

JONAS AKENATON VENTURINELI PAGASSINI

**ÍNDICES FISIOLÓGICOS E FLAVONOIDES DE *Passiflora incarnata* L.
SUBMETIDA A DOSES DE SILÍCIO E DANO MECÂNICO**

Botucatu

2020

JONAS AKENATON VENTURINELI PAGASSINI

**ÍNDICES FISIOLÓGICOS E FLAVONOIDES DE *Passiflora incarnata* L.
SUBMETIDA A DOSES DE SILÍCIO E DANO MECÂNICO**

Dissertação apresentada à Faculdade de
Ciências Agronômicas da Unesp Câmpus
de Botucatu, para obtenção do título de
Mestre em Agronomia (Horticultura)

Orientador(a): Carmen Sílvia Fernandes
Boaro

Coorientador(a): Leandro José Grava de
Godoy

Botucatu

2020

P131i

Pagassini, Jonas Akenaton Venturineli

Índices fisiológicos e flavonoides de *Passiflora incarnata* L.
submetida a doses de silício e dano mecânico / Jonas
Akenaton Venturineli Pagassini. -- Botucatu, 2020
70 p. : il., tabs., fotos

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista
(Unesp), Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu

Orientadora: Carmen Sílvia Fernandes Boaro

Coorientador: Leandro José Grava de Godoy

1. Plantas medicinais. 2. *Passiflora incarnata* L.. 3. Silício. I.
Título.

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

Essa ficha não pode ser modificada.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

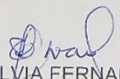
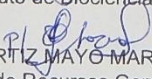
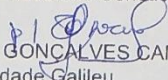
Título: *Índices fisiológicos e flavonóides de Passiflora incarnata L.
submetida a silício e dano mecânico*

AUTOR: JONAS AKENATON VENTURINELI PAGASSINI

ORIENTADORA: CARMEN SILVIA FERNANDES BOARO

COORIENTADOR: LEANDRO JOSE GRAVA DE GODOY

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


Prof.^a Dr.^a CARMEN SILVIA FERNANDES BOARO
Botânica / Instituto de Biociências de Botucatu - UNESP
Dr.^a MÁRCIA ORTIZ MAYO-MARQUES
Centro de P&D de Recursos Genéticos Vegetais / Instituto Agrônomo de Campinas
Prof. Dr. MARCIO GONÇALVES CAMPOS
Agronomia / Faculdade Galileu

Botucatu, 14 de agosto de 2020.

À minha mãe,
Carla Venturini
Dedico

AGRADECIMENTOS

Aos desafios que me fazem crescer.

Aos meus pais (George Almeida Pagassini; Carla Venturineli) e aos familiares Maria José Venturineli, Claudia Venturineli, Thales Freire Pagassini, Regina Clara Pagassini, Marcelo Almeida Pagassini, primos, irmãos e demais, pelo apoio incondicional.

À minha querida Beatriz Gouvêa Burgo, pela dedicada parceria.

À Professora Doutora Carmen Sílvia Fernandes Boaro, pela dedicada orientação e ricos ensinamentos.

Aos Professores Doutores Márcia Ortiz Mayo Marques, Marcio Gonçalves Campos, João Domingos Rodrigues e Marcelo de Almeida Silva, por presença e colaboração nas bancas de defesa e de qualificação.

Ao Professor Doutor Leandro José Grava de Godoy, pelo apoio, orientação e amizade.

À equipe da Brazbio (Andrea Higutti, Raquel Popolo Silveira Capaz e Douglas Francisco), pela franca parceria.

Aos amigos, por todo o apoio e, principalmente, pelos bons momentos. São esses: Maria Aparecida Vieira, Felipe Giroto Campos, Gustavo Ribeiro Barzotto, Alberto Mongolo Júnior, Letícia Galhardo Jorge, Ana Beatriz Onório, Brenda Alcantara, Bruna Domingos, Mayara dos Santos, amigos do Coletivo Embaúba, Valeria Tebinka dos Santos, Isabella Borges Hernandez, Mariana Ferrarini, Vinicius Alexandre, Aline Missio, Vinicius Guerreiro, Célia Rosa e amigos da família Silveira, Gisela Ferreira, amigos da família Magri, Pedro Chaves, Maurício Lima, Letícia Gutierrez, Fernando Avena, Mateus Salviano, Diógenes Freitas, Giovanni Mietto Foltran e Rodolfo Jorge.

Aos queridos professores, eternos educadores, Leandro Rodrigues (Língua Portuguesa), Ricardo Murakami (História), Marcia Santos (Ciências), Antonio Carlos Tavares Rombola (Biologia), Anderson Gouveia (Matemática), João Vicente Coffani Nunes (Botânica e afins), Marta Marcondes (Gestão ambiental), Maria Cândida Godoy Gasparotto (Doenças em plantas) e Lin Chau Ming (Etnobotânica e afins).

A todas as trabalhadoras e trabalhadores das estruturas da universidade (equipe de limpeza, pessoal do campo, pessoal da segurança), sendo esses os responsáveis pelo funcionamento do ambiente universitário.

Ao povo brasileiro, financiador deste estudo, da universidade e de suas atividades.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

“Ella está en el horizonte. Yo me acerco dos pasos y ella se aleja dos pasos. Camino diez pasos y el horizonte se corre diez pasos más allá. Por mucho que yo camine, nunca la alcanzaré. ¿Para que sirve la utopía? Para eso sirve, para caminar.”

RESUMO

Passiflora incarnata L. é uma das espécies medicinais de maior interesse farmacológico do mundo e investigações sobre seu cultivo podem resultar em aumento de biomassa e princípio ativo. Como o silício atua nos metabolismos primário e especializado em plantas e dano mecânico é previsto em cultivos comerciais (podas), objetivou-se investigar índices do metabolismo primário e especializado de *Passiflora incarnata* L. em função do fornecimento de silício e remoção da parte aérea. O ensaio foi conduzido em casa de vegetação do departamento de Bioestatística, Biologia Vegetal, Parasitologia e Zoologia (IB – UNESP, Botucatu-SP) em blocos casualizados constituídos por quatro níveis de silício (0, 1, 2 e 3 mM de SiO₂), em 5 repetições, na presença ou ausência de dano mecânico. Avaliou-se índice de polifenóis, flavonoide vitexina, trocas gasosas, fluorescência da clorofila *a*, índices fisiológicos, açúcares, peróxido de hidrogênio e peroxidação lipídica. Dano, por remoção de parte aérea, associado ao fornecimento de silício resultou em aumento de medidas pontuais de trocas gasosas e fluorescência. Na ausência de dano mecânico e com maiores concentrações de silício, foi observado aumento de peroxidação lipídica e menor teor de açúcares solúveis totais e sacarose. Plantas submetidas a 2 mM de SiO₂ revelaram elevadas matéria seca de folhas e total. Já o maior teor de polifenóis e vitexina foi verificado em plantas com 3 mM de SiO₂. Sugere-se que silício pode contribuir com o cultivo da *P. incarnata*, principalmente quando associado a dano mecânico, por remoção da parte aérea. A concentração de 3 mM de SiO₂ foi adequada para os índices fisiológicos avaliados.

Palavras-chave: Fotossíntese. Vitexina. Cromatografia líquida

ABSTRACT

Passiflora incarnata L. is one of the medicinal plants of greatest pharmacological interest in the world and research about its cultivation can result in biomass and an active ingredient increase. Silicon is a promoter of primary and specialized metabolisms in plants and mechanical damage is expected in commercial crops (pruning). Therefore, the objective was to investigate *Passiflora incarnata* L. primary and specialized metabolism indexes with silicon supply and pruning. The test was conducted in greenhouse of Biostatistics, Plant Biology, Parasitology and Zoology Department (IB - UNESP, Botucatu-SP) in randomized blocks consisting of four silicon levels (0, 1, 2 and 3 mM SiO₂, 5 repetitions) in presence or absence of mechanical damage. Polyphenols, vitexin, gas exchange, chlorophyll a fluorescence, physiological indexes, sugars, hydrogen peroxide and lipid peroxidation were evaluated. Damage (aerial parts removal) associated with the supply of silicon resulted in increased gas exchange and fluorescence measurements. Without mechanical damage and with higher concentrations of silicon, an increase in lipid peroxidation and a lower total sugars and sucrose content were observed. Plants submitted to 2 mM SiO₂ showed high leaf and total dry matter. The highest silicon concentration revealed an increase in the polyphenols and vitexin content. It is suggested that silicon may contribute to the *Passiflora incarnata* L. cultivation, especially when associated with mechanical damage, by removing the aerial part. The concentration of 3 mM SiO₂ proved to be beneficial for the physiological indexes evaluated.

Keywords: Photosynthesis. Liquid chromatography. Vitexin. Maypop

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	17
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	18
2.1	As plantas medicinais na história recente e no cenário brasileiro..	18
2.2	<i>Passiflora incarnata</i> L.....	19
2.3	Flavonoides.....	22
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	27
3.1	Caracterização da área experimental.....	27
3.2	Tratamentos e delineamento experimental.....	27
3.3	Variáveis avaliadas.....	32
3.3.1	Fluorescência da clorofila a e trocas gasosas.....	32
3.3.2	Índice de polifenóis.....	33
3.3.3	Vitexina.....	34
3.3.4	Carboidratos, peróxido de hidrogênio, peroxidação lipídica e silício foliar	35
3.3.5	Índices fisiológicos.....	36
3.3.6	Mapa de calor.....	37
3.4	Avaliação estatística.....	37
4	RESULTADOS.....	38
4.1	Fluorescência da clorofila a e trocas gasosas.....	38
4.2	Índice de polifenóis.....	45
4.3	Vitexina.....	45
4.4	Carboidratos, peróxido de hidrogênio e peroxidação lipídica.....	46
4.5	Índices fisiológicos.....	49
4.6	Teor foliar de silício.....	51
4.7	Mapa de Calor.....	52
5	DISCUSSÃO.....	53
6	CONCLUSÕES.....	60
	REFERÊNCIAS.....	61

1 INTRODUÇÃO

Passiflora incarnata L. é uma espécie entre centenas da família Passifloraceae. Muitos autores indicam a América do Norte como provável centro de sua origem. A espécie é estudada no âmbito farmacológico, por apresentar substâncias químicas de interesse à saúde. Além de integrar importantes farmacopeias, como a americana e a europeia, o Sistema Único de Saúde (SUS) demonstra interesse no uso de *P. incarnata* ao catalogar a espécie na Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS (RENISUS). A planta é usada na produção de importantes fitoterápicos ansiolíticos comercializados no Brasil.

Entre as substâncias químicas sintetizadas nas plantas encontram-se os flavonoides, produtos do metabolismo especializado, que dependem de recursos gerados no metabolismo primário. Um dos principais flavonoides de *Passiflora incarnata* L. é a flavona vitexina, substância destacada na literatura por suas ações antioxidante, cardioprotetora, anticâncer, anti-inflamatória, antidiabética, benéfica à memória e ao sistema nervoso central.

Silício é um mineral que pode influenciar o metabolismo primário e atuar como sinalizador à expressão de genes que ativam enzimas participantes da síntese de flavonoides. Dano mecânico, como aquele realizado por remoção da parte aérea, também pode influenciar os metabolismos primário e especializado.

Avaliações da fotossíntese, carboidratos, peróxido de hidrogênio, lipoperoxidação, polifenóis e vitexina de plantas submetidas à variação de silício e dano mecânico podem auxiliar o conhecimento de condições que levem a aumento de biomassa e princípio ativo, com possibilidade de serem empregadas na cadeia produtiva de *P. incarnata*.

Este estudo objetivou investigar índices do metabolismo primário e especializado de *Passiflora incarnata* L. em função do fornecimento de diferentes concentrações de silício e remoção de parte aérea.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 As plantas medicinais na história recente e no cenário brasileiro

O uso histórico das plantas para fins medicinais é amplamente citado na literatura, abrangendo registros em diversas partes do planeta (ROCHA, 2015; ALLEN, 2012; PINTO et al., 2002; REZAEIZADEH et al., 2009). Além disso, há fatos na história recente que corroboram com a relevância do tema.

No final do último século, a Organização Mundial da Saúde (OMS) indicou que 80% da população global utilizavam práticas tradicionais nos seus cuidados básicos de saúde, sendo 85% dessa parcela representada por usuários de plantas medicinais. Em 1978, a 31ª Assembleia em Alma-Ata (promovida pela OMS e pelo Fundo das Nações Unidas para a Infância - UNICEF), debateu a importância da medicina alternativa, especialmente às populações dos países em desenvolvimento (OMS, 1978), estabelecendo diretrizes. A partir delas, diversas nações iniciaram o delineamento de políticas para a normatização da fitoterapia.

Mesmo o Brasil possuindo legislação específica para registro de medicamentos fitoterápicos desde 1967 (BRASIL, 1967), a criação do Programa de Pesquisa de Plantas Medicinais da Central de Medicamentos (CEME), em 1982, é tida como o marco inicial da fitoterapia institucionalizada. Esse programa tinha como objetivo desenvolver a fitoterapia, embasando-se no valor farmacológico de preparações tradicionais.

Na última década, as políticas foram expandidas e intensificadas. Em 2006 foi aprovada a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares para o Sistema Único de Saúde, com indicações sobre ações, planos e serviços sobre plantas medicinais, fitoterapia, homeopatia, medicina tradicional chinesa e acupuntura, a partir das Secretarias de Saúde dos estados e municípios (BRASIL, 2006a).

Na sequência, o governo federal aprovou a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos (por meio do Decreto 5.813 de 22 de junho de 2006), como constituinte das políticas públicas de meio ambiente, saúde, desenvolvimento econômico e social (BRASIL, 2006b).

Essas políticas tiveram importantes papéis na alteração das normas regulatórias de plantas medicinais e fitoterápicos, abrangendo as diferentes classes de plantas, referentes ao tipo de uso e processo, ou seja, *in natura*, drogas vegetais

notificadas, medicamentos fitoterápicos manipulados e industrializados (CARVALHO et al., 2013).

Foi criado em 2007 o Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos (Portaria Interministerial nº 2960), que definiu ações, recursos, prazos, ministérios e/ou órgãos gestores envolvidos nas diretrizes políticas. Posteriormente, o Ministério da Saúde (BRASIL, 2009), criou a Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS (RENISUS), indicando as espécies a serem estudadas.

Com quase 15 anos a partir das políticas de 2006 e do programa de 2007, diversas discussões e reflexões foram realizadas, sem que, no entanto, o assunto tenha sido minimamente esgotado. Na atualização da Relação Nacional de Medicamentos Essenciais Disponibilizados no Sistema Único de Saúde (RENAME), apenas 12 fitoterápicos estão registrados (BRASIL, 2020), assim como já constavam na versão de 2017 (BRASIL, 2017), o que sugere que expansão desse número pode ocorrer em futuro próximo. Deve ser destacado que entre 2013 e 2016, a demanda da população por plantas medicinais junto ao Sistema Único de Saúde (SUS) cresceu 161% (BRASIL, 2016).

Mesmo com o baixo registro de medicamentos fitoterápicos entre 2008 e 2016, US\$ 554,5 milhões resultaram da comercialização nesse setor no Brasil em 2015, o que representa aumento de 6% em relação ao ano anterior. As classes hipnóticas/sedativas e expectorantes são responsáveis pelos maiores números constatados, respectivamente, US\$ 83,1 milhões e 72,6 milhões (LAZZARINI, 2015).

Em 2016, estimou-se crescimento, 12% ao ano, de consumo de medicamentos fitoterápicos, superior ao crescimento daqueles não fitoterápicos (GLOBAL INDUSTRY ANALYSTS, 2016).

Embora tenha ocorrido redução igual a 30% nas solicitações de registros de fitoterápicos entre 2018 e 2019, nesse último ano, o registro aumentou (ABIFISA, 2020).

2.2 *Passiflora incarnata* L.

Passiflora incarnata L. é uma entre centenas de espécies da família Passifloraceae (DHAWAN; DHAWAN; SHARMA, 2004), classe Equisetopsida, ordem Magnoliidae, família Passifloraceae, gênero *Passiflora* (TROPICOS, 2018).

Seu provável centro de origem é o atual sudeste estadunidense, especialmente os territórios contornados por Virginia, Missouri, Texas e Flórida (KILLIP, 1960). Há

registros arqueológicos e relatos do uso popular da espécie nessa região (GREMILLION, 1989; DHAWAN; DHAWAN; SHARMA, 2004).

Historicamente, *P. incarnata* é utilizada por suas propriedades medicinais e seus compostos atuam no sistema nervoso central (DHAWAN; KUMAR; SHARMA, 2003). São destacados seus efeitos ansiolítico, sedativo e antinevrálgico (SOULIMANI et al., 1997), além do potencial para o tratamento do Parkinson (MARJAMA-LYONS; KOLLER, 2001; INGALE; KASTURE, 2017). Possível efeito anti-inflamatório, antiespasmódico e anti-hipertensivo é relatado (PRABHAKAR et al., 1981). Outra importância da espécie relaciona-se ao uso ornamental por possuir vistosas flores e arquitetura favorável (LORENZI; MATOS, 2002).

A espécie integra algumas farmacopeias, entre elas a americana e a europeia (EUROPEAN PHARMACOPEIA, 2016; UNITED STATES PHARMACOPEIAL, 2006). *P. incarnata* compõe também a RENISUS (BRASIL, 2009), mas ainda não é componente da RENAME. É também protagonista na comercialização de fitoterápicos, sendo uma das espécies de plantas medicinais mais comercializadas no Brasil (LAZZARINI, 2015).

Trata-se de planta herbácea com folhas simples, trilobadas, com filotaxia alternada, pecioladas, serradas e pubescentes. Possuem estípulas e gavinhas nas axilas foliares (LORENZI, MATOS, 2002). Há duas gemas meristemáticas em cada axila foliar, sendo a gema superior responsável por ramificação e a inferior por geração de gavinha ou gavinha e flor (MACDOUGAL, 1994).

As flores ocorrem em pedúnculos de até 10 cm de comprimento, cada uma com três brácteas e dois nectários. Botões florais têm crescimento de 2 a 3 cm até a antese. Quando abertas, as flores podem alcançar até 9 cm de largura, com estrutura complexa, comum ao gênero *Passiflora*. A corona proeminente contempla cinco ou seis séries de filamentos. As séries mais exteriores têm de 10 a 20 mm de comprimento, possuindo coloração roxa, rosa e branca. As outras séries são muito menores (2 a 4 mm de comprimento) (FRANKIE; VINSON, 1977).

Apresentam cinco estames, um ovário e três estiletes. Seus frutos são ovalados, verdes com polpas brancas (LORENZI; MATOS, 2002) e podem atingir até 7 cm de comprimento. Ocasionalmente, apresentam de três a seis suturas longitudinais. Quando imaturos, os frutos apresentam rendilhado de coloração esverdeada e maduros, esse rendilhado apresenta coloração entre amarelo e marrom e textura sulcada (MCGUIRE, 1998).

Os efeitos medicinais de *P. incarnata* estão relacionados às substâncias provenientes do metabolismo especializado e seu perfil químico têm sido estudado, nas últimas décadas, verificando-se elevado teor de flavonoides c-glicosilados em sua parte aérea (MARKHAM; GEIGER, 1994; QIMIN et al., 1991; RAFFAELLI et al., 1997).

Os flavonoides mais referidos para a espécie são orientina, isoorientina, lucenina-2, vitexina, isovitexina, vicianina-2, shaftosídeo e isoschaftosídeo (HEIGL; FRANZ, 2003; QIMIN et al., 1991; REHWALD; MEIER; STICHER, 1995; SCHILCHER, 1968); apigenina-7-o-glicosídeo e luteolina-7-O-glicosídeo (PIETROGRANDE et al., 2010); hiperosídeo (HAJIMEHDIPOOR et al., 2007); isorientina-2"-o-glicosídeo, isovitexina-2"-o-glicosídeo e isocaparina-2"-oglicosídeo (QIMIN et al., 1991; PROLIAC; RAYNAUD, 1986; RAHMAN et al., 1997) e; saponarina e swertisina (REHWALD; MEIER; STICHER, 1995; PASTENE et al., 2000).

Entre esses compostos, a vitexina é destacada por seus efeitos biológicos no sistema nervoso central (antinociceptivo, anticonvulsivante e efeitos sobre ansiedade), ações na modulação da memória e efeitos antioxidante, anti-inflamatório, antidiabético e anticâncer (ASLAM et al., 2015; DE OLIVEIRA et al., 2018).

Fatores bióticos e abióticos, tais como água, luz, temperatura, nutrição, características do solo, herbivoria, agentes fitopatogênicos e fenologia influenciam o metabolismo primário e, por consequência, o metabolismo especializado, podendo levar as plantas à adaptação (ALVAREZ-CASTELLANOS; BISHOP; PASCUAL-VILLALOBOS, 2001).

Estudos realizados na Itália e no Brasil demonstraram maiores conteúdos de orientina, isoorientina e rutina em *P. incarnata*, no Brasil (PEREIRA et al., 2004). A espécie também apresenta alteração no perfil químico em função de diferentes manejos nutricionais, como a adubação (CAMPOS et al., 2015).

Na produção de plantas medicinais, portanto, deve-se dar ênfase não apenas para a biomassa, mas também ao rendimento de princípio ativo. Respostas teóricas e práticas que forneçam informações aos pesquisadores e produtores de *Passiflora incarnata* L. devem ser objeto de estudo.

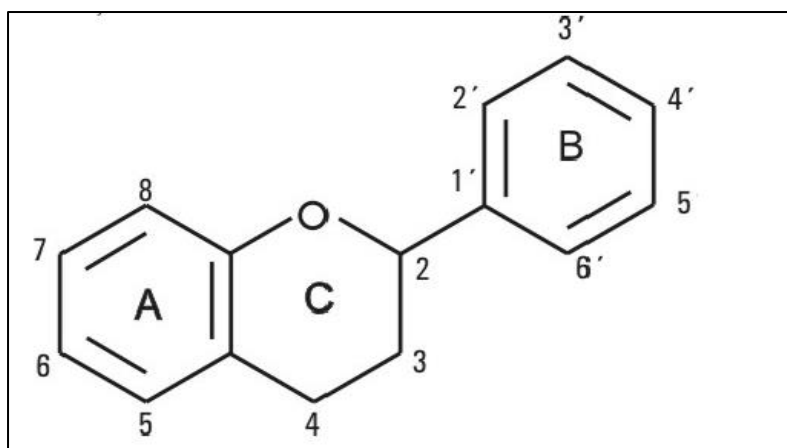
2.3 Flavonoides

A capacidade dos vegetais em sintetizar metabólitos como resposta ao ambiente envolve complexo metabolismo especializado. Um dos grupos de metabólitos especializados mais conhecido é o dos flavonoides, com mais de 8.000 compostos (FERRER et al., 2008). São polifenóis de baixo peso molecular presentes nas mais variadas espécies vegetais (KOES; QUATTROCCHIO; MOL, 1994).

Esses compostos apresentam funções variadas, havendo compreensão de algumas fundamentais para as plantas como, pigmentação das flores, frutas e sementes, atração de polinizadores e dispersores, proteção contra luz ultravioleta (atuação no sistema antioxidante), defesa de plantas contra agentes fitopatogênicos, germinação do pólen e sinalização na relação entre plantas e agentes microbianos (SCHIJLEN et al., 2004);

O interesse humano nesses compostos é crescente, em função das propriedades medicinais de alguns deles. Os flavonoides têm um esqueleto básico caracterizado por um núcleo *flavan* constituído por dois anéis aromáticos com seis átomos de carbono (anéis A e B), conectados por um heterociclo que inclui três átomos de carbono (anel C) (Figura 1). As modificações no anel C diferenciam as classes estruturais (FORKMANN; MARTENS, 2001).

Figura 1 - Estrutura geral dos flavonoides



Fonte: Ferreira; Colombo (2011)

Duas classes de genes podem ser diferenciadas na rota dos flavonoides, genes estruturais, que codificam enzimas que participam diretamente na biossíntese dos flavonoides e genes reguladores, que controlam a expressão dos genes estruturais. Grande parte dos flavonoides tem como precursores da sua síntese malonil-CoA e p-

coumaroil-CoA, derivados do metabolismo de carboidratos e da via dos fenilpropanoides, respectivamente (SCHIJLEN et al., 2004).

A biossíntese de flavonoides ocorre no citosol da célula e as enzimas responsáveis são complexadas entre si e alocadas na membrana do retículo endoplasmático. Alguns exemplos dessas enzimas são dioxigenase 2-dependente de oxoglutarato (OGD), citocromo P450, e glicosil transferase (GT) (TANAKA et al., 2008).

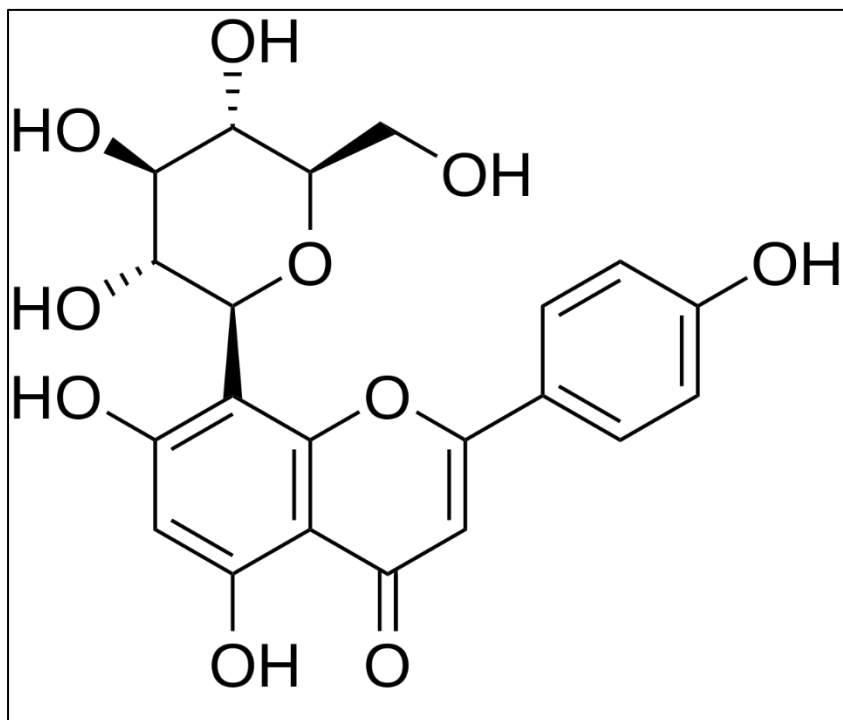
Fenilalanina e malonil-CoA, produzidos na via do chiquimato e do ciclo do ácido tricarbóxico, são os principais precursores da biossíntese dos flavonoides. Dessa forma, a biossíntese dos flavonoides é mista (DAVIES, 2008).

Na via do chiquimato, de onde provêm anéis B e C, fenilalanina converte-se em ácido cinâmico com atuação da enzima fenilalanina amônia-liase (PAL), passando por um processo de hidroxilação até a formação do ácido p-cumárico, com mediação da cinamato 4-hidroxilase (C4H). O ácido p-cumárico é convertido em 4-cumaroil-CoA pela p-cumarato CoA ligase (4CL) (DINELLI et al., 2006; DAVIES, 2008).

Na via do acetato, onde anel A é formado, p-cumaroil CoA é produto da chalcona sintase e responsável pela formação do esqueleto dos flavonoides a partir da condensação do próprio p-cumaroil CoA com três moléculas de malonil-CoA (BESSEAU et al., 2007).

Para a biossíntese da vitexina (Figura 2), p-cumaroil-CoA, que precede a via do chiquimato é convertida em naringenina-chalcona por intermédio da chalcona-sintase, sendo convertida em naringenina pela chalcona-isomerase. Naringenina pode ser convertida em 8-C-glucosilnaringenina que resultará em vitexina. No entanto, naringenina pode ser convertida em apigenina, pela atuação das enzimas flavona-sintase I e II, que pode ser convertida em vitexina, isovitexina ou moléculas delas derivadas (KANEHISA et al., 2006; KANEHISA et al., 2012; OKUDA et al., 2008).

Figura 2 - Estrutura da flavona vitexina



Fonte: Kanehisa et al. (2006); Kanehisa et al. (2012); Okuda et al. (2008)

2.4 Metabolismo do silício e sistema antioxidante

O silício é o segundo elemento mais abundante na crosta terrestre, depois do oxigênio (SJÖBERG, 1996; EXLEY, 1998; WEDEPOHL, 1995), estando presente no solo majoritariamente como H_4SiO_4 (DOVE; ICENHOWER, 1997).

O elemento tem várias aplicações às atividades humanas, sendo utilizado na indústria alimentícia e agrícola. Há décadas seu efeito benéfico ou sua essencialidade para as plantas é discutido.

A ação do silício nos organismos vegetais geralmente está relacionada à superação de estresse, como redução de impactos dos metais pesados, salinidade, seca, desequilíbrio nutricional e ação de agentes bióticos nocivos. Esses mecanismos de superação de estresses podem ocorrer por meio da ampliação do sistema radicular, regulação de biossíntese de hormônios vegetais, homeostase de íons, alteração no sistema antioxidante (enzimático e não enzimático), melhor eficiência do uso e absorção de água, redução da absorção e imobilização dos metais pesados, formação de barreiras físicas e químicas, estímulo à produção de exsudatos do sistema radicular, alterações estruturais a nível celular, distribuição dos nutrientes e aumento de crescimento ou biomassa das plantas (ETESAMI; JEONG, 2018).

Espécies reativas de oxigênio (ERO) são originárias nos cloroplastos mitocôndrias e peroxissomos (CAO et al., 2015) e resultam de estresses nas plantas (SELMAR; KLEINWÄCHTER, 2013). As ERO podem ampliar a atividade do complexo sistema antioxidante por duas vias, enzimática e não enzimática. Na primeira, há aumento da atividade de enzimas que neutralizam as ERO e na segunda, compostos não enzimáticos são sintetizados para a mesma função (WU et al., 2017).

O próprio sistema de transporte de elétrons da fotossíntese pode causar danos celulares por meio da formação de ERO, com potencialidade de atuar como sinalizadores de diferentes respostas de defesa na planta (SELMAR; KLEINWÄCHTER, 2013).

Produção e acúmulo de ERO podem levar a severa desorganização da estrutura celular, com danos às organelas e ao sistema de membrana plasmática. As plantas desenvolveram complexo sistema antioxidante para a manutenção da homeostase, por meio de antioxidantes enzimáticos (superóxido dismutase, SOD; peroxidase, POD; catalase, CAT; ascorbato peroxidase, APX; redutase desidroascorbato, DAR; guaiacol peroxidase, GPOD; e glutathione redutase, GR) e não enzimáticos (carotenoides, aminoácidos não proteicos, compostos fenólicos e tocoferóis) (KIM et al., 2017).

Estudos que demonstram a influência do silício no sistema antioxidante têm sido cada vez mais frequentes e a presença do elemento pode atuar na regulação da atividade das enzimas antioxidantes e na biossíntese de metabólitos especializados com atividade antioxidante (WU et al., 2017).

Espinafre (*Spinacia oleracea* L.) e tomate (*Solanum lycopersicum* L.), submetidos a tratamentos de salinidade e secagem com aplicação de 5 mM de silício apresentaram aumento de atividade das enzimas antioxidantes superóxido dismutase (SOD), ascorbato peroxidase (APX) catalase (CAT) e lipoxigenase (LOX) (GUNES et al., 2007). A produção de compostos não enzimáticos com atividade no complexo antioxidante, relacionados à presença de silício, envolve a produção de moléculas hidrofílicas (glutathione, ácido ascórbico), aminoácidos não proteicos e compostos fenólicos como os flavonoides (AL-AGHABARY; ZHU; SHI, 2004; GUNES et al., 2007; FAWE et al., 1998).

Em pepino (*Cucumis sativus* L.), cevada (*Hordeum vulgare* L.), milho (*Zea mays* L.) e em dois porta-enxertos da videira (*Vitis* sp.), silício contribuiu com prevenção de dano da membrana celular, diminuindo formação de malondialdeído (MDA), indicativo

de peroxidação lipídica (ZHU et al., 2004; LIANG et al., 2003; MOUSSA, 2006; SOYLEMEZOGLU et al., 2009).

Em *Solanum lycopersicum* L. submetido a estresse hídrico, silício na concentração igual a 2,5 mmol L⁻¹ promoveu aumento da expressão dos genes envolvidos com a fotossíntese (*PetE*, *PetF*, *PsbP*, *PsbQ*, *PsbW* e *Psb28*), aumento da energia quântica potencial (F_v'/F_m'), energia quântica efetiva ($\Phi PSII$), taxa de transporte de elétrons (ETR) e quenching fotoquímico (qP), diminuindo degradação das clorofilas *a*, *b* e carotenoides (ZHANG et al., 2018).

Alterações dos teores de clorofila também são possíveis efeitos do silício. Trigo (*Triticum aestivum* L. cv Hengmai5229) revelou aumento dos teores da clorofila *a* quando 200 e 400 de mg SiO₂ kg⁻¹ solo foram aplicados e aumento dos teores da clorofila *b* e total (*a+b*) com 100, 200 e 400 mg SiO₂ kg⁻¹ solo (YAO, 2011).

No mesmo estudo, silício também influenciou teores de metabólitos especializados. Quando fornecido nas concentrações iguais a 200 e 400 mg SiO₂ kg⁻¹ solo, o teor de prolina aumentou e quando as concentrações foram iguais a 100, 200 e 400 mg SiO₂ kg⁻¹ solo, os teores de flavonoides totais e antocianinas aumentaram. Esses metabólitos estão relacionados à defesa antioxidante não enzimática das plantas e o Si pode ser promotor direto desse mecanismo de defesa (YAO, 2011).

O silício participa da ativação de genes no processo de resistência sistêmica adquirida contra agentes bióticos, com produção de fitoalexinas, fenóis, fenilpropanoides (FAWE et al., 2001) e flavonoides (OHATA et al., 1963). Investigação sobre incidência de *Magnaporthe grisea* (Hebert) Barr no arroz (*Oryza* spp.) demonstrou aumento de flavonoides, ácido ferúlico, ácido p-cumárico, ácido p-hidroxibenzoico e ácido vanílico nas células da epiderme e do mesofilo foliar, revelando resistência (OHATA et al., 1963). Em *Rosa hybrida* L. verificou-se aumento da defesa vegetal ao ataque de *Podosphaera pannosa* (Wallr.: Fr), com diferenças na produção de metabólitos especializados entre amostras com e sem incremento de silício. Houve aumento na produção de rutina, quercetina e kaempferol-3-o-rutinosídeo (SHETTY et al., 2011). Foi constatada a presença do flavonol aglicona ramnetina (3,5,3', 4'-tetrahidroxi-7-O-metoxiflavona em pepino (*Cucumis sativus* L.), quando houve aplicação de silício. Extratos das folhas apresentaram melhor atividade antifúngica (FAWE et al., 1998).

Aplicação de silício na espécie medicinal *Dimorphandra mollis* Benth. (Fava-d'anta) aumentou flavonoides totais (DE PAULA et al., 2008).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Caracterização da área experimental

O experimento foi conduzido em casa de vegetação do Departamento de Bioestatística, Biologia Vegetal, Parasitologia e Zoologia - Instituto de Biociências - Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, município de Botucatu (SP), coordenadas geográficas 22° 53' 09" O 48° 26' 42" S e altitude média de 800 m.

De acordo com a classificação de Köppen, o clima de Botucatu é Cwa (subtropical mesotérmico úmido). O mês de maiores temperaturas é fevereiro (média de 23,1° C.), sendo julho o mais frio (média de 17,1° C.). Em janeiro, a umidade relativa do ar é maior (em média, 79,0%), sendo menor em agosto (65,5%).

A casa de vegetação onde o experimento foi instalado é do tipo *Van der Hoeven* com *pad fan* e possui controle de temperatura, que variou entre 20° e 30° C.

3.2 Tratamentos e delineamento experimental

As plantas foram submetidas à variação de silício e ausência / presença de dano mecânico realizado por meio da retirada da parte aérea. A retirada foi realizada a 15 cm a partir da base do vaso, aos 136 dias após semeadura (DAS), mantendo-se folhas completamente expandidas nesse intervalo de 15 cm.

O SiO₂ utilizado foi da Evonik®, cujas especificações encontram-se na Tabela 1. O produto foi adicionado a 1,0 L de água deionizada, sob agitação, aquecimento à 80° C e simultânea adição de 300 mL de hidróxido de sódio (NaOH) 1,0 M, que garantiu pH adequado para sua solubilização.

O experimento foi instalado em blocos casualizados, com quatro níveis de tratamento com silício (0,0, 1,0 2,0 e 3,0 mM de dióxido de silício SiO₂) na ausência ou presença de dano mecânico, com 5 repetições e um total de 40 unidades amostrais (40 vasos com 3 plantas cada).

Tabela 1 - Atributo e especificação de SiO₂ fornecido pela empresa Evonik® e utilizado para a composição dos diferentes níveis de SiO₂ aos quais *P. incarnata* foi submetida

Atributo	Especificação
Aspecto	Pó fino amorfo e higroscópico
Cor	Branco
Odor	Característico
pH	Entre 4,0 e 8,0
Solubilidade	Praticamente insolúvel em água e ácidos minerais exceto ácido fluorídico. Insolúvel em etanol e outros solventes orgânicos. Solúvel em soluções hidróxidos alcalinos
Perda por Dessecação	No máximo 5%.
Cloretos	No máximo 0 1% (1000 ppm).
Sulfatos	No máximo 0 5% (5000 ppm).
Metais pesados	No máximo 0 003% (30 ppm).
Identificação	Desenvolve-se coloração amarela intensa
Doseamento	Contém no mínimo 99% e no máximo 100% de SiO ₂ em relação a substância incinerada.

Para a decisão das concentrações de silício às quais as plantas foram submetidas, amostras constituídas por água deionizada sem SiO₂ e solução nutritiva de Hoagland e Arnon n°2 (1950) com adição de SiO₂ nas concentrações de 0,25, 0,5 e 1,0 mM foram testadas segundo Korndörfer et al. (2004) e podem ser observadas na Tabela 2. Avaliou-se a concentração de silício na amostra em função das concentrações de SiO₂ adicionadas à solução nutritiva.

Tabela 2 - Avaliação de concentração de SiO₂ em água deionizada sem SiO₂ e solução nutritiva de Hoagland e Arnon n°2 (1950) com adição de SiO₂ nas concentrações de 0,25, 0,5 e 1,0 mM

Amostra	silício (mg L ⁻¹)
Água deionizada	Traço*
0,25 mM de SiO ₂ + solução nutritiva	11,15
0,5 mM de SiO ₂ + Solução nutritiva	24,66
1,0 mM de SiO ₂ + Solução nutritiva	57,14

*traço - concentração abaixo de 1,5 mg L⁻¹. Ajuste linear R = 0,9884

A propagação da *P. incarnata* variedade CF01 ocorreu por semeadura em substrato padrão Carolina Soil®, em 02 de dezembro de 2018. Aos 81 dias após a

semeadura (DAS), as mudas foram transferidas para sistema hidropônico (Figuras 3 e 5), onde permaneceram durante 15 dias. Nesse período, três plantas foram mantidas em cada vaso, com solução nutritiva nº2 de Hoagland e Arnon (1950), a 25% de força iônica. Aos 96 DAS elevou-se a força iônica da solução nutritiva para 50%. Aos 123 DAS, dióxido de silício, SiO_2 em diferentes níveis foi adicionado, ou não, para a composição das diferentes concentrações de silício às quais a espécie foi submetida, tendo sido mantida a solução nutritiva a 50% da força iônica (Tabela 3).

Tabela 3 - Composição da solução nutritiva de Hoagland e Arnon nº2 (50% da força iônica) para cultivo de *P. incarnata*, com diferentes níveis de SiO_2

Sais	Solução estoque (g L ⁻¹)	Solução nutritiva (mL L ⁻¹)	Solução nutritiva
Macronutrientes			mmol L ⁻¹
$\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$	115,08	0,50	0,50
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	236,16	2,00	2,0
KNO_3	101,1	3,00	3,0
$\text{Mg}(\text{SO}_4) \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	246,48	1,00	1,0
Solução Micronutrientes			μmol L ⁻¹
H_3BO_3	2,86		
$\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	1,81		
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,22	0,50	37,67
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0,08		
$\text{H}_2\text{MoO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	0,02		
Solução de Fe			μmol L ⁻¹
EDTA Bissódico	26,10	0,50	160
$(\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_8\text{Na}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O})$	24,90		
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$			
		0,00	0,0
		2,00	1,0
SiO_2 (mmol L ⁻¹)	30,03	4,00	2,0
		6,00	3,0

Aos 136 DAS, uma das três plantas do vaso foi coletada, separada em folha, caule e raiz e submetida à secagem em estufa de circulação forçada de ar à 38°C. Após 96 horas avaliou-se massa seca dos diferentes órgãos, determinando-se índices fisiológicos de crescimento das plantas submetidas a diferentes concentrações de silício.

Aos 136 DAS realizou-se dano mecânico (Figura 4), por remoção da parte aérea de uma das plantas remanescentes no vaso, tendo sido realizado corte a 15 cm da base do vaso. Foram coletadas amostras de folhas e parte dessas folhas foi

submetida a secagem a 38°C por 96 horas, para avaliação do flavonoide vitexina e outra parte foi armazenada em nitrogênio líquido para as avaliações bioquímicas.

Aos 169 DAS, com o crescimento da parte aérea dessa planta, nova coleta de folhas ocorreu para determinação de carboidratos, H_2O_2 , peroxidação lipídica, vitexina e teor foliar de silício nas plantas submetidas a diferentes níveis de SiO_2 , na presença ou ausência de dano mecânico.

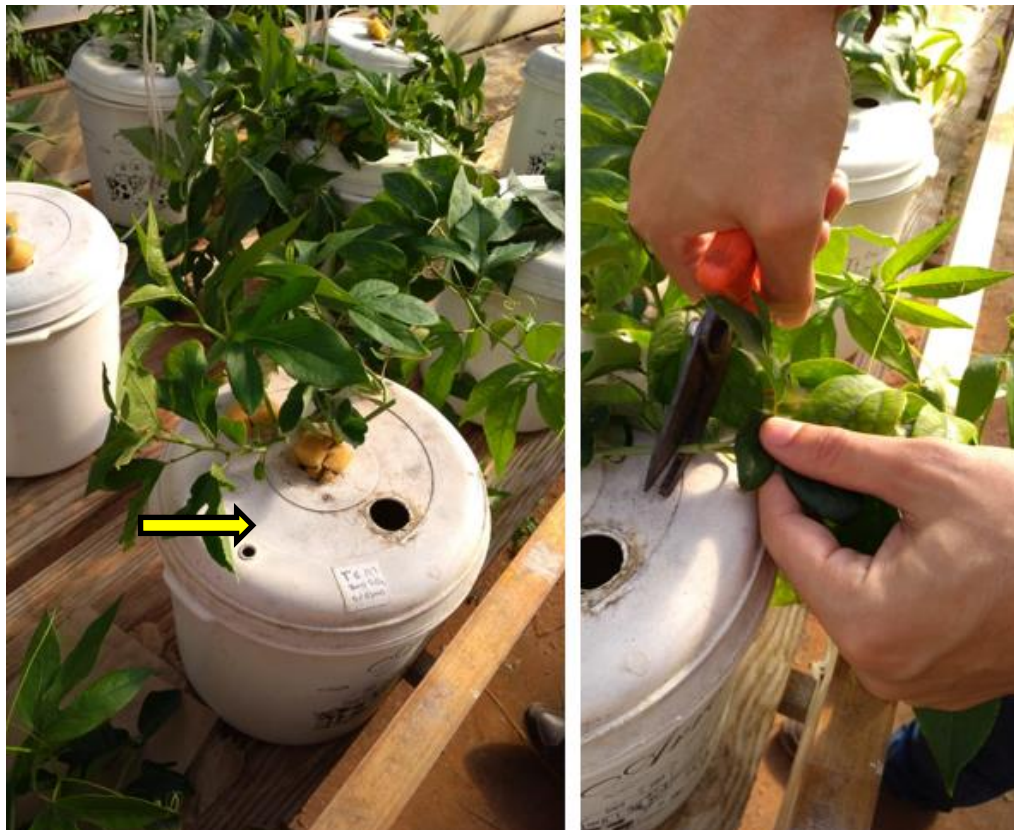
Ao final do período de avaliação, aos 169 DAS, a terceira planta remanescente no vaso foi coletada (raiz, caule e folhas) e após determinação da área foliar, foi comparada por análise de crescimento com a planta coletada aos 136 DAS (Figura 3).

Foram realizadas medidas não destrutivas para avaliação de polifenóis por sensor óptico, aos 137 e 165 DAS, trocas gasosas e fluorescência da clorofila *a*, aos 140 e 169 DAS.

Figura 3 - Plantas de *P. incarnata* em vasos com solução nutritiva cultivadas com diferentes níveis de SiO_2 , na presença ou ausência de dano mecânico



Figura 4 - Plantas de *P. incarnata* submetidas ao dano mecânico, por retirada da parte aérea aos 136 dias após a semeadura



A seta indica o local de onde foi retirada a planta na primeira coleta, aos 136 DAS.

Figura 5 - Plantas de *P. incarnata* em vasos com solução nutritiva cultivadas com diferentes níveis de SiO_2 , na presença ou ausência de dano mecânico, aos 92 dias após semeadura



3.3 Variáveis avaliadas

3.3.1 Fluorescência da clorofila a e trocas gasosas

Trocas gasosas foram avaliadas com a utilização do equipamento com sistema aberto de fotossíntese e analisador de CO₂ e vapor d'água por radiação infravermelha (*Infra Red Gas Analyser – IRGA*, modelo GFS-3000 - Walz) e fluorescência da clorofila a foi avaliada com utilização de fluorômetro portátil de luz modulada acoplado ao GFS 3000. As avaliações ocorreram entre 09h e 11h e folha saudável foi selecionada para leitura, preferencialmente a segunda ou terceira folha totalmente expandida (Figura 6).

Energia dissipada na forma de calor (D), energia não dissipada e não utilizada na fase fotoquímica (Ex), eficiência quântica potencial (Fv'/Fm'), quenching fotoquímico (qL), taxa de transporte de elétrons (ETR) e eficiência quântica efetiva do fotossistema II ($\Phi PSII$) compuseram a avaliação da fluorescência da clorofila a.

Variáveis das trocas gasosas, taxa de assimilação de CO₂ (A_{net} , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), taxa de transpiração (E , $\text{mmol vapor d'água m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) e condutância estomática (G_s , $\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) foram avaliadas. Além disso, a eficiência do uso da água instantânea (EUA_i , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mmol H}_2\text{O}^{-1}$) foi obtida por meio da relação entre assimilação de CO₂ e taxa de transpiração (A_{net}/E) e a eficiência da carboxilação da Ribulose 1,5-difosfato carboxilase/oxigenase (RuBisCO) foi obtida pela relação da taxa de assimilação líquida de CO₂ com concentração interna de CO₂ na câmara subestomática (A_{net}/C_i , $\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1} \text{ Pa}^{-1}$).

Figura 6 - Folhas de *Passiflora incarnata* L. avaliadas por meio da utilização do IRGA (*Infra Red Gas Analyser* – IRGA, modelo GFS-3000 - Walz) e fluorômetro portátil de luz modulada



3.3.2 Índice de polifenóis

Polifenóis foram avaliados pelo sensor óptico Dualux Scientific® a 375 nm (Figura 7). A medição se baseia no princípio de absorção do ultravioleta na epiderme foliar, com uma dupla excitação da clorofila. Dois feixes de luz são emitidos, em 375 nm (absorvido pelos polifenóis) e 650 nm (penetra na epiderme). A radiação ultravioleta não absorvida pelos polifenóis excita a clorofila no mesofilo foliar. A fluorescência dessa clorofila que passa a ser submetida aos dois comprimentos de onda é proporcional à absorção de raios ultravioletas, resultando em um teor estimado de polifenóis (GOULAS et al., 2004).

Essas avaliações, aos 137 e 165 DAS, foram realizadas a partir do posicionamento dos leitores não destrutivos nos dois lados das 2ª e 3ª folhas de cada planta, totalmente expandidas, evitando-se a nervura central, contadas a partir do topo.

Figura 7 - Folhas de *Passiflora incarnata* L. avaliadas por posicionamento do equipamento Dualux Scientific® em para determinação do índice de polifenóis a 375 nm



3.3.3 Vitexina

Avaliação da vitexina ocorreu de acordo com a metodologia descrita por Wosch et al. (2017). Para tanto, 200 mg de folhas secas (38°C) trituradas foram adicionadas a 8 mL de etanol 60% em tubos de ensaio de 15 mL. Na sequência, tubos foram agitados em vórtex (15 segundos) e submetidos a banho em aparelho com ultrassom (30 minutos). Cada extrato foi filtrado com algodão e o volume foi completado com solvente extrator (etanol). Amostras foram filtradas com filtro Millex® LCR (membrana PTFE de 0,45 µm 13 mm não estéril) e acondicionadas em frascos de vidro âmbar a 4°C.

Foi realizada quantificação de vitexina nas amostras utilizando Cromatógrafo líquido de alta eficiência (uvHPLC focused Thermo Fisher-Scientific) com bomba gradiente e detector UVVIS e utilização de coluna de fase reversa C₁₈ (150 x 4,6mm e diâmetro de partícula de 5µm). A fase móvel foi constituída por gradiente de ácido acético a 0,5% em água ultrapura (A), metanol (B) e acetonitrila (C), grau HPLC, com vazão de 1mL/min por 30 minutos e comprimento de onda de detecção de 340 nm. O padrão utilizado foi da Sulpleco®, grau de pureza ≥95% e a curva de linearidade da vitexina apresentou coeficiente de correlação $r = 0,9959$.

Tabela 4 - Proporções da fase A, B e C utilizada nas análises em HPLC para detecção e separação de vitexina em amostra de extrato foliar de *P. incarnata*

Tempo (min)	% A	% B	% C
Início	75	15	10
25	62	20	18
30	75	15	10

3.3.4 Carboidratos, peróxido de hidrogênio, peroxidação lipídica e silício foliar

A extração dos açúcares solúveis totais ocorreu por meio de extração tripla, com etanol 80% e sobrenadantes resultantes das três extrações, unidos. Além disso, o pellet proveniente dessa etapa foi congelado (GARCIA et al, 2006). Já a quantificação dos açúcares solúveis totais ocorreu pelo método antrona, com leitura em espectrofotômetro a 620 nm, expressos em curva padrão de glicose (MORRIS, 1948, YEMM; WILLIS, 1954).

Açúcares redutores foram quantificados com o uso do ácido dinitrosalicílico (DNS), com leitura a 540 nm e curva expressa em padrão glicose (MILLER, 1959). Quantificação da sacarose ocorreu com o uso de antrona + KOH 30%, com leitura 620 nm e curva expressa em padrão sacarose (PASSOS, 1996).

Amido foi extraído por tripla extração com ácido perclórico a 52% gelado e os sobrenadantes foram unidos em falcon até a leitura. A determinação do amido foi realizada pelo método de antrona, e a leitura ocorreu a 620 nm, com curva de padrão de glicose (GARCIA et al, 2006).

Conteúdo de H₂O₂ foi determinado com ácido tricloroacético (TCA) e leitura a 390 nm (ALEXIEVA et al., 2001) e peroxidação lipídica foi determinada com ácido tiobarbitúrico (TBA) e ácido tricloroacético (TCA) (TEISSEIRE; GUY, 2000).

Teor foliar de silício foi determinado com uso de ácido clorídrico e molibdato de amônio, com leitura a 410 nm (KORNDÖRFER, et al., 2004).

3.3.5 Índices fisiológicos

Massa seca total (MST)

Nas colheitas, as plantas foram separadas em lâminas foliares, caules e raízes. Na sequência, todo o material foi submetido à secagem a 38° C., por 72h, avaliando-se a massa seca total (MST) de cada tratamento, em balança Ohaus Analytical Standard Serie®, com sensibilidade de até 0,1 mg.

Área foliar (AF) e Massa seca das lâminas foliares (MSF)

As lâminas foliares tiveram sua área foliar determinada, considerando-se o somatório da área de todas as lâminas foliares (em cm²), com o auxílio do integralizador de área foliar LI-COR®, modelo LI 3100. A massa seca de folhas (MSF), soma da massa de todas as folhas (em g) também foi avaliada.

Razão de área foliar (RAF)

Expressa a área foliar útil para fotossíntese. Obtida a partir razão entre a área foliar (AF), que corresponde a área de interceptação de energia luminosa e massa seca total (MST), resultante da fotossíntese (BENINCASA, 2003).

$$RAF \text{ (dm}^2\text{g}^{-1}\text{)} = AF / MST$$

Razão de massa foliar (RMF)

Expressa a quantidade de matéria seca que não é exportada das folhas para as demais partes do vegetal, sendo influenciada por fatores genéticos e ambientais. Seu cálculo considera a massa seca de folhas (MSF) e a massa seca total (MST) (BENINCASA, 2003).

$$RMF = MSF / MST$$

Área foliar específica (AFE)

Indica o inverso da espessura da folha sendo obtida pela relação entre área foliar (AF) e massa seca de folhas (MSF) (BENINCASA, 2003).

$$AFE \text{ (dm}^2\text{g}^{-1}\text{)} = AF / MSF$$

Taxa assimilatória líquida (TAL)

Indica o balanço entre o material produzido pela fotossíntese e as perdas possíveis. É expressa por: $[(MST2-MST1)/(t2-t1)] * [(lnAF2-lnAF1)/(AF2-AF1)]$ g dm⁻² unidade de tempo⁻¹, em termos de massa seca produzida (g dm⁻² de AF, por unidade de tempo). t - intervalo de tempo considerado (BENINCASA, 2003).

Taxa de crescimento relativo (TCR)

Representa a quantidade de material produzido, considerando-se a quantidade de material pré-existente. Sua fórmula é: $(lnMST2-lnMST1)/(t2-t1)$ g g⁻¹ por unidade de tempo (BENINCASA, 2003).

3.3.6 Mapa de calor

Foi realizada análise hierárquica de cluster, apresentada como mapa de calor, a partir da versão online do MetaboAnalyst 4.0 (Chong et al., 2019).

3.4 Avaliação estatística

Os resultados foram submetidos à análise de variância a 5% de significância. A homogeneidade das variâncias foi submetida ao teste de Levene e as médias foram comparadas pelo teste Tukey (5% de significância).

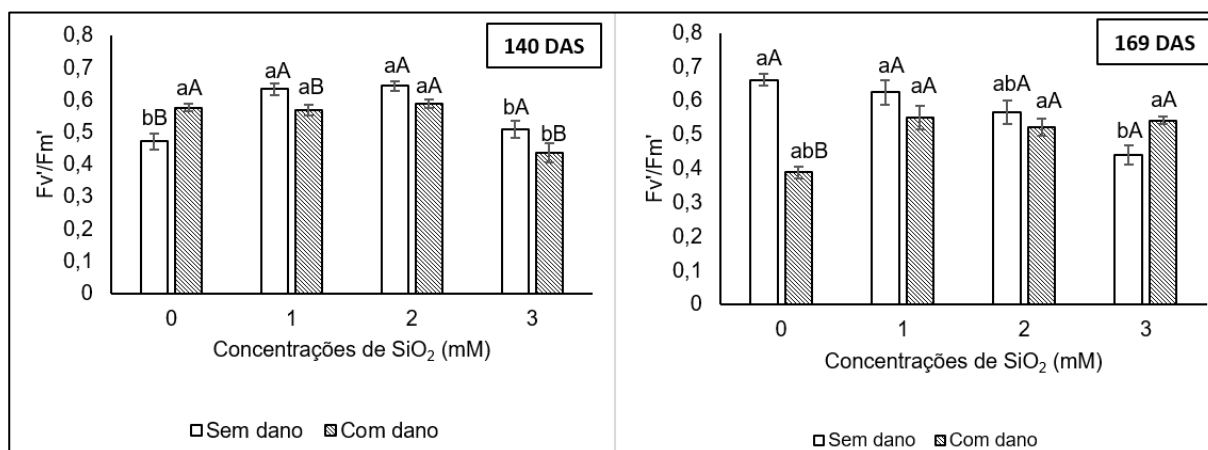
4 RESULTADOS

4.1 Fluorescência da clorofila a e trocas gasosas

Passiflora incarnata L. submetida a dano mecânico e cultivada com 3 mM de SiO₂ apresentou decréscimo na eficiência quântica potencial aos 140 DAS e plantas cultivadas sem dano mecânico apresentaram na mesma data, maior eficiência quântica potencial quando cultivadas com 1 e 2 mM de SiO₂ (Figura 8). Na ausência do elemento, eficiência quântica potencial foi maior em plantas que receberam dano mecânico.

Aos 169 DAS, plantas na presença de silício, independente de dano mecânico, não apresentaram diferenças de eficiência quântica potencial e plantas cultivadas sem silício apresentaram maior eficiência quântica potencial quando cultivadas sem dano.

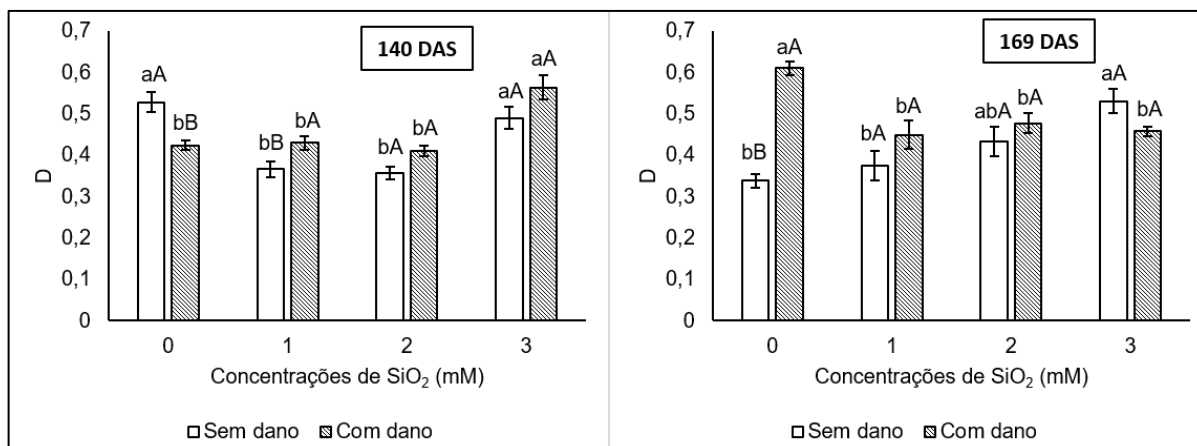
Figura 8 - Eficiência quântica potencial (F_v'/F_m') de *Passiflora incarnata* L. cultivada com diferentes níveis de SiO₂, na presença ou ausência de dano mecânico



Letras maiúsculas comparam presença e ausência de dano mecânico dentro dos níveis de SiO₂ e letras minúsculas comparam níveis de SiO₂ com e sem dano mecânico, pelo teste Tukey.

Plantas cultivadas na ausência de silício e com 3 mM de SiO₂ e sem dano mecânico, apresentaram maior dissipação de energia na forma de calor, aos 140 DAS (Figura 9). A concentração de 3 mM de SiO₂ também promoveu maior dissipação de energia na forma de calor nas plantas submetidas a dano mecânico. Aos 169 DAS as plantas cultivadas sem Si e com dano mecânico apresentaram a maior dissipação de energia na forma de calor.

Figura 9 - Energia dissipada na forma de calor (D) de *Passiflora incarnata* L. cultivada com diferentes níveis de SiO₂, na presença ou ausência de dano mecânico

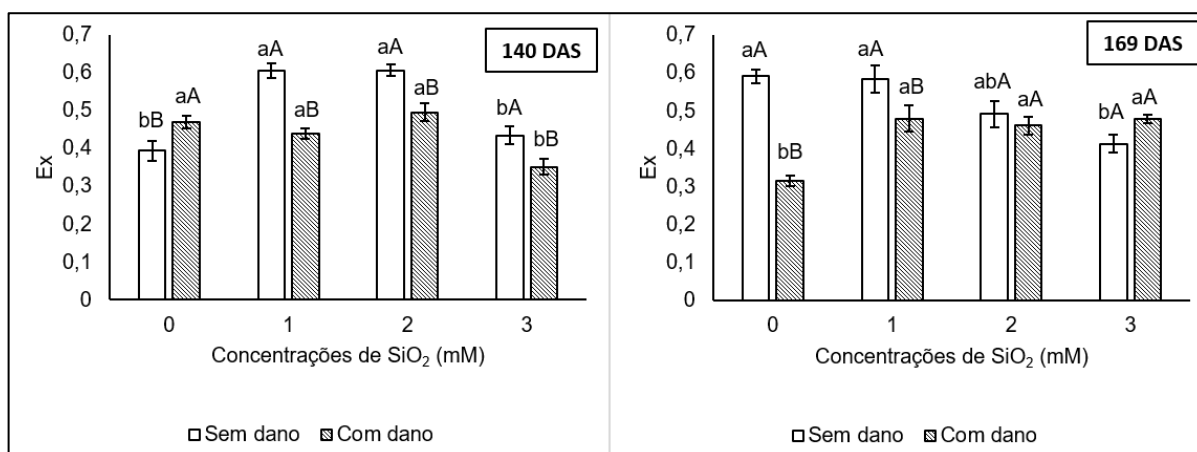


Letras maiúsculas comparam presença e ausência de dano mecânico dentro dos níveis de SiO₂ e letras minúsculas comparam níveis de SiO₂ com e sem dano mecânico, pelo teste Tukey.

Aos 140 DAS plantas cultivadas nas concentrações de 1 e 2 mM de SiO₂ e sem dano mecânico expressaram maior energia não dissipada e não utilizada na fase fotoquímica. Plantas cultivadas com silício e dano apresentaram menor energia não dissipada e não utilizada na fase fotoquímica (Figura 10).

Energia não dissipada e não utilizada na fase fotoquímica aos 169 DAS não diferiu entre plantas cultivadas com 2 e 3 mM, independente do dano (Figura 10). Na ausência do silício, plantas sem dano apresentaram maior energia não dissipada e não utilizada na fase fotoquímica.

Figura 10 - Energia não dissipada e não utilizada na fase fotoquímica (Ex) de *Passiflora incarnata* L. cultivada com diferentes níveis de SiO₂, na presença ou ausência de dano mecânico

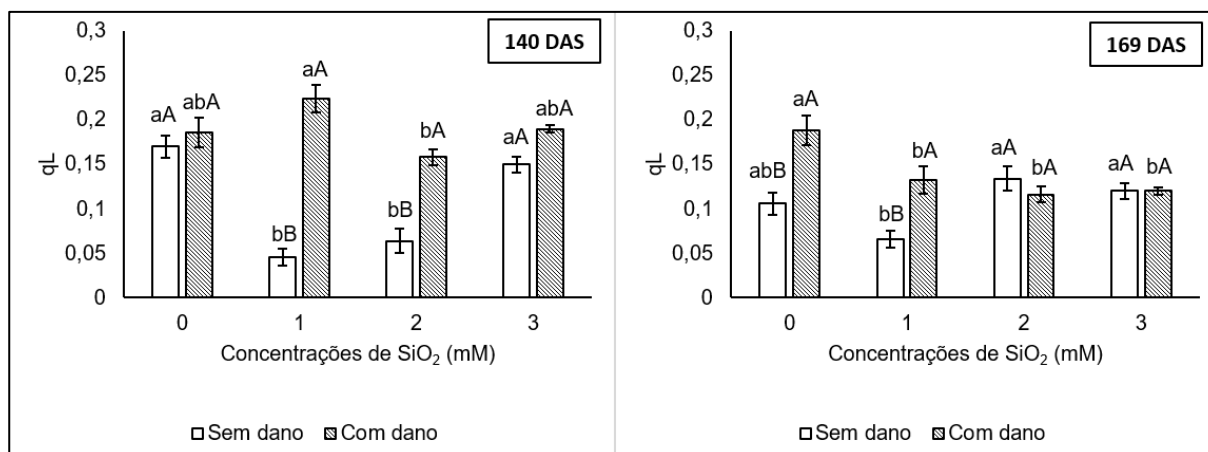


Letras maiúsculas comparam presença e ausência de dano mecânico dentro dos níveis de SiO₂ e letras minúsculas comparam níveis de SiO₂ com e sem dano mecânico, pelo teste Tukey.

Aos 140 DAS, plantas cultivadas com 1 e 2 mM de SiO₂ e sem dano mecânico apresentaram menor quenching fotoquímico, mas quando cultivadas com dano mecânico, apresentaram elevado quenching fotoquímico independente da concentração do elemento (Figura 11).

Aos 169 DAS, plantas cultivadas sem Si e com dano mecânico apresentaram maior quenching fotoquímico quando comparadas às sem dano mecânico. Plantas com e sem dano mecânico cultivadas com 2 e 3 mM de SiO₂ apresentaram quenching fotoquímicos iguais. Plantas apresentaram maior quenching fotoquímico quando submetidas a dano e ausência ou a menor concentração de Si (Figura 11).

Figura 11 - Quenching fotoquímico (qL) de *Passiflora incarnata* L. cultivada com diferentes níveis de SiO₂, na presença ou ausência de dano mecânico

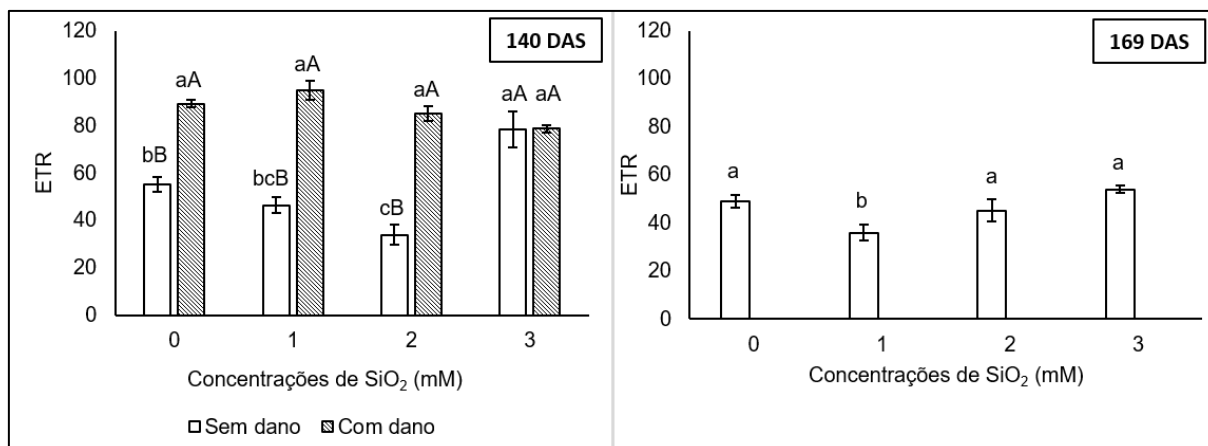


Letras maiúsculas comparam presença e ausência de dano mecânico dentro dos níveis de SiO₂ e letras minúsculas comparam níveis de SiO₂ com e sem dano mecânico, pelo teste Tukey.

Aos 140 DAS, taxa de transporte de elétrons e eficiência quântica efetiva do fotossistema II (Figuras 12 e 13) foram maiores em plantas que receberam o dano mecânico, exceto quando silício foi aplicado na concentração igual a 3 mM. Dentre as plantas cultivadas sem dano mecânico, as que receberam 3 mM de SiO₂ apresentaram maior taxa de transporte de elétrons e eficiência quântica efetiva do fotossistema II, em relação aos outros níveis de silício utilizados.

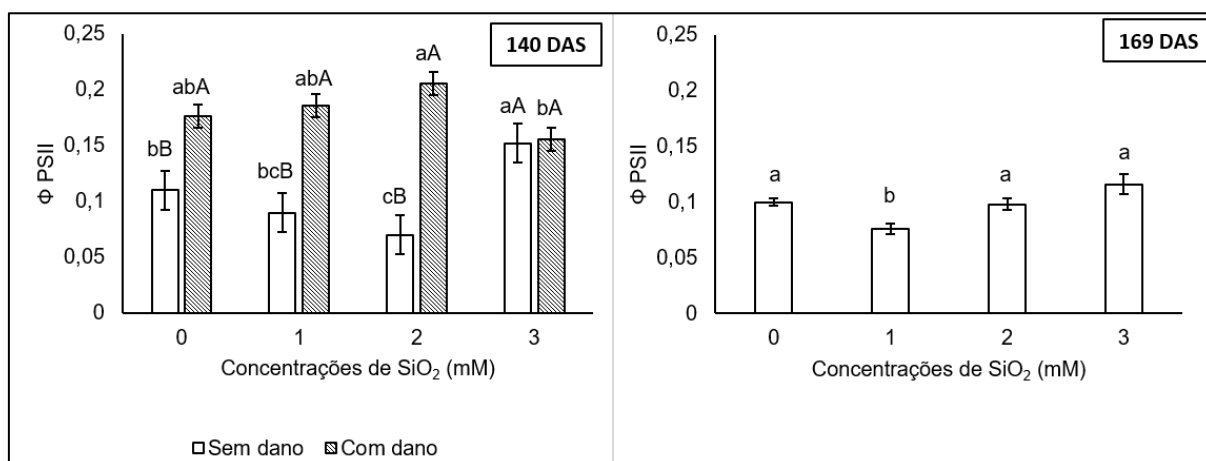
Plantas com 1 mM de SiO₂ apresentaram baixa taxa de transporte de elétrons e eficiência quântica efetiva do fotossistema II (Figura 13) aos 169 DAS, não tendo ocorrido efeito significativo de dano mecânico e nem mesmo de sua interação com níveis de silício.

Figura 12 - Taxa de transporte de elétrons (ETR) de *Passiflora incarnata* L. cultivada com diferentes níveis de SiO₂, na presença ou ausência de dano mecânico



Letras maiúsculas comparam presença e ausência de dano mecânico dentro dos níveis de SiO₂ e letras minúsculas comparam níveis de SiO₂ com e sem dano mecânico, pelo teste Tukey.

Figura 13 - Eficiência quântica efetiva do fotossistema II (Φ PSII) de *Passiflora incarnata* L. cultivada com diferentes níveis de SiO₂, na presença ou ausência de dano mecânico



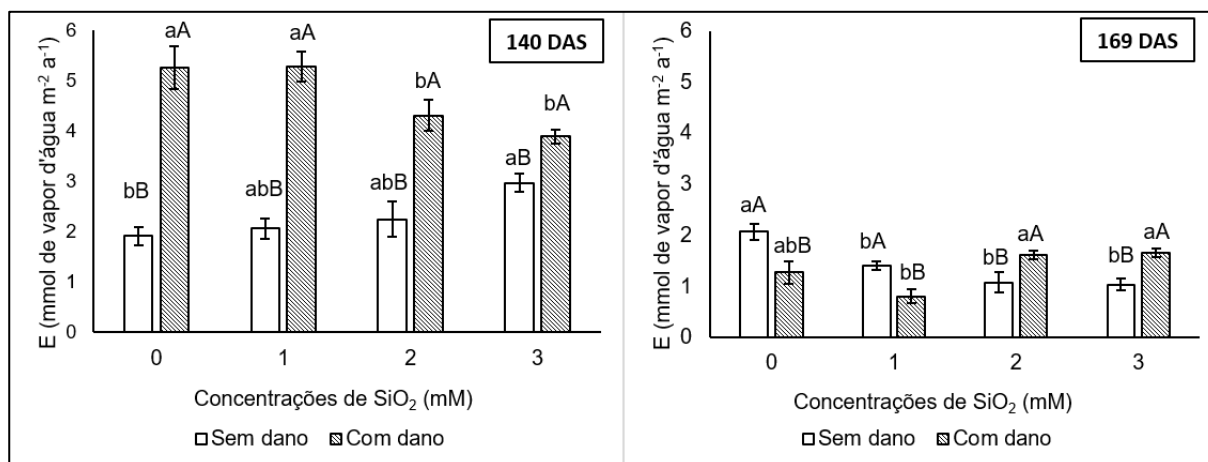
Letras maiúsculas comparam presença e ausência de dano mecânico dentro dos níveis de SiO₂ e letras minúsculas comparam níveis de SiO₂ com e sem dano mecânico, pelo teste Tukey.

Passiflora incarnata L. submetida a dano mecânico e ausência ou presença de silício (Si) apresentou variação nas trocas gasosas.

Plantas cultivadas com 2 e 3 mM de SiO₂ e dano mecânico apresentaram redução da transpiração aos 140 DAS (Figura 14), mas na ausência do dano, plantas cultivadas com 3 mM de SiO₂ transpiraram mais quando comparadas às plantas que não receberam o elemento. Deve ser destacado que plantas submetidas a dano apresentaram maior transpiração, independente do silício. Quando Si não foi fornecido, plantas com dano apresentaram maior transpiração.

Aos 169 DAS, plantas com 2 e 3 mM que sofreram dano apresentaram elevada transpiração. Entre as plantas sem dano, aquelas sem silício transpiraram mais e quando não receberam o elemento, sem dano apresentaram maior transpiração.

Figura 14 - Transpiração (E) de *Passiflora incarnata* L. cultivada com diferentes níveis de SiO₂, na presença ou ausência de dano mecânico

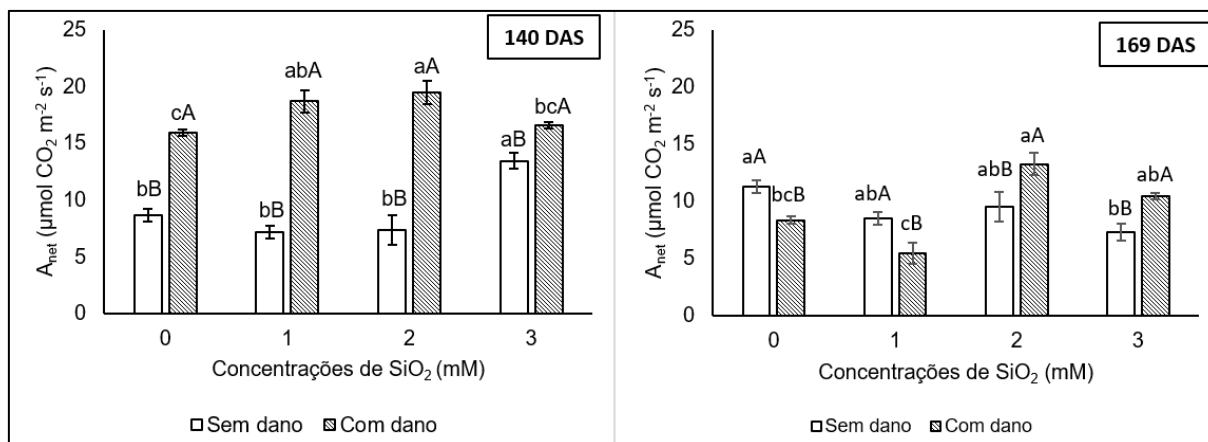


Letras maiúsculas comparam presença e ausência de dano mecânico dentro dos níveis de SiO₂ e letras minúsculas comparam níveis de SiO₂ com e sem dano mecânico, pelo teste Tukey.

Aos 140 DAS, plantas cultivadas com dano mecânico apresentaram maior assimilação líquida de CO₂, condutância estomática e eficiência de carboxilação da enzima RuBisCO, exceto as plantas cultivadas com 3 mM de SiO₂, que apresentaram eficiência de carboxilação da enzima RuBisCO igual quando cultivadas com e sem dano mecânico (Figuras 15, 16 e 17).

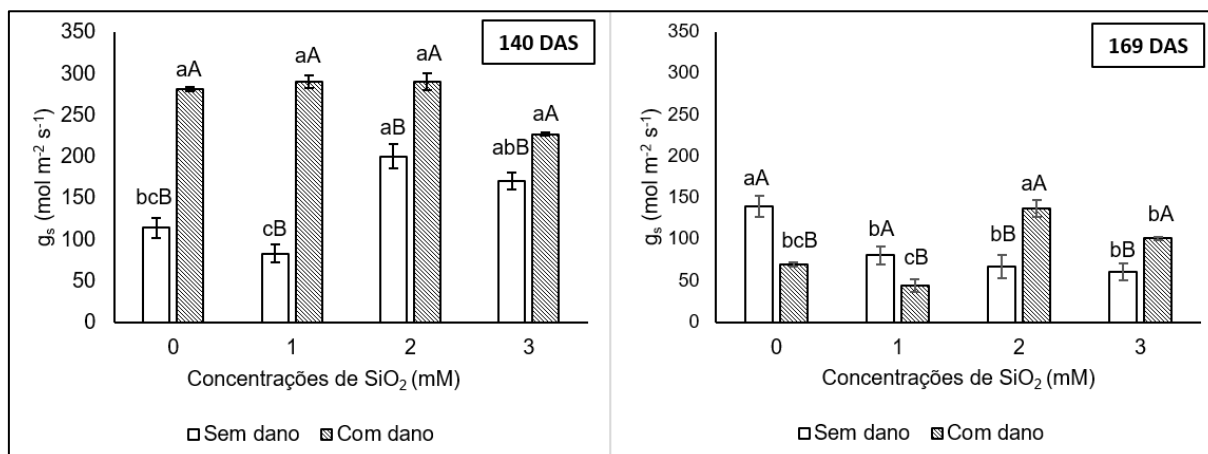
Aos 169 DAS, plantas cultivadas com 2 e 3 mM de SiO₂ e dano mecânico apresentaram elevadas assimilação líquida de CO₂, condutância estomática e eficiência de carboxilação da enzima RuBisCO.

Figura 15 - Assimilação líquida de CO₂ (A_{net}) de *Passiflora incarnata* L. cultivada com diferentes níveis de SiO₂, na presença ou ausência de dano mecânico



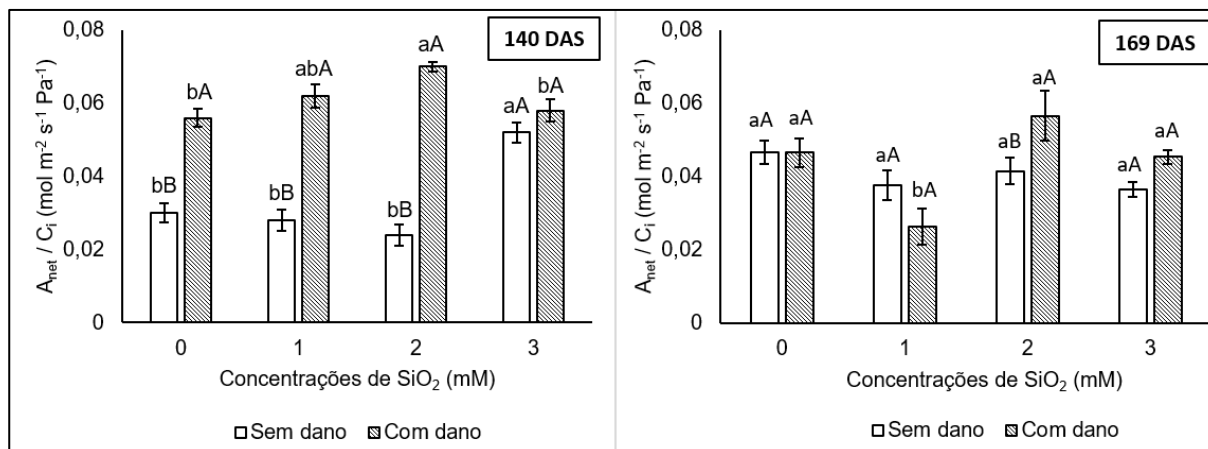
Letras maiúsculas comparam presença e ausência de dano mecânico dentro dos níveis de SiO₂ e letras minúsculas comparam níveis de SiO₂ com e sem dano mecânico, pelo teste Tukey.

Figura 16 - Condutância estomática (g_s) de *Passiflora incarnata* L. cultivada com diferentes níveis de SiO₂, na presença ou ausência de dano mecânico



Letras maiúsculas comparam presença e ausência de dano mecânico dentro dos níveis de SiO₂ e letras minúsculas comparam níveis de SiO₂ com e sem dano mecânico, pelo teste Tukey.

Figura 17- Eficiência instantânea de carboxilação da enzima RuBisCO (A_{net} / C_i) de *Passiflora incarnata* L. cultivada com diferentes níveis de SiO_2 , na presença ou ausência de dano mecânico



Letras maiúsculas comparam presença e ausência de dano mecânico dentro dos níveis de SiO_2 e letras minúsculas comparam níveis de SiO_2 com e sem dano mecânico, pelo teste Tukey.

Não houve diferença entre as médias de Eficiência do uso da água instantânea (EUA_i) entre plantas cultivadas com diferentes níveis de SiO_2 , submetidas ou não a dano mecânico.

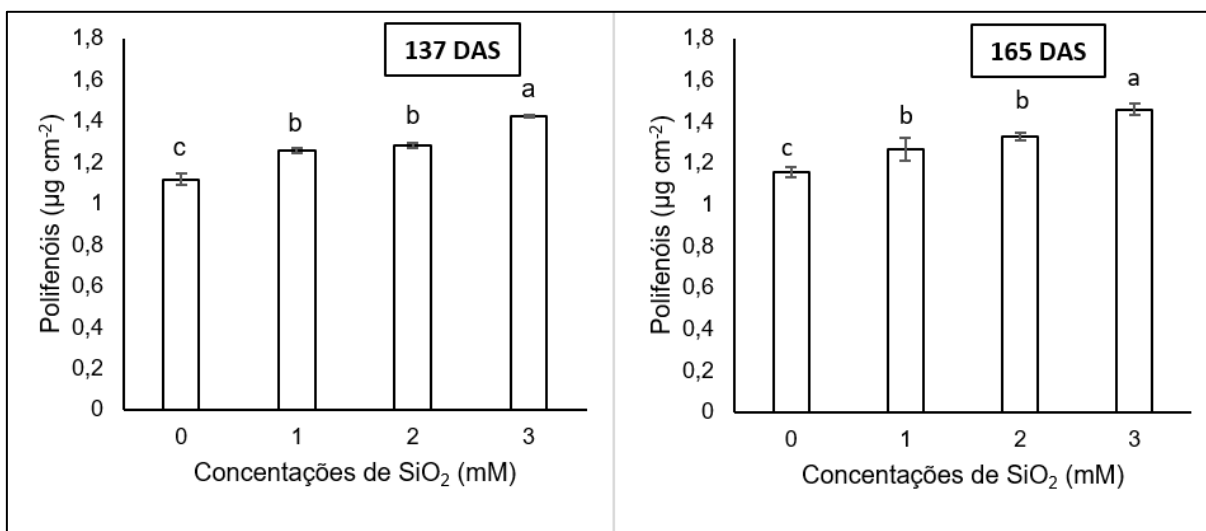
Em síntese, aos 140 DAS, as plantas cultivadas com 1 e 2 mM de SiO_2 e dano mecânico apresentaram maior fluorescência da clorofila *a*, representada pelas variáveis taxa de transporte de elétrons (ETR) e eficiência quântica efetiva do fotossistema II ($\Phi PSII$). Na ausência de dano mecânico, a fluorescência da clorofila *a* foi mais elevada nas plantas submetidas a 0 e 3 mM de SiO_2 . Aos 169 DAS, as plantas cultivadas sem silício e com as concentrações 2 e 3 mM apresentaram maior fluorescência da clorofila *a*. A fluorescência da clorofila *a*, avaliação pontual, apresentou variação com diferentes níveis de SiO_2 , presença ou não de dano, entre outros fatores.

As trocas gasosas, representadas pela assimilação líquida de CO_2 são maiores aos 140 DAS nas plantas submetidas a dano mecânico. Aos 169 DAS, essa assimilação é maior em plantas submetidas a dano nas maiores concentrações de SiO_2 .

4.2 Índice de polifenóis

Maior teor de polifenóis foi revelado pelas plantas cultivadas com 3 mM de SiO₂, nas duas avaliações, independente de dano mecânico (Figura 18).

Figura 18 - Índice de polifenóis de *Passiflora incarnata* L. cultivada com diferentes níveis de SiO₂, na presença ou ausência de dano mecânico

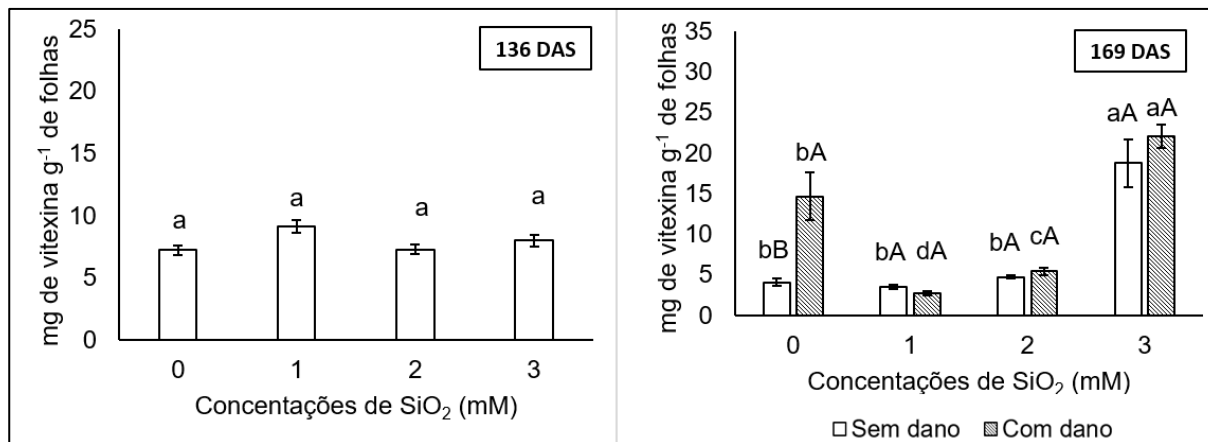


Letras minúsculas comparam níveis de SiO₂ pelo teste Tukey. A e B indicam avaliação realizada aos 137 e aos 165 dias após semeadura, respectivamente.

4.3 Vitexina

Plantas coletadas aos 136 DAS não apresentaram diferenças no teor de vitexina, enquanto aos 169 DAS, independente do dano mecânico, apresentaram maior teor de vitexina com 3 mM de SiO₂. Plantas cultivadas sem silício e com dano mecânico apresentaram maior teor de vitexina em relação às sem dano (Figura 19).

Figura 19 - Teor de vitexina de *Passiflora incarnata* L. cultivada com diferentes níveis de SiO₂, na presença ou ausência de dano mecânico

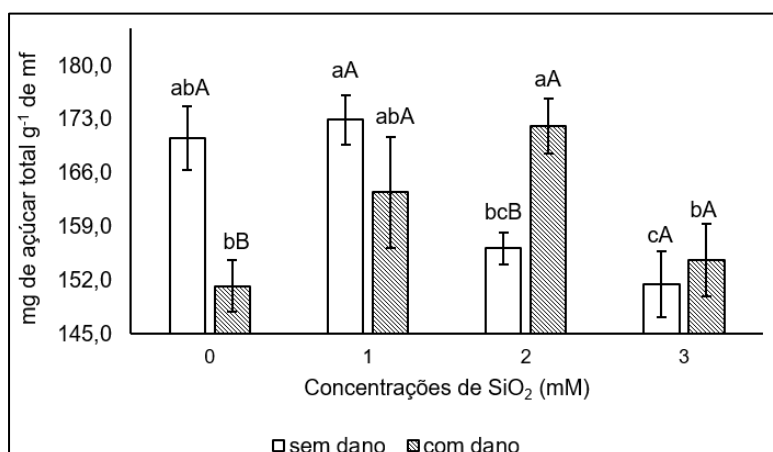


Letras maiúsculas comparam presença e ausência de dano mecânico dentro dos níveis de SiO₂ e letras minúsculas comparam níveis de SiO₂ com e sem dano mecânico, pelo teste Tukey. A e B indicam avaliação realizada aos 136 e aos 169 dias após semeadura, respectivamente.

4.4 Carboidratos, peróxido de hidrogênio e peroxidação lipídica

Plantas com dano mecânico apresentaram elevada quantidade de açúcares solúveis totais quando cultivadas com 2 mM de SiO₂. Plantas sem dano mecânico apresentaram maior quantidade de açúcares na ausência de silício ou em sua menor concentração (Figura 20).

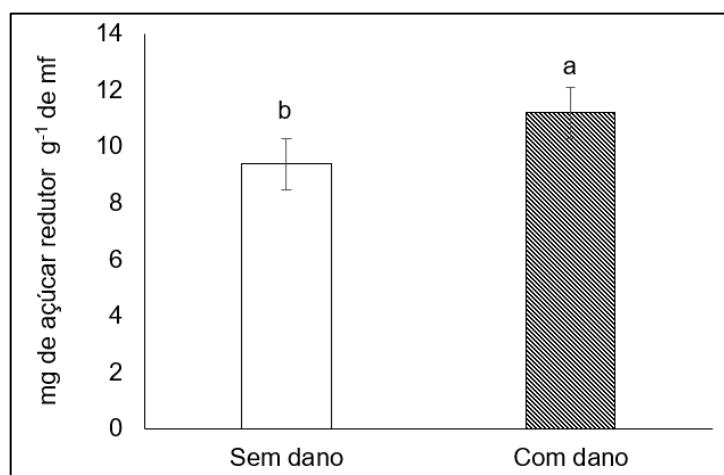
Figura 20 - Açúcares solúveis totais de *Passiflora incarnata* L. cultivada com diferentes níveis de SiO₂, na presença ou ausência de dano mecânico, aos 169 dias após semeadura



Letras maiúsculas comparam presença e ausência de dano mecânico dentro dos níveis de SiO₂ e letras minúsculas comparam níveis de SiO₂ com e sem dano mecânico, pelo teste Tukey.

Plantas com dano mecânico apresentaram maior quantidade de açúcares redutores e não houve diferença entre plantas com diferentes concentrações de SiO_2 (Figura 21).

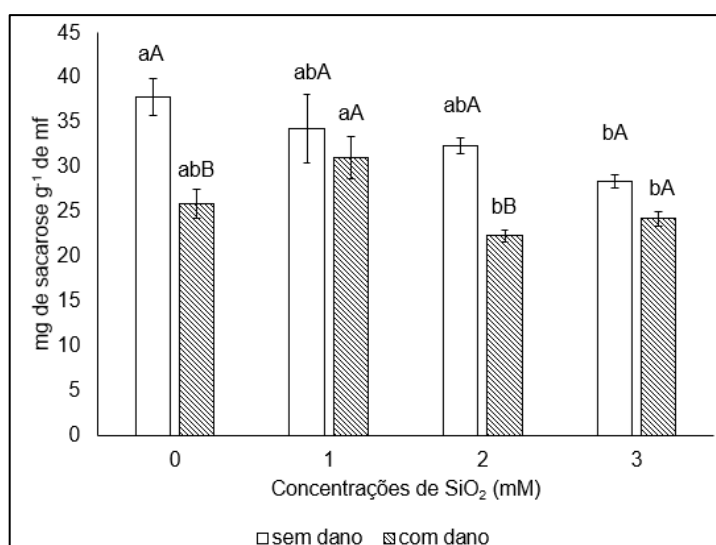
Figura 21 - Açúcares redutores de *Passiflora incarnata* L. cultivada com diferentes níveis de SiO_2 , na presença ou ausência de dano mecânico, aos 169 dias após semeadura



Letras minúsculas comparam plantas com e sem dano mecânico pelo teste Tukey.

Passiflora incarnata L. com concentrações crescentes de Si apresentaram menores teores de sacarose. Não houve interação entre Si e dano e as plantas cultivadas na presença de dano apresentaram menor teor de sacarose (Figura 22).

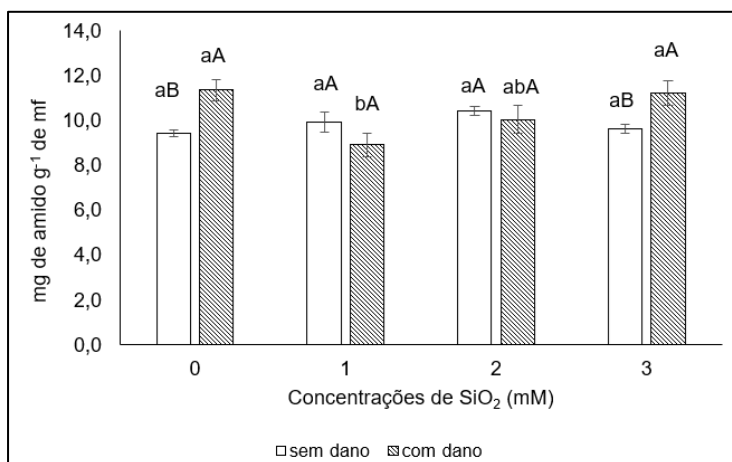
Figura 22 - Sacarose de *Passiflora incarnata* L. cultivada com diferentes níveis de SiO_2 , na presença ou ausência de dano mecânico, aos 169 dias após semeadura



Letras minúsculas comparam níveis de SiO_2 ou presença e ausência de dano mecânico, pelo teste Tukey.

Plantas cultivadas com 0 e 3 mM de SiO_2 e dano mecânico apresentaram elevado acúmulo de amido. Na ausência do dano, de maneira geral a concentração de amido não diferiu (Figura 23).

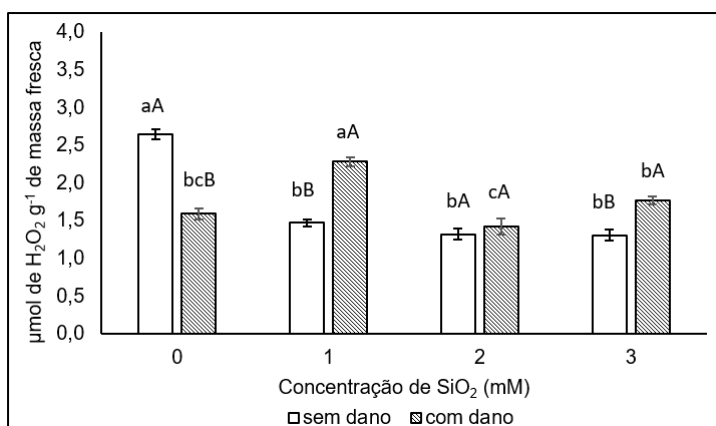
Figura 23 - Amido de *Passiflora incarnata* L. cultivada com diferentes níveis de SiO_2 , na presença ou ausência de dano mecânico, aos 169 dias após semeadura



Letras maiúsculas comparam presença e ausência de dano mecânico dentro dos níveis de SiO_2 e letras minúsculas comparam níveis de SiO_2 com e sem dano mecânico, pelo teste Tukey.

Houve acúmulo de peróxido de hidrogênio nas plantas com dano que receberam 1 e 3 mM de SiO_2 . Plantas sem silício e sem dano mecânico e plantas submetidas à dano e cultivadas com 1 mM de SiO_2 apresentaram os maiores teores de peróxido de hidrogênio (Figura 24).

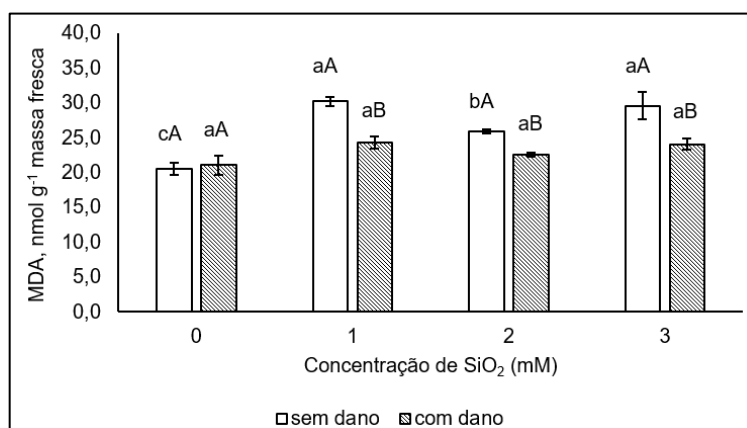
Figura 24 - Peróxido de hidrogênio (H_2O_2) de *Passiflora incarnata* L. cultivada com diferentes níveis de SiO_2 , na presença ou ausência de dano mecânico, aos 169 dias após semeadura



Letras maiúsculas comparam presença e ausência de dano mecânico dentro dos níveis de SiO_2 e letras minúsculas comparam níveis de SiO_2 com e sem dano mecânico, pelo teste Tukey.

Na ausência de dano mecânico, a peroxidação lipídica foi maior nas plantas cultivadas com 1 e 3 mM de SiO₂ e na presença do dano, não houve diferença entre plantas (Figura 25).

Figura 25 - Peroxidação lipídica de *Passiflora incarnata* L. cultivada com diferentes níveis de SiO₂, na presença ou ausência de dano mecânico, aos 169 dias após semeadura



Letras maiúsculas comparam presença e ausência de dano mecânico dentro dos níveis de SiO₂ e letras minúsculas comparam níveis de SiO₂ com e sem dano mecânico, pelo teste Tukey.

4.5 Índices fisiológicos

Aos 136 DAS, as plantas cultivadas com diferentes concentrações de SiO₂ não diferiram em área foliar (AF) e matérias secas de folha e total (MSF e MST). Aos 169 DAS, as plantas cultivadas com 2 mM de SiO₂ apresentaram a maior MSF e elevadas MST e AF, que não diferiram, respectivamente das cultivadas com 0 e 1mM e 0 mM de SiO₂ (Tabela 5).

Tabela 5 - Matéria seca de folhas (MSF), matéria seca total (MST) e área foliar (AF) de *Passiflora incarnata* L. submetida a quatro níveis de SiO₂ em solução nutritiva (Hoagland; Arnon, 1950)

SiO ₂ (mM)	Coleta aos 136 DAS			Coleta aos 169 DAS		
	MSF (g)	MST (g)	AF (dm ²)	MSF (g)	MST	AF (dm ²)
0	3,7824 a	5,9808 a	58,4292 a	14,3589 b	26,3990 a	211,475 ab
1	4,6224 a	7,3118 a	61,9760 a	13,8601 b	23,6013 ab	152,136 c
2	4,7264 a	7,4464 a	51,6550 a	18,2493 a	27,4029 a	228,656 a
3	4,1728 a	6,8006 a	66,9322 a	13,2899 b	21,7235 b	161,793 bc

Letras comparam médias na vertical. Plantas foram coletadas aos 136 e 169 dias após semeadura.

Aos 136 DAS, as plantas não apresentaram diferença na razão de área foliar (RAF), razão de massa foliar (RMF) e área foliar específica (AFE). Aos 169 DAS, plantas não diferiram na razão de área foliar e plantas cultivadas com 2 mM de SiO₂ apresentaram razão de massa foliar (RMF) maior do que as cultivadas sem silício. A maior área foliar específica (AFE) foi observada nas plantas cultivadas na ausência de silício em relação àquelas cultivadas com 1 mM de SiO₂ (Tabela 6).

Tabela 6 - Razão de área foliar (RAF), razão de massa foliar (RMF) e área foliar específica (AFE) de *Passiflora incarnata* L. submetida a quatro níveis de SiO₂ em solução nutritiva (Hoagland; Arnon, 1950)

SiO ₂ (mM)	Coleta aos 136 DAS			Coleta aos 169 DAS		
	RAF (dm ² g ⁻¹)	RMF	AFE (dm ² g ⁻¹)	RAF (dm ² g ⁻¹)	RMF	AFE (dm ² g ⁻¹)
0	9,8330 a	0,6324 a	15,5614 a	8,0181 a	0,5436 b	14,7572 a
1	8,4564 a	0,6314 a	13,5129 a	6,5287 a	0,5893 ab	10,9322 b
2	8,0563 a	0,5768 a	15,6792 a	8,3402 a	0,6692 a	12,5288 ab
3	9,9167 a	0,6120 a	16,2554 a	7,4339 a	0,6114 ab	12,1450 ab

Letras comparam médias na vertical. Plantas foram coletadas aos 136 e 169 dias após semeadura.

Plantas cultivadas com diferentes concentrações de silício não apresentaram diferenças na taxa de crescimento relativo (TCR) e na taxa assimilatória líquida (TAL) (Tabela 7).

Tabela 7 - Taxa de crescimento relativo (TCR) e Taxa assimilatória líquida (TAL) de *Passiflora incarnata* L. submetida a quatro níveis de SiO₂ em solução nutritiva (Hoagland; Arnon, 1950)

SiO ₂ (mM)	TCR (g g ⁻¹ dia ⁻¹)	TAL (g dm ⁻² dia ⁻¹)
0	0,045140 a	0,005220 a
1	0,035740 a	0,005160 a
2	0,042800 a	0,005260 a
3	0,035300 a	0,004220 a

Letras comparam médias na vertical.

As plantas cultivadas com diferentes níveis de SiO₂ não foram discriminadas pelas variáveis que compõem a análise de crescimento quantitativa.

4.6 Teor foliar de silício

Silício foi fornecido à *Passiflora incarnata* L. e sua determinação foi realizada nas folhas, observando-se que plantas cultivadas com 2 e 3 mM de SiO_2 apresentaram maior teor foliar (Tabela 8 e Figura 26).

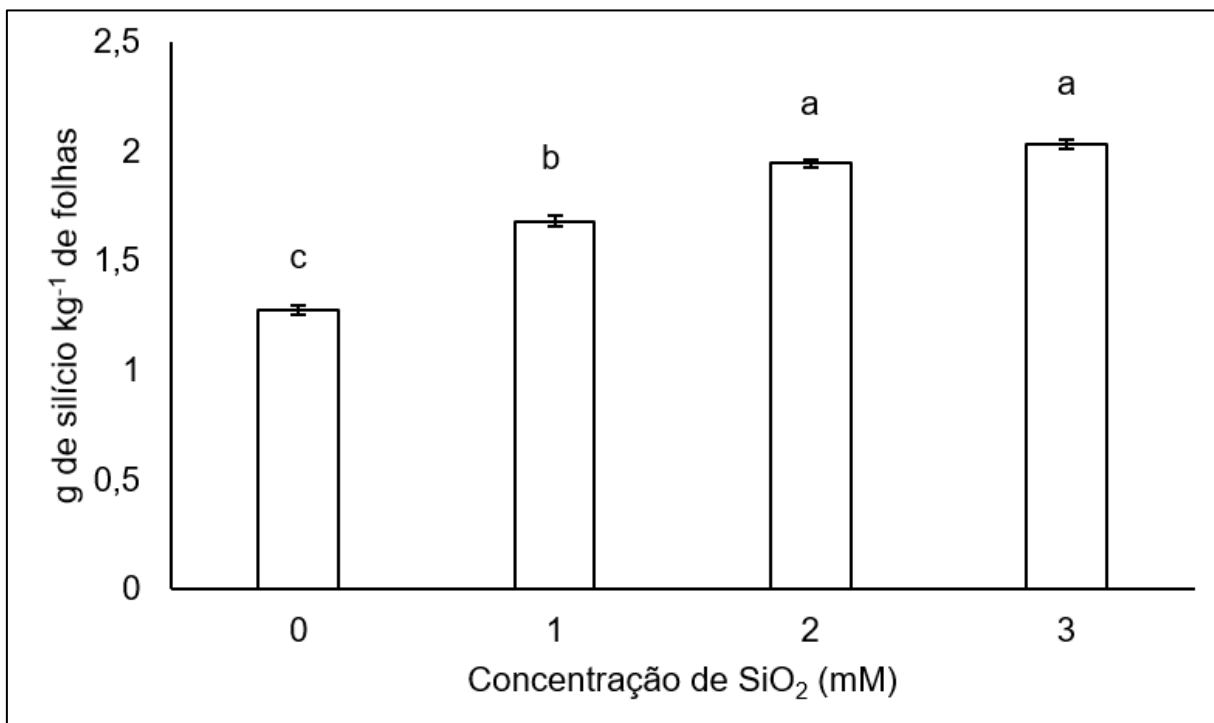
Esses resultados revelam que o aumento de fornecimento de silício na solução nutritiva, de maneira geral aumentou sua presença nas folhas.

Tabela 8 - Teor de silício em folhas de *Passiflora incarnata* L. submetida a quatro níveis de SiO_2 em solução nutritiva (Hoagland; Arnon, 1950)

SiO ₂ fornecido (mM)	Silício foliar (g Si kg ⁻¹ de folhas)
0	1,2750 c
1	1,6825 b
2	1,9475 a
3	2,0325 a

Letras comparam médias na vertical. Folhas foram coletadas aos 169 dias após semeadura.

Figura 26 - Teor de silício em folhas de *Passiflora incarnata* L. submetida a quatro níveis de SiO_2 em solução nutritiva (Hoagland; Arnon, 1950)



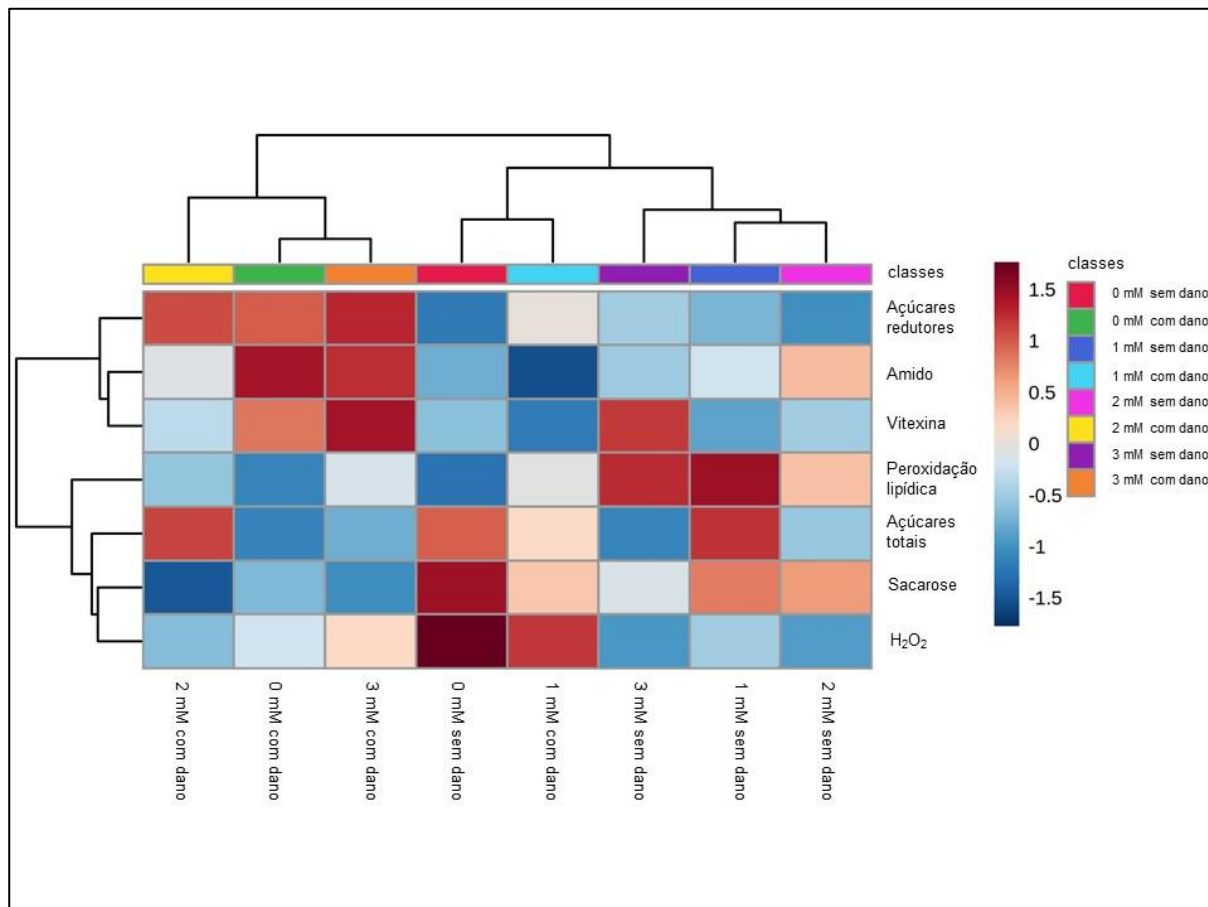
Letras minúsculas comparam níveis de SiO_2 pelo teste Tukey. Folhas foram coletadas aos 169 dias após semeadura.

4.7 Mapa de Calor

Sem dano mecânico, a ausência de silício na planta teve efeito positivo em açúcares totais, sacarose e H_2O_2 e negativo nos açúcares redutores e peroxidação lipídica. 1 mM de SiO_2 teve efeito positivo em açúcares totais, sacarose e peroxidação lipídica. 2 mM de SiO_2 tiveram efeito positivo na sacarose e negativo nos açúcares redutores. 3 mM de SiO_2 tiveram efeito positivo na peroxidação lipídica e vitexina e negativo nos açúcares totais.

Na presença de dano mecânico, ausência de silício teve efeito positivo nos açúcares redutores, amido e vitexina. 1 mM de SiO_2 teve efeito positivo em H_2O_2 e negativa em amido. 2 mM de SiO_2 tiveram efeito positivo nos açúcares totais e redutores, além de efeito negativo na sacarose. 3 mM de SiO_2 tiveram efeito positivo nos açúcares redutores, amido e vitexina (Figura 27).

Figura 27 - Mapa de calor de variáveis analisadas de *Passiflora incarnata* L. cultivada com diferentes níveis de SiO_2 , na presença ou ausência de dano mecânico, aos 169 dias após semeadura



5 DISCUSSÃO

O interesse pela *Passiflora incarnata* L. e seus benefícios à saúde humana criam demandas por investigações que revelem os efeitos de manejo nos metabolismos primário e especializado. As avaliações de fluorescência da clorofila *a*, trocas gasosas, compostos fenólicos, açúcares, H_2O_2 , peroxidação lipídica e índices fisiológicos de crescimento proporcionam melhor compreensão das respostas das plantas aos níveis de silício e remoção da parte aérea.

Aos 140 DAS, elevada assimilação líquida de CO_2 nas plantas cultivadas com 1 mM de SiO_2 e dano mecânico, relacionado com a elevada condutância estomática e transpiração, indica maior entrada de CO_2 no mesófilo. Esta resposta associada à baixa dissipação de energia na forma de calor e elevados quenching fotoquímico, taxa de transporte de elétrons e eficiência quântica efetiva (estimativa de produção de agentes redutores), possibilitou maior eficiência instantânea de carboxilação da enzima RuBisCO.

Nessa data, a elevada assimilação líquida de CO_2 em plantas cultivadas com 2 mM de SiO_2 e presença do dano mecânico também pode ter relação com a elevada condutância estomática. Nessas plantas, baixa dissipação de energia na forma de calor, elevada taxa de transporte de elétrons e eficiência quântica efetiva (estimativa de produção de agentes redutores) resultaram em elevada eficiência instantânea de carboxilação da enzima RuBisCO, mesmo com baixo quenching fotoquímico.

Plantas cultivadas com 3 mM de SiO_2 e dano mecânico, comparadas às plantas com dano e outras concentrações do elemento apresentaram resultados diferentes. Além da baixa transpiração, verificou-se baixa assimilação líquida de CO_2 , novamente relacionadas à condutância estomática. Nesse sentido, eficiência quântica potencial, quenching fotoquímico e eficiência quântica efetiva do fotossistema também foram baixos e resultaram em decréscimo da eficiência instantânea de carboxilação da enzima RuBisCO. Além disso, dissipação de energia na forma de calor foi elevada. A partir desses resultados, verifica-se que em plantas com dano mecânico avaliadas aos 140 DAS, maior concentração de silício levou a menor atividade fotossintética, indicada pelas avaliações de fluorescência da clorofila *a* e trocas gasosas.

Ainda aos 140 DAS, na ausência de silício, plantas com dano mecânico apresentaram menor energia dissipada na forma de calor e maior energia quântica potencial, energia não dissipada e não utilizada na fase fotoquímica, taxa de

transporte de elétrons, e eficiência quântica efetiva, associadas à elevada condutância estomática, transpiração, assimilação líquida de CO₂ e eficiência instantânea de carboxilação da enzima RuBisCO. Sugere-se que silício e dano mecânico promoveram maior eficiência fotossintética.

Na mesma data, observou-se que na ausência do dano mecânico, plantas sem silício ou com 1 e 2 mM de SiO₂ apresentaram baixa taxa de transporte de elétrons, eficiência quântica efetiva do fotossistema, transpiração, assimilação líquida de CO₂ e eficiência instantânea de carboxilação da enzima RuBisCO.

Salienta-se que dentre as plantas que não receberam o dano mecânico, observa-se que aquelas com 2mM de SiO₂ apresentaram elevada condutância estomática e plantas com 1 e 2 mM apresentaram maiores taxas de eficiência quântica potencial e menores taxa de dissipação de energia na forma de calor, energia não dissipada e não utilizada na fase fotoquímica e quenching fotoquímico. Mesmo assim, foram plantas com 3 mM que apresentaram maior eficiência quântica efetiva, assimilação líquida de CO₂ e eficiência instantânea de carboxilação da enzima RuBisCO.

Dessa maneira, por se tratar de uma avaliação quatro dias após a realização de dano mecânico (140 DAS), plantas com o maior nível de silício quando não houve dano, plantas com dano sem silício e plantas submetidas à interação de dano e SiO₂ nas concentrações de 1 e 2 mM revelaram adequada resposta na fotossíntese. O dano mecânico e presença de silício em elevada concentração, como fatores isolados, podem ser benéficos à atividade fotossintética, mas quando esses fatores são combinados, dose adequada do elemento é necessária.

A relação de assimilação líquida de CO₂, condutância estomática e transpiração é demonstrada na literatura. Avaliações em berinjela (*Solanum melongena* L.) submetida a estresse salino revelaram que índices apresentaram igual tendência de diminuição com aumento do estresse (DE OLIVEIRA BOSCO et al., 2009). Eficiência no aproveitamento da energia para adequada capacidade de assimilação líquida de CO₂ pode resultar em maior crescimento.

Costa et al. (2018) observaram aumento de transpiração e assimilação líquida de CO₂ relacionadas ao aumento de condutância estomática quando foi fornecido silício à *Passiflora edulis* Sims. Nesse sentido, Paiva et al. (2005) afirmaram que a condutância estomática regula as trocas gasosas, influenciando crescimento de plantas.

Plantas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) em estresse hídrico, que receberam 2,5 mM de silício, apresentaram maiores taxas de quenching fotoquímico, taxa de transporte de elétrons e eficiência quântica efetiva em relação a plantas submetidas apenas ao estresse. Já as plantas apenas com silício apresentaram elevação nesses parâmetros (ZHANG et al., 2018). Dessa maneira, evidencia-se função do silício quando fornecido em concentrações adequadas, tanto na atenuação do estresse como na boa performance fotossintética.

Aos 169 DAS, plantas sem dano mecânico e 1 mM de SiO₂ apresentaram eficiência quântica potencial, dissipação de energia na forma de calor, energia não dissipada e não utilizada na fase fotoquímica e quenching fotoquímico semelhante às das plantas submetidas a dano e outras concentrações do elemento. No entanto, as plantas que sofreram dano mecânico e foram cultivadas com 1 mM de SiO₂ revelaram menor taxa de transporte de elétrons, eficiência quântica efetiva do fotossistema e baixas condutância estomática, assimilação líquida de CO₂ e eficiência instantânea de carboxilação da enzima RuBisCO.

Taxa de transporte de elétrons e eficiência quântica efetiva do fotossistema foram semelhantes nas plantas com dano mecânico sem silício ou com 2 e 3 mM de SiO₂, aos 169 DAS. Constatou-se maior condutância estomática e assimilação líquida de CO₂ em plantas com 2 mM. Maior eficiência de carboxilação da enzima RuBisCO ocorreu em plantas com dano mecânico e 0, 2 ou 3 mM SiO₂.

Na ausência de dano mecânico, aos 169 DAS, verificou-se nas plantas baixa eficiência quântica potencial e energia não dissipada e não utilizada na fase fotoquímica, quando cultivadas com 3 mM. No entanto, quenching fotoquímico, taxa de transporte de elétrons e eficiência quântica efetiva do fotossistema nessas plantas foram iguais às das plantas sem dano e sem silício ou, com 2 mM de SiO₂. As plantas não submetidas a dano mecânico revelaram baixas condutância estomática, transpiração e assimilação líquida de CO₂, quando cultivadas na presença de silício, embora a eficiência instantânea de carboxilação da enzima RuBisCO não tenha sido diferente com o nível de silício fornecido.

Na mesma avaliação, na ausência de silício, as plantas com dano apresentaram maior quenching fotoquímico, sem qualquer detecção de reflexo na taxa de transporte de elétrons e eficiência quântica efetiva do fotossistema. Além disso, as plantas sem silício e com dano mecânico apresentaram menor condutância

estomática e assimilação líquida de CO₂, não diferindo daquelas sem dano e sem silício, na eficiência instantânea de carboxilação da enzima RuBisCO.

Portanto, aos 169 DAS, verifica-se resultado diferente em relação aos 140 DAS, quatro dias após a realização do dano mecânico. No período final, dano ou silício, isolados, podem ter indicado estresse. No entanto, plantas submetidas à interação de dano mecânico e 2 mM de SiO₂ tanto quanto aos 140 DAS, revelaram resultados positivos e as plantas apresentaram elevada atividade fotossintética, verificadas por meio da avaliação da fluorescência da clorofila *a* e medidas de condutância estomática, assimilação líquida de CO₂ e eficiência de carboxilação da enzima RuBisCO.

Relação entre fluorescência da clorofila *a* e trocas gasosas foi amplamente discutida por Baker (2008). O autor defende que mesmo com relações diretas entre eficiência quântica efetiva do fotossistema e trocas gasosas, problemas de natureza ambiental e de composição foliar podem ocultar o desempenho fotossintético. Dessa forma, avaliações pontuais associadas à análise de crescimento podem revelar resultados mais precisos.

Ao estudar abacaxizeiro (*Ananas comosus* L., Merrill), da Rocha (2017) constatou relação entre fornecimento de silício e processos de hidrólises de substratos das bombas de prótons, velocidade inicial de transporte de H⁺, V e F-ATPases, relacionadas à fotossíntese e massa seca das plantas. Em condição de estresse hídrico, tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.) com fornecimento de silício revelou maiores conteúdos de clorofila *a* e *b* e de carotenoides. Na ausência do estresse, conteúdo desses pigmentos foram similares nas plantas que receberam ou não receberam silício (ZHANG et al., 2018). Dessa forma, informações encontradas na literatura sobre efeitos do silício na fotossíntese estão de acordo com resultados deste trabalho.

Os resultados observados para fotossíntese, carboidratos e metabolismo especializado, avaliados em seu conjunto, demonstram que, na ausência de dano mecânico, plantas que não receberam silício tiveram maior desempenho fotossintético em relação às que receberam 3 mM de SiO₂, aos 169 DAS. Essa maior assimilação pode explicar maior teor de açúcares totais e sacarose nas plantas sem silício. Na ausência de silício e dano, as plantas apresentaram maior acúmulo de peróxido de hidrogênio e menor peroxidação lipídica, sugerindo eficiência do sistema antioxidante. Esses resultados favoreceram incremento de MST na ausência de silício.

Maior peroxidação lipídica nas plantas com 3 mM SiO₂ sem dano evidencia estresse revelado por menor condutância estomática e transpiração e maior dissipação de calor pelo fotossistema. Maior transpiração favorece o resfriamento das folhas (Lin et al., 2017), reduzindo a necessidade de dissipação de calor pelos fotossistemas, como ocorreu na ausência de silício. As plantas que não receberam SiO₂ apresentaram maior desempenho fotossintético e maior MST, e as plantas com 3 mM de SiO₂ aumentaram a atividade do metabolismo especializado, com maiores concentrações de vitexina e polifenóis.

Plantas de *Passiflora incarnata* L. com 1 e 2 mM de SiO₂ na presença de dano foram eficientes na sua superação e restabelecimento, uma vez que apresentaram elevada eficiência fotoquímica aos 140 DAS e elevada atividade da enzima RuBisCO, assimilação de carbono e condutância estomática, resultados concordantes com Costa et al. (2016) e Costa et al. (2018), que observaram aumento da condutância estomática, assimilação líquida de CO₂, transpiração e massa seca de folhas na presença de silício em *Passiflora edulis* Sims. A aplicação de silício pode ter promovido maior expressão dos genes *PetE*, *PetF*, *PsbP*, *PsbQ*, *PsbW* e *Psb28*, importantes para a etapa fotoquímica da fotossíntese, conforme observado por ZHANG et al. (2018). A expressão de genes pode ter contribuído com a produção de agentes redutores utilizados na etapa bioquímica da fotossíntese, de acordo com Coskun et al. (2019).

A maior atividade fotossintética pode ter contribuído com elevada concentração de açúcares totais e redutores, com direcionamento de recursos para crescimento, acúmulo de biomassa e menor acúmulo de malondialdeído, indicativo de baixo estresse, nas plantas cultivadas com 2 mM de SiO₂ e dano. Aplicação de silício em plantas com diferentes tipos de estresses promove aumento da atividade das enzimas antioxidantes que neutralizam as espécies reativas de oxigênio, diminuindo a peroxidação lipídica (RESENDE et al., 2012; ZHU et al., 2004; SHI et al., 2016).

Silício fornecido às plantas sem dano resultou em aumento da peroxidação lipídica, com redução de H₂O₂ livre, também observado por Coskun et al. (2019). Apenas a concentração de 3 mM de SiO₂ foi eficiente para aumentar o teor de vitexina. Os resultados observados com o fornecimento de silício demonstram que o estresse comprovado por maior peroxidação lipídica não está relacionado à maior produção da vitexina, o que sugere outra via de sinalização.

Na presença de dano mecânico, as plantas cultivadas com 1 e 2 mM de SiO₂ foram eficientes na superação do estresse e essas concentrações contribuíram com a síntese de polifenóis. Sugere-se que essas concentrações foram suficientes para sinalização da rota metabólica da fenilalanina amônia-liase (PAL), que promoveu aumento de polifenóis. Maior atividade da PAL estimulada pelo fornecimento de silício já foi demonstrada por Shetty et al. (2011) e Rahman; Wallis; Uddin (2015).

Quando 3 mM de SiO₂ foram fornecidos, transpiração, assimilação líquida de CO₂ e condutância estomática foram maiores na presença de dano, sem diferença na eficiência de carboxilação da RuBisCO. A ausência de diferença nos açúcares solúveis totais, açúcares redutores e sacarose pode indicar que a produção de esqueletos carbônicos não foi alterada.

A elevada concentração de amido em plantas com 3 mM de SiO₂ e dano mecânico sugere acúmulo para superação de estresse. A maior concentração de H₂O₂ nas plantas com dano não refletiu em maior peroxidação lipídica, indicando eficiência do sistema antioxidante enzimático. Plantas com 3 mM de SiO₂, independente do dano mecânico, revelaram maiores concentrações de polifenóis e vitexina, o que pode indicar direcionamento de recursos para o metabolismo especializado. Silício promove maior atividade da enzima PAL, precursora da síntese de fenóis e flavonoides, conforme Shetty et al. (2011) e Rahman; Wallis; Uddin (2015). Silicato de potássio (5, 7,5 e 10 mM) diminuiu a apigenina (Carneiro-Carvalho et al., 2020), flavona precursora da vitexina, o que pode explicar, no presente estudo, acúmulo de vitexina em *P. incarnata* cultivada com 3 mM de SiO₂. A sinalização para a produção de vitexina é dependente das concentrações de silício, não estando relacionada à maior peroxidação lipídica e ativação do sistema antioxidante enzimático.

Plantas sem silício submetidas ao dano mecânico apresentaram investimento em carboidratos de reserva como o amido, enquanto as plantas intactas apresentaram elevadas concentrações de açúcares solúveis totais. O amido pode ter sido resultado do estresse mecânico e ativou o sistema antioxidante enzimático que reduziu o H₂O₂ livre. O estresse que resultou em amido provocou diferença no metabolismo e maior teor de vitexina.

Passiflora incarnata L. apresentou maior performance fotossintética quando submetida a dano, que desencadeou cascata de sinalização e associado ao silício, resultou em menor peroxidação lipídica, com recuperação ao dano e acúmulo de polifenóis. Na concentração igual a 3 mM de SiO₂, ocorreu maior acúmulo de vitexina,

com menor acúmulo de biomassa e nas menores concentrações de silício houve superação do dano mecânico.

Na cultura de *P. incarnata* o dano mecânico ocorre com as colheitas da parte aérea, o que tende a promover aumento na produção de vitexina. Fornecimento de 3 mM de SiO₂ reduziu a massa seca de parte aérea e aumentou vitexina em 150% e polifenóis em 130%, sugerindo o potencial do silício em contribuir com o aumento de compostos fenólicos (SHETTY et al., 2011; RAHMAN; WALLIS; UDDIN, 2015), que podem ter importância inclusive em tratamentos do sistema nervoso central (ASLAM et al., 2015; DE OLIVEIRA et al., 2018).

6 CONCLUSÕES

Interação entre silício e dano mecânico é benéfica à *Passiflora incarnata* L. Concentrações de 1 e 2 mM de SiO₂ e remoção de parte aérea, comum nos cultivos comerciais, podem contribuir com a fotossíntese, teor de açúcares e polifenóis.

Fornecimento de 3 mM de SiO₂ promove menor acúmulo de biomassa e maior concentração de polifenóis e vitexina, independente do dano mecânico.

REFERÊNCIAS

- ASLAM, Muhammad Shahzad; AHMAD, Muhammad Syarhabil; MAMAT, Awang Soh. Pharmacological potential of vitexin. **Indian Research Journal of Pharmacy and Science**, v. 2, n. 2, p. 114-122, 2015.
- ABIFISA - Associação Brasileira das Empresas do Setor Fitoterápico, Suplemento Alimentar e de Promoção da Saúde: Informações de mercado. 2020. Disponível em: <http://www.abifisa.org.br/noticia/08-01-2020-registro-de-medicamentos-cresce-100>. Acesso em 15 jan. 2020.
- AL-AGHABARY, K.; ZHU, Z.; SHI, Q. Influence of silicon supply on chlorophyll content, chlorophyll fluorescence, and antioxidative enzyme activities in tomato plants under salt stress. **Journal of plant nutrition**, v. 27, n. 12, p. 2101-2115, 2004.
- ALEXIEVA, V.; Sergiev, I.; Mapelli, S.; Karanov, E. The effect of drought and ultraviolet radiation on growth and stress markers in pea and wheat. **Plant, Cell and Environment**. p.1337–1344, 2001.
- ALVAREZ-CASTELLANOS, P. P.; BISHOP, D.C.; PASCUAL-VILLALOBOS, J. M. Antifungal activity of the essential oil of flowerheads of garland chrysanthemum (*Chrysanthemum coronarium*) against agricultural pathogens. **Phytochemistry**, New York. v.57, p. 99-102, 2001.
- ALLEN, G. M.; BOND, M. D.; MAIN, M. B. **50 Common native important plants in Florida's ethnobotanical history**. University of Florida. Circular 1439, p. 1-21, 2012.
- BAKER, Neil R. Chlorophyll fluorescence: a probe of photosynthesis in vivo. **Annual Review of Plant Biology**, v. 59, p. 89-113, 2008.
- BENINCASA, M. M. P. Análise de crescimento de plantas (noções básicas). Jaboticabal: **Fundação Nacional de Ensino e Pesquisa**, p. 41, 2003.
- BESSEAU, S.; HOFFMANN, L.; GEOFFROY, P.; LAPIERRE, C.; POLLET, B.; LEGRAND, M. Flavonoid accumulation in Arabidopsis repressed in lignin synthesis affects auxin transport and plant growth. **The Plant Cell**, v. 19, n. 1, p. 148-162, 2007.
- BERRY, J. A.; DOWNTON, W. J. S. Environmental regulation of photosynthesis. Sitespecific effects of osmotically induced stromal acidification. **Plant Physiology**, Minneapolis, v. 72, p. 1100-1009, 1983.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº 22, de 30 de outubro de 1967: Estabelece normas para o emprego de preparações fitoterápicas. 1967.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Decreto nº 5.813, de 22 de junho de 2006. Aprova a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos. Diário Oficial da União, Brasília, jun. 2006a. Disponível em:

<http://portalsaude.saude.gov.br/index.php/o-ministerio/principal/leia-mais-o-ministerio/465-sctie-raiz/daf-raiz/ceaf-sctie/fitoterapicos-cgafb/l1-fitoterapicos/11542-fitoterapia-no-sistema-unico-de-saude> . Acesso em 29 ago. 2018.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº 971, de 03 de maio de 2006. Aprova a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares no SUS. Diário Oficial da União, Brasília, mai. 2006b. Disponível em:

<http://portalsaude.saude.gov.br/index.php/o-ministerio/principal/leia-mais-o-ministerio/465-sctie-raiz/daf-raiz/ceaf-sctie/fitoterapicos-cgafb/l1-fitoterapicos/11542-fitoterapia-no-sistema-unico-de-saude>. Acesso em 29 ago. 2018.

BRASIL, Ministério da Saúde. RENISUS. 2009. Disponível em:

<http://portalsaude.saude.gov.br/images/pdf/2014/maio/07/renisus.pdf>

BRASIL, Ministério da Saúde. Nota. 2016. Disponível em:

<http://www.brasil.gov.br/editoria/saude/2016/06/uso-de-plantas-medicinais-e-fitoterapicos-sobe-161>

BRASIL, Ministério da Saúde. RENAME. 2017. 210 p. Disponível em:

http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/relacao_nacional_medicamentos_rename_2017.pdf

BRASIL, Ministério da Saúde. RENAME. 2020. 216 p. Disponível em:

<http://portalms.saude.gov.br/assistencia-farmaceutica/medicamentos-rename>

CAMPOS, M.; ULIANA, M.; MONTERO, D. V.; LIMA, G.; MING, L. C. Effect of Organic Fertilization on Biomass Production and Bioactive Compounds in *Passiflora incarnata* L. **International Journal of Phytocosmetics and Natural Ingredients**, v. 2, n. 1, p. 11-11, 2015

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

CARVALHO, A. C. B.; BRANCO, P. F.; FERNANDES, L. A.; MARQUES, R. F. de O.; CUNHA, S. C.; PERFEITO, J. P. S. Regulação brasileira em plantas medicinais e fitoterápicos. **Revista Fitos Eletrônica**, v. 7, n. 01, 2013.

CARNEIRO-CARVALHO, A.; AIRES, A.; ANJOS, R.; MARTINS, L.; PINTO, T.; PEIXOTO, F.; GOMES-LARANJO, J. The role of silicon fertilization in the synthesis of phenolic compounds on chestnut plants infected with *P. cinnamomi* and *C. parasitica*. **Journal of Plant Diseases and Protection**, v. 127, n. 2, p. 211-227, 2020.

CHONG, J.; WISHART, D. S.; XIA, J. Using MetaboAnalyst 4.0 for comprehensive and integrative metabolomics data analysis. **Current protocols in bioinformatics**, v. 68, n. 1, p. 1-128, 2019.

CLEGG, K.M.,. The application of the Anthrone reagent to the estimation of starch in cereals. **Journal of the Science of Food Agriculture**, v.7, p. 40–44, 1956.

COSKUN, D.; DESHMUKH, R.; SONAH, H.; MENZIES, J. G.; REYNOLDS, O.; MA, J. F.; KRONZUCKER, H. J.; BÉLANGER, R. R. The controversies of silicon's role in plant biology. **New Phytologist**, v. 221, n. 1, p. 67-85, 2019.

COSTA, B. N. S.; DIAS, G. D. M. G.; COSTA, I. D. J. S.; ASSIS, F. A. D.; SILVEIRA, F. A. D.; PASQUAL, M. Effects of silicon on the growth and genetic stability of passion fruit. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 38, n. 4, p. 503-511, 2016.

COSTA, B. N. S.; COSTA, I. D. J. S.; DIAS, G. D. M. G.; ASSIS, F. A. D.; PIO, L. A. S.; SOARES, J. D. R.; PASQUAL, M. Morpho-anatomical and physiological alterations of passion fruit fertilized with silicone. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 53, n. 2, p. 163-171, 2018.

DA ROCHA, J. G. Efeitos do silício na energética e respostas a estresses em abacaxizeiro (*Ananas comosus* L., Merrill) via modulação das bombas de prótons. 2017. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) – Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes, 2017.

DE OLIVEIRA BOSCO, M. R.; DE OLIVEIRA, A. B.; HERNANDEZ, F. F. F.; DE LACERDA, C. F. Influência do estresse salino na composição mineral da berinjela. **Revista Ciência Agronômica**, v. 40, n. 2, p. 157-164, 2009.

DE OLIVEIRA, D. R.; TODO, A. H.; RÊGO, G. M.; CERUTTI, J. M.; CAVALHEIRO, A. J.; RANDO, D. G. G.; CERUTTI, S. M. Flavones-bound in benzodiazepine site on GABAA receptor: Concomitant anxiolytic-like and cognitive-enhancing effects produced by Isovitexin and 6-C-glycoside-Diosmetin. **European journal of pharmacology**, v. 831, p. 77-86, 2018.

DE PAULA, T. O. M.; SANTOS, A. M.; VALADARES, S. V.; CALDEIRA JUNIOR C. F., FERNANDES, L. A.; MARTINS, E. R.; ALVES, D. F. Influência do Silicato no Crescimento Inicial e Produção de Flavonóides Totais em *Dimorphandra mollis* Benth. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 5, n. S2, p. pg. 552-554, 2008.

DEBONA, Daniel; RODRIGUES, Fabrício A.; DATNOFF, Lawrence E. Silicon's role in abiotic and biotic plant stresses. **Annual Review of Phytopathology**, v. 55, p. 85-107, 2017.

DAVIES, K. M. Modifying anthocyanin production in flowers. New York: **Anthocyanins**. p. 49-80, 2008.

DINELLI G.; BONETTI A.; ELEMENTI S.; D'ANTUONO L. F.; CATIZONE P. Biosynthesis of Polyphenol Phytoestrogens in Plants. **Phytoestrogens in Functional Foods**. 19-80, 2006.

DHAWAN, K.; KUMAR, S.; SHARMA, A. Aphrodisiac Activity of Methanol Extract of Leaves of *Passiflora incarnata* Linn. in Mice. **Phytoterapy Research**, v.17, p. 401-403., 2003.

DHAWAN, K.; DHAWAN, S.; SHARMA, A. *Passiflora*: a review update. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 94, p. 1-23, 2004.

DOVE, P. M.; ICENHOWER, J. Kinetic and thermodynamic controls on silica reactivity: an analog for waste disposal media. Paris: Université d'été, 1997.

EXLEY, Christopher. Silicon in life: A bioinorganic solution to bioorganic essentiality1. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 69, n. 3, p. 139-144, 1998.

ETESAMI, H.; JEONG, B. R. Review and future prospects on the action mechanisms in alleviating biotic and abiotic stresses in plants. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 147, p. 881-896, 2018.

European Medicines Agency. Guideline on good agricultural and collection practice (gacp) for starting materials of herbal origin. London: EMEA, 2006.

European Pharmacopoeia 8.3, Council of Europe. Strasbourg. France, 2016.

FAWE, A.; ABOUD-ZAID, M.; MENZIES, J. G.; BÉLANGER, R. R. Silicon-mediated accumulation of flavonoid phytoalexins in cucumber. **Phytopathology**, v. 88, n. 5, p. 396-401, 1998.

FAWE, A.; MENZIES, J. G.; CHÉRIF, M.; BÉLANGER, R. R. Silicon and disease resistance in dicotyledons. In: **Studies in Plant Science**. Elsevier. p. 159-169, 2001.

FERREIRA, C. H. A.; COLOMBO, R. Validação de método e determinação espectrométrica dos flavonoides das folhas e do vinhoto da cana-de-açúcar e comparação com método CLAE-UV. **Química Nova**, v. 34, n. 9, p. 1651-1655, 2011.

FERRER, J. L., AUSTIN, M. B., STEWART JR, C., NOEL, J. P. Structure and function of enzymes involved in the biosynthesis of phenylpropanoids. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 46, n. 3, p. 356-370, 2008.

FRANCISCO, D.; GODOY, L.; SOARES, E.; MOREIRA, R. Índice de flavonoides e rendimento de matéria seca e óleo essencial de *Sphagneticola trilobata* (L.) Pruski em função da dose de nitrogênio e tipo de solo. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 19, n. 1, p. 81-89, 2017.

FORKMANN, G.; MARTENS, S. Metabolic engineering and applications of flavonoids. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 12, n. 2, p. 155-160, 2001.

FRANKIE, G. W.; VINSON, S. B. Scent marking of passion flowers in Texas by females of *Xylocopa virginica texana* (Hymenoptera: Anthophoridae). **Journal of the Kansas Entomological Society**, p. 613-625, 1977.

FUENTES FIALLO, V.; HERNÁNDEZ, C. M. L.; FERRADÁ C. A. R.; PÉREZ, P. S.; MÉNDEZ, G. Instructivo técnico del cultivo de *Passiflora incarnata* L. **Revista Cubana de Plantas Medicinales**. v. 5, n. 3, p. 118-122., 2000.

GARCIA, I. S.; SOUZA, A.; BARBEDO, C. J.; DIETRICH, S. M. C.; FIGUEIREDO-RIBEIRO, R. C. L. Changes in soluble carbohydrates during storage of *Caesalpinia*

echinata Lam. (Brazilwood) seeds, an endangered leguminous tree from the Brazilian Atlantic forest. **Brazilian Journal Biology**, v.66, n.2, p.739-745, 2006.

GLOBAL INDUSTRY ANALYSTS, 2016. Herbal supplements and remedies – A global strategic business report. Disponível em: http://www.strategyr.com/MarketResearch/Herbal_Supplements_and_Remedies_Market_Trends.asp. Acesso em 29 ago. 2018.

GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química nova**, v. 30, n. 2, p. 374-381, 2007.

GOULAS, Y., CEROVIC, Z. G., CARTELAT, A., MOYA, I. Dualex: a new instrument for field measurements of epidermal ultraviolet absorbance by chlorophyll fluorescence. **Applied Optics**, v. 43, n. 23, p. 4488-4496, 2004.

GONG, H. J.; CHEN, K. M.; CHEN, G. C.; WANG, S. M.; ZHANG, C. L. Effects of silicon on growth of wheat under drought. **Journal of Plant Nutrition**, v. 26, n. 5, p. 1055-1063, 2003.

GREMILLION, K. J. The development of a mutualistic relationship between humans and maypops (*Passiflora incarnata* L.) in the southeastern United States. **Journal of Ethnobiology**, v. 9, p. 135-155, 1989.

GUNES, A.; INAL, A.; BAGCI, E. G.; PILBEAM, D. J. Silicon-mediated changes of some physiological and enzymatic parameters symptomatic for oxidative stress in spinach and tomato grown in sodic-B toxic soil. **Plant and Soil**, v. 290, n. 1-2, p. 103-114, 2007.

HABERMANN, G. Trocas gasosas, relações hídricas e hormônios vegetais em laranjeiras doce, infectadas por *Xylella fastidiosa*, em três regiões do Estado de São Paulo. 2004. 167f. Tese (Doutorado). Instituto de Biociências de Botucatu Universidade Estadual Paulista (UNESP), Botucatu, 2004.

HAJIMEHDIPOOR, H.; REZAZADEH, S.; HADJIAKHOONDI, A.; PIRALI HAMEDANI, M.; REZAEI, A.; ZAHEDI, H.; KALANTARI KHANDANI, N. Comparative and differential study of *Passiflora incarnata* L. and *Passiflora caerulea* L. in raw plants and pharmaceutical dosage forms. **Journal of Medicinal Plants**, v. 3, n. 23, p. 65-71, 2007.

HEIGL, D.; FRANZ, Gerhard. Stability testing on typical flavonoid containing herbal drugs. Die Pharmazie-An International: **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 58, n. 12, p. 881-885, 2003.

Hoagland, D. R.; Arnon, D. I. The water-culture method for growing plants without soil. Circular. **California agricultural experiment station**, v. 347, n. 2. ed., 1950.

INGALE, S. P.; KASTURE, S. B. Protective Effect of Standardized Extract of *Passiflora incarnata* Flower in Parkinson's and Alzheimer's Disease. **Ancient science of life**, v. 36, n. 4, p. 200, 2017.

KANEHISA, M.; GOTO, S.; HATTORI, M.; AOKI-KINOSHITA, K. F.; ITOH, M.; KAWASHIMA, S.; KATAYAMA, T.; ARAKI, M.; HIRAKAWA, M. From genomics to chemical genomics: new developments in KEGG. **Nucleic acids research**, v. 34, n. suppl_1, p. D354-D357, 2006.

KANEHISA, M.; GOTO, S.; SATO, Y.; FURUMICHI, M.; TANABE, M. KEGG for integration and interpretation of large-scale molecular data sets. **Nucleic acids research**, v. 40, n. D1, p. D109-D114, 2012.

KIDANE, E. G. **Management of Fusarium wilt diseases using non-pathogenic Fusarium oxysporum and silicon**. Tese de Doutorado - University of KwaZulu-Na, 2008.

KILLIP, E. P. Supplemental notes on the American species of Passifloraceae with descriptions of new species. **Contrib. U.S. Natl.**, v.35, p. 1-23, 1960.

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. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, p. 510, 2017.

KIM, Y. H., KHAN, A. L., WAQAS, M., JEONG, H. J., KIM, D. H., SHIN, J. S., LEE, I. J. Regulation of jasmonic acid biosynthesis by silicon application during physical injury to *Oryza sativa* L. **Journal of plant research**, v. 127, n. 4, p. 525-532, 2014.

KOES, R. E.; QUATTROCCHIO, F.; MOL, J. N. M. The flavonoid biosynthetic pathway in plants: function and evolution. **BioEssays**, v. 16, n. 2, p. 123-132, 1994.

KORNDÖRFER, G. H.; PEREIRA, C. S.; NOLLA, A.; PEREIRA, A.; NOLLA, A. **Análise de silício**: solo, planta e fertilizante. Uberlândia: GPSi-ICIAG-UFU, 2004. 34p.

LAZZARINI, J.R. Mercado de fitoterápicos e inovação. *In*: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE FARMACOGNOSIA, 10., 2015, Juazeiro, BA: UNIVASF, 2015.

LIANG, Y., CHEN, Q. I. N., LIU, Q., ZHANG, W., DING, R. Exogenous silicon (Si) increases antioxidant enzyme activity and reduces lipid peroxidation in roots of salt-stressed barley (*Hordeum vulgare* L.). **Journal of plant physiology**, v. 160, n. 10, p. 1157-1164, 2003.

Lin, H.; Chen, Y.; Zhang, H.; Fu, P.; Fan, Z. Stronger cooling effects of transpiration and leaf physical traits of plants from a hot dry habitat than from a hot wet habitat. **Functional Ecology**, v. 31, n. 12, p. 2202-2211, 2017.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas. 1 ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2002.

MACDOUGAL, John M. Revision of *Passiflora* subgenus decaloba section pseudodysosmia (Passifloraceae). **Systematic Botany Monographs**, p. 1-146, 1994.

MARJAMA-LYONS, J. M., KOLLER, W. C. Parkinson's disease: update in diagnosis and symptom management. **Geriatrics**, v. 56, 2001.

MARKHAM, K. R.; GEIGER, H. **The flavonoids**: Advances in research since 1986. New York: Chapman and Hall, v. 10, p. 441-493, 1994.

MCGUIRE, C. Field performance and phenotypic variation of *Passiflora incarnata* L. New York State: **Hortscience**, v. 33, p. 240-241, 1998.

MILLER, G. L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. **Analytical Chemistry**, Washington, v. 31, n. 3, p. 426-428, 1959.

MOUSSA, H. R. Influence of exogenous application of silicon on physiological response of salt-stressed maize (*Zea mays* L.). **International Journal of Agriculture and Biology**, v. 8, n. 3, p. 293-297, 2006.

MORRIS, D.L. Quantitative determination os carbohydrates with Derwood's anthrone reagent. **Science**, Washington, v. 107, p.254- 255, 1948.

OKUDA, S.; YAMADA T.; HAMAJIMA, M.; ITOH, M.; KATAYAMA, T.; BORK, P.; GOTO, S.; KANEHISA, M. KEGG Atlas mapping for global analysis of metabolic pathways. **Nucleic acids research**, v. 36, n. suppl_2, p. W423-W426, 2008.

OHATA, K.; GOTO, K.; KOZAKA, T. Observations on the reaction of rice cells to the infection of different races of *Pyricularia oryzae*. **Japanese Journal of Phytopathology**, v. 28, n. 1, p. 24-30, 1963.

OMS - ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. Cuidados primários de saúde. OMS: Alma-Ata, 1978. Disponível em:
http://www.who.int/publications/almaata_declaration_en.pdf. Acesso em 29 ago. 2018.

PAIVA, A. S.; FERNANDES, E. J.; RODRIGUES, T. J.; TURCO, J. E. Condutância estomática em folhas de feijoeiro submetido a diferentes regimes de irrigação. **Engenharia Agrícola**, v. 25, n. 1, p. 161-169, 2005.

PASTENE, E. R.; BOCAZ, G.; PERIC, I.; MONTES, M.; SILVA, V.; RIFFO, E. Separation by capillary electrophoresis of C-glycosylflavonoids in *Passiflora* sp. extracts. **Boletín de la Sociedad Chilena de Química**, v. 45, n. 3, p. 461-467, 2000.

PASSOS, L. P. **Métodos Analíticos e Laboratoriais em Fisiologia Vegetal**. Coronel Pacheco: EMBRAPA-CNPGL, 1996. 44p.

PEREIRA, C. A.; YARIWAKE, J. H.; LANÇAS, F. M.; WAUTERS, J. N.; TITS, M.; ANGENOT, L. A HPTLC densitometric determination of flavonoids from *Passiflora alata*, *P. edulis*, *P. incarnata* and *P. caerulea* and comparison with HPLC method. **Phytochemical Analysis: An International Journal of Plant Chemical and Biochemical Techniques**, v. 15, n. 4, p. 241-248, 2004.

PIETROGRANDE, M. C.; DONDI, F.; CIOGLI, A.; GASPARRINI, F.; PICCIN, A.; SERAFINI, M. Characterization of new types of stationary phases for fast and ultra-fast liquid chromatography by signal processing based on AutoCovariance Function:

A case study of application to *Passiflora incarnata* L. extract separations. **Journal of Chromatography**, v. 1217, n. 26, p. 4355-4364, 2010.

PINTO, A.; SILVA, D.; BOLZANI, V.; LOPES, N.; EPIFANIO, R. Produtos naturais: atualidade, desafios e perspectivas. **Química nova**, p. 45-61, 2002.

PRABHAKAR, M. C., BANO, H., KUMAR, I., SHAMSI, M. A. e KHAN, M. S. Y.: **Pharmacological investigations on vitexin**. *Planta Medica* v.43, p. 396-403, 1981.

PROLIAC, A.; RAYNAUD, J. Sur la présence de la C- β -D glucopyranosyl 6, C- α -L arabinopyranosyl-8 apigénine dans les tiges feuillées de *Passiflora incarnata* L. (Passifloracées). **Pharmazie**, v. 41, n. 9, p. 673-674, 1986.

QIMIN, L.; VAN DEN HEUVEL, H.; DELORENZO, O.; CORTHOUT, J.; PIETERS, L. A. C.; VLIETINCK, A. J.; CLAEYS, M. Mass spectral characterization of C-glycosidic flavonoids isolated from a medicinal plant (*Passiflora incarnata*). **Journal of Chromatography: Biomedical Sciences and Applications**, v. 562, n. 1-2, p. 435-446, 1991.

RAFFAELLI, A.; MONETI, G.; MERCATI, V.; TOJA, E. Mass spectrometric characterization of flavonoids in extracts from *Passiflora incarnata*. **Journal of Chromatography A**, v. 777, n. 1, p. 223-231, 1997.

RAHMAN, K.; KRENN, L.; KOPP, B.; SCHUBERT-ZSILAVECZ, M.; MAYER, K. K.; KUBELKA, W. Isoscoparin-2 "-O-glucoside from *Passiflora incarnata*. **Phytochemistry**, v. 45, n. 5, p. 1093-1094, 1997.

RAHMAN, A.; WALLIS, C. M.; UDDIN, W. Silicon-induced systemic defense responses in perennial ryegrass against infection by *Magnaporthe oryzae*. **Phytopathology**, v. 105, n. 6, p. 748-757, 2015.

REHWALD, A.; STICHER, O.; MEIER, B. Trace analysis of harman alkaloids in *Passiflora incarnata* by reversed-phase high performance liquid chromatography. *Phytochemical Analysis*, v. 6, n. 2, p. 96-100, 1995.

RESENDE, R. S.; RODRIGUES, F. Á.; CAVATTE, P. C.; MARTINS, S. C. V.; MOREIRA, W. R.; CHAVES, A. R. M.; DAMATTA, F. M. Leaf gas exchange and oxidative stress in sorghum plants supplied with silicon and infected by *Colletotrichum sublineolum*. **Phytopathology**, v. 102, n. 9, p. 892-898, 2012.

REZAEIZADEH, H.; ALIZADEH, M. NAZERI, M.; SHAMS ARDAKANI, M. R. The Traditional Iranian Medicine Point of View on Health. **Iranian Journal of Public Health**, v. 38, n. 1, p. 169-72, 2009.

ROCHA, F. A. G.; ARAÚJO, M. F. F.; COSTA, N. D. L.; SILVA, R. P. The therapeutic use of flora in world history. **Holos**, v. 31, n. 1, p. 49, 2015.

SCHILCHER, H. Zur Kenntnis der Flavon-C-Glykoside in *Passiflora Incarnata* L. **Zeitschrift für Naturforschung**, v. 23, n. 10, p. 1393-1393, 1968.

SCHIJLEN, E. G., DE VOS, C. R., VAN TUNEN, A. J.; BOVY, A. G. Modification of flavonoid biosynthesis in crop plants. **Phytochemistry**, v. 65, n. 19, p. 2631-2648, 2004.

SELMAR, D.; KLEINWÄCHTER, M. Influencing the product quality by deliberately applying drought stress during the cultivation of medicinal plants. **Industrial Crops and Products**, v. 42, p. 558-566, 2013.

SHETTY, R.; FRETTÉ, X.; JENSEN, B.; SHETTY, N.; JENSEN, J.; JØRGENSEN, H.; NEWMAN, M.; CHRISTENSEN, L. P. Silicon-induced changes in antifungal phenolic acids, flavonoids and Key phenylpropanoid pathway genes during the interaction between miniature roses and the biotrophic pathogen *Podosphaera pannosa*. **Plant physiology**, p. pp. 111.185215, 2011.

SHI, Y.; ZHANG, Y.; HAN, W.; FENG, R.; HU, Y.; GUO, J.; GONG, H. Silicon enhances water stress tolerance by improving root hydraulic conductance in *Solanum lycopersicum* L. **Frontiers in plant science**, v. 7, p. 196, 2016.

SJÖBERG, S. Silica in aqueous environments. **Journal of Non-Crystalline Solids**, v. 196, p. 51-57, 1996.

SOULIMANI, R.; YOUNOS, C.; JARMOUNI, S.; BOUSTA, D.; MISSLIN, R.; MORTIER F. Behavioural effects of *Passiflora incarnata* L. and its indole alkaloid and flavonoid derivatives and maltol in the mouse. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 57, n. 1, p. 11-20., 1997.

SOYLEMEZOGLU, G.; DEMIR, K.; INAL, A.; GUNES, A. Effect of silicon on antioxidant and stomatal response of two grapevine (*Vitis vinifera* L.) rootstocks grown in boron toxic, saline and boron toxic-saline soil. **Scientia horticulturae**, v. 123, n. 2, p. 240-246, 2009.

SLOMBERG, D. L.; SCHOENFISCH, M. H. Silica nanoparticle phytotoxicity to *Arabidopsis thaliana*. **Environmental science & technology**, v. 46, n. 18, p. 10247-10254, 2012.

TANAKA, Y.; SASAKI, N.; OHMIYA, Akemi. Biosynthesis of plant pigments: anthocyanins, betalains and carotenoids. **The Plant Journal**, v. 54, n. 4, p. 733-749, 2008.

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

TROPICOS, 2018. Disponível em:
<http://www.tropicos.org/Name/24200150>. Acesso em: 31 ago. 2018.

UNITED STATES PHARMACOPEIAL CONVENTION. **USP**. Rockville, 2006.

WEDEPOHL, K. H. The composition of the continental crust. **Geochimica et cosmochimica Acta**, v. 59, n. 7, p. 1217-1232, 1995.

WOSCH, L., SANTOS, K. C. D., IMIG, D. C., SANTOS, C. A. M. Comparative study of *Passiflora* taxa leaves: II. A chromatographic profile. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 27, n. 1, p. 40-49, 2017.

WU, Z.; LIUA, S.; ZHAOA, J.; WANGA, F.; DUA, Y.; ZOUA, S.; LIA, H.; WENA, D.; HUANGA, Y. Comparative responses to silicon and selenium in relation to antioxidant enzyme system and the glutathione-ascorbate cycle in flowering Chinese cabbage (*Brassica campestris* L. ssp. *chinensis* var. *utilis*) under cadmium stress. **Environmental and Experimental Botany**, v. 133, p. 1-11, 2017.

XIE, Z.; SONG, R.; SHAO, H.; SONG, F.; XU, H.; LU, Y. Silicon improves maize photosynthesis in saline-alkaline soils. **The Scientific World Journal**, 2015.

YAO, X., CHU, J., CAI, K., LIU, L., SHI, J., GENG, W. Silicon improves the tolerance of wheat seedlings to ultraviolet-B stress. **Biological trace element research**, v. 143, n. 1, p. 507-517, 2011.

YEMM, E. W.; WILLIS, A. J. The estimation of carbohydrates in plant extracts by anthrone. **Biochemical Journal**. v. 57, p. 508-514, 1954.

ZHANG, Y.; YU, S. H. I.; GONG, H. J.; ZHAO, H. L.; LI, H. L.; HU, Y. H.; WANG, Y. C. Beneficial effects of silicon on photosynthesis of tomato seedlings under water stress. **Journal of Integrative Agriculture**, v. 17, n. 10, p. 2151-2159, 2018.

ZHU, Y.; GONG, H. Beneficial effects of silicon on salt and drought tolerance in plants. **Agronomy for Sustainable Development**, v. 34, n. 2, p. 455-472, 2014.

ZHU, Z.; WEI, G.; LI, J.; QIAN, Q.; YU, J. Silicon alleviates salt stress and increases antioxidant enzymes activity in leaves of salt-stressed cucumber (*Cucumis sativus* L.). **Plant Science**, v. 167, n. 3, p. 527-533, 2004.