

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL

**O PAPEL DAS APLICAÇÕES EXÓGENAS DE SILÍCIO E
ÁCIDO SALICÍLICO NA TOLERÂNCIA AO ESTRESSE
SALINO EM ERVILHA FORRAGEIRA**

Leonardo Amaral Strapasson

Supervisor: Prof. Dr^a. Priscila Lupino Gratão
Coorientador: Msc. Kevein Ruas de Oliveira

Trabalho apresentado à Faculdade de
Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP,
Campus de Jaboticabal, para graduação em
ENGENHARIA AGRONÔMICA.

JABOTICABAL – SP

2º SEMESTRE/2021

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL

**O PAPEL DAS APLICAÇÕES EXÓGENAS DE SILÍCIO E
ÁCIDO SALICÍLICO NA TOLERÂNCIA AO ESTRESSE
SALINO EM ERVILHA FORRAGEIRA**

Leonardo Amaral Strapasson

Supervisor: Prof. Dr^a. Priscila Lupino Gratão
Coorientador: Msc. Kevein Ruas de Oliveira

JABOTICABAL – SP

2º SEMESTRE/2021

S897p	Strapasson, Leonardo Amaral O papel das aplicações exógenas de silício e ácido salicílico na tolerância ao estresse salino em ervilha forrageira / Leonardo Amaral Strapasson. – Jaboticabal, 2021 51 p. : il., tabs., fotos Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado - Engenharia Agrônômica) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal Orientadora: Priscila Lupino Gratão Coorientador: Kevein Ruas de Oliveira 1. Pisum sativum. 2. Estresse abiótico. 3. Efeito antioxidante. I. Título.
-------	--

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CÂMPUS DE JABOTICABAL



Departamento: Biologia Aplicada à Agropecuária

**CERTIFICADO
TRABALHO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA**

TÍTULO: O papel das aplicações exógenas de silício e ácido salicílico na tolerância ao estresse salino em ervilha forrageira

ACADÊMICO: Leonardo Amaral Strapasson

CURSO: Engenharia Agrônoma

ORIENTADORA: Profa. Dra. Priscila Lupino Gratão

COORDINADORA: Me. Kevein Ruas de Oliveira

PERÍODO: janeiro /2021 a julho/2021

Este trabalho é recomendado para compor a base de dados REPOSITÓRIO. ☐ Sim ☒ Não

BANCA EXAMINADORA:

(Nomes)

(Assinaturas)

Presidente: Profa. Dra. Priscila Lupino Gratão

Membro: Me. Mayara Cristina Malvas Nicolau

Membro: Me. José Clebson Barbosa Lúcio

Jaboticabal, 16 / 08 / 2021

Aprovado em reunião do Conselho Departamental em: 17/08/2021

Prof. Dr. Rogério Falleiros Carvalho
Chefe do DBAA

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente a Deus por proporcionar a minha existência, e sempre me dar forças para superar os mais demasiados desafios da vida.

Aos meus pais, Gilson Strapasson e Marta Lucia Conceição Amaral que fizeram e ainda fazem de tudo e mais um pouco para que eu tenha sucesso, a eles sou grato por toda minha vida.

A Prof. Dr^a. Priscila Lupino Gratão, por me orientar e por ter me dado a oportunidade de estagiar no laboratório de fisiologia vegetal. Toda equipe do laboratório e do Departamento de Biologia Aplicada a Agropecuária, entre eles também os técnicos e funcionários.

Ao meu coorientador Msc. Kevein Ruas de Oliveira, por todo apoio e disposição para a realização deste trabalho, assim como a Juliana Varchaki Portes por sempre me auxiliar quando precisei.

A todos meus amigos e familiares que sempre estiveram comigo, e me proporcionaram muitos momentos em toda minha vida.

A República Kibocanela, que como uma segunda família, me fez crescer, desde o primeiro dia em que cheguei em Jaboticabal, e pelos momentos e experiências inesquecíveis que vivi lá.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	3
2.1. Centro de origem, distribuição geográfica e importância econômica da ervilha forrageira.....	3
2.2. Introdução da ervilha forrageira no Brasil, e cultivares: Iapar 83 e BRS Forrageira.....	4
2.3. O estresse salino e oxidativo.....	7
2.4. Aplicações exógenas de silício e ácido salicílico.....	8
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	10
3.1. Local de desenvolvimento e Material Vegetal.....	10
3.2. Tratamentos.....	11
3.3. Aplicações foliares.....	11
3.4. Parâmetros de crescimento das plantas (raiz e parte aérea).....	12
3.5. Determinação de teores de carotenoides e clorofila.....	12
3.6. Fluorescência da clorofila.....	12
3.7. Teor e acúmulo de cloreto de sódio e silício por plantas de ervilha forrageira	13
3.8. Peroxidação lipídica e teor de H ₂ O ₂	13
3.9. Análises estatísticas.....	16
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	16
4.1. Parâmetros de crescimento das plantas (parte aérea e raízes) e sintomas de toxicidade por NaCl.....	16
4.2. Teor e acúmulo de NaCl nas plantas.....	19
4.3. Teor e acúmulo de silício nas plantas.....	21
4.4. Teor de clorofila e carotenoides.....	22
4.5. Fluorescência de clorofila.....	24
4.6. Peroxidação lipídica e teor de H ₂ O ₂	26
4.7. Parâmetros visuais.....	30
5. CONCLUSÃO.....	37
6. LITERATURA CITADA.....	38

O PAPEL DAS APLICAÇÕES EXÓGENAS DE SILÍCIO E ÁCIDO SALICÍLICO NA TOLERÂNCIA AO ESTRESSE SALINO EM ERVILHA FORRAGEIRA

RESUMO: A ervilha forrageira atualmente está entre as principais leguminosas de inverno para a rotação de culturas, sendo utilizada para a produção de grãos ou como planta de cobertura. O estresse salino é consequência do manejo inadequado da irrigação e dos fertilizantes utilizados na atividade agrícola. Vários estudos têm mostrado que a toxicidade do NaCl pode aumentar o estresse oxidativo das plantas, e a tolerância ao estresse salino tem sido considerada um objetivo importante dos programas de melhoramentos em ervilha forrageira. Na busca por tecnologias de baixo custo como contraposição ao melhoramento genético, indutores de tolerância podem ser uma alternativa promissora. Há poucas pesquisas sobre o uso combinado de silício (Si) e ácido salicílico (AS) para tratar a toxicidade de NaCl na cultura da ervilha forrageira. O presente trabalho mostrou o efeito da combinação de Si+AS nas respostas fisiológicas e bioquímicas de plantas de ervilha forrageira submetidas a toxicidade por NaCl ($1 \text{ mmol NaCl L}^{-1}$). Foi realizado um experimento semi-hidropônico em esquema fatorial (2×5) com delineamento inteiramente casualizado, sendo duas cultivares de ervilha forrageira e cinco tratamentos, formados pela combinação ou de Si e AS sob a toxicidade de NaCl. Os tratamentos foram (controle, NaCl, NaCl+Si, NaCl+AS e NaCl+Si+AS). O Si (2 mmol L^{-1}) foi aplicado às plantas em duas formas (radicular e foliar), enquanto o AS ($36 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$) foi aplicado apenas via foliar. Nossos resultados de pesquisa mostram que o uso combinado de Si+AS em plantas de ervilha forrageira aumentaram sua tolerância a toxicidade do NaCl por meio do sistema de defesa antioxidante, regulando a produção e a degradação de espécies reativas de oxigênio (ROS). O uso combinado de Si+AS também aumentou significativamente o teor de carotenoides e reduziu o teor de MDA e H_2O_2 , resultando no aumento da massa fresca e da massa seca total da planta. Consequentemente, o uso de Si+AS, mostrou-se ser uma estratégia sustentável para aliviar a toxicidade de NaCl no cultivo da ervilha forrageira.

Palavras-chave: *Pisum sativum* (L.), atenuantes, dano oxidativo, desordem nutricional, resposta antioxidante.

THE ROLE OF EXOGENOUS SILICON AND SALICYLIC ACID APPLICATIONS TO INCREASING FIELD PEA TOLERANCE TO SALT STRESS

ABSTRACT: Field peas are usually used as winter legumes for crop rotation, being grown for grain production or as a cover crop. Salinity is a consequence of inadequate irrigation management and fertilizers used in agricultural activity. Several studies have shown that NaCl toxicity can increase oxidative stress in plants, and tolerance to salt stress has been considered an important goal of breeding programs in field pea cultivation. In the search for low-cost technologies as a counter to genetic improvement, tolerance inducers may be a promising alternative. There is none or little research on the combined use of silicon (Si) and salicylic acid (AS) to treat NaCl toxicity in field pea crop. This study revealed the effect of Si+AS combined on physiological and biochemical responses of field pea plants subjected to NaCl toxicity ($1 \text{ mmol NaCl L}^{-1}$). A semi-hydroponic experiment was conducted in a 2x5 factorial design: two field pea cultivars and five treatments, formed by the combination or not of Si and AS under NaCl toxicity. Treatments were as following: (control, NaCl, NaCl+Si, NaCl+AS and NaCl+Si+AS). Si (2 mmol L^{-1}) was applied to the plants in two forms (root and foliar), while AS ($36 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$) was applied only via foliar. Our research results show that the combined use of Si+AS in field pea plants increased their tolerance to NaCl toxicity through an enhanced antioxidant defence system, better regulating the production and degradation of reactive oxygen species (ROS). The combined use of Si+AS also significantly increased carotenoid content and reduced MDA and H_2O_2 content, resulting in increased fresh mass and total plant dry mass. Therefore, Si+AS, can be used as sustainable strategy to alleviate NaCl toxicity in field pea cultivation.

Keywords: *Pisum sativum* (L.), attenuators, oxidative damage, nutritional disorder, antioxidant response.

1. INTRODUÇÃO

A ervilha forrageira é uma leguminosa anual de inverno, sendo amplamente cultivada em todo o mundo e é utilizada para a produção de grãos, como planta de cobertura, e sendo consumida até mesmo por humanos e animais durante o inverno em regiões subtropicais (Bennett et al., 2017).

No Brasil, a ervilha forrageira é cultivada principalmente por pequenos produtores no sul do país, devido a capacidade de substituir parcialmente a soja na alimentação animal, e possuir propriedades agronômicas favoráveis ao solo da região. Além disso, pode ser utilizada como adubo verde, pois apresenta características desejáveis como: a grande produção de biomassa, o rápido crescimento e a facilidade e estabilidade na produção de sementes. A ervilha forrageira é amplamente utilizada devido ao seu cultivo ser realizado quando as grandes áreas agrícolas não estão em uso nas regiões frias do país. Isso ocorre, pois a mesma pode ser cultivada mesmo na presença de geadas, desde que não sejam intensas (Tomm et al., 2002).

Um dos principais fatores de perda da produtividade, em todo mundo, é a salinização do solo que é um processo de acúmulo excessivo de sais minerais que se elevam a um nível prejudicial ao rendimento econômico das

culturas, ocorrendo principalmente pelos sais minerais presentes na água de irrigação ou do lençol freático. É um fator limitante para o desenvolvimento e produtividade de plantas em geral (Allakhverdiev et al., 2000). Ou seja, afeta o desenvolvimento da planta, devido a inibição do crescimento da mesma sob estresse salino, que pode ser consequência de efeitos osmóticos, provocando déficit hídrico, e ou, efeitos específicos de íons que podem acarretar toxidez ou desequilíbrio nutricional (Munns, 2002).

Os efeitos mais visíveis do excesso salino são a redução da área foliar, inibição do crescimento radicular, manchas avermelhadas com posterior amarelecimento das folhas mais velhas, queima das bordas e ápice do limbo e queda das folhas em estágios mais avançados (Melloni et al., 2000).

A tolerância a salinidade de plantas é a capacidade de se desenvolver e completar seu ciclo de vida sobre um substrato que contém elevada concentração de sais solúveis (Flowers et al., 1977, Greenway & Munns 1980). Os mecanismos de defesa à tolerância aos sais podem ser simples ou extremamente complexos. Os meios mais simples envolvem alteração de algumas vias bioquímicas, já os mais complexos envolvem maior proteção do sistema respiratório e fotossintético (Munnell et al., 1993). Desta forma a tolerância à salinidade é considerada importante para o cultivo da ervilha forrageira.

Para atenuar o estresse salino, o uso de elementos benéficos como o silício (Si) e ácido salicílico (AS) se tornam alternativas interessantes. O silício pode induzir respostas de defesa a fatores abióticos e bióticos em plantas como na sua resposta antioxidante enzimática, além do aumento da

capacidade fotossintética e o baixo coeficiente de respiração (Sivanesan et al., 2013). Por sua vez, o ácido salicílico (AS) desempenha importante papel na regulação do processo fisiológico, como fotossíntese, absorção e transportes de íons e tolerância ao stress, com atuação semelhante a um hormônio (Noreen et al, 2009).

Ainda que o Si não tenha sido classificado como um elemento essencial para as plantas (Mohsenzadeh et al., 2011), este pode ser benéfico para o desenvolvimento destas sob estresse abiótico, especialmente metais pesados (Rahman et al., 2017). Sabe-se também que o uso do silício promove a formação de nódulos radiculares, aumentando a taxa de fixação de Nitrogênio (Bent., 2014).

Na literatura, é possível encontrar trabalhos sobre o uso do Si e AS como atenuantes ao estresse salino em diversas culturas, reduzindo-se os danos oxidativos. Porém, não existem trabalhos que demonstrem a utilização da combinação Si + AS na redução dos efeitos do estresse salino em ervilha forrageira, fazendo-se então necessárias novas pesquisas a fim de encontrar estratégias para a diminuição dos efeitos causados pelo estresse por excesso de sais.

Buscando alternativas de baixo custo e eficientes, os indutores de tolerância podem ser uma alternativa para o cultivo de ervilhas forrageiras. A indução de tolerância envolve a ativação de mecanismos de defesa inativos nas plantas em resposta a efeitos abióticos (Montes et al., 2015). Combinando o Si mais o AS de forma exógena em plantas de ervilha forrageira pode ocorrer o aumento da tolerância ao estresse salino com o sistema de defesa

antioxidante da planta. Sendo assim, as aplicações de Si+AS em ervilhas forrageiras submetidas ao estresse salino podem reduzir significativamente os teores de malonaldeído (MDA) e peróxido de hidrogênio(H_2O_2), e aumentar a massa fresca, a clorofila e os carotenoides visando aliviar os efeitos do estresse salino em ervilhas forrageiras.

Com isso o presente trabalho teve como objetivo analisar os efeitos da combinação Si+AS, como possíveis indutores de tolerância ao estresse salino nas principais cultivares brasileiros de ervilha forrageira (BRS forrageira e IAPAR 83), avaliando as respostas bioquímicas e fisiológicas das plantas sob estresse salino moderado.

2. REVISÃO DE BIBLIOGRÁFICA

2.1. Centro de origem, distribuição geográfica e importância econômica da ervilha forrageira

As plantas de ervilha (*Pisum sativum* L.) pertencem a família Fabaceae (gênero: *Pisum*). O principal centro de origem da ervilha é o Oriente Médio, e a Etiópia que é o segundo centro de origem (Couto., 1989). Há relatos que a domesticação desta espécie ocorreu a mais de 7 mil anos atrás, algumas civilizações como a Grega e a Romana mencionaram as ervilhas em seus relatos, mas nenhum cultivar foi descrito até o século XVI (Simmonds., 1976). Os principais produtores de ervilha forrageira no mundo são: Canadá, Rússia, Índia, China e os Estados Unidos, respectivamente (FAO).

As ervilhas são cultivadas no mundo todo, ao longo do ano em regiões temperadas, e de grande altitude e durante o inverno de regiões tropicais, se desenvolvendo melhor em solos férteis com textura média e bem drenados (Hartmann et al., 1988; Elzebroek e Wind, 2008). Essas plantas são muito sensíveis à acidez e à salinidade do solo, com pH ideal para o seu cultivo é de 5,5 e 7,0 (Hartmann et al., 1988). Em 2016, aproximadamente 4,84 milhões de toneladas de ervilha forrageira foram produzidas no Canadá (Statista, 2019). A

ervilha é uma Fabaceae altamente nutritiva, podendo ser utilizada na alimentação humana e animal e na produção de silagem.

As ervilhas forrageiras estão em quarto lugar na produção mundial entre as leguminosas, ficando atrás somente da soja, amendoim e do feijão. Estima-se que durante o período de 2019 a 2024, o mercado mundial de ervilha deverá crescer cerca de 5,96 % (MordorIntelligence, 2019), sendo este comportamento explicado pelo crescente aumento da população mundial, onde a produção de alimentos terá que ser mais intensificada para acompanhar esse crescimento. Os grãos de ervilha são ricos em proteínas, em sua composição encontram-se também fósforo, cálcio, vitaminas A, B1, B2, C e ferro. Para consumo humano, os grãos verdes in natura da ervilha são utilizados para congelamento e enlatamento (Tomm et al., 2001). Com os grãos secos pode-se obter a farinha de ervilha, já na alimentação animal, o teor médio da matéria seca da ervilha para mistura na ração animal é de aproximadamente 88% (Giordano e Pereira et al., 1986). Portanto, a ervilha pode ser utilizada na alimentação animal na forma de pastejo direto ou, ainda, na forma de silagem, feno ou como componente de ração (Giordano e Pereira et al., 1989).

A ervilha é utilizada, também, como cobertura vegetal do solo (Tomm et al., 2001). Sendo uma espécie leguminosa fixadora de nitrogênio (Sanchez e Mosqueira, 2006), o que a torna uma alternativa para manejo de solo.

Outra grande contribuição da ervilha foram os estudos de Gregor Mendel, onde no mosteiro Agostinho de São Tomás ele realizou experimentos de cruzamentos com ervilhas e provou os princípios fundamentais da

hereditariedade, pesquisa que levaram ele, hoje, a ser considerado o pai da genética.

2.2. Introdução da ervilha forrageira no Brasil, e cultivares: Iapar 83 e BRS Forrageira

A introdução da ervilha no Brasil foi feita por colonizadores portugueses, no Rio Grande do Sul. Já na década de 1940 se estabeleceu o cultivo extensivo da ervilha no estado e no país. No início o cultivo de grãos verdes tinha como objetivo produzir para a indústria de enlatados. Só em meados dos anos 80 é que o cultivo da espécie se estabeleceu nos estados do Paraná, São Paulo, Minas Gerais, Mato Grosso do Sul e Distrito Federal, para a produção de grãos secos (RuralNet, 2009). As baixas temperaturas são favoráveis para o desenvolvimento da ervilha forrageira, no campo ela pode tolerar até - 10°C e se estiver coberta de neve tolera até - 30°C (Elzebroek e Wind, 2008).

A época de semeadura da ervilha forrageira no Brasil ocorre no período de abril a junho, podendo ser semeadas no plantio direto. Neste caso, é indicado o plantio em linha com espaçamento de 0,20 m e 15 a 18 sementes por metro. A profundidade da semeadora deve ser de 3 a 4 cm, e a quantidade de sementes de 80 a 90 kg ha⁻¹ (Iapar, 2007).

A cultivar Iapar 83 foi obtida pelo Instituto Agrônomo do Paraná (IAPAR), com a finalidade de cobertura de solo, a seleção de plantas para obtenção do material ocorreu no município de Pato Branco - PR, na estação experimental nos anos de 1985 e 1986. Foram selecionadas plantas com características homogêneas quanto ao florescimento, maturação dos grãos e

bom aspecto sanitário. As plantas com características diferenciadas indesejáveis foram eliminadas pelo rouguing, prática de eliminação de plantas atípicas ou indesejáveis do campo de produção, e todo o campo colhido (Iapar, 2007).

Assim, as sementes de plantas uniformes (geradas de 3 seleções massais) deram origem ao material ora cultivado (Iapar, 2007). Essa cultivar tem como características: caules delicados, flexuosos, estriados, com gavinha ramosa (1-5 pares) geralmente terminal; 1-2-3 pares de folíolos ovalados, mucronados, de margem inteira ou sinuado-dentados na parte superior; flores vermelho-violáceas, podendo, conforme as condições edafoclimáticas, sofrer alterações, solitárias ou geminadas, sobre pedúnculos axilares aristados, curtos ou pouco mais compridos que as estípulas; corola rosa-violácea com alas violáceo-purpúreas, fruto vagens oblongas (4-6 cm), que podem, de acordo com sua forma, apresentar terminação obtusa, curvada ou fortemente em forma de pico. Ciclo de 80 a 110 dias para o manejo e 150-160 dias para completar o ciclo total, em anos extremamente secos, o ciclo pode ser até 2 meses mais curto (Iapar, 2007).

Na fase de desenvolvimento vegetativo, pode ser consorciada com gramíneas, utilizada em pastejo direto e na produção de feno, os grãos secos e tostados servem para a alimentação animal; No inverno com muita chuva é suscetível a *Ascochyta blight* moderadamente suscetível a *Rhizoctonia solani*, *Fusarium sp*, ocasionalmente ocorrem ataques de pulgões, lagartas e tripses (Iapar, 2007).

A cultivar BRS Forrageira foi selecionada como linhagem E 91-030, pela Embrapa Hortaliças, em coleção de *Pisum sativum* subsp. *arvense* (L.) Poir, coletada em Santa Catarina. (Tomm, G.O., et al, 2002). Apresenta produção de biomassa semelhante ou superior a outros genótipos de ervilha para cultivo no Planalto Médio, Alto Uruguai e Missões do Rio Grande do Sul (Tomm, G.O., et al, 2002).

A facilidade e estabilidade na produção de sementes da cultivar BRS Forrageira são superiores a outras leguminosas anuais de inverno, como a ervilhaca comum e a ervilhaca peluda, a produção de sementes de 1.702 kg/ha, na média de 5 anos, sem uso de defensivos, superou a cultivar Poneka (Tomm, G.O., et al, 2002). A BRS forrageira possui uma composição dos seus grãos de 85,59% Matéria seca; 22,72% Proteína bruta; 0,80% Óleo; 10,09% Fibra bruta; 2,50% Cinza; 0,05% Cálcio; 0,34% Fósforo (Tomm, G.O., et al, 2002).

2.3. O estresse salino e oxidativo

A salinidade pode ser definida como a situação de excesso de sais solúveis, sódio trocável ou ambos em horizontes ou camadas superficiais, afetando o desenvolvimento vegetal (Ribeiro et al., 2009). Em condições naturais, a salinidade tem diversos efeitos no crescimento da planta ao reduzir sua absorção de água, criando um desequilíbrio iônico que leva a toxicidade da planta (Roussos et al., 2007). Na agricultura, um dos fatores de maior preocupação é a salinidade do solo, e o manejo inadequado da irrigação e dos fertilizantes utilizados na atividade agrícola são um dos principais responsáveis

pelo aumento da quantidade de solos degradados com este problema (D'Almeida et al., 2005; Epstein & Bloom, 2006).

No Brasil, a salinidade tem uma maior importância no sertão nordestino, onde a evapotranspiração supera a precipitação, e por consequência, impossibilita a percolação da água através do perfil e, conseqüentemente, a lixiviação dos sais do solo (Freire & Freire, 2007). Nestes ambientes, há tendência de acúmulo de sais, liberados dos minerais do material de origem, predominantemente, os cátions Ca^{2+} , Mg , Mg^{+} , Na^{+} , K^{+} e ânions (Ribeiro et al., 2009).

No solo, os efeitos da salinidade no desenvolvimento vegetal provem de alterações nas suas propriedades químicas e físicas. Em relação as propriedades químicas, o aumento das concentrações de sais e sódio trocável, ocasiona a redução de sua fertilidade e, em longo prazo, pode levar a desertificação (D'Almeida et al., 2005).

Os sais exercem efeitos de forma direta ou indireta, lenta ou brusca, total ou parcial sobre o desenvolvimento e produção das culturas (Sertão, 2005). Os efeitos do excesso de sais solúveis na solução do solo, principalmente o Na e o Cl, provocam redução do desenvolvimento vegetal, especialmente nas espécies mais susceptíveis, promovendo distúrbios fisiológicos (Farias et al., 2009). Os efeitos da salinidade nas plantas podem ser resumidos em efeito osmótico provocado pela redução do potencial osmótico; inibição da absorção de cátions pelo sódio e o desbalanço nutricional pelo sódio (Silva et al.2000).

A redução do desenvolvimento vegetal ocorre em função dos desequilíbrios nutricionais decorrentes do excesso de sais na absorção e

transporte de nutrientes (Ferreira et al., 2001; Cavalcante et al., 2010). A salinidade altera os processos de absorção, transporte e reduz a assimilação e distribuição de nutrientes na planta (Farias et al., 2009).

As plantas possuem mecanismos de respostas bioquímicas e fisiológicas ao estresse oxidativo, sendo um deles, o sistema de defesa antioxidante, que tem como principais enzimas responsáveis por essa resposta a enzima superóxido dismutase, catalase e a ascorbato peroxidase.

As modificações decorridas de algum estresse podem levar a alterações consideráveis na tolerância ao estresse oxidativo (Alscher et al., 2002 e Hernanández et al., 2001). Esse estresse oxidativo induzido pelo acúmulo de NaCl, foi observado em diversos cultivares de ervilha (Hernanández et al., 1995), ao qual se manifesta com o aumento do malonaldeído (MDA) e do peróxido de hidrogênio (H_2O_2), ambos marcadores do estresse oxidativo em plantas (Hernanández et al., 1995).

A ervilha é uma leguminosa sensível ao sal e é extremamente afetada pelo estresse salino, que leva a diminuição de pigmentos fotossintéticos que resulta redução da fotossíntese e reduz a produção de biomassa da planta (AishaKamal et al., 2017).

2.4. Aplicações exógenas de silício e ácido salicílico

O silício (Si) é o segundo elemento mais abundante na crosta terrestre, ficando atrás apenas do oxigênio, compondo cerca de 50 a 70% do solo terrestre. Embora o Si não seja classificado como um elemento essencial para as plantas (Mohsenzadh et al., 2011), ele se provou ser benéfico para o

crescimento de plantas sob tensões abióticas, especialmente metais pesados (Rahman et al., 2017). Isso porque o Si pode induzir respostas de defesa das plantas sob tensões abióticas e bióticas como na atividade das enzimas antioxidantes, no aumento da capacidade fotossintética e o baixo coeficiente de transpiração (Sivanesan et al., 2013). Segundo Bent, (2014), o uso de Si também promove a formação de nódulos em raízes de plantas, aumentando a sua taxa de fixação de N.

Plantas sob estresse salino podem apresentar como consequência do excesso de sais, a deficiência hídrica. A aplicação foliar de silício em cultivares brasileiros de feijão-caupi aumentaram a tolerância ao déficit hídrico nesses cultivares, potencializando as enzimas ascorbato peroxidase e superóxido dismutase (Santos e Oliveira et al., 2019).

O ácido salicílico (AS) é um hormônio vegetal utilizado como regulador de crescimento, possui a função de ativar respostas de defesa nas plantas com alguma alteração em seu funcionamento ou com infecção de algum patógeno (Mauch-Many e Métraux, 1998). Devido a essas funções fisiológicas ele é considerado um regulador de crescimento, e é comprovadamente benéfico as plantas, pois melhora a resposta das plantas a fatores abióticos e bióticos (Mohsenzadeh et al., 2011; Sing et al., 2015). Estudos demostraram que o AS é um composto promissor para a tolerância das plantas sob tensões abióticas, uma vez que foi provado que sob certas condições o AS reduz os efeitos prejudiciais de muitos fatores de estresse (Szalai et al., 2011).

Aplicações exógenas de AS em ervilhas se mostraram satisfatórias no que diz respeito a tolerância ao estresse salino. Plantas sob condições de

estresse salino e tratadas com AS demonstraram aumento expressivo na porcentagem de germinação e altura da planta em comparação com os tratamentos que continham apenas o NaCl, além da diminuição de pigmentos fotossintéticos e aumento da atividade das enzimas antioxidantes (AishaKamal et al., 2017).

O ácido salicílico também atua como atenuador dos efeitos do déficit hídrico que pode ser decorrente do estresse salino (Gomes et al., 2018). O uso do AS resultou numa maior massa radicular nas plantas de milho sobre estresse hídrico, além de aumentar a velocidade em que a planta utiliza o mecanismo que destina a água disponível do solo promovendo maior crescimento e melhor penetração da raiz no solo (Gomes et al., 2018)

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Local de desenvolvimento e Material vegetal

O experimento foi realizado em uma casa de vegetação localizada no Departamento de Biologia aplicada a Agropecuária da Universidade Estadual Paulista (UNESP), faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, São Paulo, Brasil. Para este estudo foram utilizadas condições semi-hidropônicas. As sementes de *Pisum sativum* L. cultivares Iapar 83 e BRS Forrageira foram desinfetadas com etanol 95% (v/v) durante 10 minutos e lavadas em água deionizada. Para a perfeita germinação das sementes elas foram semeadas em areia esterilizada (previamente lavadas com água para remover a maior parte da matéria orgânica, logo após a lavagem foi adicionado solução 5% de HCl por um período de 24 horas, e por último foi usado água deionizada, para remover qualquer resquício de HCl que pudesse ser encontrado na areia) e as caixas para germinação foram mantidas por 8 dias no escuro a 22°C.

Posteriormente, mudas de tamanho uniforme com 10 dias foram transplantadas para vasos Leonard de 0,350 L (Vincent, 1975) contendo areia esterilizada e 300 mL de solução nutritiva Hoagland modificada (Rahman et al., 2017), suplementada com os seguintes nutrientes (μM): KNO_3 (16000), Ca

$(\text{NO}_3)_2\text{H}_2\text{O}$ (6000), $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ (1000), $\text{MgSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (2000), KCl (50), Fe-EDTA (25), $\text{MnSO}_4\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (2), ZnSO_4 (2), $\text{Na}_2\text{MoO}_4\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (0,5) e $\text{CuSO}_4\cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (0,5). A solução nutritiva foi trocada a cada 5 dias e teve o seu pH ajustado para $6,0 \pm 0,5$, utilizando soluções de NaOH ou HCl. As plantas foram cultivadas em casa de vegetação sob 12 horas de luz e 12 horas de escuro, e a temperatura variou de 26 °C durante o dia até 18 °C à noite, com a umidade sendo mantida a 80%.

3.2. Tratamentos

O experimento foi realizado em um esquema fatorial (2x5) totalmente aleatório, por duas cultivares de ervilha forrageira e cinco tratamentos que foram formados pela combinação e pela não combinação de Si e AS, sob toxicidade de NaCl, mais as plantas controle (controle, NaCl, NaCl+Si, NaCl+AS, e NaCl+Si+AS). Foram utilizadas 4 plantas por vaso (três vasos totalizando 12 plantas por tratamento). A fonte de Si utilizada tanto para as aplicações radiculares como foliares foi o silicato de sódio e potássio estabilizado (SiNaK) ($114,91 \text{ g L}^{-1} \text{ Si}$, $34,7 \text{ g L}^{-1} \text{ K}_2\text{O}$ e pH 11,8). Duas formas de aplicação do Si (radicular e foliar) foram realizadas (2 mmol L^{-1}). As aplicações radiculares foram feitas através da solução nutritiva que foi trocada a cada 5 dias em dois tratamentos durante 15 dias, antes que o estresse salino fosse imposto às plantas para que elas pudessem acumular Si. Para o AS (ácido salicílico), foram feitas apenas aplicações foliares com uma concentração que foi previamente testada nas plantas e que podia ser totalmente dissolvida em SiNaK ($36 \mu\text{mol L}^{-1}$).

Após 15 dias recebendo aplicações de Si de forma radicular, cloreto de sódio (NaCl) foi adicionado à solução nutritiva ($5,84 \text{ gL}^{-1}$), e as plantas foram cultivadas em uma dose média de toxicidade de NaCl baseada em estudos anteriores (Ayers; Westcot, 1999) e posteriormente recebendo ou não aplicações de Si, AS e Si+AS. Todas as plantas, tanto as controle sob estresse salino foram cultivadas ao mesmo tempo por mais 20 dias após o estresse ter sido imposto e também foram coletadas ao mesmo tempo, com 45 dias de idade.

3.3. Aplicações foliares

As aplicações foliares foram realizadas a cada 5 dias. Primeiramente o AS foi dissolvido em água deionizada (5 g L^{-1} AS e pH 11,8). O pH da solução resultante ($36 \mu\text{mol L}$) foi então ajustado para a aplicação foliar (pH 6,0). Para as aplicações foliares de Si, o SiNaK foi primeiramente dissolvido em água deionizada (2 mmol L^{-1}) e o pH da solução final foi ajustado para (pH 6,0). Para as aplicações combinadas do Si+AS, primeiramente o AS foi dissolvido em SiNaK ($114,91 \text{ g L}^{-1}$ Si, $34,7 \text{ g L}^{-1} \text{ K}_2\text{O}$, 5 g L^{-1} AS e pH 11,8), esta solução foi dissolvida em água deionizada e o pH da solução final foi ajustado para pH 6,0 para a aplicação foliar. Para evitar contaminação os tratamentos foram separados, e todas as plantas foram pulverizadas com água deionizada, Si, AS ou Si+AS até o ponto de escorrimento. No momento em que a aplicação foliar foi realizada, a temperatura do ar variou de 22 a 18 °C (noite), e a umidade relativa do ar foi mantida acima de 80%. No final do experimento, amostras de raízes e folhas foram coletadas, enxaguadas e imediatamente imersas em

líquido N₂ e armazenadas a – 80°C. Posteriormente, análises fisiológicas e bioquímicas foram realizadas nas amostras.

3.4. Parâmetros de crescimento das plantas (raiz e parte aérea)

A parte aérea das plantas foi dividida em duas (superior e inferior). A massa fresca da parte aérea das plantas de cada vaso (4 plantas) foi determinada no final do experimento. Após a pesagem da massa fresca, todas as partes aéreas das plantas (superior e inferior) foram lavadas com água deionizada, solução detergente neutra 0,1 % (Extran®), e solução de HCl 0,1%. Todas as amostras foram então colocadas em sacos de papel e colocadas no forno mufla a temperatura de 65 ± 2 °C para secagem total. O peso final foi registrado, obtendo-se a massa seca.

3.5. Determinação de teores de carotenoides e clorofila

A quantificação do teor total de clorofila (a+b) e carotenoides foi realizada de acordo com Lichtenthaler (1987). Foram coletados discos de amostras de folhas frescas de três folhas novas completamente formadas do terço médio de cada planta que foram posteriormente pesados e adicionados em tubos revestidos com papel alumínio contendo 2mL de acetona (80%). Após 72 horas, cada amostra foi lida em espectrofotômetro numa banda de 470 nm para carotenoides e caroteno [c] + xantofilas [x] e 645 nm e 662 nm para as clorofilas a e b, respectivamente. Todo o processo foi realizado em triplicatas.

3.6. Fluorescência da clorofila

A fluorescência inicial (F_o) e máxima (F_m), ea eficiência quântica do fotossistema II (F_v/F_m) foram medidas no final do experimento em três folhas totalmente formadas e novas (terço médio) de cada planta. As medições foram realizadas no período da manhã às 10 horas, utilizando-se o fluorômetro (Optisciences® - Os30P +).

3.7. Teor e acúmulo de cloreto de sódio e silício por plantas de ervilha forrageira

Para determinar o teor de NaCl nas raízes e na parte aérea das plantas de ervilha forrageira, 0,25 g de pó moído de cada amostra foi levado a 400 °C em cadinhos de porcelana, em seguida foi adicionada a solução de 10mL de HCl 0,1 M. Logo após, o conteúdo de NaCl em cada parte da planta foi determinado em espectrofotometria, de acordo com Bataglia et al. (1978). O teor de Si na planta também foi determinado nas duas partes da planta (raízes e parte aérea) via digestão alcalina com H_2O_2 e NaOH, seguido por colorimetria em um espectrofotômetro, de acordo com o método descrito por Kornörfer et al. (2004). Com base no teor de NaCl e Si e na massa seca das plantas, o acúmulo de NaCl e Si também foi calculado. Foi calculado apenas o acúmulo de Si da parte aérea das plantas, enquanto o acúmulo de NaCl foi calculada para a planta inteira (parte aérea e raízes).

3.8. Peroxidação lipídica e conteúdo de H_2O_2

O tecido vegetal das plantas (folhas) foi moído com 20 % (p/v) de polivinilpirrolidona (PVPP) e 0,1 % de ácido tricloroacético (TCA). Após a

centrifugação a 11.000 x g durante 10 min, o sobrenadante foi adicionado a uma solução de 20 % de TCA e 5% de ácido tiobarbitúrico (TBA) e incubado em banho maria a 95°C durante 30 min. Logo após a reação sofreu um resfriamento em um banho de gelo por 10 min e foi centrifugada a 11.000 x g por 10 min (Gratão et al., 2012). O conteúdo de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) foi usado para estimar a peroxidação lipídica. A concentração equivalente de malondialdeído (MDA) foi calculada usando um coeficiente de extinção $1,55 \cdot 10^{-5} \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$, com leituras entre 535 e 600nm (Gratão et al., 2012). Os resultados foram expressos em $\mu\text{mol/mg}$ de tecido fresco (Shimizu et al., 2006).

O teor de H_2O_2 foi determinado de acordo com Alexieva et al. (2001). E para tal as amostras de tecido vegetal foram homogeneizadas em ácido tiobarbitúrico (0,1%) e centrifugadas a 10.000 x g durante 10 minutos. O sobrenadante foi então coletado e 100mM de solução tampão fosfato de potássio (pH 7,50) e 1 M de solução de iodeto de potássio foram adicionados à solução final, que foi incubada em gelo por uma hora. O teor de H_2O_2 foi determinado usando uma curva de concentração padrão já conhecida de H_2O_2 , e a absorbância foi lida a 390 nm.

3.9 Análises estatísticas

Os resultados foram expressos em média e erro padrão da média (SEM) de três tratamentos independentes para o crescimento da planta, teor de clorofila e carotenoides, e para os teores de NaCl e Si, MDA e H_2O_2 . A análise estatística foi realizada utilizando o software AgroEstat (1.1.0.694) (Barbosa;

Maldonado Junior, 2015). Os dados obtidos foram submetidos a análise de variância (teste F), e outras diferenças significativas foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade (nível 0,05 de significância).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Parâmetros de crescimento das plantas (parte aérea e raízes) e sintomas de toxicidade por NaCl

A interação entre ambas as cultivares (Iapar 83 e BRS Forrageira) e os tratamentos (NaCl, NaCl+Si, NaCl+AS e NaCl+Si+AS) sob toxicidade de NaCl foi significativa estatisticamente com ($p < 0,05$) para os parâmetros de crescimento, uma vez que foi constatado diferença significativa entre ambas as cultivares para a massa fresca da parte aérea somente nos tratamentos com NaCl, NaCl+AS e NaCl +Si+AS (Fig.2). E para a massa seca da raiz só houve diferença significativa entre os tratamentos com a Testemunha, NaCl, NaCl+Si e NaCl+Si+AS (Fig.2B).

Nossos resultados também mostram que após 20 dias sob toxicidade por NaCl, tanto a massa fresca quanto a seca dos diferentes tratamentos (NaCl, NaCl+Si, NaCl+AS e NaCl+Si+AS) foram significativamente diferentes. Todas as plantas de ambas as cultivares sob toxicidade de NaCl tiveram redução significativa na massa fresca e seca quando comparadas as suas respectivas plantas controle (Fig.2). Entretanto, os efeitos negativos sobre o crescimento das plantas foram mais expressivos no tratamento com o estresse NaCl para ambas as cultivares.

A cultivar BRS obteve uma massa fresca de 70,12 g no tratamento controle, enquanto no tratamento com o estresse por NaCl houve uma diminuição para 47,38 g. Já as plantas da cultivar Iapar 83 obtiveram 64,20 g no tratamento controle e 33,35 g no tratamento com NaCl. As plantas da cultivar Iapar 83 que receberam aplicações de Si, AS e Si+AS tiveram uma redução menor na massa fresca do que as plantas no tratamento NaCl, mas na cultivar BRS a redução do tratamento no NaCl com o Si, AS, Si+AS não foi significativa. Na cultivar Iapar 83, as aplicações de Si, e AS induziram o maior aumento de massa fresca sob toxicidade do NaCl (34,80 e 34,53 g respectivamente) (Fig. 2b). Mesmo sendo menor quando comparado com a plantas controle (64,20 g), foi maior que no tratamento NaCl (33,35 g). De modo geral, a massa fresca da parte aérea da cultivar Iapar 83 foi menos afetada pela toxicidade do NaCl do que a cultivar BRS Forrageira (Fig. 2b).

A massa seca da parte aérea e das raízes de ambas as cultivares também foram obtidas (Fig. 2a). Sob toxicidade do NaCl, a massa seca da parte aérea de ambas cultivares (Iapar 83 e BRS Forrageira) foi de 8,02 e 12,31 g, respectivamente, enquanto nos tratamentos controle a massa seca da parte aérea foi muito maior (14,93 e 21,24 g, respectivamente) (Fig. 2a). Na cultivar Iapar 83, o tratamento NaCl + AS promoveu a menor diminuição de massa seca da parte aérea sob a toxicidade do NaCl (10,25 g). Já na cultivar BRS Forrageira nenhum dos tratamentos tanto com Si e AS aplicados individualmente, quanto com ambos combinados, não induziram o maior aumento da massa seca da parte aérea sob toxicidade de NaCl obtendo (11,82, 12,15 e 11,95 g, respectivamente) (Fig. 2a).

A massa seca da raiz de ambas as cultivares apresentou o mesmo padrão. A massa seca da raiz da cultivar Iapar 83 passou de 0,49 g (controle) para 0,38 g (tratamento NaCl). As plantas controle da cultivar BRS Forrageira apresentaram 0,63 g de massa seca da raiz, enquanto sob toxicidade do NaCl essa massa diminuiu para 0,51 g (tratamento NaCl). A cultivar BRS forrageira obteve a maior quantidade de massa seca da raiz no tratamento NaCl+AS (0,66 g), enquanto para a cultivar Iapar 83 o maior valor foi também do tratamento NaCl+AS (0,53 g). Além disso, nossos resultados indicam que a toxicidade por NaCl diminuiu significativamente o crescimento de plantas de ervilha forrageira (parte aérea e raiz), e que apenas na cultivar Iapar 83, a aplicação de um atenuador apenas (NaCl+AS) promoveu um aumento na massa fresca e total da parte aérea quando comparado com os outros tratamentos sob estresse (Fig. 2b).

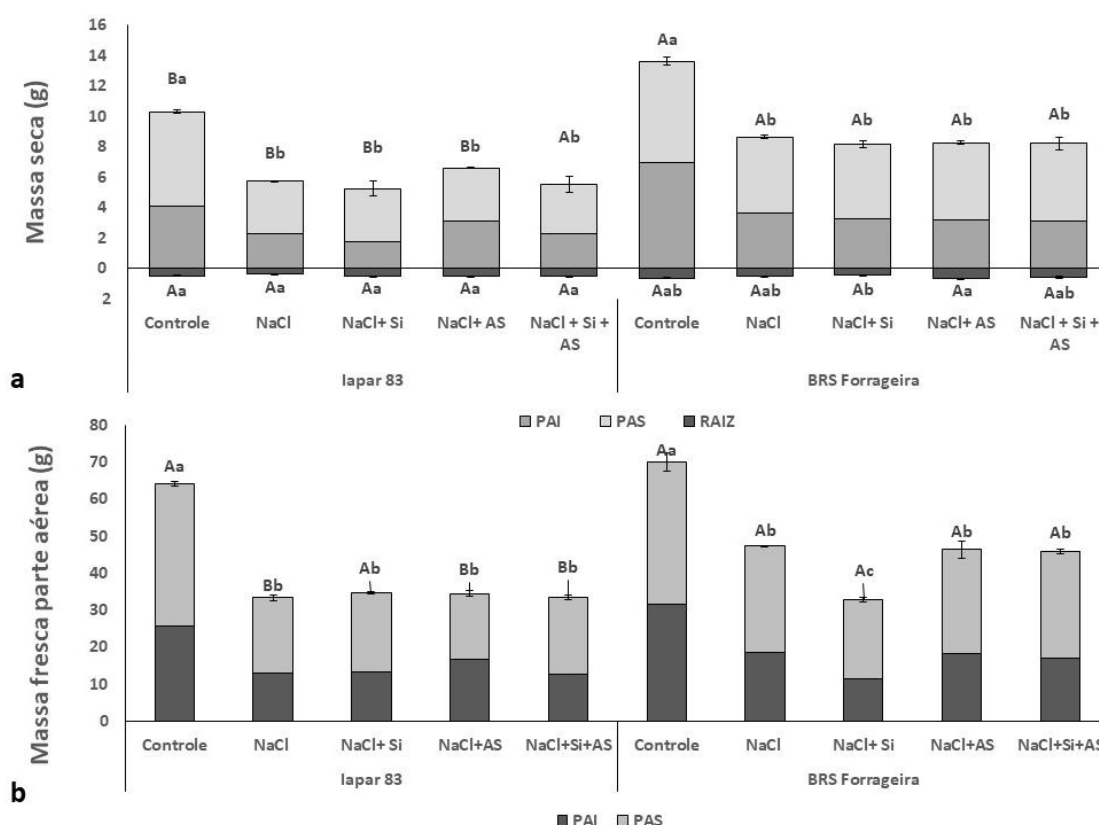


Figura 2. Efeitos da toxicidade do NaCl e aplicações exógenas de Si, AS e Si+AS na massa fresca e seca (g) de plantas de ervilha forrageira submetidas a diferentes tratamentos. As barras de erro representam $\pm$ DP de três repetições. Os dados acima do eixo x representam parte aérea e abaixo do eixo x, raízes. Diferentes letras maiúsculas acima das colunas indicam diferenças entre cultivares, enquanto letras minúsculas indicam tratamentos com diferenças significativas em que $p < 0,05$ pelo teste de Tukey. Parte aérea superior da planta (PAS), parte aérea inferior da planta (PAI), Raiz (RAIZ).

O aumento da concentração de NaCl na solução nutritiva promoveu uma maior absorção deste elemento pelas plantas, o teor e o acúmulo de NaCl foram aumentados sob toxicidade de NaCl. Em todas as plantas, houve um aumento progressivo do teor de NaCl, que foi maior que o acúmulo de NaCl apresentado nas raízes, e isso pode ser explicado pelo fato de que sob a toxicidade de NaCl, a massa seca das raízes era muito menor que a massa seca da parte aérea das plantas, resultando assim em um menor acúmulo de NaCl nas raízes que na parte aérea.

Com exceção das plantas controle, todos os tratamentos que receberam 5,84 g de NaCl L⁻¹ mostraram uma queda na produção de massa fresca e seca. Isso pode ser explicado pelo fato de que o estresse salino pode causar a diminuição do crescimento das plantas, pois induz a redução da clorofila e da atividade fotossintética e do rendimento (Hemanta Ranjan et al., 2014). Estes resultados também estão de acordo com Gomes et al. (2018), que observaram que plantas de milho sob os efeitos do déficit hídrico utilizam mecanismos como o fechamento de estômatos, reduzindo então a diminuição na produção de área foliar.

4.2. Teor e acúmulo de NaCl nas plantas

Com base em nossos resultados, a interação entre cultivares e tratamentos para o teor de NaCl nas raízes, e na parte aérea foram estatisticamente significativas ($p < 0,05$). O teor de NaCl nas plantas de ervilha forrageira foi alto em todos os tratamentos sob toxicidade por NaCl (NaCl, NaCl+Si, NaCl+AS e NaCl+Si+AS) para ambas as cultivares (Iapar 83 e BRS Forrageira). Tanto a parte aérea quanto as raízes de todas as plantas resultaram em um alto teor de NaCl sob toxicidade (Fig. 3a). As plantas do tratamento controle de ambas as cultivares apresentaram os menores valores de teor de NaCl entre todos os tratamentos, enquanto os maiores valores do teor de NaCl foram encontrados na parte aérea das plantas de todos os tratamentos sob toxicidade por NaCl.

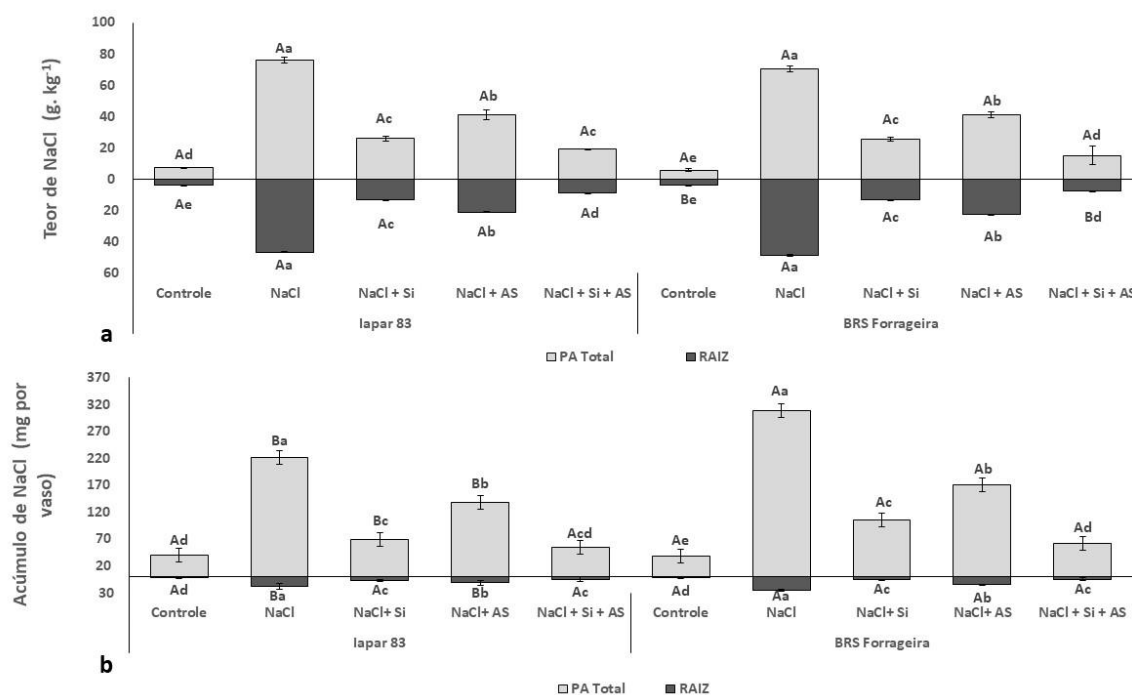


Figura 3. Teor e acúmulo de cloreto de sódio (NaCl) em plantas de ervilha forrageira submetidas a diferentes tratamentos. As barras de erros representam $\pm$ DP de três repetições. Os dados acima do eixo x representam a parte aérea e abaixo do eixo x, as raízes. Diferentes letras maiúsculas acima das colunas indicam diferenças entre cultivares, enquanto as letras minúsculas indicam tratamentos com diferenças significativas em que $p < 0,05$ pelo teste de Tukey. Parte aérea total (PA Total), Raiz (RAIZ).

A cultivar BRS Forrageira teve um teor de NaCl na raiz do tratamento controle maior que o da cultivar lapar 83, com (4,067 e 3,53 gkg⁻¹, respectivamente). A parte aérea de ambas as cultivares apresentaram teores de NaCl nos tratamentos NaCl, NaCl+Si, NaCl+AS e NaCl+Si+AS maiores que os teores de NaCl das raízes nos mesmos tratamentos. Em ambas as cultivares os tratamentos com as aplicações de Si e AS isoladamente apresentaram os maiores teores de NaCl nas raízes. As aplicações na cultivar lapar 83, nos tratamentos NaCl+Si e NaCl+AS resultaram em 13,2 e 20,92 g kg⁻¹, respectivamente, enquanto na cultivar BRS ambos os tratamentos resultaram em 13,2 e 22,67 g kg⁻¹, respectivamente.

Embora em ambas as cultivares (Iapar 83 e BRS Forrageira), as plantas controle obtiveram um pequeno teor de NaCl nas raízes (4,067 e 3,53 g kg⁻¹, respectivamente), seu teor aumentou muito sob toxicidade por NaCl (Fig. 3a). O teor de NaCl nas raízes nos tratamentos NaCl, NaCl+Si, NaCl+AS e NaCl+Si+AS, para a cultivar Iapar 83 foram de 46,67, 13,2, 20,92 e 8,93 g kg⁻¹, respectivamente, e para a cultivar BRS Forrageira foram 48,67, 13,2, 22,7 e 7,8 gkg⁻¹, respectivamente. A cultivar BRS Forrageira apresentou os maiores valores do teor de NaCl nas raízes sob toxicidade por este sal (Fig. 3a).

Quando o teor de NaCl aumentou, seu acúmulo também aumentou em todas as partes das plantas (Fig. 3b). Entretanto, houve um padrão comum de acúmulo do NaCl na parte aérea das plantas maior que nas raízes (Fig. 3b). Para ambas as cultivares (Iapar 83 e BRS Forrageira), as plantas controle apresentaram o menor acúmulo de NaCl na parte aérea (39,39 e 38,39 mg por vaso, respectivamente). Sob toxicidade do sal, a parte aérea de ambas as cultivares (Iapar 83 e BRS Forrageira) acumularam muito mais NaCl do que as raízes. Nos tratamentos NaCl, NaCl+Si, NaCl+AS e NaCl+Si+AS, a parte aérea das plantas da cultivar Iapar 83 acumulou 221,89; 69,07; 138,86 e 54,47 mg por vaso de NaCl, respectivamente. Na cultivar BRS Forrageira a parte aérea das plantas também acumularam muito mais NaCl do que as raízes sob toxicidade do NaCl sendo de 309,32; 105; 170,65 e 61,30 mg por vaso de NaCl, respectivamente. Para ambas as cultivares (Iapar 83 e BRS Forrageira), o NaCl foi mais acumulado nas raízes sob tratamento NaCl e NaCl+Si (17,69, 11,01 e 24,96, 15,06 mg por vaso de NaCl, respectivamente). (Fig. 3b)

As diferenças entre tratamentos e cultivares de ervilha forrageira para o teor de NaCl e o seu acúmulo nas raízes podem ser explicados pelo fato de que o maior acúmulo de Si nas raízes das plantas de ervilha forrageira nos tratamentos NaCl+AS e NaCl+Si sob toxicidade do sal, aumentou o seu teor nas raízes da cultivar Iapar 83, enquanto o AS pode ter sido mais significativo para aumentar o teor de NaCl e o seu acúmulo nas raízes da cultivar BRS Forrageira.

Complexos de silicato de sódio podem ser formados dentro das raízes, o que dificultaria o transporte e translocações do NaCl, resultando em um maior acúmulo de NaCl em raízes de plantas tratadas com aplicações exógenas de AS em plantas de cevada (Inal et al., 2009). É possível que a deposição de Si nas raízes tenha proporcionado locais de ligação para o NaCl, ocorrendo então menor translocação das raízes para a parte aérea, como observado para a acúmulo de Cd em plantas de ervilha forrageira (Rahman et al., 2017). O AS pode ter aumentado o acúmulo de NaCl através de um melhor aproveitamento da captação e transporte de íons, bem como a permeabilidade da membrana plasmática (Noreen et al., 2009).

4.3. Teor e acúmulo de Silício nas plantas

Como esperado o teor de Si foi mais pronunciado nas plantas de ervilha forrageira, nos tratamentos NaCl+Si e NaCl+Si+AS para ambas as cultivares (Iapar 83 e BRS Forrageira). A parte aérea de todas as plantas mostrou-se com altos teores de Si nestes tratamentos quando comparados aos outros (controle, NaCl e NaCl+AS) (Fig.4A). De modo geral, entre as cultivares houve interação

significativa para o teor de Si em diferentes partes aéreas da planta ($p < 0,05$) (Fig. 4A). A cultivar BRS Forrageira apresentou um teor de Si mais alto na parte aérea em todos os tratamentos se comparado com cultivar o Iapar 83. Ambos os cultivares tiveram o maior teor de Si nos tratamentos de NaCl+Si e NaCl+Si+AS.

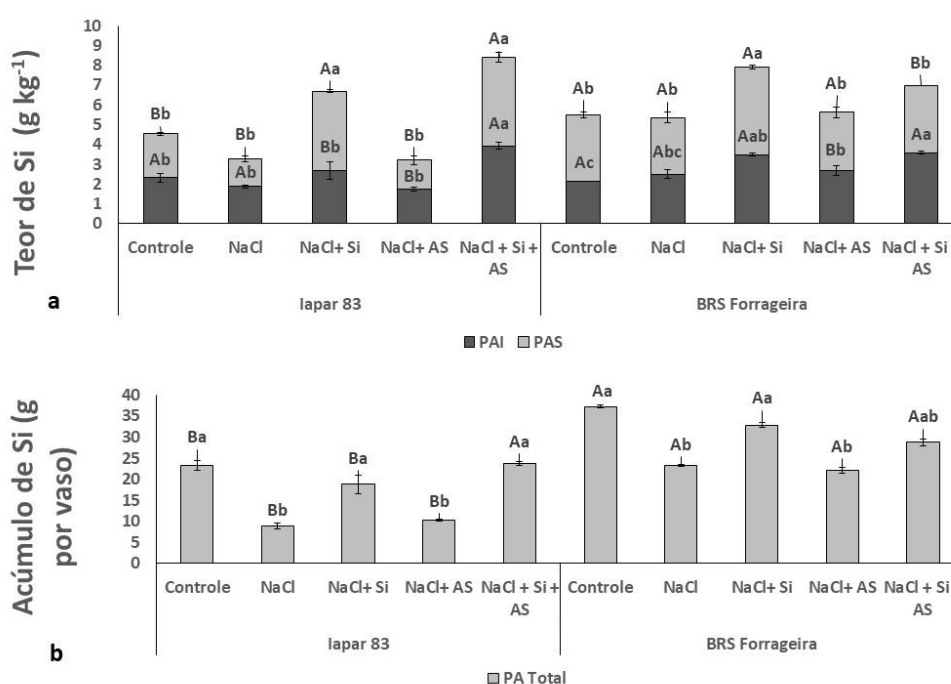


Figura 4. Teor e acúmulo de Silício (Si) em plantas de ervilha forrageira submetidas a diferentes tratamentos. As barras de erro representam $\pm$ DP de três repetições. Diferentes letras maiúsculas acima das colunas indicam diferenças entre as cultivares, enquanto letras minúsculas indicam diferenças significativas entre os tratamentos em que $p < 0,05$ pelo teste de Tukey. Parte aérea superior da planta (PAS), parte aérea inferior da planta (PAI)

Os maiores teores de Si foram encontrados na parte aérea nas plantas dos tratamentos NaCl+Si e NaCl+Si+AS. Para a cultivar Iapar 83, os valores de teor de Si encontrados na parte aérea superior e inferior foram 6,69 e 8,39 g kg⁻¹, respectivamente, enquanto para a cultivar BRS Forrageira, os mesmos

tratamentos obtiveram na parte superior e inferior da parte aérea das plantas foram iguais a 7,90 e 6,96 g kg⁻¹, respectivamente (Fig. 4A). No tratamento NaCl+Si+AS, a lapar 83 obteve um teor de Si na parte aérea superior e inferior das plantas igual a 4,46 e 3,92 g kg⁻¹, respectivamente, enquanto a BRS Forrageira obteve um teor de Si de 3,39 e 3,57 g kg⁻¹, respectivamente, na parte aérea superior e inferior (Fig. 4A).

Também houve uma interação significativa entre as cultivares para o acúmulo de Si ($p < 0,05$), com a cultivar BRS Forrageira acumulando mais Si na parte aérea do que a lapar 83 (Fig. 4B). Para a cultivar lapar 83, os tratamentos de Controle e NaCl+Si+AS obtiveram o maior acúmulo de Si na parte aérea (23,27 e 23,72 g por vaso, respectivamente), e na cultivar BRS Forrageira, os tratamentos que obtiveram o maior acúmulo de Si foram, controle e NaCl+Si, com 37,23 e 32,79 g por vaso, respectivamente (Fig.4B).

As plantas que receberam aplicações exógenas de Si na raiz e nas folhas apresentaram um alto teor de Si na parte aérea. A forma absorvida pelas plantas, e a grande estabilidade das espécies monoméricas de silício, pode ter resultado nisso (Ma e Takahashi, 2002), assim como o pH da solução (6,0), que teve de ser ajustado devido a presença do sorbitol na solução foliar.

Na cultivar BRS Forrageira o acúmulo de Si no tratamento controle foi o maior, pois a massa seca (MS usado para calcular o acúmulo de Si, variável diretamente proporcional) do mesmo foi muito superior as demais, portanto isso implicou para este acúmulo elevado. As aplicações de Si via foliar foram capazes de aumentar a concentração de Si na parte aérea devido à baixa redistribuição deste elemento nas plantas (Ma e Takashi, 2002). As aplicações

foliares sempre foram realizadas com a umidade relativa acima dos 80%, e com o uso do sorbitol para aumentar a absorção de Si atrasando o processo de secagem na folha (Will et al., 2011).

4.4. Teor de clorofila e carotenoides

Houve diferença significativa entre as cultivares para a clorofila total (a+b) e o teor de carotenoides ($p < 0,05$) somente no tratamento NaCl+Si+AS (Fig.5). Nossos resultados demonstraram que a toxicidade do NaCl afetou negativamente os pigmentos da clorofila e carotenoides (Fig.5). Para ambas as cultivares, Iapar 83 e BRS forrageira, a clorofila total (a+b) de plantas submetidas ao estresse (tratamento NaCl) apresentou valores significativamente menores (0,80 e 0,84 mg/g, respectivamente) quando comparadas às plantas controle (1,09 e 1,04 mg/g, respectivamente) (Fig.5A).

Para o teor de carotenoides, as plantas de ambas as cultivares submetidas ao estresse NaCl também apresentaram teor menor (0,38 e 0,55 mg/g, respectivamente) que as plantas controle (0,52 e 0,63 mg/g, respectivamente) (Fig. 5B). Por outro lado, a aplicação de Si e AS, bem como de Si+AS, promoveu aumento em ambos, o teor total de clorofila (a+b) e carotenoides da cultivar Iapar 83, comparadas com as plantas submetidas ao estresse (Fig.5). Inesperadamente, para a cultivar BRS Forrageira, apenas o uso de Si aumentou o teor de clorofila total (a+b) e carotenoides sob a toxicidade por NaCl (1,12 e 0,51 mg/g, respectivamente).

Para o cultivar Iapar 83 e BRS Forrageira, os melhores tratamentos foram o NaCl+Si+AS e NaCl+Si, respectivamente tanto para a clorofila total (a+b)

(0,86 e 1,12 mg/g, respectivamente) quanto o teor de carotenoides (0,47 e 0,51 mg/g, respectivamente), que foram significativamente altos, sendo iguais às plantas controle (Fig. 5B). Inesperadamente, para a cultivar BRS Forrageira, o teor de carotenoides foi ainda maior que o das plantas controle no tratamento NaCl+Si (0,51 mg/g) (Fig. 5). Nossos resultados demonstram que o teor de clorofila foi menos afetado pela toxicidade do NaCl nas plantas do tratamento de Si+AS para esta cultivar (Fig. 5A).

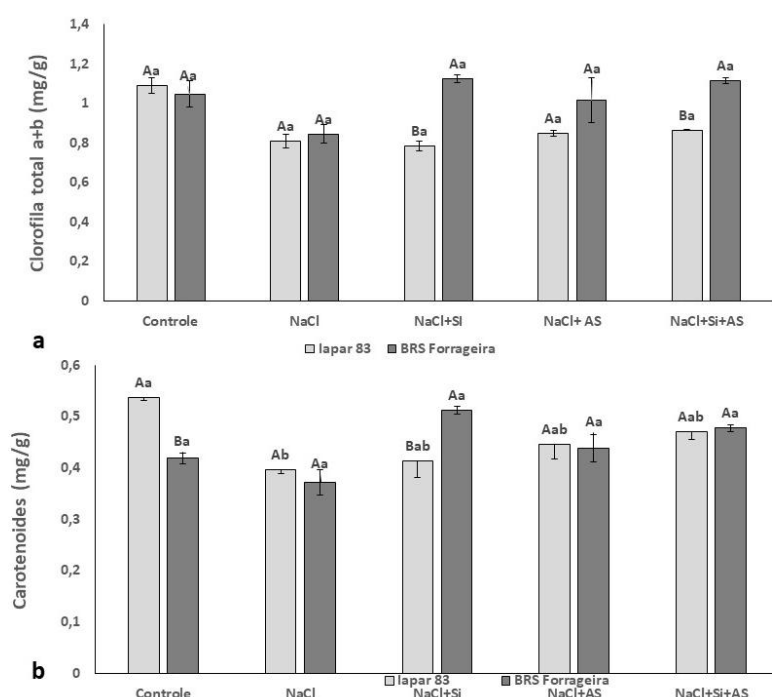


Figura 5. Efeitos da toxicidade NaCl e as aplicações exógenas de Si, AS e Si+AS sobre a clorofila total (a+b) e teor de carotenoides das plantas de ervilha forrageira submetidas a toxicidade por NaCl em diferentes tratamentos. Diferentes letras maiúsculas acima das colunas indicam diferenças entre as cultivares, enquanto letras minúsculas indicam tratamento com diferenças significativas em que $p < 0,05$ por teste de Tukey.

Nossos resultados mostraram que a toxicidade do NaCl reduziu significativamente o teor total de clorofila(a+b) e carotenoides das plantas de ervilha forrageira. Sob condições de estresse, a baixa produção de clorofila

pode ser resultado da peroxidação das membranas do cloroplasto e a inibição da biossíntese de clorofila e protoclorofila redutase (Rao et al., 2007). As aplicações exógenas de Si, AS e Si+AS, em especial o uso combinado dos dois aumentou significativamente o teor de clorofila total (a+b) e de carotenoides. Portanto, as aplicações exógenas de Si+AS foram eficientes para reduzir os danos causados pelo estresse oxidativo em plantas de ervilha forrageira, reduzindo a peroxidação da membrana dos cloroplastos e aumentando a produção de clorofila e carotenoides (Oliveira et al., 2019).

4.5. Fluorescência de clorofila

Houve diferenças significativas entre todos os tratamentos para os parâmetros de fluorescência da clorofila F_v/F_m (eficiência quântica do fotossistema II) (Fig. 6). Em geral, houve interação significativa entre cultivares ($p < 0,05$) para F_v/F_m no tratamento NaCl (Fig. 6).

Os resultados demonstraram que o Si, AS e o uso combinado de ambos (Si+AS) foram eficientes para aumentar o parâmetro F_v/F_m até o nível das plantas controle (Fig. 6). A eficiência quântica do fotossistema II (F_v/F_m) foi máxima para plantas de ambos os cultivares (Iapar 83 e BRS Forrageira) no controle (0,788 e 0,782 elétrons quantum^{-1} , respectivamente) e NaCl+Si+AS (0,735 e 0,756 elétrons quantum^{-1} , respectivamente), com uma diminuição no tratamento NaCl para ambos os cultivares (0,672 e 0,676 elétrons quantum^{-1} , respectivamente). Este parâmetro também foi máximo para ambas as cultivares nos tratamentos NaCl+Si e NaCl+AS (Fig. 6). Para F_v/F_m , as plantas de ambas as cultivares submetidas a toxicidade por NaCl sem aplicações de Si,

AS e Si+AS, apresentaram reduções significativas, comprometendo o processo fotoquímico das plantas no tratamento NaCl (Fig. 6).

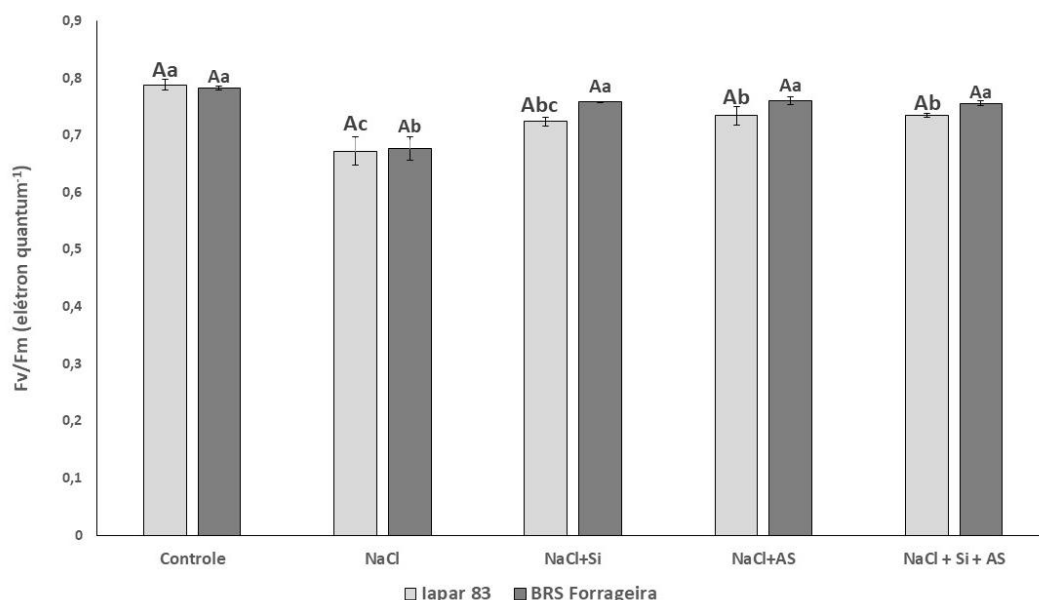


Figura 6. Eficiência quântica do fotossistema II (Fv/Fm) de plantas de ervilha forrageira submetidas ou não a toxicidade por NaCl e seus diferentes tratamentos: controle, toxicidade NaCl, NaCl+Si, NaCl+AS e NaCl+Si+AS. Diferentes letras maiúsculas acima das colunas indicam diferenças entre cultivares, e as letras minúsculas indicam tratamentos com diferenças significativas em que $p < 0,05$ pelo teste de Tukey.

A eficiência quântica (Fv/Fm) foi máxima nas plantas controle e foi significativamente melhorada nos tratamentos que receberam aplicações exógenas de Si, AS e Si+AS. Para a cultivar BRS Forrageira, ela foi aumentada com as aplicações até o nível das plantas controle.

Diversos estudos relatam que plantas com ausência de estresse em condições normais de crescimento, tem valores de Fv/Fm na faixa de 0,750 a 0,850 elétrons quantum⁻¹ (Corrêa e Alves, 2010). Portanto, a relação Fv/Fm com um valor abaixo dessa faixa considerada normal, encontrada para ambas

as cultivares (Iapar 83 e BRS Forrageira) no tratamento NaCl (0,672 e 0,676 elétrons quantum⁻¹, respectivamente), reflete os danos foto inibitórios nos centros de reação do fotossistema II para plantas destas cultivares. Nossos resultados estão de acordo com outros estudos (Cruz et al., 2009; Silveira et al., 2010; Souza et al., 2016), permitindo concluir que, sob toxicidade NaCl, os danos ao aparelho fotossintético foram mais significativos para a cultivar Iapar 83, fato evidenciado pela redução da eficiência quântica do PSII no tratamento NaCl.

4.6. Peroxidação lipídica e teor de H₂O₂

O teor de MDA, um indicador de peroxidação lipídica, foi mais pronunciado com a toxicidade por NaCl (tratamento NaCl) para ambas cultivares se comparadas com as plantas controle (Fig.7A).

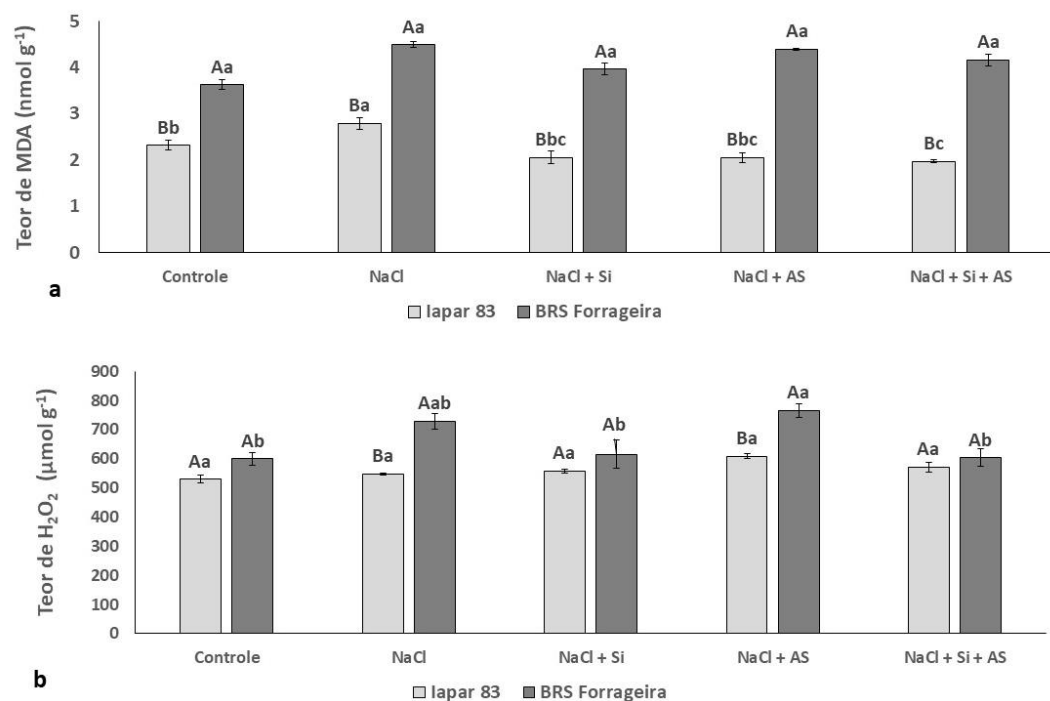


Figura 7. Peroxidação lipídica (a), Dialdeídomalônico (MDA) (nmol g⁻¹) de peróxido de hidrogênio(b) (H₂O₂) (μmol g⁻¹) na parte aérea das plantas de ervilha forrageira submetidos ou não a toxicidade por NaCl em diferentes tratamentos: Controle, NaCl, NaCl+Si, NaCl+ AS, NaCl+Si+AS.

A cultivar Iapar 83 obteve um teor de MDA mais baixo se comparado com a cultivar BRS Forrageira para todos os tratamentos ($p < 0,05$). No tratamento NaCl, as plantas da cultivar Iapar 83 exibiram um aumento pronunciado no teor de MDA (2,79 nmol g⁻¹) em comparação com as suas plantas de controle (2,32 nmol g⁻¹), enquanto as plantas da cultivar BRS Forrageira obtiveram 4,49nmol g⁻¹, e apenas 3,63 nmol g⁻¹ de MDA foram produzidas pelas plantas controle (Fig. 7A). A aplicação de Si, AS ou Si+AS reduziu a quantidade de MDA para a cultivar Iapar 83 (2,06, 2,05 e 1,97 nmol g⁻¹, respectivamente) sendo mais significativa se comparada a cultivar BRS Forrageira (3,96, 3,39 e 4,16nmol g⁻¹, respectivamente) quando comparada com as plantas controle deste cultivar (3,63 nmol g⁻¹) (Fig. 7A). Para o teor de

H₂O₂ (Fig. 7B), o mesmo padrão encontrado para o teor de MDA foi observado a cultivar BRS Forrageira entre os tratamentos, que foi mais elevado no tratamento NaCl (728,32 $\mu\text{mol g}^{-1}$) (Fig. 7B). Além disso, os nossos resultados também mostraram que para esta cultivar as aplicações isoladas de Si e Si+AS reduziram o teor de H₂O₂ das plantas expostas à toxicidade por NaCl ao nível das plantas controle (615,38 e 602,83 $\mu\text{mol g}^{-1}$, respectivamente) (Fig. 7B).

As plantas da cultivar Iapar 83 apresentaram um padrão diferente (Fig. 7B). Sob toxicidade por NaCl, as plantas desta cultivar, em todos os tratamentos, exceto o controle, apresentaram o mesmo teor de H₂O₂ (Fig. 7B). Para esta cultivar, as plantas submetidas aos tratamentos NaCl, NaCl+Si, NaCl+AS e NaCl+Si+AS mostraram teores semelhantes de H₂O₂ (547,01, 557,59, 608,13 e 571,25 $\mu\text{mol g}^{-1}$, respectivamente) quando comparadas com as plantas de controle (530,04 $\mu\text{mol g}^{-1}$) (Fig. 7B). A cultivar Iapar 83 tinha naturalmente um menor teor de H₂O₂ ($p < 0,05$) quando comparada com a cultivar BRS Forrageira para todos os tratamentos exceto o tratamento NaCl+Si+AS (Fig. 7B).

O H₂O₂ gerado foi a partir de vários processos metabólicos e enzimas peroxidases do sistema de defesa antioxidante. Os danos causados pela peroxidação lipídica e pelo peróxido de hidrogênio podem ter afetado negativamente o sistema fotossintético e, conseqüentemente, reduziu o crescimento das plantas, afetando conseqüentemente a produção de massa fresca e seca. Para reduzir os danos oxidativos, diversas enzimas antioxidantes podem ter desempenhado um papel importante contra os efeitos dos estresses abióticos como os causados pelo estresse salino (Gratão et al.,

2015; Alves et al., 2017; Oliveira et al., 2019). As peroxidases podem reduzir o H_2O_2 , como a Catalase (CAT), Ascorbato Peroxidase (APX), entre outras (Alves et al., 2018), sendo ela induzida em diversas espécies de plantas quando há a presença de situações estressantes, como a salinidade (Noctor e Foyer, 2016).

4.7. Parâmetros visuais

O experimento teve duração de 45 dias, após esse período foi possível notar diferença visual significativa nas plantas em ambas cultivares de ervilha forrageira (Fig. 8)



Figura 8. Foto realizada após o experimento da cultivar lapar 83 (a), Foto realizada após o experimento da cultivar BRS Forrageira.

5. CONCLUSÃO

As aplicações exógenas de Si+AS, nas cultivares brasileiras de ervilha forrageira (*Pisum sativum* L.) (Iapar 83 e BRS Forrageira) mostraram-se capazes de aliviar os efeitos adversos causados pela toxicidade causada por NaCl. A aplicação dos dois atenuadores combinados (Si+AS), comparando as duas cultivares, mostrou-se mais eficiente na cultivar Iapar 83. Este fato foi evidenciado por um aumento significativo do teor de carotenoides, da eficiência quântica do fotossistema II (Fv/Fm), bem como o menor teor de MDA que refletiu numa menor peroxidação lipídica, reduzindo os danos oxidativos as plantas sob condições estressantes, o que resultou em um aumento da massa fresca da parte aérea e massa seca total.

6. LITERATURA CITADA

Alexieva V, Sergiev I, Mapelli S, Karanov E (2001) The effect of drought and ultraviolet radiation on growth and stress markers in pea and wheat. **Plant Cell Environment** 24: 1337–1344.

Alves LR, Monteiro CC, Carvalho RF, Ribeiro PC, Tezotto T, Azevedo RA, Gratão PL (2017) Cadmium stress related to root-to-shoot communication depends on ethylene and auxin in tomato plants. **Environmental and Experimental Botany** 134, 102-115.

Alves RC, Medeiros AS, Nicolau MCM, Neto AP, Lima LW, Tezotto T, Gratão PL (2018). The partial root-zone saline irrigation system and antioxidant responses in tomato plants. **Plant Physiology and Biochemistry** 127, 366-379.

Barbosa JC, Maldonado Júnior, W (2011) AgroEstat - Sistema para análises estatísticas de ensaios agrônômicos (1.1.0.694). Jaboticabal: FCAV/UNESP.

Bataglia OC, Furlani AMC, Teixeira JPF, Furlani PR, Gallo JR (1983) Methods of chemical analysis of plants. **Boletim Técnico - Instituto Agrônomo** (Brazil) nº 78.

Bennett S J (2012) Early growth of field peas under saline and boron toxic soils.

Brand TS, et al (2000) Field peas (*Pisum sativum*) as protein source in diets of growing-finishing pigs. **Journal of Applied Animal Research** 8, 159-164.

Calegari, A, Alcântara PB, Myiasaka S, Amado TJC (1992) Caracterização das principais espécies de adubo verde. In: COSTA, M. B. B. da. (Coord.). Adubação verde no Sul do Brasil. 2.ed. Rio de Janeiro: **Assessoria e Serviços a Projetos em Agricultura Alternativa** 3, 207-330.

Calegari, A, Pola JN (2009) Ervilha forrageira Iapar 83. Londrina: **Instituto Agrônomo do Paraná, Folder**, 5.

Corrêa MJP, Alves PLCA (2010) Efeitos da aplicação de herbicidas sobre a eficiência fotoquímica em plantas de soja convencional e geneticamente modificada. **Ciência e Agrotecnologia** 34, 1136- 1145.

Cruz MCM, Siqueira DL, Salomão LCC, Cecon PR (2009) Fluorescência da clorofila a em folhas de tangerineira 'Ponkan' e limeira ácida 'Tahiti' submetidas ao estresse hídrico. **Revista Brasileira de Fruticultura** 31, 896-901.

Derpsch R, Calegari A (1992) Plantas para adubação verde de inverno. **Iapar Circular**, 73. Londrina: Iapar 80.

Elzebroek T, Wind K (2008). Guide to cultivated plants. **CAB International, Oxfordshire, UK.**

Esteves, Bruno; Suzuki, Marina. Efeito da salinidade sobre as plantas. *In*: Esteves, Bruno; Suzuki, Marina. **EFEITO DA SALINIDADE SOBRE AS PLANTAS**. (2000). Tese (Pós Graduação em Ecologia e Recursos Naturais) - Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, [S. l.], 2000.

Freire JLO, Dias TJ, Cavalcante LF, Fernandes PD, Lima Neto AJ (2014) Rendimento quântico e trocas gasosas em maracujazeiro amarelo sob salinidade hídrica, biofertilização e cobertura morta. **Revista Ciência Agronômica** 45, 82-91. <http://dx.doi.org/10.1590/S1806-66902014000100011>

Giordano LB, Pereira ASA (1989) Ervilha na alimentação animal. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, 14, 158, 65.

Gratão PL, Monteiro CC, Carvalho RF, Tezotto T, Piotto FA, Peres LEP, Azevedo RA (2012) Biochemical dissection of *diageotropica* and never ripe tomato mutants to Cd-stressful conditions. **Plant Physiology and Biochemistry** 56, 79–96. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.plaphy.2012.04.009>.

Hartmann HTAM, Kofranek VE, Rubatzky WJF (1988) **Plant science: Growth, development and utilization of cultivated plants**. 2nd ed. Prentice Hall Career and Technology, Englewood Cliffs, NJ.

Iapar - Instituto Agronômico Do Paraná (2007). **Ervilha forrageira Iapar 83** Disponível em: <www.iapar.br/arquivos/File/zip_pdf/ervilha-final.pdf>. Acesso em: 28 jun. 2019. In Proceedings of 16th Agronomy Conference.

Korndörfer GH, Pereira HS, Nola A (2004) Análise de silício: solo, planta e fertilizante [Silicon analysis: soil, plant and fertilizer]. **Uberlândia, Brazil: UFU**.

Lichtenthaler HK (1987) Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. **Methods in Enzymology** 148, 350-382.

Mohsenzadeh S, Shahrtash M, Mohabatkar H (2011) Interactive effects of salicylic acid and silicon on some physiological responses of cadmium-stressed maize seedlings. **Iranian Journal of Science and Technology**, 35(1), 57-60.

Monteir CC, Carvalho RF, Gratão PL, Carvalho G, Tezotto T, Medici LO, Azevedo, RA (2011) Biochemical responses of the ethylene-insensitive never ripe tomato mutant subjected to cadmium and sodium stresses. **Environmental and Experimental Botany**, 71(2), 306-320.

Montes RM, Montes SMNM, Raga A (2015) O uso do silício no manejo de pragas. **Documento Técnico**, 17, 1-13.

Nogueiro RC, Monteiro FA, Gratão PL, Borgo L, Azevedo RA (2015) Tropical soils with high aluminum concentrations cause oxidative stress in two tomato genotypes. **Environmental Monitoring and Assessment** 187, 73.
doi:<http://dx.doi.org/10.1007/s10661-015-4282-3>.

Noreen S, Ashraf M, Hussain M, Amer AJ (2009) Exogenous application of salicylic acid enhances antioxidative capacity in salt stressed sunflower (*Helianthus annuus* L.), **Pakistan Journal of Botany** 41: 473-479.

Noreen Z, Ashraf M, Akram NA (2010) Salt-induced regulation of some key antioxidant enzymes and physiobiochemical phenomena in five diverse cultivars of turnip (*Brassica rapa* L.). **Journal of Agronomy and CroScience** 196: 273-285.

Olle M (2014) The effect of Silicon on the organically grown cucumber transplants growth and quality. **Proceedings of 16th World Fertilizer Congress of CIEC**. Rio de Janeiro: CIEC, 90-92.

Rahman MF, Ghosal A, Alam MF, Kabir AH (2017) Remediation of cadmium toxicity in field peas (*Pisum sativum* L.) through exogenous silicon. **Ecotoxicology and Environmental Safety** 135, 165-172.

Rao AR, Dayananda C, Sarada R, Shamala TR, Ravishankar GA(2007) Effect of salinity on growth of green alga *Botryococcus braunii* and its constituents. **Bioresource Technology** 98, 560–564.

Reis AR, Queiroz Barcelos JP, Souza Osório CRW, Santos EF, Lisboa LAM, Santini J MK, Lavres J (2017) A glimpse into the physiological, biochemical and nutritional status of soybean plants under Ni-stress conditions. **Environmental and Experimental Botany** 144, 76-87.

Sanchez EA, Mosquera T (2006) Establecimiento de una metodología para la inducción de regenerantes de arveja (*Pisum sativum* L.) variedad Santa Isabel. **Agronomía Colombiana**, Bogotá, 24,1,17-27.

Shimizu N, Hosogi N, Hyon GS, Jiang S, Inoue K, Park P (2006) Reactive oxygen species (ROS) generation and ROS-induced lipid peroxidation are associated with plasma membrane modifications in host cells in response to AK-toxin I from *Alternaria alternata* Japanese pear pathotype. **Journal of General Plant Pathology** 72(1), 6-15.

Silva MMP, Vasquez HM, Bressansmith R, Silva JFC, Erbesdobler ED, Andrade Júnior PSC (2006) Eficiência fotoquímica de gramíneas forrageiras tropicais submetidas à deficiência hídrica. **Revista Brasileira de Zootecnia** 35, 67-74. [http:// dx.doi.org/10.1590/S1516-35982006000100008](http://dx.doi.org/10.1590/S1516-35982006000100008)

Silveira JAG, Silva SLF, Silva EM, Viégas RA (2010) Mecanismos biomoleculares envolvidos com a resistência ao estresse salino em plantas. In: Gheyi HR, Dias NS, Lacerda CF. Manejo da salinidade na agricultura: Estudos básicos e aplicados. Fortaleza: **INCTSal**. 11, 61-180.

Simmonds NW (1976) **Evolution of crop plants**. Longman, Inc., New York.

Singh R, Hemantaranjan A, Patel PK (2015) Salicylic acid improves salinity tolerance in field pea (*Pisum sativum* L.) by intensifying antioxidant defense system and preventing salt-induced nitrate reductase (NR) activity loss. **Legume Research** 38, 202-208.

Sousa JR, Gheyi HR, Brito ME, Lacerda CFD, Silva FVD, Soares FA (2016) Quantum efficiency of photosystem II and production of orange under salt stress and nitrogen fertilization. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental** 20(5), 434-440.

Szalai G, Horgosi S, Soós V, Majláth I, Balázs E, Janda T (2011) Salicylic acid treatment of pea seeds induces its de novo synthesis. **Journal of Plant Physiology** 168(3), 213-219.

Tomm GO, Giordano LDB, Santos HP, Voss M, Nascimento W, Álvares MDC (2002) Ervilha BRS Forrageira: uma nova alternativa para cobertura de solo. **Embrapa Trigo-Fôlder/Folheto/Cartilha (INFOTECA-E)**.

Schossler, T.R. et al. Salinidade: Efeitos na fisiologia e na nutrição mineral de plantas. **Enciclopédia Biosfera**, Goiânia, 8, 1563-1578, novembro (2012). ISSN 1578.