Le = lamela do estroma; Gr = granum; Mt = mitocôndria; Mp = membrana plasmática; Pc = parede celular; Pg = plastoglobulos. Barras: 1 µm.



Dessa forma, o silício melhora a estruturação das organelas em nível ultracelular mesmo em condições de déficit. Assim, estruturas como cloroplastos se manteriam intactas quando submetidos aos estresses abióticos na presença de Si (FENG et al., 2010; SONG et al., 2014). Uma das hipóteses da manutenção de organelas mesmo em condições de déficit, seria o fato do Si atuar na redução da peroxidação lipídica devido ao aumento da atividade de enzimas antioxidantes. Pelos resultados obtidos na presente pesquisa, verificasse aumento da atividade de enzimas antioxidantes, além da síntese de

osmoprotetores como a prolina, o que pode intensificar a proteção de organelas como os cloroplastos.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

1. O déficit hídrico prejudicou as trocas gasosas e a aplicação de silício contribuiu para a manutenção ou melhora das variáveis que as compõem tanto em plantas estressadas como em plantas estressadas e reidratadas, permitindo a melhor recuperação fotossintética dessas plantas.
2. Para a fluorescência da clorofila *a* observou-se que a utilização de silício em baixas concentrações (0,50 a 1,50 g L⁻¹ de silício) favoreceu a manutenção do aparato fotossintético mesmo em condições de déficit hídrico.
3. Considerando os pigmentos observa-se a atuação benéfica do silício em plantas com déficit hídrico, em especial quando aplicado em baixas concentrações.
4. O silício contribuiu para redução da peroxidação lipídica das membranas e aumento na atividade enzimas antioxidantes em plantas com déficit hídrico e reidratadas.
5. O silício influenciou na expressão gênica das enzimas antioxidantes POD, SOD e CAT o que pode ter possibilitado maior atuação no controle das espécies reativas de oxigênio e dessa forma, na redução da peroxidação lipídica.
6. O silício aumentou a produção de osmorreguladores e osmoprotetores como prolina e açúcares, o que auxilia ajuste osmótico, possibilitando a sobrevivência das plantas mesmo em condições de déficit hídrico.
7. O silício propiciou alterações nas concentrações do hormônio ABA, diretamente relacionado com a abertura e fechamento dos estômatos, o que explica a manutenção da condutância estomática e da assimilação em plantas com déficit hídrico e reidratação e submetidas à pulverização com Si.
8. O Si aumentou a quebra de açúcares insolúveis em açúcares solúveis, contribuindo para a manutenção das plantas durante a reidratação.

9. O Si aumentou a síntese de prolina que atuou na proteção das membranas de organelas como o cloroplasto.

8 CONCLUSÃO

O silício apresenta relação com expressão de genes, atividade de enzimas antioxidantes, concentração de osmólitos e de ABA na sua atuação em recuperação de plantas de tomate cultivar Micro – Tom, submetidas ao déficit hídrico e reidratadas.

Tabela suplementar 1: Médias, DMS e erro padrão das variáveis avaliadas. Interação significativa para o fatorial concentrações de silício x regimes hídricos.

Variáveis	Médias das interações concentrações x regimes hídricos	DMS para as concentrações dentro dos regimes hídricos	DMS para os regimes hídricos dentro das concentrações	Erro padrão
Clorofila a	7,50*	3,70	3,00	0,86
Fo 5:00 h	126,62*	44,15	35,84	10,34
F _M 5:00 h	735,92*	217,23	176,38	50,88
F _V /F _M 5:00 h	0,833*	0,02	0,01	0,005
Fo 12:00 h	186,12*	35,75	29,03	8,37
F _M 12:00 h	731,14*	212,32	172,40	49,73
F _V /F _M 12:00 h	0,745*	0,054	0,044	0,012
Fo 17:00 h	152,44*	30,32	24,62	7,10
F _M 17:00 h	663,59*	90,07	73,13	21,09
F _V /F _M 17:00 h	0,769*	0,048	0,039	0,011
E	1,51*	0,41	0,34	0,09
Gs	90,25*	22,60	18,43	5,39
A	7,72*	1,82	1,49	0,43
Ci	369,38*	104,12	84,90	24,86
EUA	2,19*	1,75	1,43	0,41
A/Ci	0,033*	0,013	0,010	0,003
Peroxidação folhas	7,31*	2,26	1,83	0,52
SOD - folhas	1247,35*	553,47	449,40	129,63
CAT - folhas	2,05*	1,32	1,07	0,30
POD - folhas	28,81*	8,40	6,82	1,96
Peroxidação raízes	4,62*	1,74	1,41	0,40
SOD - raízes	6016,87*	3125,00	2537,38	731,96
CAT - raízes	4,00*	1,66	1,35	0,39
POD - raízes	267,38*	124,11	100,78	29,07
AST - folhas	237,40*	48,46	39,35	11,35
Sacarose – folhas	145,43*	17,72	14,39	4,15
Amido - folhas	0,27*	0,092	0,075	0,021
AST - raízes	129,49*	30,52	24,78	7,15
Sacarose – raízes	77,41*	14,11	11,45	3,30
Amido - raízes	0,142*	0,072	0,059	0,017
Prolina - folhas	0,875*	0,252	0,204	0,058
Prolina - raízes	0,359*	0,240	0,195	0,056
ABA - folhas	204,44*	117,27	109,34	32,12
ABA - raízes	165,78*	43,70	32,65	11,97
Expressão POD-folhas	7,41*	3,74	3,041	0,877
Expressão SOD-folhas	1,74*	0,711	0,578	0,166
Expressão CAT-folhas	5,06*	2,62	2,13	0,615
Expressão POD-raízes	8,94*	7,60	6,17	1,78
Expressão SOD-raízes	1,55*	0,748	0,608	0,175
Expressão CAT-raízes	1,30*	0,671	0,545	0,157

*Indicam diferença entre tratamentos pela análise de variância (ANOVA) seguido do teste de Tukey ($P < 0.05$).

REFERÊNCIAS

- ABDALLA, M.M. Impact of diatomite nutrition on two *Trifolium alexandrinum* cultivars differing in salinity tolerance. **Int. J. Plant Physiol. Biochem.** 3, 233–246. 2011.
- ADREES, M., ALI, S., RIZWAN, M., ZIA-UR-REHMAN, M., IBRAHIM, M., ABBAS, F., FARID, M., QAYYUM, M.F., IRSHAD, M.K. Mechanisms of silicon-mediated alleviation of heavy metal toxicity in plants: a review. **Ecotoxicol. Environ. Saf.** 119, 186–197. 2015.
- AGARIE, S.; HANAOKA, N.; UENO, O.; MIYAZAKI, A.; KUBOTA, F.; AGATA, W.; KAUFMAN, P.B. Effects of silicon on tolerance to water deficit and heat stress in rice plants (*Oryza sativa* L.), monitored by electrolyte leakage. **Plant Prod. Science.** v.1, p.96-103, 1998.
- AHMAD, MA, GAUR, R, GUPTA, M. Comparative biochemical and RAPD analysis in two varieties of rice (*Oryza sativa*) under arsenic stress by using various biomarkers. **Journal Hazard Mater.** 217–218:141–148. 2012.
- ANWAAR, S.A., ALI, S., ALI, S., ISHAQUE, W., FARID, M., FAROOQ, M.A., NAJEEB, U., ABBAS, F., SHARIF, M. Silicon (Si) alleviates cotton (*Gossypium hirsutum* L.) from zinc (Zn) toxicity stress by limiting Zn uptake and oxidative damage. **Environ. Sci. Pollut. Res.** 22, 3441–3450. 2015.
- BAKER, N.R.; ROSENQVIST, E. Applications of chlorophyll fluorescence can improve crop production strategies: an examination of future possibilities. **Journal of experimental botany** 55, 1607–21. 2004.
- BALAKHNINA, T.I., MATICHENKOV, V.V., WLODARCZYK, T., BORKOWSKA, A., NOSALEWICZ, M., FOMINA, I.R. Effects of silicon on growth processes and adaptive potential of barley plants under optimal soil watering and flooding. **Plant Growth Regul.** 67,35–43. 2012.
- BANDURSKA, H.; NIEDZIELA, J.; PIETROWSKA-BOREK, M.; NUC, K.; CHADZINIKOLAU, T.; RADZIKOWSKA, D. Regulation of proline biosynthesis and resistance to drought stress in two barley (*Hordeum vulgare* L.) genotypes of different origin. **Plant Physiology and Biochemistry.** 118, 427e 437. 2017.
- BATES, L.S.; WALDERN, R.P.; TEARE, I.D.; Rapid determination of free proline for water stress studies. **Plant and Soil**, The Hague, v.39, p.205-07, 1973.

BLOKHINA, O.; VIROLAINEN, E.; FAGERSTEDT, K.V. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. **Annals of Botany**, London, v. 91, n. 2, p. 179-194, 2003.

BOR, M.; ÖZDEMİR, F.; TÜRKAN, I. The effect of salt stress on lipid peroxidation and antioxidants in leaves of sugar beet *Beta vulgaris* L. and wild beet *Beta maritima* L. **Plant Science**, Limerick, v.164, p.77-84, 2003.

BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for the quantifications of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, Alexandria, v. 72, p. 248-254, 1976.

CAO, L.B.; MA, Q.; ZHAO, Q.; WANG, L.; XU, K. Effects of silicon on absorbed light allocation, antioxidant enzymes and ultrastructure of chloroplasts in tomato leaves under simulated drought stress. **Scientia Horticulturae**, v. 194, p. 53-62. 2015.

CHANCHAL MALHOTRA, C.H., KAPOOR, R., GANJEWALA, D. Alleviation of abiotic and biotic stresses in plants by silicon supplementation. **Scientia** 13, 59–73. 2016.

CHEN, D., CAO, B., WANG, S., LIU, P., DENG, X., YIN, L., ZHANG, S. Silicon moderated the K deficiency by improving the plant-water status in sorghum. **Sci. Rep.** 622-882. 2016.

CHEN, D., YIN, L., DENG, X., WANG, S. Silicon increases salt tolerance by influencing the two-phase growth response to salinity in wheat (*Triticum aestivum* L.). **Acta Physiol. Plant.** 36, 2531–2535. 2014.

CHEN, W., YAO, X., CAI, K., CHEN, J. Silicon alleviates drought stress of rice plants by improving plant water status, photosynthesis and mineral nutrient absorption. **Biology Trace Elements Research.** 142 (1), 67–76. 2011.

COOKE, J., LEISHMAN, M.R. Consistent alleviation of abiotic stress with silicon addition: a meta analysis. **Func. Ecol.** 30, 1340-1357. 2016.

COOKE, J., LEISHMAN, M.R. Is plant ecology more siliceous than we realise? **Trends Plant Sci.** 16, 61-68. 2011.

COSKUN, D., BRITTO, D.T., HUYNH, W.Q., KRONZUCKER, H.J. The role of silicon in higher plants under salinity and drought stress. **Front. Plant Sci.** 7. 2016.

- CRUSCIOL, C. A. C.; PULZ, A. L.; LEMOS, L. B.; SORATTO, R. P.; LIMA, G. P. P. Effects of silicon and drought stress on tuber yield and leaf biochemical characteristics in potato. **Crop Science**, Madison, v. 49, n. 3, p. 949-954, 2009.
- DEBONA, D., RODRIGUES, F.A., DATNOFF, L.E. Silicon's role in abiotic and biotic plant stresses. **Ann. Rev. Phytopathol.** 1406–1419. 2017.
- DEREN, C.W.; DATNOFF, L.E.; SNYDER, G.H.; MARTIN, F.G. Silicon concentration, disease response, and yield components of rice genotypes grown on flooded organic histosols. **Crop Science**, v.34, p.733-37, 1994.
- DETMANN, K.C., ARAÚJO, W.L., MARTINS, S.C., SANGLARD, L.M., REIS, J.V., DETMANN, E., RODRIGUES, F.Á., NUNES NESI, A., FERNIE, A.R., DAMATTA, F.M. 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 Phytol.** 196, 752–762. 2012.
- EFEÖĞLU B, EKMEKÇI Y, ÇIÇEK N. Physiological responses of three maize cultivars to drought stress and recovery. **South African Journal of Botany** 75, 34–42. 2009.
- EMAM, M.M., KHATTAB, H.E., HELAL, N.M., DERAZ, A.E. Effect of selenium and silicon on yield quality of rice plant grown under drought stress. **Aust. J. Crop Sci.** 8, 596. 2014.
- EPSTEIN E. **The anomaly of silicon in plant biology.** Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1994; 91:11–7.
- EXLEY, C. A possible mechanism of biological silicification in plants. **Front. Plant Sci.** 6, 853. 2015.
- FAGAN, E. B. Et al. **Fisiologia vegetal: reguladores vegetais.** Andrei, 2015, 300 p.
- FAHAD, S., HUSSAIN, S., MATLOOB, A., KHAN, F.A., KHALIQ, A., SAUD, S., HASSAN, S., SHAN, D., KHAN, F., ULLAH, N. Phytohormones and plant responses to salinity stress: a review. **Plant Growth Regulation.** 75, 391–404. 2015.
- FAROOQ, M.A., ALI, S., HAMEED, A., ISHAQUE, W., MAHMOOD, K., IQBAL, Z. Alleviation of cadmium toxicity by silicon is related to elevated photosynthesis, antioxidant enzymes; suppressed cadmium uptake and oxidative stress in cotton. **Ecotoxicol. Environ. Saf.** 96, 242–249. 2013.

- FAUTEUX, F., RÉMUS-BOREL, W., MENZIES, J.G., BÉLANGER, R.R. Silicon and plant disease resistance against pathogenic fungi. **FEMS Microbiol. Lett.** 249, 1–6. 2005.
- FENG, J., SHI, Q., WANG, X., WEI, M., YANG, F., XU, H. Silicon supplementation ameliorated the inhibition of photosynthesis and nitrate metabolism by cadmium (Cd) toxicity in *Cucumis sativus* L. **Sci. Hortic.** 123, 521–530. 2010.
- GARCIA, I.S., SOUZA, A., BARBEDO, C.J., DIETRICH, S.M.C., FIGUEIREDO-RIBEIRO, R.C.L. Changes in soluble carbohydrates during storage of *Caesal piniaechinata* Lam. (Brazil wood) seeds, an endangered leguminous tree from the Brazilian atlantic forest. **Brazilian Journal Biology**.v.66, n.2B, p.739-745. 2006.
- GIANNOPOLITIS, C.N., RIES, S.K. Superoxide dismutase I. Occurrence in higher plants. **Plant Physiology**. 59:309-314. 1977.
- GONG, H., CHEN, K. The regulatory role of silicon on water relations, photosynthetic gas exchange, and carboxylation activities of wheat leaves in field drought conditions. **Acta Physiol. Plant.** 34, 1589–1594. 2012.
- GONG, H.; ZHU, X.; CHEN, K.; WANG, S.; ZHANG, C. Silicon alleviates oxidative damage of wheat plants in pots under drought. **Plant Science**, v.169, p.313-321, 2005.
- GU, H.-H., ZHAN, S.-S., WANG, S.-Z., TANG, Y.-T., CHANEY, R.L., FANG, X.-H., CAI, X.D., QIU, R.L. Silicon-mediated amelioration of zinc toxicity in rice (*Oryza sativa* L.) seedlings. **Plant Soil.** 350, 193–204. 2012.
- GUERRIERO, G., HAUSMAN, J.-F., LEGAY, S. Silicon and the plant extracellular matrix. **Front. Plant Sci.** 7. 2016.
- GUNES, A., KADIOGLU, Y.K., PILBEAM, D.J., INAL, A., COBAN, S., AKSU, A. Influence of silicon on sunflower cultivars under drought stress, II: essential and no essential element uptake determined by polarized energy dispersive X ray fluorescence. **Commun. Soil Sci. Plant. Anal.** 39, 1904–1927. 2008.
- GUNTZER, F., KELLER, C., MEUNIER, J.D. Benefits of plant silicon for crops: a review. **Agron. Sustain. Dev.** 32, 201-213. 2012.
- GUPTA, K., DEY, A., GUPTA, B. Plant polyamines in abiotic stress responses. **Acta Physiol. Plant.** 35, 2015–2036. 2014.

- HAJIBOLAND, R., CHERGHVAREH, L., DASHTEBANI, F. Effect of silicon supplementation on wheat plants under salt stress. **Journal Plant Process Function** 5, 1–12. 2016.
- HAMEED, A., SHEIKH, M.A., JAMIL, A., BASRA, S.M.A. Seed priming with sodium silicate enhances seed germination and seedling growth in wheat (*Triticum aestivum* L.) under water deficit stress induced by polyethylene glycol. **Pak. J. Life Soc. Sci.** 11, 19–24. 2013.
- HASANUZZAMAN, M., NAHAR, K., GILL, S.S., FUJITA, M. Drought stress responses in plants, oxidative stress, and antioxidant defense. **Climate Change and Plant Abiotic Stress Tolerance**, 209–250. 2014.
- HATTORI, T.; INANAGA, S.; ARAKI, H.; AN, P.; MORITA, S.; LUXOVÁ, M.; LUX, A. Application of silicon enhanced drought tolerance in sorghum bicolor. **Physiology Plant**, v.123, p. 459-466, 2005.
- HERNANDEZ-APAOLAZA, L. Can silicon partially alleviate micronutrient deficiency in plants? **A review. Planta** 240, 447-458. 2014.
- HORIE, T., KANEKO, T., SUGIMOTO, G., SASANO, S., PANDA, S.K., SHIBASAKA, M., KATSUHARA, M. Mechanisms of water transport mediated by PIP aquaporin and their regulation via phosphorylation even under salinity stress in barley roots. **Plant Cell Physiol.** 52, 663–675. 2011.
- HUANG, C.H., ROBERTS, P.D., DATNOFF, L.E. Silicon suppresses *Fusarium crown* and root rot of tomato. **J. Phytopathol.** 159, 546–554. 2011.
- HUSSAIN, I., ASHRAF, M.A., RASHEED, R., ASGHAR, A., SAJID, M.A., IQBAL, M. Exogenous application of silicon at the boot stage decreases accumulation of cadmium in wheat (*Triticum aestivum* L.) grains. **Braz. J. Bot.** 38, 223–234. 2015.
- IMTIAZ, M., RIZWAN, M.S., MUSHTAQ, M.A., ASHRAF, M., SHAHZAD, S.M., YOUSAF, B., SAEED, D.A., RIZWAN, M., NAWAZ, M.A., MEHMOOD, S. Silicon occurrence, uptake, transport and mechanisms of heavy metals, minerals and salinity enhanced tolerance in plants with future prospects: a review. **J. Environ. Manag.** 183, 521–529. 2016.
- INZÉ, D.; VAN MONTAGU, M., Oxidative stress in plants. **Current Opinion in Biotechnology**, Maryland Heights, v. 6, p. 153-158, 1995.
- IWASAKI, K., MAIER, P., FECHT, M., HORST, W.J. Leaf apoplastic silicon enhances manganese tolerance of cowpea (*Vigna unguiculata*). **J. Plant Physiol.** 159, 167–173. 2002.

KELLER, C., RIZWAN, M., DAVIDIAN, J.-C., POKROVSKY, O., BOVET, N., CHAURAND, P., MEUNIER, J.D. Effect of silicon on wheat seedlings (*Triticum turgidum* L.) grown in hydroponics and exposed to 0 to 30 μ M Cu. **Planta** 241, 847–860. 2015.

KHANDEKAR, S., LEISNER, S. Soluble silicon modulates expression of *Arabidopsis thaliana* genes involved in copper stress. **Journal of Plant Physiology**, 168, 699–705. 2011.

KIDD, P.S., LLUGANY, M., POSCHENRIEDER, C.H., GUNSE, B., BARCELO, J. The role of root exudates in aluminium resistance and silicon? Induced amelioration of aluminium toxicity in three varieties of maize (*Zea mays* L.). **J. Exp. Bot.** 52, 1339–1352. 2001.

KIM, Y.-H., KHAN, A.L., WAQAS, M., LEE, I.J. Silicon regulates antioxidant activities of crop plants under abiotic-induced oxidative stress: a review. **Front. Plant Sci.** 8. 2017.

KITAJIMA, M.; BUTLER, W.L. Quenching of chlorophyll fluorescence and primary photo chemistry in chloroplasts by dibromo thymoquinone. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Bioenergetics**, 376, 105–115. 1975.

KUMAR, A.; SINGH, D. P. Use of physiological indices as a screening technique for drought to tolerance in oilseed. Brassica species. **Annals of Botany**, London, v. 81, s.n., p. 413-420, 1998.

LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Carlos: RIMA, p. 531, 2006.

LEE, S., SOHN, E., HAMAYUN, M., YOON, J., LEE, I. Effect of silicon on growth and salinity stress of soybean plant grown under hydroponic system. **Agrofor. Syst.** 80, 333–340. 2010.

LIANG, Y. Effects of silicon on enzyme activity and sodium, potassium and calcium concentration in barley under salt stress. **Plant and Soil**, v.209, p.217-224, 1999.

LIANG, Y., NIKOLIC, M., BÉLANGER, R., GONG, H., SONG, A. Silicon in Agriculture: From Theory to Practice. **Springer**. 197-207. 2015.

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

LIU, P., YIN, L., DENG, X., WANG, S., TANAKA, K., ZHANG, S. Aquaporin-mediated increase in root hydraulic conductance is involved in silicon-induced

- improved root water uptake under osmotic stress in *Sorghum bicolor* L. **J. Exp. Bot.** 65, 4747–4756. 2014.
- LIU, P., YIN, L., WANG, S., ZHANG, M., DENG, X., ZHANG, S., TANAKA, K. Enhanced root hydraulic conductance by aquaporin regulation accounts for silicon alleviated salt induced osmotic stress in *Sorghum bicolor* L. **Environ. Exp. Bot.** 111, 42–51. 2015.
- MA, J.F.; TAMAI, K.; YAMAJI, N.; MITANI, N.; KONISHI, S.; KATSUHARA, M.; ISHIGURO, M.; MURATA, Y.; YANO, M. A silicon transporter in rice. **Nature**, v.440, p.688-691, 2006.
- MA, J.F.; YAMAJI, N. Functions and transport of silicon in plants. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v.65, p.3049-3057, 2008.
- MATEOS-NARANJO, E., ANDRADES-MORENO, L., DAVY, A.J. Silicon alleviates deleterious effects of high salinity on the halophytic grass *Spartina densiflora*. **Plant Physiol. Biochem.** 63, 115–121. 2013.
- MEENA, V., DOTANIYA, M., COUMAR, V., RAJENDIRAN, S., KUNDU, S., RAO, A.S. A case for silicon fertilization to improve crop yields in tropical soils. **Proc. Natl. Acad. Sci., India Sect. B: Biol. Sci.** 84, 505-518. 2014.
- MEHRABANJOUANI, P., ABDOLZADEH, A., SADEGHIPOUR, H.R., AGHDASI, M. Impacts of silicon nutrition on growth and nutrient status of rice plants grown under varying zinc regimes. **Theor. Exp. PlantPhysiol.** 27, 19–29. 2015.
- MENZIES, J.; BOWEN, P.; EHRET, D. Foliar applications of potassium silicate reduce severity of powdery mildew on cucumber, muskmelon, and zucchini squash. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v.117, n.6, p.902-905, 1992.
- MING, D.F., PEI, Z.F., NAEEM, M.S., GONG, H.J., ZHOU, W.J. Silicon alleviates PEG induced water deficit stress in upland rice seedlings by enhancing osmotic adjustment. **J. Agron. Crop Sci.** 198, 14–26. 2012.
- MØLLER IM, JENSEN PE, HANSSON A. Oxidative modifications to cellular components in plants. **Annual review of plant biology**58, 459–81. 2007.
- MOLLER, I.M. Plant mitochondria and oxidative stress: electron transport, NADPH turnover, and metabolism of reactive oxygen species. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 52, p. 561-91, 2001.

- MORRIS, D.L. Quantitative Determination of Carbohydrates With Drey wood's Anthrone Reagent. **Science**, v.107, n.2775, p.254-5. 1948.
- MUNNS, R., TESTER, M. Mechanisms of salinity tolerance. **Annu. Rev. Plant Biol.** 59,651–681. 2008.
- NAEEM, A., GHAFOR, A., FAROOQ, M. Suppression of cadmium concentration in wheat grains by silicon related to its application rate and cadmium accumulating abilities of cultivars. **J. Sci. Food Agric.** 95, 2467–2472. 2015.
- NISHIYAMA Y, ALLAKHVERDIEV SI, MURATA N. A new paradigm for the action of reactive oxygen species in the photo inhibition of photosystem II. **Biochimica and biophysica acta**1757, 742–749. 2006.
- OSAKABE, Y., OSAKABE, K., SHINOZAKI, K., TRAN, L.S.P. Response of plants to water stress. **Front. Plant Sci.** 5, 86. 2014.
- OUZOUNIDOU G. Changes in variable chlorophyll fluorescence as a result of Cu treatment: dose-response relations in *Silene* and *Thlaspi*. **Photosynthetica**29, 455–462. 1993.
- PANDEY C, GUPTA M. Selenium and auxin mitigates arsenic stress in rice (*Oryza sativa L.*) by combining the role of stress indicators, modulators and genotoxicity assay. **Journal Hazard Mater.** 287: 384–391. 2015.
- PASCUAL, M.B., ECHEVARRIA, V., GONZALO, M.J., HERNÁNDEZ-APAOLAZA, L. Silicon addition to soybean (*Glycine max L.*) plants alleviate zinc deficiency. **Plant Physiol. Biochem.** 108, 132–138. 2016.
- PASSOS, L. P. **Métodos analíticos e laboratoriais em fisiologia vegetal.** Coronel Pacheco: Embrapa – CNPGL, 1996. 223p.
- PAVLOVIC, J., SAMARDZIC, J., MAKSIMOVIĆ, V., TIMOTIJEVIC, G., STEVIC, N., LAURSEN, K.H., HANSEN, T.H., HUSTED, S., SCHJOERRING, J.K., LIANG, Y. Silicon alleviates iron deficiency in cucumber by promoting mobilization of iron in the root apoplast. **New Phytol.** 198, 1096–1107. 2013.
- PEI, Z., MING, D., LIU, D., WAN, G., GENG, X., GONG, H., ZHOU, W. Silicon improves the tolerance to water-deficit stress induced by polyethylene glycol in wheat (*Triticum aestivum L.*) seedlings. **Journal Plant Growth Regulation.** 29, 106–115. 2010.
- PEIXOTO, P.H.P.; CAMBRAIA, J.; SANT'ANNA, R.; MOSQUIM, P.R.; MOREIRA, M.A. Aluminium effects on lipid peroxidation and the activities of

enzymes of oxidative metabolism in sorghum. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Londrina, v. 11, n. 3, p.137-143, 1999.

PIETRINI F, CHAUDHURI D, THAPLIYAL AP, MASSACCI A. Analysis of chlorophyll fluorescence transients in mandarin leaves during a photo-oxidative cold shock and recovery. **Agriculture, Ecosystems & Environment**106, 189–198. 2005.

PILON-SMITS, E.A., QUINN, C.F., TAPKEN, W., MALAGOLI, M., SCHIAVON, M. Physiological functions of beneficial elements. **Curr. Opin. Plant Biol.**, 12 (3), 267–274. 2009.

PRAVEEN, A.; PANDEY, C.; KHAN, E.; PANTHRI, M.; MEETU GUPTA, M. Silicon mediated genotoxic alterations in *Brassica juncea* under arsenic stress: comparative study of biochemical and molecular markers, **Pedosphere**.(17) 60435-1. 2017.

PUPATTO, J.G.C. **Trocas gasosas e eficiência de uso da água da cultura do arroz irrigado por aspersão em função da aplicação de silício**. Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrônômicas da UNESP - Campus de Botucatu, para obtenção do título de Doutor em Agronomia - Área de Concentração em Agricultura. 2003. 166p.

RAFI, M.M.; EPSTEIN, E.; FALK, R.H. Silicon deprivation causes physical abnormalities in wheat (*Triticum aestivum* L.). **Journal of Plant Physiology**, v.151, p.497-501, 1997.

RAHMAN, MF.; GHOSAL, A.; ALAM, MF.; KABIR, AH. Remediation of cadmium toxicity in field peas (*Pisum sativum* L.) through exogenous silicon. **Ecotoxicology and Environmental Safety** 135-165–172. 2017.

RICHMOND, K.E.; SUSSMAN, M.R. Got Silicon? The non-essential, beneficial plant nutrient. **Current Opinions in Plant Biology**, v.6, 2003. p. 268-272.

RIZWAN, M., ALI, S., IBRAHIM, M., FARID, M., ADREES, M., BHARWANA, S.A., ZIA-UR REHMAN, M., QAYYUM, M.F., ABBAS, F. Mechanisms of silicon-mediated alleviation of drought and salt stress in plants: **a review**. **Environ. Sci. Poll. Res.** 22, 15416-15431. 2015.

ROGALLA, H., RÖMHELD, V. Role of leaf apoplast in silicon mediated manganese tolerance of *Cucumis sativus* L. **Plant Cell Environ.** 25, 549–555. 2002.

SCANDALIOS, J.G. Oxygen stress and superoxide dismutases. **Plant Physiology**, Minneapolis, v. 101, p. 7-12, 1993.

SHIM, J., SHEA, P.J., OH, B.T. Stabilization of heavy metals in mining site soil with silica extracted from corn cob. **Water Air Soil Pollut.** 225, 2152. 2014.

SHRI M, KUMAR S, CHAKRABARTY D, TRIVEDI PK, MALLICK S, MISRA P, SHUKLA D, MISHRA S, SRIVASTAVA S, TRIPATHI RD, TULI R. Effect of arsenic on growth, oxidative stress, and antioxidant system in rice seedlings. **Ecotoxicol. Environ.** 72:1102–1110. 2009.

SIEGEL, B.Z. Plant peroxidases: an organism perspective. **Plant Growth Regulation**, Dordrecht, v. 12, p. 303-312, 1993.

SONOBE, K., HATTORI, T., AN, P., TSUJI, W., ENEJI, A.E., KOBAYASHI, S., KAWAMURA, Y., TANAKA, K., INANAGA, S. Effect of silicon application on sorghum root responses to water stress. **J. Plant Nutr.** 34, 71–82. 2010.

STEPONKUS, P. L. Cold acclimation and freezing injury from a perspective of the plasma membrane. In: KATTERMAN, F. (Ed.). **Environmental injury to plants**. London: Academic Press Inc. cap. 1, p.1-15, 1990.

TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MØLLER, I. M.; MURPHY, A. **Plant physiology and development**. 6. ed. [s.l.] Sinauer, 2014.

TEISSEIRE, H.; GUY, V. Copper-induced changes in antioxidant enzymes activities in fronds of duck weed (*Lemna minor*), **Plant Science**. Limerick, v. 153, n. 1, p. 65–72, 2000.

THAMEUR, A.; LACHIHEB, B.; FERCHICHI, A. Drought effect on growth, gas exchange and yield, in two strains of local barley Ardhaoui, under water deficit conditions in southern Tunisia. **Journal of environmental management**. 113, 495–500. 2012.

TRIPATHI, D.K., SINGH, V.P., PRASAD, S.M., CHAUHAN, D.K., DUBEY, N.K., RAI, A.K. Silicon-mediated alleviation of Cr (VI) toxicity in wheat seedlings as evidenced by chlorophyll fluorescence, laser induced breakdown spectroscopy and anatomical changes. **Ecotoxicol. Environ. Saf.** 113, 133–144. 2015.

VAN BOCKHAVEN, J., SPÍČHAL, L., NOVÁK, O., STRNAD, M., ASANO, T., KIKUCHI, S., HÖFTE, M., DE VLEESSCHAUWER, D. Silicon induces resistance to the brown spot fungus *Cochliobolus miyabeanus* by preventing the pathogen from hijacking the rice ethylene pathway. **New Phytol.** 206, 761–773. 2015.

- VARONE, L.; RIBAS-CARBO, M.; CARDONA, C.; GALLÉ, A.; MEDRANO, H.; GRATANI, L.; FLEXAS, J. Stomatal and non-stomatal limitations to photosynthesis in seedlings and saplings of Mediterranean species pre-conditioned and aged in nurseries: Different response to water stress. **Environmental and Experimental Botany**.75, 235-247. 2012.
- VON, CAEMMERER, S.; FARQUHAR, G.D. Some relationships between the biochemistry of photosynthesis and the gas exchange of leaves. **Planta**, Berlin, v. 153, n. 4, p. 376-387, 1981.
- WANG, M., GAO, L., DONG, S., SUN, Y., SHEN, Q., GUO, S. Role of Silicon on Plant–Pathogen Interactions. **Front. Plant Sci.** 8. 2017.
- WANG, S., LIU, P., CHEN, D., YIN, L., LI, H., DENG, X. Silicon enhanced salt tolerance by improving the root water uptake and decreasing the ion toxicity in cucumber. **Front Plant Sci.** 6, 759. 2015.
- WANG, X.S., HAN, J.G. Effects of NaCl and silicon onion distribution in the roots, shoots and leaves of two alfalfa cultivars with different salt tolerance. **Soil Sci. Plant Nutr.** 53, 278–285. 2007.
- WEATHERLEY, P.E. Studies in the water relations of the cotton plant: The field measurement of water deficits in leaves. **New Phytologist.** 49, 81-97. 1949.
- XIE, Z., SONG, R., SHAO, H., SONG, F., XU, H., LU, Y. Silicon improves maize photosynthesis in saline-alkaline soils. **Sci. World J.** 2015.
- XU, C.X., MA, Y.P., LIU, Y.L. Effects of silicon (Si) on growth, quality and ionic homeostasis of aloe under salt stress. **South Afr. J. Bot.** 98, 26-36. 2015.
- YE, J., YAN, C., LIU, J., LU, H., LIU, T., SONG, Z. Effects of silicon on the distribution of cadmium compartmentation in root tips of *Kandelia obovata* (S., L.) **Yong. Environ. Pollut.** 162, 369–373. 2012.
- YIN, L., WANG, S., LI, J., TANAKA, K., OKA, M. Application of silicon improves salt tolerance through ameliorating osmotic and ionic stresses in the seedling of *Sorghum bicolor*. **Acta Physiol. Plant.** 35, 3099–3107. 2013.
- ZHANG, W., XIE, Z., LANG, D., CUI, J., ZHANG, X. Beneficial Effects of Silicon on Abiotic Stress Tolerance in Legumes. **J. Plant Nutr** (00-00). 2017.
- ZHU, Y., GONG, H. Beneficial effects of silicon on salt and drought tolerance in plants. **Agron. Sustain Dev.** 34, 455–472. 2014.

ZHU, Y.X., XU, X.B., HU, Y.H., HAN, W.H., YIN, J.L., LI, H.L., GONG, H.J. Silicon improves salt tolerance by increasing root water uptake in *Cucumis sativus* L. **Plant Cell Rep.** 34, 1629–1646. 2015.

ZLATEV, Z.S; YORDANOV, I.T. Effects of soil drought on photosynthesis and chlorophyll fluorescence in bean plants. **Bulgarian Journal of Plant Physiology.** 30, 3–18. 2004.