



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE FITOTECNIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA/FITOTECNIA

HOZANO DE SOUZA LEMOS NETO

SILÍCIO NA ATENUAÇÃO DOS EFEITOS DA SALINIDADE EM ALFACE
HIDROPÔNICA

FORTALEZA

2019

HOZANO DE SOUZA LEMOS NETO

SILÍCIO NA ATENUAÇÃO DOS EFEITOS DA SALINIDADE EM ALFACE
HIDROPÔNICA

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do grau de Doutor em Agronomia. Área de concentração: Fitotecnia.

Orientador: Prof. Dr. Marcelo de Almeida Guimarães.

Coorientadora: Profa. Dra. Rosilene Oliveira Mesquita.

FORTALEZA

2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

- L577s Lemos Neto, Hozano de Souza.
Silício na atenuação dos efeitos da salinidade em alface hidropônica / Hozano de Souza Lemos Neto. –
2019.
106 f. : il.
- Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-
Graduação em Agronomia (Fitotecnia), Fortaleza, 2019.
Orientação: Prof. Dr. Marcelo de Almeida Guimarães.
Coorientação: Profa. Dra. Rosilene Oliveira Mesquita.
1. Estresse salino. 2. Enzimas antioxidantes. 3. Lactuca sativa L. . 4. Pós-colheita. 5. Solução nutritiva
com Si. I. Título.

CDD 630

HOZANO DE SOUZA LEMOS NETO

SILÍCIO NA ATENUAÇÃO DOS EFEITOS DA SALINIDADE EM ALFACE
HIDROPÔNICA

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do grau de Doutor em Agronomia. Área de concentração: Fitotecnia.

Aprovada em: 24/01/2019.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Marcelo de Almeida Guimarães (Orientador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Profa. Dra. Rosilene Oliveira Mesquita (Coorientadora)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Alexandre Bosco de Oliveira
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Ciro de Miranda Pinto
Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira (UNILAB)

Prof. Dr. Nildo da Silva Dias
Universidade Federal Rural do Semiárido (UFERSA)

A Deus.

Aos meus pais, Moacir e Zilmar.

Aos meus irmãos, Aldenir, Sueli, Eliane e Moaciria.

A minha vó Maria Alexandrina (*in memoriam*).

Dedico.

Ao prof. Marcelo de Almeida Guimarães e a todos os “Mestres”.

Ofereço.

AGRADECIMENTOS

A Deus pela força de inspiração, saúde, sabedoria, coragem e entusiasmo para superar os obstáculos.

À Universidade Federal do Ceará (UFC) e ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia (PPGAF), pela oportunidade de cursar o doutorado.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de estudos.

A minha família, em especial, aos meus pais Moacir e Zilmar pelo amor, carinho e força de inspiração. Aos meus irmãos Aldenir, Sueli, Eliane e Moaciria pelo apoio e contribuições constantes em minha vida. À minha avó Maria Alexandrina (*in memoriam*)

A Kelly Cristiane, pela amizade, paciência, compreensão, companheirismo, amor, carinho e confiança em todos os momentos. E também pela revisão gramatical e ortográfica desse trabalho.

Ao meu orientador, professor Marcelo de Almeida Guimarães, pela paciência, sabedoria, ensinamentos, amizade e confiança na orientação deste trabalho e durante a Pós-Graduação.

À professora Rosilene Oliveira Mesquita pela colaboração durante o período em que cursei a Pós-Graduação.

Aos membros da banca examinadora, pela disponibilidade e correções para melhoria do trabalho.

Ao professor Sebastião Medeiros Filho e ao pessoal do laboratório de Análise de Sementes (LAS), da UFC, pela colaboração na realização do primeiro artigo.

Ao professor Dr. Enéas Gomes-Filho e a equipe do laboratório de Fisiologia Vegetal (Wallace Edelky, Lineker Lopes, Luckas Huriel, Daniel Coelho, Daniel Farias, Cibelle Gadelha, Gyedre Araújo, Stelamaris Oliveira, Paulo André e Dalton Perote) pelo apoio na realização das análises bioquímicas.

Ao professor Nildo Dias por ter aceitado me supervisionar no Pós-Doutorado e também por compor a banca examinadora deste trabalho.

Aos professores Júlio César DoVale, Lamartine Soares Cardoso, Alexandre Bosco de Oliveira e Roberto Jun Takane por todo o aporte, apoio e incentivo.

Ao Núcleo de Estudos em Olericultura do Nordeste (NEON), pelo apoio e contribuições na realização deste trabalho, mas também pelo acolhimento, ensinamentos, amizade, convivência e momentos de descontração com todos os seus membros (Caris Viana,

Benedito Pereira, Gabriela Menezes, Ana Régia, Cícera Manuele, Janiquelle Rabelo e Francisco Ronaldo).

Aos amigos egressos do NEON (Manuel Filipe, Jean Tello, Italo Marlone, Celly Maia, Santiago, Filipe Nunes e Sara Santos) pelo apoio e amizade durante o tempo que estiveram no grupo.

Aos funcionários da Horta Didática da UFC, Narciso e Robson, pela colaboração na realização dessa e de outras pesquisas.

Ao Instituto de Fisiologia Vegetal (INFIVE), Facultad de Ciencias Agrarias e Florestales (FCAyF) da Universidad Nacional de La Plata (UNLP), pelo apoio durante a realização do intercâmbio.

A professora Marcela Ruscitti e a todos os amigos do INFIVE (Sebastián Garita, Valéria Bernardo, Laura, Cecília Arango e Irina) pela recepção e apoio durante o período de intercâmbio na Argentina.

Aos colegas da Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia: Tamires Pereira, Linda Brenna, Laiane Moraes, Jéssica Soares, Leane Fialho, Marcelo Pinheiro, Maria Lucilania, Cristiane Coutinho, Falker, Erivanda, Vanessa, Maria Lílian, Adrielly Vieira, Rebeca Torres, Francisco Elder, Wenner Vinicius, Mariane, Hércules e José Dionis.

Um agradecimento mais que especial aos amigos da salinha de Doutorado, Vanessa, Marcelo, Linda Brenna, Tamires, Jéssica, Ronaldo e Tomil, pela convivência e por terem compartilhado muitos momentos de alegrias, descontração, dificuldades, medos e incertezas durante o Doutorado.

Aos amigos dos demais programas de Pós-Graduação da UFC, Clemente Fernandes, Otoniel, Jefter Arnon, Kaio Vieira e Gustavo Henrique.

A todos os “Mestres” pelos ensinamentos e partilha de conhecimento. Foi graças a vocês que pude chegar até aqui. Carrego, pois, ensinamentos para a vida pessoal e profissional.

A todos os meus amigos que, mesmo distante, torcem pelo meu sucesso e pela minha realização profissional.

Muito obrigado!

Muchas Gracias!

“A persistência é o caminho do êxito”.

Charles Chaplin

RESUMO

No semiárido a maior parte das águas subterrâneas são salinas e, quando utilizado na irrigação das culturas, podem limitar o crescimento. O silício (Si) ameniza o efeito do estresse salino nas plantas. Com o objetivo de avaliar o potencial do Si para atenuar os efeitos da salinidade em alface hidropônica, foram conduzidos quatro experimentos em delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial, com quatro repetições. No primeiro foi testado cinco cultivares de alface (Repolhuda Todo Ano, Grandes Lagos Americana, Great Lakes 659, Lucy Brown e Crespa Repolhuda) e cinco níveis de salinidade (0; 50; 100; 150; 200 mM de NaCl). No segundo, duas cultivares de alface (Great Lakes 659 e Lucy Brown) e seis combinações diferentes de NaCl e Si na solução nutritiva (0 mM Na_2SiO_3 + 0 NaCl; 6,0 mM Na_2SiO_3 + 0 mM NaCl; 0 mM Na_2SiO_3 + 150 mM NaCl; 6,0 mM Na_2SiO_3 + 150 mM NaCl; 0 mM Na_2SiO_3 + 200 mM NaCl; 6,0 mM Na_2SiO_3 + 200 mM NaCl). Nestes dois, avaliaram-se a germinação e o crescimento inicial das plântulas. No terceiro, a alface foi cultivada em sistema hidropônico utilizando cinco níveis de Si (0; 2; 4; 6; 8 mM) na solução nutritiva, na qual foram avaliadas variáveis fitotécnicas, trocas gasosas e pós-colheita. No quarto, utilizou-se três níveis de salinidade da solução hidropônica (1,65; 3,65; 7,65 dS m^{-1}) e dois de Si (0 e 2 mM). Foram avaliadas as trocas gasosas, clorofilas, antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos. Houve redução na germinação de todas as cultivares nos níveis de salinidade mais alto, a partir de 100 mM de NaCl. A ‘Lucy Brown’ foi a mais tolerante nos maiores níveis de NaCl e as ‘Grandes Lagos Americana’ e ‘Great Lakes’ as mais sensíveis. Quando adicionado o Si na solução de NaCl ocorreu redução dos efeitos do estresse salino. A adição de pequenas doses de Si influenciou nas variáveis fotossíntese, sólidos solúveis e acidez titulável. A salinidade reduziu todas as variáveis relacionadas ao crescimento da planta. A acidez titulável, sólidos solúveis, vitamina C e a clorofila total aumentaram com a salinidade. As enzimas peroxidase do ascorbato e peroxidase do guaiacol tiveram suas atividades aumentadas tanto com o estresse salino e o Si. O Si atenuou os efeitos da salinidade na germinação e crescimento inicial das plântulas de alface, todavia, nas plantas em cultivo hidropônico, apesar de ter proporcionado efeitos positivos na fisiologia, este não foi efetivo em atenuar os efeitos do estresse salino, pois a sua utilização não resultou em incrementos de massa fresca e seca da parte aérea.

Palavras-chave: Estresse salino. Enzimas antioxidantes. *Lactuca sativa* L. Pós-colheita. Solução nutritiva com Si.

ABSTRACT

In the semiarid most groundwater is saline and, when used in crop irrigation, may limit growth. Silicon (Si) softens the effect of saline stress on plants. With the objective of evaluating the potential of Si to attenuate the effects of salinity on hydroponic lettuce, four experiments were conducted in a completely randomized design, in a factorial scheme, with four replications. In the first (i) five lettuce cultivars (Repolhuda Todo Ano, Grandes Lagos Americana, Great Lakes 659, Lucy Brown and Crespa Repolhuda) were tested and five salinity levels (0, 50, 100, 150, 200 mM NaCl) were tested. In the second (ii), two lettuce cultivars (Great Lakes 659 and Lucy Brown) and six different combinations of NaCl and Si in the nutrient solution (0 mM Na₂SiO₃ + 0 NaCl, 6.0 mM Na₂SiO₃ + 0 mM NaCl, 0 mM Na₂SiO₃ + 150 mM NaCl, 6.0 mM Na₂SiO₃ + 150 mM NaCl, 0 mM Na₂SiO₃ + 200 mM NaCl, 6.0 mM Na₂SiO₃ + 200 mM NaCl). In these two, the germination and initial growth of the seedlings were evaluated. In third (iii), lettuce was cultivated in a hydroponic system using five levels of Si (0, 2, 4, 6, 8 mM) in the nutrient solution, where phytotechnical variables, gas exchange and post-harvest. In quart (iv) three salinity levels of the hydroponic solution (1.65, 3.65, 7.65 dS m⁻¹) and two of Si (0 and 2 mM) were used. Gas exchanges, chlorophylls, enzymatic and non-enzymatic antioxidants were evaluated. There was a reduction in germination of all cultivars at the highest salinity levels, from 100 mM NaCl. The 'Lucy Brown' was the most tolerant at the highest levels of NaCl and the 'Grandes Lagos Americana' and 'Great Lakes' the most sensitive. When Si was added to the NaCl solution, the effects of saline stress were reduced. The addition of small doses of Si influenced the variables photosynthesis, soluble solids and titratable acidity. Salinity reduced all variables related to plant growth. Titratable acidity, soluble solids, vitamin C and total chlorophyll increased with salinity. The enzymes peroxidase of ascorbate and peroxidase guaiacol had their activity increased with both saline and Si stress. Silicon attenuated the effects of salinity on germination and initial growth of lettuce seedlings, however, on plants under hydroponic cultivation, although it had positive effects on physiology, this was not effective in attenuating the effects of saline stress, since its use did not result in increases of fresh and dry mass.

Keywords: Salt stress. Antioxidant enzymes. *Lactuca sativa* L. Post-harvest. Nutrient solution with Si.

LISTA DE FIGURAS

- Figure 1 Germination performance in seeds of five lettuce cultivars submitted to different levels of NaCl: (a): germination (G), (b): first germination count (FGC), (c): germination speed index (GSI) and (d): mean germination time (MGT)..... 30
- Figure 2 Initial growth in seedlings of five lettuce cultivars submitted to different levels of NaCl: (a) root length (RL), (b): shoot length (SL), (c) root dry weight (RDW) and (d): shoot dry weight (SDW)..... 34
- Figure 3 Germination performance in seeds of two lettuce cultivars (C3 - Great Lakes 659 and C4 - Lucy Brown) submitted to different levels of Na₂SiO₃ and NaCl: (a): germination (G), (b): first germination count (FGC), (c): germination speed index (GSI) and (d): mean germination time (MGT)..... 37
- Figure 4 Initial growth in seedlings of two lettuce cultivars (C3 - Great Lakes 659 and C4 - Lucy Brown) submitted to different levels of Na₂SiO₃ and NaCl: (a): root length (RL), (b): shoot length (SL), (c): root dry weight (RDW) and (d): shoot dry weight (SDW)..... 38
- Figura 5 Plantas de alface cultivadas em solução nutritiva com diferentes doses de silício. A: Massa fresca da parte aérea (MFPA), B: massa seca da parte aérea (MSPA), C: massa fresca de raiz (MFR) e D: massa seca de raiz (MSR)..... 47
- Figura 6 Plantas de alface cultivadas em solução nutritiva com diferentes doses de silício. A: Comprimento da parte aérea (CPA), B: comprimento de raiz (CR), C: número de folhas (NF) e D: área foliar (AF)..... 48
- Figura 7 Plantas de alface cultivadas em solução nutritiva com diferentes doses de silício. A: fotossíntese líquida (A), B: condutância estomática (gs), C: razão entre a concentração interna de CO₂ e a externa (C_i/C_a), D: transpiração (E), E: eficiência instantânea de carboxilação (E_iC) e F: eficiência instantânea do uso de água (E_iUA)..... 49
- Figura 8 Pigmentos de plantas de alface cultivadas em solução nutritiva com diferentes doses de silício. A: clorofila a (Clor 'a'), B: clorofila b (Clor 'b'), C: clorofila total e D: carotenoides..... 50

Figura 9	Plantas de alface cultivadas em solução nutritiva com diferentes doses de silício. A: Sólidos solúveis (SS), B: vitamina C, C: acidez titulável (AT), D: pH, E: relação entre os sólidos solúveis e a acidez titulável (SS/AT) e F: aparência externa.....	51
Figure 10	Shoot (SL, A) and root length (RL, B), shoot fresh mass (SFM, C) and root fresh mass (RFM, D), shoot dry mass (SDM, E) and root dry mass (RDM, F) of lettuce plants under salt stress with and without silicon.....	62
Figure 11	Leaf area (LA, A) and number of leaves (NL, B) of lettuce plants under salt stress with and without silicon.....	63
Figure 12	Titrateable acidity (TA, A), vitamin C (Vit C, B), hydrogenation potential (pH, C) and soluble solids (SS, D) of lettuce under salt stress with and without silicon.....	64
Figure 13	Ration between soluble solids and titrateable acidity (SS/AT) of lettuce under salt stress with and without silicon.....	65
Figura 14	Respostas de trocas gasosas e incremento de matéria seca na parte aérea em alface sob condições de diferentes níveis de salinidade e silício. A: fotossíntese líquida (A), B: condutância estomática (gs), C: transpiração (E), D: concentração interna de CO ₂ (Ci), E: eficiência instantânea de carboxilação (A/Ci) e F: razão entre a concentração de CO ₂ interna e a ambiente (Ci/Ca).....	81
Figura 15	Fluorescência da clorofila 'a' em alface sob condições de diferentes níveis de salinidade e silício. A: Eficiência máxima do fotossistema PSII (Fv/Fm), B: rendimento quântico efetivo do fotossistema PSII (ΦPSII), C: taxa de transporte de elétrons (ETR), D: <i>quenching</i> não fotoquímico variável (qN), E: <i>quenching</i> fotoquímico variável (qP) e F: <i>quenching</i> não fotoquímico (NPQ)..	82
Figura 16	Conteúdo dos pigmentos fotossintéticos em alface sob condições de diferentes níveis de salinidade e silício. A: Clorofila 'a' (Clf a), B: clorofila 'b' (Clf b), C: clorofila total (Clf total, C) e D: carotenoides.....	83
Figura 17	Plantas de alface sob condições de diferentes níveis de salinidade e silício. A: teores de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) e B: peróxido de hidrogênio (H ₂ O ₂).....	84

- Figura 18 Atividade das enzimas antioxidantes e teor proteínas em alface sob condições de diferentes níveis de salinidade e silício. A: peroxidase do ascorbato (APX), B: peroxidase guaiacol (GPX), C: catalase (CAT) e D: dismutase do superóxido (SOD)..... 85
- Figura 19 Teores de íons inorgânicos em folhas de alface sob condições de diferentes níveis de salinidade e silício. A: sódio (Na^+), B: potássio (K^+), C: cloreto (Cl^-), D: relação K^+/Na^+ e E: silício (Si)..... 88

LISTA DE TABELAS

Table 1	– Mean values for germination (G), germination speed index (GSI), first germination count (FGC) and mean germination time (MGT), in seeds of five lettuce cultivars under different levels of salinity.....	28
Tabela 2	– Equations for germination, first germination count (FGC), germination speed index (GSI), mean germination time (MGT) and coefficient of determination (R^2), in seeds of five lettuce cultivars submitted to different levels of NaCl.....	30
Table 3	– Mean values for root length (RL), shoot length (SL), root dry weight (RDW) and shoot dry weight (SDW), in seeds of five lettuce cultivars under different levels of salinity.....	32
Table 4	– Equations for root length (RL), shoot length (SL), root dry weight (RDW) and shoot dry weight (SDW), and coefficient of determination, in seedlings of five lettuce cultivars submitted to different levels of NaCl.....	34
Table 5	– Chemical characteristics of water used in the preparation of the nutritive solution.....	59
Tabela 6	– Teores de ascorbato reduzido (AsA), oxidado (DHA), <i>status</i> redox do ascorbato [AsA/(AsA + DHA)], glutaciona reduzida (GSH), oxidada (GSSG) e <i>status</i> redox da glutaciona [GSH/(GSH + GSSG)] de plantas de alface submetidas diferentes níveis de salinidade e silício.....	86

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO GERAL.....	15
2	HIPÓTESE.....	19
3	OBJETIVOS.....	20
3.1	Objetivo geral.....	20
3.2	Objetivos específicos.....	20
4	ESTRATÉGIA EXPERIMENTAL.....	21
5	SILICON (SI) REDUCES THE EFFECTS OF SALT STRESS ON GERMINATION AND INITIAL GROWTH IN LETTUCE (<i>Lactuca sativa</i> L.).....	22
6	O SILÍCIO PODE INFLUENCIAR NO DESEMPENHO DA ALFACE HIDROPÔNICA	40
7	SILICON POTENTIAL AS ATTENUATOR OF SALINITY EFFECTS ON GROWTH AND POST-HARVEST QUALITY OF LETTUCE.....	56
8	A SUPLEMENTAÇÃO DE SILÍCIO INDUZ ALTERAÇÕES FISIOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS QUE AUXILIAM NA TOLERÂNCIA À SALINIDADE EM ALFACE.....	69
9	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	96
	REFERÊNCIAS.....	97

1 INTRODUÇÃO GERAL

A alface (*Lactuca sativa* L.) é a principal hortaliça folhosa produzida no Brasil, sendo muito consumida *in natura* em saladas (SALA; COSTA, 2012). Estima-se que a produção nacional dessa folhosa seja de, aproximadamente, 1,7 milhões de toneladas por ano (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DO COMÉRCIO DE SEMENTES E MUDAS, 2014), com os estados de São Paulo e Rio de Janeiro, sendo responsáveis por mais de 55% dessa produção (CASSETARI, 2014). Em 2012, o volume de alface comercializado nas 23 principais Centrais de Abastecimento (CEASAs) foi de 79 mil toneladas (CARVALHO *et al.*, 2013).

A principal forma de produção dessa hortaliça é à campo e em ambiente protegido. Nesse último, destaca-se o cultivo hidropônico, no qual essa folhosa também é muito explorada. Este sistema apresenta como principais vantagens: precocidade de produção, redução dos riscos climáticos, maior controle fitossanitário, menor consumo de água e nutrientes, dentre outros. As plantas apresentam uma maior tolerância a salinidade se comparado ao convencional, pois, o fato de não existir o potencial mátrico sobre o potencial total da água, diminui a dificuldade de absorção de água pelas plantas, o que possibilita a utilização de águas salobras nos cultivos, principalmente no semiárido (SOARES, 2007). A alface é uma hortaliça herbácea muito exigente em água, sendo considerada “moderadamente sensível” aos efeitos da salinidade, com decréscimo na produção de, aproximadamente, 13% por dS m^{-1} a partir da salinidade limiar de $1,3 \text{ dS m}^{-1}$ (MAAS; POSS; HOFFMAN, 1986).

A salinidade limita o crescimento das plantas, podendo atuar de três formas. A primeira delas é no componente osmótico, no qual a concentração elevada de sais na zona radicular reduz o potencial osmótico da solução e, conseqüentemente, o potencial hídrico, o que acaba por dificultar a absorção de água pelas sementes e raízes. A segunda é o efeito do componente iônico, neste o acúmulo de íons (Na^+ , Cl^- e B), potencialmente tóxicos aos tecidos das plantas, podem causar danos irreparáveis ao seu metabolismo (MUNNS; TESTER, 2008; ASHRAF, 2009). Já a terceira está relacionada à inibição competitiva, às altas concentrações de sódio e outros cátions, na solução do solo interferem na absorção de alguns elementos, por exemplo, K^+ e Ca^{2+} , interferindo nas funções fisiológicas e, conseqüentemente, afetando o crescimento das plantas (DIAS *et al.*, 2016).

Dessa forma, plantas que crescem em ambiente com níveis elevados de sais, apresentam uma série de alterações morfológicas, fisiológicas e bioquímicas, tais como: redução da taxa fotossintética pela redução no suprimento de CO_2 à medida que o estômato se

fecha, redução no teor de clorofila; alteração do transporte de elétrons no cloroplasto; redução na permeabilidade da membrana celular ao CO₂; aumento da senescência; alteração na atividade enzimática, entre outros (KAFI; RAHIMI, 2011; ARAGÃO *et al.*, 2012; YAN *et al.*, 2012).

Além disso, pode ocorrer um estresse oxidativo por conta da produção em excesso de espécies reativas de oxigênio (EROs), como radicais superóxido (O₂[•]), peróxido de hidrogênio (H₂O₂) e radical hidroxil (°OH), os quais, em excesso, são reativas e tóxicas às células e causam um desequilíbrio no seu estado redox (GILL *et al.*, 2013). Essas EROs quando em altas concentrações alteram o metabolismo das células por oxidar biomoléculas como proteínas e ácidos nucleicos, inibição enzimática e peroxidação de lipídeos (MØLLER; JENSEN; HANSSON, 2007; AHMED; UMAR, 2011; PRISCO, GOMES-FILHO, MIRANDA, 2016). Para reduzir os danos oxidativos, as plantas aumentam a produção de antioxidantes enzimáticos, catalase (CAT), dismutase do superóxido (SOD), peroxidases do ascorbato (APX) e do guaiacol (GPX) e não enzimáticos; carotenoides, ascorbato e glutathione, que são os principais desse grupo (ASHRAF, 2009; PRISCO, GOMES-FILHO, MIRANDA, 2016).

Para amenizar esses efeitos e sobreviver em ambiente salino, às plantas utilizam diferentes estratégias, dentre elas a principal é a compartimentalização de íons no vacúolo. Além desta, também pode ocorrer a exclusão e seletividade de íons nas raízes, a redução no transporte de Na⁺ e Cl⁻ para a parte aérea, a síntese de solutos compatíveis, à alteração nas estruturas das membranas e na rota fotossintética, incremento na produção de enzimas antioxidantes e hormônios vegetais (MUNNS, 2005; PARIDA; DAS, 2005).

No entanto, tais alterações e respostas dos vegetais podem ser mais acentuadas ou não, a depender da cultivar, estágio fenológico, tipo de sal presente no ambiente, intensidade e duração do estresse salino, manejo cultural, irrigação realizada e condições edafoclimáticas do local de cultivo (TESTER; DAVENPORT, 2003; MUNNS, 2005; TAIZ *et al.*, 2017).

Sendo assim, diante de tantos efeitos desencadeados pela salinidade nas plantas, pode-se afirmar que produzir nessa condição, especificamente em regiões semiáridas, é um grande desafio para os produtores de hortaliças. Nessas regiões, a escassez de água é um problema cada vez mais frequente, sendo que a maior parte deste insumo, utilizado na irrigação, provem de poços profundos, que em sua maioria apresentam teor de sais variando-se de 0,1 a 5,0 dS m⁻¹, o que acaba por dificultar a produção de hortaliças (COSTA; HOLANDA; FIGUEIREDO FILHO, 2004).

Com base no exposto, torna-se necessário aprimorar as formas de cultivo para

produção de plantas comerciais, como às de alface em condição de salinidade. Desta forma, a seleção de cultivares tolerantes a salinidade, a partir dos seus estádios iniciais de desenvolvimento, é considerada uma das práticas de manejo mais importantes. Essa prática associada, por exemplo, a estratégia de adição de fertilizantes que contenham silício, na solução nutritiva, pode inibir a absorção do íon Na^+ que é tóxico às plantas, atenuando seus efeitos.

A resposta das plantas a salinidade varia entre cultivares de uma mesma espécie. Por isso, identificar e selecionar cultivares tolerantes à salinidade é uma alternativa viável para a produção de hortaliças no semiárido (QUEIROGA *et al.*, 2006; MEDEIROS *et al.*, 2007; SECCO *et al.*, 2010). Alguns estudos relacionados ao desenvolvimento e uso de cultivares tolerantes à salinidade, têm se mostrado promissores em culturas como meloeiro (ARAÚJO *et al.*, 2016) e alface (OLIVEIRA *et al.*, 2011). Nestes estudos, pesquisadores observaram respostas diferenciadas entre as cultivares estudadas, apresentando-se uma redução no desenvolvimento das plantas com o aumento da salinidade da água de irrigação como um dos mais evidentes.

Uma das formas de amenizar os efeitos da salinidade tem sido o fornecimento do silício, como atenuador de vários estresses abióticos (salinidade, seca, toxicidade por alumínio, metais pesados, desequilíbrio nutricional, radiação, alta temperatura e congelamento), (RICHMOND; SUSSMAN, 2003; MA; YAMAJI, 2006; LIANG *et al.*, 2007; KIM *et al.*, 2011; BOCKHAVEN; VLEESSCHAUWER; HÖFTE, 2013).

De forma geral, as espécies vegetais respondem de maneira diferenciada ao uso do silício, isso porque existem plantas que são consideradas acumuladoras deste elemento, às quais têm de 10 a 15% de SiO_2 na sua matéria seca (arroz, cevada, trigo, sorgo); às intermediárias, com teores de SiO_2 variando de 1 a 5% (cana de açúcar e cereais); e, às não acumuladoras com menos de 0,5% de SiO_2 , como dicotiledôneas, leguminosas, espécies arbóreas e a maior parte das hortaliças (MIYAKE; TAKAHASHI, 1983; ADATIA; BESFORD, 1986; MARSCHNER, 2012).

Alguns estudos com silício em condição de salinidade têm demonstrado efeitos positivos, tanto na germinação e crescimento inicial de tomate e *Momordica charantia* (WANG *et al.*, 2010; ALMUTAIRI, 2016), como na produção de tomate, trigo, cajueiro, arroz e milho (TUNA *et al.*, 2008; MIRANDA *et al.*, 2010; KRASKA; BREITENBECK, 2010; PARVEEN; ASHRAF, 2010; LIMA *et al.*, 2011; AL-AGHABARY; ZHU; SHI, 2004; LI *et al.*, 2015). Essa diversidade de famílias e espécies de plantas que apresentaram efeitos positivos quanto à utilização do silício para amenizar os efeitos da salinidade, combinada com a

insipiência de resultados disponíveis para a cultura da alface, indicam a possibilidade da realização de pesquisas que envolvam salinidade-silício-alface.

2 HIPÓTESE

Para a elaboração da hipótese, partimos dos seguintes pressupostos:

- 1) O silício (Si) atenua os efeitos dos sais na planta e, conseqüentemente, aumenta a tolerância da alface em condição de salinidade.
- 2) Admitindo que a resposta a primeira questão seja verdadeira, em quais estádios de desenvolvimento da planta essa tolerância é mais evidente? Em quais doses de silício esses efeitos começam a se tornar evidentes? Baseado nestas indagações foi proposta a hipótese de que o Si confere tolerância a alface em condição de salinidade, a depender da cultivar, do estádio de desenvolvimento da planta e do nível de estresse salino.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Avaliar o potencial do Si em atenuar os efeitos da salinidade da água de irrigação nas fases de germinação, crescimento e produção de cultivares de alface em sistema hidropônico de cultivo.

3.2 Objetivos específicos

- ✓ Avaliar o uso do silício como atenuador dos efeitos do estresse salino na germinação das sementes e no crescimento inicial das plântulas de cinco cultivares de alface;
- ✓ Avaliar o efeito da utilização do silício no desempenho da alface em cultivo hidropônico;
- ✓ Avaliar o uso do Si como possível atenuador dos efeitos deletérios da salinidade no crescimento e pós-colheita da alface;
- ✓ Avaliar o papel do silício como atenuador dos efeitos negativos da salinidade nos mecanismos fisiológicos e bioquímicos da alface.

4 ESTRATÉGIA EXPERIMENTAL

Para responder a hipótese proposta, a pesquisa foi dividida em quatro etapas (i, ii, iii e iv) sequenciais e dependentes, cujos resultados e métodos permitiram a elaboração de **quatro artigos**.

Na **primeira etapa (i)**, utilizamos cinco cultivares de alface (Repolhuda Todo Ano, Grandes Lagos Americana, Great Lakes 659, Lucy Brown e Crespa Repolhuda), combinadas com cinco níveis de salinidade (0; 50; 100; 150 e 200 mM de NaCl), com o objetivo de identificar cultivares tolerantes e suscetíveis a salinidade na germinação e no crescimento inicial das plântulas.

Na **segunda etapa (ii)**, usamos a cultivar mais tolerante e a mais suscetível a salinidade da etapa (i), bem como as duas concentrações de NaCl que mais afetaram a germinação e o crescimento inicial das plântulas e adicionou-se dois níveis de Si (0 e 6 mM de Na₂SiO₃). Os níveis de silício foram selecionados baseados em um ensaio prévio (dados não apresentados). Nesta etapa, a hipótese de que o Si confere tolerância ao estresse salino na germinação e crescimento inicial das plântulas de alface foi confirmada. Os detalhes e dados coletados nessas duas etapas estão apresentados no **artigo 1**.

Na **terceira etapa (iii)**, buscamos verificar se o Si proporcionava efeitos benéficos para a produção da alface cultivada em meio hidropônico. Para isso, definimos a concentração que proporcionaria os melhores efeitos para o crescimento e desenvolvimento das plantas de alface. Foram testados cinco níveis de Si com a cultivar 'Lucy Brown'. Com base nos resultados, verificamos que este elemento têm efeitos benéficos para essa folhosa no crescimento, fisiologia e pós-colheita, além de ter um nível ótimo de 0,40 mM para uso em cultivo hidropônico. Os dados e detalhes estão apresentados no **artigo 2**.

Na **quarta etapa (iv)**, o objetivo foi elucidar os principais mecanismos fisiológicos e bioquímicos da alface submetida a diferentes níveis de salinidade com o uso do Si. Para isso, em cultivo hidropônico, submetemos à cultivar que se apresentou como a mais tolerante nos ensaios anteriores, a duas doses de Si (0 e 2 mM; selecionadas na etapa **iii**) e três níveis de salinidade {1,65 (controle, sendo a CE da solução nutritiva); 3,65 e 7,65 dS m⁻¹}. As abordagens fisiológicas e bioquímicas foram utilizadas para verificar se a tolerância conferida pelo Si, na fase de crescimento inicial, também se verificaria ao longo do desenvolvimento da cultura. Os resultados obtidos e sua discussão estão apresentados detalhadamente nos **artigos 3 e 4**.

5 SILICON (SI) REDUCES THE EFFECTS OF SALT STRESS ON GERMINATION AND INITIAL GROWTH IN LETTUCE (*Lactuca sativa* L.)

Artigo publicado na revista *Australian Journal of Crop Science*, v. 12, n. 9, 2018.

Hozano de Souza Lemos Neto^{1*}, Marcelo de Almeida Guimarães¹, Italo Marlone Gomes Sampaio², Ana Régia Alves de Araújo Hendges³, Alexandre Bosco de Oliveira¹ and Sebastião Medeiros Filho¹

¹Federal University of Ceará, Center for Agrarian Sciences, Department of Plant Science. 60356-001, Fortaleza, Ceará, Brazil.

²Federal Rural University of Amazonia, Institute of Agrarian Sciences, Department of Soils, Belém, Pará, Brazil.

³Federal Institute of Education, Science and Technology of Maranhão. 65.840-000, São Raimundo das Mangabeiras, Maranhão, Brazil.

*Corresponding author: hozanoneto@hotmail.com

ABSTRACT

Salinity is one of the abiotic stresses that most limit crop productivity. This makes it essential to search for alternatives that would ensure the viability of production under such conditions. The aim of this work was to evaluate the potential of silicon for reducing the detrimental effects of salt stress on seed germination and initial seedling growth in five lettuce cultivars. Two experiments were carried out in a completely randomised design with four replications. In the first experiment, the germination behaviour of five lettuce cultivars (Repolhuda Todo Ano, Grandes Lagos Americana, Great Lakes 659, Lucy Brown and Crespa Repolhuda) was evaluated under five irrigation water salinity levels (0, 50, 100, 150 and 200 mM). In the second, two lettuce cultivars, one sensitive and one tolerant to salinity, selected from experiment 1, submitted to six different combinations of NaCl and Si (0.0 mM Na₂SiO₃ + 0.0 mM NaCl, 6.0 mM Na₂SiO₃ + 0.0 mM NaCl, 0.0 mM Na₂SiO₃ + 150 mM NaCl, 6.0 mM Na₂SiO₃ + 150 mM NaCl, 0.0 mM Na₂SiO₃ + 200 mM NaCl, 6.0 mM Na₂SiO₃ + 200 mM NaCl). The germination, first germination count, germination speed index, mean germination time, and root and shoot length and dry weight were evaluated. A reduction in germination was seen from 100 mM for all cultivars, with Lucy Brown being the most tolerant, even under higher levels of NaCl. The Grandes Lagos Americana and Great Lakes 659 were the most sensitive to salinity. When silicon was added to the NaCl treatments, it was found that the effects of the salt stress were reduced, resulting in higher values for germination and the growth variables. Silicon reduced the detrimental effects of salt stress on the physiological quality of the seeds and the initial growth phase of the lettuce.

Keywords: *Lactuca sativa* L. Salt stress. Cultivar. Sodium silicate. NaCl.

RESUMO

A salinidade é um dos estresses abióticos que mais limita a produtividade das culturas. Tal fato torna essencial a busca por alternativas que viabilizem a produção nesta condição. Objetivou-se com este trabalho, avaliar o potencial do silício como atenuador dos efeitos deletérios do estresse salino na germinação das sementes e no crescimento inicial das plântulas de cinco cultivares de alface. Foram realizados dois experimentos em delineamentos inteiramente casualizados, com quatro repetições. No primeiro experimento foi avaliado o comportamento germinativo de cinco cultivares de alface (Repolhuda Todo Ano; Grandes Lagos Americana; Great Lakes 659; Lucy Brown e Crespa Repolhuda) sob cinco níveis de salinidade da água de irrigação (0; 50; 100; 150 e 200 mM de NaCl). No segundo, foram avaliadas duas cultivares de alface, uma sensível e uma tolerante à salinidade, selecionadas do experimento 1, submetidas a seis diferentes combinações de NaCl e Si (0,0 mM Na₂SiO₃ + 0,0 NaCl; 6,0 mM Na₂SiO₃ + 0,0 mM NaCl; 0,0 mM Na₂SiO₃ + 150 mM NaCl; 6,0 mM Na₂SiO₃ + 150 mM NaCl; 0,0 mM Na₂SiO₃ + 200 mM NaCl; 6,0 mM Na₂SiO₃ + 200 mM NaCl). Avaliou-se a germinação (G), primeira contagem de germinação (PCG), índice de velocidade de germinação (IVG), tempo médio de germinação (TMG) e comprimento e massa seca da raiz e parte aérea. Verificou-se redução na G a partir de 100 mM para todas as cultivares, com a ‘Lucy Brown’ sendo a mais tolerante, mesmo sob maiores níveis de NaCl. As ‘Grandes Lagos Americana’ e ‘Great Lakes’ foram as mais sensíveis a salinidade. Quando se adicionou o silício aos tratamentos com NaCl, verificou-se que os efeitos do estresse salino foram reduzidos, resultando em maiores valores para as variáveis de germinação e crescimento. O silício reduziu os efeitos deletérios do estresse salino na qualidade fisiológica de sementes e na fase de crescimento inicial da alface.

Palavras-chave: *Lactuca sativa* L. Estresse salino. Cultivar. Silicato de sódio. NaCl.

Introduction

Salinity affects seed germination percentage plant germination and growth due reducing the osmotic potential of the soil and consequently the water potential, which hampers water absorption by the seeds. There are also the effects of toxic ions that when absorbed by the embryo, can inhibit the synthesis and/or activity of hydrolytic enzymes necessary for germination (YOKOI *et al.*, 2002; MUNNS; TESTER, 2008). Osmotic stress has the most pronounced effect on the physiological quality of the seeds, with limitations on the imbibition phase so that the amount of water reaching the embryo cells is reduced, decreasing the speed and percentage of germination (GUPTA; HUANG, 2014).

Among the studies which aim to assure the viability of using areas of salinity, is the use of cultivars tolerant to salt stress, as well as the use of agronomic management techniques that minimise these effects. Among the management techniques which aim for tolerance to abiotic stress, it is important to highlight the use of silicon fertiliser, seen as a promising technology for achieving this objective (RIZWAN *et al.*, 2015).

Although not considered an essential element, silicon has shown several effects which are beneficial to plants, including a reduction in leaf transpiration; an increase in chlorophyll content; an increase in the mechanical resistance of the cells, leaving the leaves more upright; greater CO₂ absorption; and higher rates of photosynthesis. These physiological changes allow a reduction in the effects of such abiotic stresses as water deficit, metal toxicity, salinity, etc. In addition, this element is involved in increasing resistance to pests and diseases by the formation of a mechanical barrier in the plants, making attacks by plant disease difficult (RODRIGUES *et al.*, 2011; LIMA *et al.*, 2011; RIZWAN *et al.*, 2015).

Some researchers have used silicon to produce various species grown under saline conditions, among which positive results can be found in the literature for the cashew (MIRANDA *et al.*, 2010), rice (KRASKA; BREITENBECK, 2010), maize (LIMA *et al.*, 2011), wheat (TUNA *et al.*, 2008; GURMANI *et al.*, 2013), sorghum (KAFI *et al.*, 2011) and rapeseed (FARSHIDI; ABDOLZADEH; SADEGHIPOU, 2012).

However, although the use of silicon to reduce the effects of salinity on seed germination has already been confirmed in such crops as the tomato (ALMUTAIRI, 2016) and *Momordica charantia* (WANG *et al.*, 2010), for most vegetables, research which uses this nutrient as an alternative for reducing the negative effects of salinity is still scarce. For lettuce, such studies are even more limited, and no research is known to address the subject; studies that investigate the behaviour of silicon in reducing the effects of salinity in this species are

therefore important.

Based on the above, the aim of this work was to evaluate the use of silicon to reduce the effects of salt stress on seed germination and initial seedling growth in five lettuce cultivars.

Materials and Methods

Two experiments were carried out in the Seed Analysis Laboratory of the Department of Plant Science at the Federal University of Ceará, from March to May of 2016.

Experiment I – Lettuce cultivars under different conditions of salinity

Plant material and conducting the experiment

The seeds of five commercial cabbage-type lettuce cultivars were used, all with high germination capacity of over 90%, were used. Carried out with four replications of 50 seeds distributed evenly over two sheets of seed-germination filter paper moistened with distilled water in a proportion of 3 times the weight of the dry paper, and arranged in 10 x 1.5 cm petri dishes. The seeds were kept in a biochemical oxygen demand (BOD) germination chamber under an alternating light regime (12 hours with light and 12 hours with no light) and at a fixed temperature of 20 °C (BRASIL, 2009). The substrate was moistened with distilled water, only on the day test was set up to avoid changes in concentration.

Treatments and experimental design

The experiment was carried out in a completely randomised design, following a 5 x 5 factorial scheme with four replications of 50 seeds. The first factor consisted of five lettuce cultivars, Repolhuda Todo Ano (C1), Grandes Lagos Americana (C2), Great Lakes 659 (C3), Lucy Brown (C4) and Crespa Repolhuda (C5); the second factor corresponded to five levels of NaCl (0.0, 50, 100, 150 and 200 mM) in the germination substrate. To achieve the different levels of salt, sodium chloride (NaCl) was used diluted in distilled water. For the control treatment only distilled water was used to moisten the substrate. A benchtop conductivity meter with temperature correction was used to verify the concentration of the solutions used for moistening the substrate.

Evaluated characteristics

Germination (G) – seed percentage germination was evaluated seven days after the start of the test, as per Brazil (2009). Seeds showing a primary root ≥ 2.0 mm were considered to have germinated.

First germination count (FGC) – carried out together with the germination test, calculating the mean percentage of germinated seeds on the fourth day of the test, as recommended by Brazil (2009).

Germination speed index (GSI) – carried out simultaneously with the tests for germination, calculating at the same time each day the number of seeds that displayed a primary root ≥ 2 mm, as per Maguire (1962). Where: $GSI = (G_1/N_1) + (G_2/N_2) + (G_3/N_3) + \dots + (G_n/N_n)$; and where: GSI = germination speed index; $G_1, G_2, G_3, \dots, G_n$ = number of germinated seeds included in the first, second, third and nth counts; N, N_2, N_3, \dots, N_n = number of days from planting to the first, second, third and nth counts.

Mean germination time (MGT) - calculated from the daily counts up to the seventh day after sowing, as per Labouriau (1983), with the results expressed in days. Where: $MGT = (\sum n_i \times t_i) / (\sum n_i)$; and where: n_i ; number of germinated seeds per day, t_i ; incubation time (days).

Using the same seedlings as for the previous characteristics, the 15 most uniform seedlings from each replication were selected on the seventh day after sowing, when they were separated into roots and shoots and the following determined:

Root length (RL) and shoot length (SL) - measurements were taken of the seedlings after the final count of the germination test using a graduated ruler, with the results expressed in cm seedling⁻¹. The results were summed, and divided by the number of samples (15 seedlings), to give the mean root and shoot length per seedling.

Root dry weight (RDW) and shoot dry weight (SDW) - normal seedlings from each replication were packed in paper bags and heated in an oven at 65 °C to constant weight. The samples were then weighed on a precision scale (0.0001 g), with the results expressed in mg seedling⁻¹.

Experiment II – Silicon tolerance to salt stress in lettuce

Plant material and conducting the experiment

In this experiment, a tolerant cultivar (Lucy Brown) and a sensitive cultivar to salt stress (Great Lakes 659) were used. These cultivars were selected from experiment I; in addition, the two concentrations of NaCl were used that had the most detrimental effects on germination and on initial seedling growth in experiment I, both in the presence and absence of Si. This experiment was conducted in the same way as experiment I.

Treatments and experimental design

The experiment was conducted in a completely randomised design with four replications in a 2 x 6 factorial scheme of two lettuce cultivars (Great Lakes 659 and Lucy Brown) and six combined concentrations of sodium + silicate (Na_2SiO_3) and NaCl (0.0 mM Na_2SiO_3 + 0.0 mM NaCl, 6.0 mM Na_2SiO_3 + 0.0 mM NaCl, 0.0 mM Na_2SiO_3 + 150 mM NaCl, 6.0 mM Na_2SiO_3 + 150 mM NaCl, 0.0 mM Na_2SiO_3 + 200 mM NaCl, 6.0 mM Na_2SiO_3 + 200 mM NaCl). The cultivars and the NaCl concentrations used in the experiment were selected based on the results of experiment I, and using the cultivars considered sensitive to stress (Great Lakes 659) and tolerant to stress (Lucy Brown), and the NaCl concentrations that most affected germination and growth of the seedlings.

The characteristics under evaluation were the same as in experiment I.

Statistical analysis

The results were submitted to the Shapiro-Wilk test for normality. After verifying the lack of data normality, the germination data were transformed by $\arcsin(x/100)^{1/2}$ and those for initial growth by $\sqrt{x+0.5}$. An analysis of variance was then carried out by F-test. The Scott-Knott test was used to compare mean values between the qualitative factor (cultivar), with regression analysis being used for the quantitative factor (levels of NaCl). Statistical analysis of the data was carried out using the *Sisvar*® 5.6 software (FERREIRA, 2011).

Results and Discussion

Germination and initial growth in different lettuce cultivars under salinity

From a summary of the analysis of variance (ANOVA), an interaction ($p \leq 0.05$) was seen between cultivar and salinity for all the characteristics being evaluated. Accordingly, the factors were broken down and their behaviour studied for each characteristic.

In general, all cultivars showed satisfactory germination (G), more than 82% up to the concentration of 100 mM NaCl (Table 1). At the concentration of 150 mM, the cultivars Repolhuda Todo Ano (C1) and Lucy Brown (C4) presented the highest mean values, showing the greatest tolerance. The cultivar, Grandes Lagos Americana, was the most affected at this concentration, and was considered sensitive. At the maximum stress of 200 mM, none of the cultivars presented satisfactory G. For germination speed index (GSI), first germination count (FGC) and mean germination time (MGT), the same behaviour was seen as for G, with a reduction only from the concentration of 100 mM for all cultivars.

Table 1 - Mean values for germination (G), germination speed index (GSI), first germination count (FGC) and mean germination time (MGT), in seeds of five lettuce cultivars under different levels of salinity (continua)

Germination (%)	Levels of NaCl (mM)					C.V.
Cultivar	0	50	100	150	200	(%)
Repolhuda Todo Ano	89 b	96 a	91 b	66 b	28 b	
Grandes Lagos Americana	100 a	100 a	92 b	2.0 d	0.00 c	
Great Lakes 659	100 a	98 a	82 c	8.0 d	0.00 c	9.88
Lucy Brown	100 a	100 a	99 a	96 a	46 a	
Crespa Repolhuda	99 a	97 a	96 b	13 c	0.00 c	
IVG						
Cultivar	0	50	100	150	200	
Repolhuda Todo Ano	79.30 d	74.50 c	68.38 b	46.99 b	13.54 a	
Grandes Lagos Americana	129.64 a	102.88 a	53.83 c	0.40 c	0.00 b	
Great Lakes 659	120.50 b	104.11 a	44.07 d	1.39 c	0.00 b	7.44
Lucy Brown	108.89 c	92.18 b	78.47 a	57.93 a	17.90 a	
Crespa Repolhuda	122.90 b	93.99 b	64.05 b	3.31 c	0.00 b	
FGC (%)						

Table 1 - Mean values for germination (G), germination speed index (GSI), first germination count (FGC) and mean germination time (MGT), in seeds of five lettuce cultivars under different levels of salinity

Cultivar	0	50	100	150	200	
Repolhuda Todo Ano	87 b	91 c	88 b	64 b	25 a	
Grandes Lagos Americana	100 a	100 a	78 c	0 d	0 b	
Great Lakes 659	98 a	97 b	72 c	0 d	0 b	9.41
Lucy Brown	100 a	100 a	99 a	95 a	35 a	
Crespa Repolhuda	98 a	96 b	91 b	4 c	0 b	
MGT (days)						
Cultivar	0	50	100	150	200	
Repolhuda Todo Ano	4.99 a	6.75 a	6.50 a	4.68 b	2.00 b	
Grandes Lagos Americana	0 .00d	3.71 c	6.57 a	0.11 e	0.00 c	
Great Lakes 659	1.00 c	2.90 d	5.86 a	0.54 d	0.00 c	12.26
Lucy Brown	2.96 b	5.29 b	7.07 a	6.86 a	3.24 a	
Crespa Repolhuda	0.57 c	4.25 c	6.82 a	0.93 c	0.00 c	

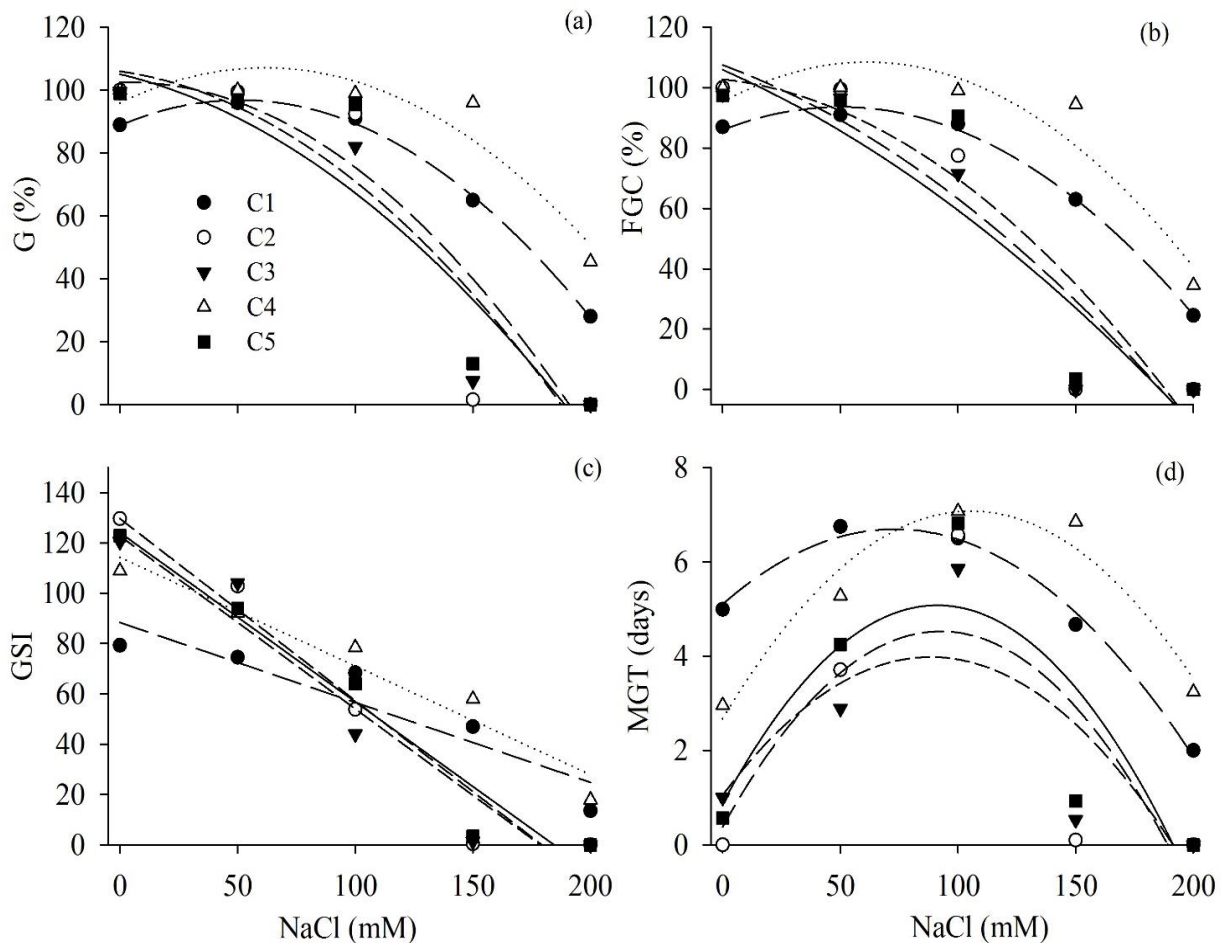
Source: Prepared by the author.

Mean values followed by the same letter in a column do not differ them by Scott-Knott test at a significance level of 5%.

The cultivars showed a varying response to stress, with some, such as 'C1' and 'C4', being more tolerant and others, such as Great Lakes 659 (C3), being more sensitive. This difference in behaviour agrees with Oliveira and Gomes Filho (2009), who evaluated the effects of both water and salt stress on germination and vigour in seeds of two genotypes of forage sorghum, and found that the genotypes had varying responses to the different conditions of salt and water deficit to which they were submitted.

In general, a quadratic regression model was found to fit the variables G, FGC and MGT as a function of NaCl levels (Figures 1a, 1b and 1d), with a marked decrease in these variables from 100 mM of NaCl, irrespective of the cultivar under evaluation.

Figure 1 - Germination performance in seeds of five lettuce cultivars submitted to different levels of NaCl: (a): germination (G), (b): first germination count (FGC), (c): germination speed index (GSI) and (d): mean germination time (MGT)



Source: Prepared by the author.

Table 2 - Equations for germination, first germination count (FGC), germination speed index (GSI), mean germination time (MGT) and coefficient of determination (R^2), in seeds of five lettuce cultivars submitted to different levels of NaCl (Continua)

Germination (%)	Response function	R^2
Repolhuda Todo Ano (C1)	$y = 88.82^{**} + 0.319^{**}x - 0.0031^{**}x^2$	0.99
Grandes Lagos Americana (C2)	$y = 106.01^{**} - 0.104x - 0.0025^{**}x^2$	0.91
Great Lakes 659 (C3)	$y = 105.10^{**} - 0.178^{**}x - 0.0020^{**}x^2$	0.94
Lucy Brown (C4)	$y = 95.98^{**} + 0.362^{**}x - 0.0029^{**}x^2$	0.94
Crespa Repolhuda (C5)	$y = 102.45^{**} + 0.022x - 0.0029^{**}x^2$	0.93
FGC (%)	Response function	

Table 2 - Equations for germination, first germination count (FGC), germination speed index (GSI), mean germination time (MGT) and coefficient of determination (R^2), in seeds of five lettuce cultivars submitted to different levels of NaCl

Repolhuda Todo Ano (C1)	$y = 86.01^{**} + 0.305^{**}x - 0.0031^{**}x^2$	0.99
Grandes Lagos Americana (C2)	$y = 107.51^{**} - 0.287^{**}x - 0.0016^{**}x^2$	0.93
Great Lakes 659 (C3)	$y = 105.92^{**} - 0.344^{**}x - 0.0012^{**}x^2$	0.93
Lucy Brown (C4)	$y = 95.25^{**} + 0.432^{**}x - 0.0035^{**}x^2$	0.94
Crespa Repolhuda (C5)	$y = 102.78^{**} - 0.086^{**}x - 0.0024^{**}x^2$	0.91
GSI	Response function	
Repolhuda Todo Ano (C1)	$y = 88.34^{**} - 0.3180^{*}x$	0.93
Grandes Lagos Americana (C2)	$y = 129.69^{**} - 0.7235^{**}x$	0.97
Great Lakes 659 (C3)	$y = 129.69^{**} - 0.7235^{**}x$	0.97
Lucy Brown (C4)	$y = 114.32^{**} - 0.4325^{**}x$	0.97
Crespa Repolhuda (C5)	$y = 124.14^{**} - 0.6730^{**}x$	0.97
MGT (days)	Response function	
Repolhuda Todo Ano (C1)	$y = 5.10^{**} + 0.043^{**}x - 0.0003^{**}x^2$	0.99
Grandes Lagos Americana (C2)	$y = 0.37 + 0.089^{*}x - 0.0005^{*}x^2$	0.78
Great Lakes 659 (C3)	$y = 1.05^{**} + 0.066^{**}x - 0.0004^{**}x^2$	0.78
Lucy Brown (C4)	$y = 2.67^{**} + 0.083^{**}x - 0.0004^{**}x^2$	0.97
Crespa Repolhuda (C5)	$y = 0.88^{**} + 0.092^{**}x - 0.0005^{**}x^2$	0.84

Source: Prepared by the author.

** and * - Significant at 1% and 5% by Student's t-test.

The cultivar Lucy Brown (C4) proved to be the most tolerant at the highest levels of NaCl, reaching 100% G at 62.41 mM NaCl, followed by Repolhuda Todo Ano (C1) with 97% G at a level of 51.45 mM (Figure 1a), while Grandes Lagos Americana (C2) and Great Lakes 659 (C3) were the most sensitive. For FGC, the maximum for C1 was 93.51% at a level of 49.19 mM NaCl, and for C4 the maximum was 100% at 61.71 mM (Figure 1b).

The lettuce seeds from the different cultivars studied in this work showed greater germination capability in treatments where the concentration of Na and Cl ions was below 100 mM; above this level there was a reduction in germination and GSI. This behaviour was also seen in seeds of the sunflower and moringa, which followed a quadratic behaviour when submitted to different salt concentrations, with a decrease in germination only seen from 50 mol.m^{-3} NaCl (SANTOS *et al.*, 2011; RABBANI *et al.*, 2013). Nasri *et al.* (2015) also reported a reduction in germination percentage at a level of 100 mM NaCl in lettuce cultivars.

Evaluating physiological seed quality in *Brassica pekinensis* Rupr. under

conditions of salt stress at concentrations of -0.2 to 0.8 MPa, Lopes and Macedo (2008) found that salinity affected the expression of physiological potential through the germination and vigour of the seeds in Chinese cabbage. Damage caused by salinity was proportional to the reduction in osmotic potential of the medium in which the seeds were placed for germination. This behaviour is due to the fact that, when germinated under conditions of salt stress, the seeds suffer from the osmotic effect, i.e. they absorb less water during the imbibition phase of the seed, which leads to reduced germination (YOKOI *et al.*, 2002; MUNNS; TESTER, 2008).

The effects of salt stress during the germination phase are due to a reduction in water absorption by the seeds (GUPTA; HUANG, 2014) as well as to toxic effects, with plant sensitivity to higher or lower concentrations of salts in the substrate being a characteristic of the species, the cultivar, the type of salt, the period of exposure to stress, and the phenological stage of the plant (BRAY; BAILEY-SERRES; WERETILNYK, 2015). Such was confirmed in this work, where the cultivars C1 and C4 were the most tolerant to the effects of NaCl concentration.

For GSI there was a linear decrease as a function of the increase in the NaCl concentration (Figure 1c); for MGT the fit was quadratic, with a reduction beginning at 100 mM for all cultivars (Figure 1d). The cultivars C1 and C4 took the most time to germinate, 6.64 and 6.98 days respectively. Therefore, as the salt concentration of the germination medium increases, there is greater limitation on water absorption by the seeds, and consequently a reduction in the speed of germination, resulting in more time being necessary for the seeds to germinate. Bernardes *et al.* (2015) found that in cabbage seeds (*Brassica oleracea*) the GSI also decreased with a reduction in osmotic potential, i.e. with an increase in the levels of NaCl.

The 'C1' and 'C4' cultivars presented the greatest values for seedling root and shoot length and dry weight at levels of 100 and 150 mM (Table 2). At the maximum stress of 200 mM, there was no growth of either the primary root or the shoots. When working with different accessions of the 'Gaúcho Redondo' and 'AF682' melon cultivars, Secco *et al.* (2010) found a reduction in total seedling length when these were exposed to salt stress.

Table 3 - Mean values for root length (RL), shoot length (SL), root dry weight (RDW) and shoot dry weight (SDW), in seeds of five lettuce cultivars under different levels of salinity (continua)

RL (cm)	Levels of NaCl (mM)					C.V.
Cultivar	0	50	100	150	200	(%)
Repolhuda Todo Ano	3.34 c	2.79 a	1.91 a	1.23 a	0.63 a	

Table 3 - Mean values for root length (RL), shoot length (SL), root dry weight (RDW) and shoot dry weight (SDW), in seeds of five lettuce cultivars under different levels of salinity

Grandes Lagos Americana	4.58 a	2.03 b	1.38 c	0.00 b	0.00 b	
Great Lakes 659	3.99 b	2.23 b	1.26 c	0.00 b	0.00 b	4.75
Lucy Brown	3.11 c	2.17 b	2.04 a	1.40 a	0.00 b	
Crespa Repolhuda	3.79 b	1.98 b	1.65 b	0.00 b	0.00 b	
SL (cm)						
Cultivar	0	50	100	150	200	
Repolhuda Todo Ano	1.95 a	1.56 a	1.21 a	0.75 a	0.41 a	
Grandes Lagos Americana	0.35 c	0.32 c	0.28 c	0.00 c	0.00 b	
Great Lakes 659	0.43 c	0.35 c	0.26 c	0.00 c	0.00 b	2.68
Lucy Brown	1.15 b	0.98 b	0.89 b	0.61 b	0.00 b	
Crespa Repolhuda	0.42 c	0.40 c	0.34 c	0.00 c	0.00 b	
RDW (mg)						
Cultivar	0	50	100	150	200	
Repolhuda Todo Ano	3.10 b	3.20 c	4.57 a	1.93 a	0.96 a	
Grandes Lagos Americana	4.17 a	3.15 c	2.42 d	0.00 b	0.00 b	
Great Lakes 659	3.60 b	3.87 b	2.83 c	0.00 b	0.00 b	6.14
Lucy Brown	4.20 a	4.67 a	3.57 b	2.10 a	0.00 b	
Crespa Repolhuda	4.60 a	3.40 c	2.07 d	0.00 b	0.00 b	
SDW (mg)						
Cultivar	0	50	100	150	200	
Repolhuda Todo Ano	11.22 a	13.90 a	12.63 a	13.65 a	8.17 a	
Grandes Lagos Americana	6.15 b	7.35 c	6.50 c	0.00 c	0.00 b	
Great Lakes 659	6.12 b	7.25 c	8.10 b	0.00 c	0.00 b	5.13
Lucy Brown	11.80 a	10.82 b	13.20 a	11.06 b	0.00 b	
Crespa Repolhuda	5.90 b	8.12 c	8.93 b	0.00 c	0.00 b	

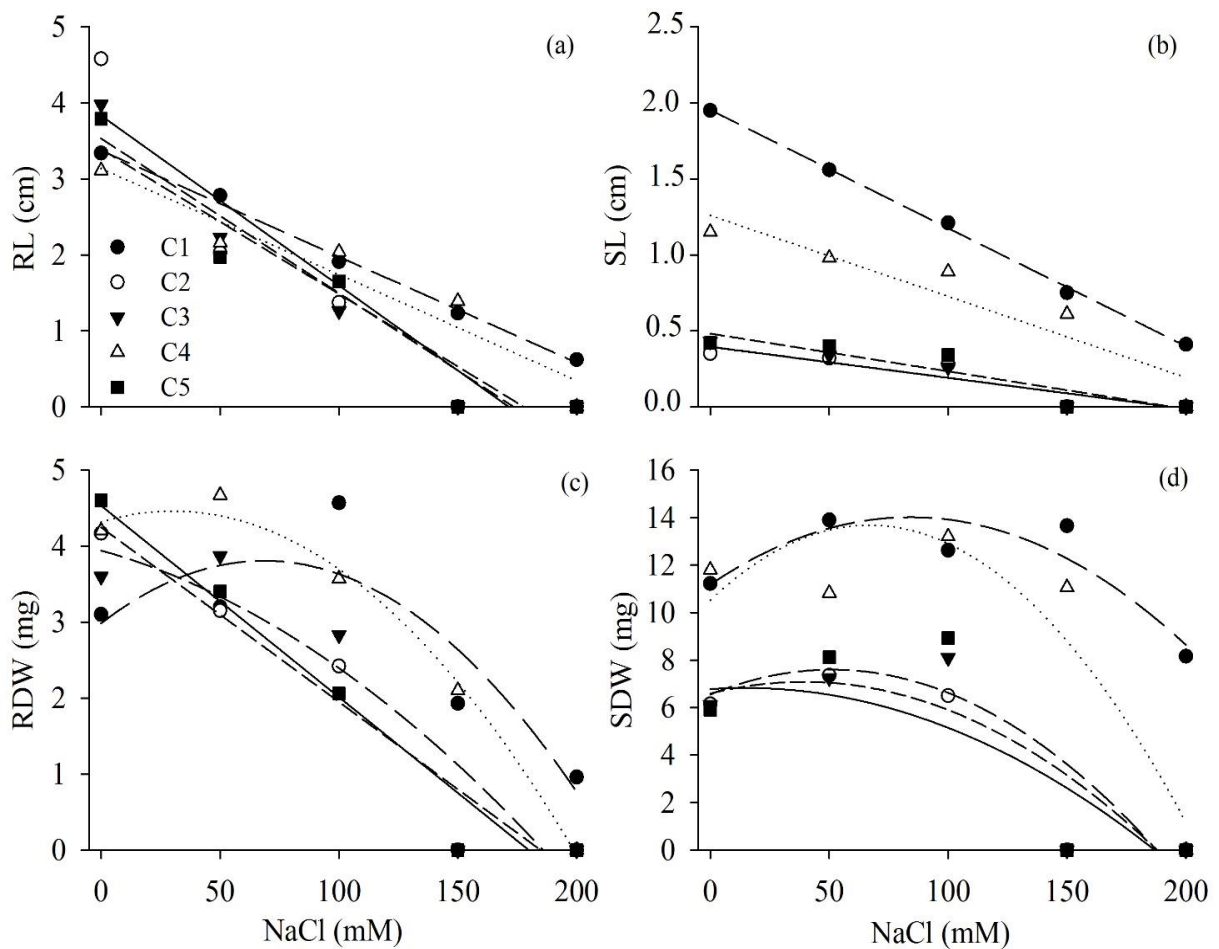
Source: Prepared by the author.

Mean values followed by the same letter in a column do not differ them by Scott-Knott test at a significance level of 5%.

For root length (RL) and shoot length (SL), there was a linear fit as a function of salt level for all cultivars (Figure 2a, b), with a decrease in both roots and shoots for increases in NaCl concentration. This behaviour was also found by Bernardes *et al.* (2015) in cabbage seedlings, where increased salt stress reduced seedling development in batches of both high and low viability, decreasing the length of the shoots and roots at the highest stress levels.

Similarly, when working with different accessions of the melon (*Cucumis melo* L.) from the cultivars 'Gaúcho Redondo' and 'AF682', Secco *et al.* (2010) found a reduction in total seedling length under salt stress.

Figure 2 - Initial growth in seedlings of five lettuce cultivars submitted to different levels of NaCl: (a) root length (RL), (b) shoot length (SL), (c) root dry weight (RDW) and (d) shoot dry weight (SDW)



Source: Prepared by the author.

Table 4 - Equations for root length (RL), shoot length (SL), root dry weight (RDW) and shoot dry weight (SDW), and coefficient of determination, in seedlings of five lettuce cultivars submitted to different levels of NaCl (continua)

RL (cm)	Response function	R ²
Repolhuda Todo Ano (C1)	$y = 3.37^{**} - 0.0140^{**}x$	0.99
Grandes Lagos Americana (C2)	$y = 3.83^{**} - 0.0224^{**}x$	0.88
Great Lakes 659 (C3)	$y = 3.53^{**} - 0.0204^{**}x$	0.92
Lucy Brown (C4)	$y = 3.14 - 0.139^{**}x$	0.92
Crespa Repolhuda (C5)	$y = 3.39^{**} - 0.0121^{**}x$	0.91

Table 4 - Equations for root length (RL), shoot length (SL), root dry weight (RDW) and shoot dry weight (SDW), and coefficient of determination, in seedlings of five lettuce cultivars submitted to different levels of NaCl

SL (cm)	Response function	
Repolhuda Todo Ano (C1)	$y = 1.96^{**} - 0.0078^{**}x$	0.99
Grandes Lagos Americana (C2)	$y = 0.39^{**} - 0.0020^{**}x$	0.85
Great Lakes 659 (C3)	$y = 0.45^{**} - 0.0024^{**}x$	0.91
Lucy Brown (C4)	$y = 1.26^{**} - 0.0053^{**}x$	0.87
Crespa Repolhuda (C5)	$y = 0.48^{**} - 0.0024^{**}x$	0.84
RDW (mg)	Response function	
Repolhuda Todo Ano (C1)	$y = 2.98^{**} + 0.024^{**}x - 0.0002^{**}x^2$	0.87
Grandes Lagos Americana (C2)	$y = 4.25^{**} - 0.023^{**}x$	0.96
Great Lakes 659 (C3)	$y = 3.94^{**} - 0.008^{**}x - 0.00007^{**}x^2$	0.92
Lucy Brown (C4)	$y = 4.31^{**} + 0.009^{**}x - 0.0002^{**}x^2$	0.99
Crespa Repolhuda (C5)	$y = 4.53^{**} - 0.025^{**}x$	0.97
SDW (mg)	Response function	
Repolhuda Todo Ano (C1)	$y = 11.18^{**} + 0.067^{**}x - 0.0004^{**}x^2$	0.91
Grandes Lagos Americana (C2)	$y = 6.78^{**} + 0.007x - 0.0002^{**}x^2$	0.89
Great Lakes 659 (C3)	$y = 6.59^{**} + 0.025^{**}x - 0.0003^{**}x^2$	0.86
Lucy Brown (C4)	$y = 10.52^{**} + 0.094^{**}x - 0.0007^{**}x^2$	0.93
Crespa Repolhuda (C5)	$y = 6.54^{**} + 0.041^{**}x - 0.0004^{**}x^2$	0.85

Source: Prepared by the author.

** and * - Significant at 1% and 5% by Student's t-test.

Root dry weight (RDW) followed a quadratic model, except for the cultivars Grandes Lagos Americana and Crespa Repolhuda, which best fit the linear regression model (Figure 2c). The point of maximum dry weight accumulation in the roots for C1 was found at 60 mM with 3.57 mg, and for C4 at 22.5 mM, with 4.41 mg. For shoot dry weight (SDW), quadratic behaviour for the levels of NaCl was seen in the cultivars, with maximum accumulation at concentrations of 83.75 and 67.14 mM for the cultivars C1 and C4 respectively (Figure 2d). Agreeing with these results, Bernardes *et al.* (2015) found a quadratic adjustment for this variable in cabbage seeds treated with NaCl, with a drastic reduction in mean values from -1.0 MPa. In the present work this was found beginning at 100 mM.

When working with salinity in melon seeds, Secco *et al.* (2010) saw a reduction in the dry matter weight of the seedlings. This is probably due to the effect of the high

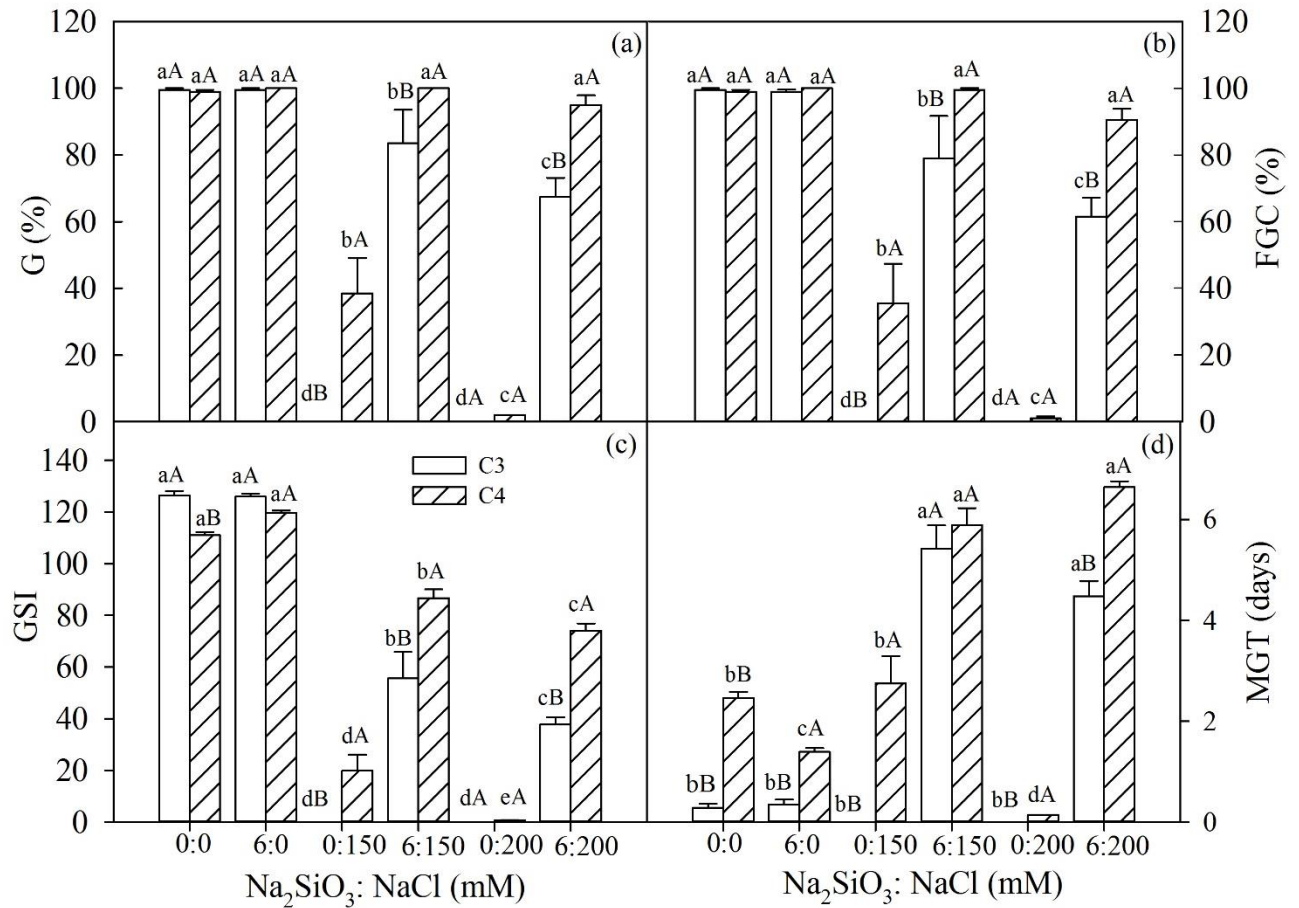
concentration of sodium chloride on the mechanisms of hydrolysis and mobilisation of reserves in the seedlings (PEDÓ *et al.*, 2014).

The cultivars displayed varying responses to the stress, with some being more tolerant, as seen with cultivars C1 and C4, and others more sensitive, as was confirmed for the cultivars C2, C3 and Crespa Repolhuda (C5). Such varying behaviour agrees with Oliveira and Gomes Filho (2009), who evaluated the effects of water stress and salt stress on seed germination and vigour in two genotypes of forage sorghum, and found that different genotypes present different responses as a function of water deficit and salinity of the environment.

The effect of silicon on seed germination and initial growth in lettuce seedlings under salt stress

It was seen that stress caused by sodium chloride (NaCl) affected germination (G), first germination count (FGC), germination speed index (GSI), and mean germination time (MGT) in both cultivars (Figure 3a, b, c, d). When sodium silicate (Na_2SiO_3) was added as the source of silicon, there was no difference from the control treatment, but when added in the presence of NaCl, a definite reduction was seen in the deleterious effects of the salinity, with a satisfactory performance being found for germination and speed of germination in the cultivars. Thus, at levels of 150 and 200 mM NaCl, there was practically no germination in the lettuce, but when Na_2SiO_3 was added at these concentrations, the cultivars displayed satisfactory values for G and GSI, proving that the use of Si is able to produce a significant reduction in the deleterious effects of NaCl on seed germination and germination speed. This information shows that the beneficial effect of silicon on plants is far more evident under conditions that are stressful to the plants (RIZWAN *et al.*, 2015).

Figure 3 - Germination performance in seeds of two lettuce cultivars (C3 - Great Lakes 659 and C4 - Lucy Brown) submitted to different levels of Na_2SiO_3 and NaCl : (a): germination (G), (b): first germination count (FGC), (c): germination speed index (GSI) and (d): mean germination time (MGT)

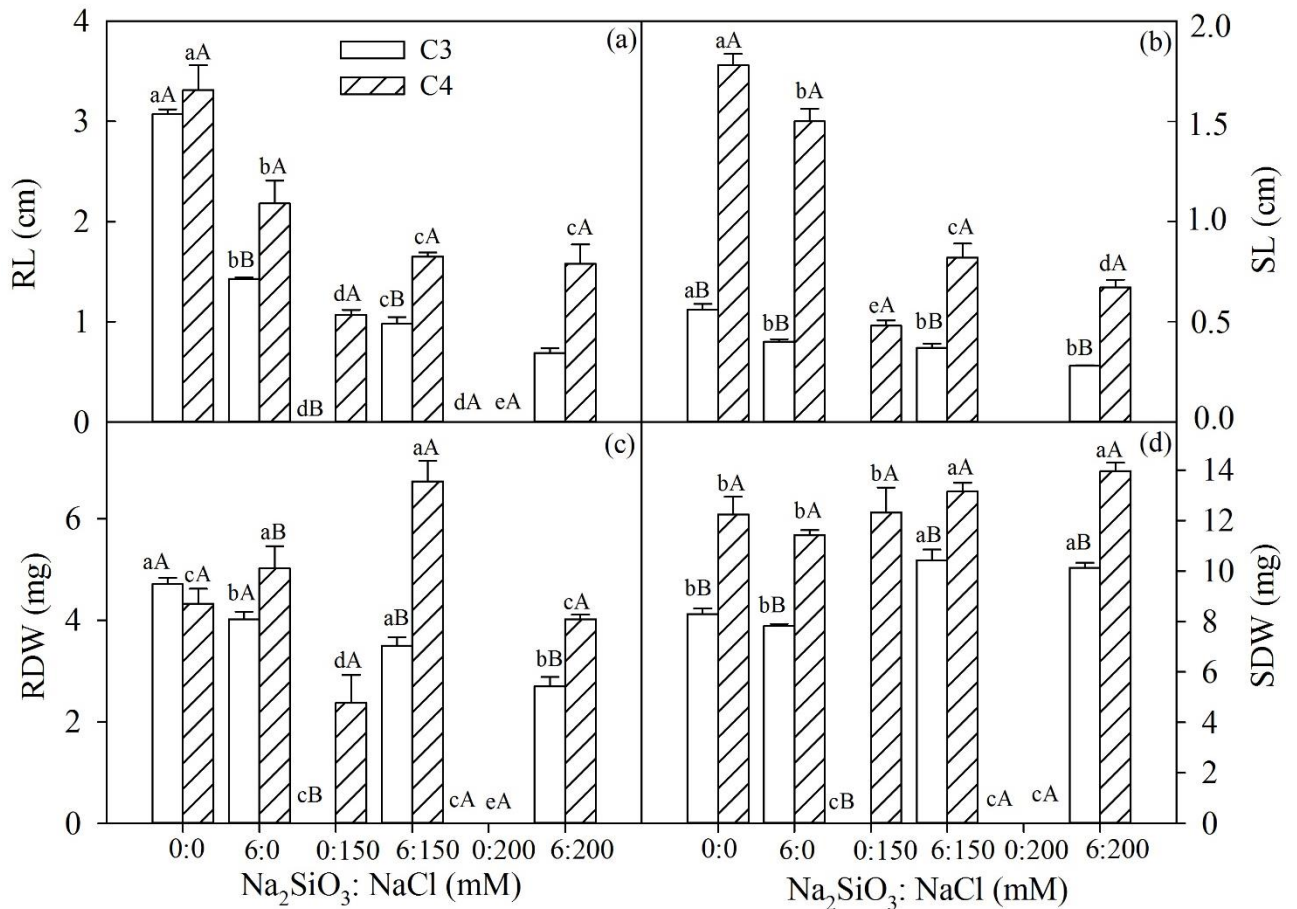


Source: Prepared by the author.

Mean values followed by different lowercase letters between the levels of Na_2SiO_3 and NaCl , and uppercase letters within the same level of Na_2SiO_3 : NaCl show differences ($p \leq 0.01$).

For the length and dry weight of the roots and shoots, similar behaviour was observed to that of the germination variables, where the seedlings showed reduced growth under conditions of stress caused by the NaCl (150 and 200 mM), however, when the Na_2SiO_3 was added to the solution, the seedlings grew and produced a greater amount of dry weight, confirming the beneficial effect of Si on the initial growth of seedlings exposed to NaCl (Figure 4a, b, c, d).

Figure 4 - Initial growth in seedlings of two lettuce cultivars (C3 - Great Lakes 659 and C4 - Lucy Brown) submitted to different levels of Na_2SiO_3 and NaCl : (a): root length (RL), (b): shoot length (SL), (c): root dry weight (RDW) and (d): shoot dry weight (SDW)



Source: Prepared by the author.

Mean values followed by different lowercase letters between the levels of Na_2SiO_3 and NaCl , and uppercase letters within the same level of Na_2SiO_3 : NaCl show differences ($p \leq 0.01$).

The beneficial effect of silicon on the germination and growth of lettuce seedlings under salt stress agrees with that already verified in other crops. In sorghum plants grown under salt stress, Kafi *et al.* (2011) found that an increase in the silicon dose gave a greater production of shoot dry weight. Agreeing with the results of the present work, such crops as maize (LIMA *et al.*, 2011), wheat (TUNA *et al.*, 2008; GURMANI *et al.*, 2013), and rapeseed (FARSHIDI; ABDOLZADEH; SADEGHIPOU, 2012) subjected to salt stress, also showed better growth when supplemented with silicon-based fertiliser.

At the highest concentrations of NaCl , when Si was added, greater values were seen for G, GSI, FGC and MGT in the lettuce seeds, and RL, SL, RDW and SDW in the seedlings. This behaviour was also seen in the tomato, where treatment with N-SiO₂ increased germination percentage, mean germination time and germination index in the seeds (HAGHIGHI; AFIFIPOUR; MOZAFARIAN, 2012, SIDDIQUI; AL-WHAIBI, 2014). In

tomato seedlings, Almutairi (2016) suggested that the greater capacity for tolerating salt stress of seedlings that received Si could be related to the transcription and activation of response genes to this type of stress. Similar behaviour may have occurred in the present study with the lettuce seedlings.

In a study with *Cucurbita pepo* L., Siddiqui *et al.* (2014) found that treatment with N-Si was able to reduce the inhibitory effects of salt stress and increase germination and growth characteristics, with a reduction in the levels of malondialdehyde, hydrogen peroxide (H₂O₂) and electrolyte leakage, which may also have occurred in this work.

According to Liang *et al.* (2007), sodium concentrations in the roots of rice and barley, as well as the transport of sodium to the shoots, were reduced by the addition of silicon, while the absorption and transport of K⁺ were increased. Among other benefits, silicon also increases the leaf and root activity of oxidative stress enzymes, which possibly occurred in the lettuce cultivars evaluated in this work. Since an increase in antioxidant activity leads to a reduction in lipid peroxidation of the plasma membrane of plants under salt stress, the Si may have affected the structure, integrity and function of the plasma membrane (ZHU *et al.*, 2004; AL-AGHABARY; ZHU; SHI, 2004; LIANG *et al.*, 2007).

Conclusions

The lettuce cultivars under study showed different effects on germination and initial plant growth when submitted to salt stress; in this study Lucy Brown and Repolhuda Todo Ano were the most tolerant to the effects of such stress.

In addition, it was found that Si improved germination and initial growth in the seedlings under conditions of high salinity, and could therefore be considered as reducing the harmful effects of salinity in lettuce during the initial stages of growth and development.

6 O SILÍCIO PODE INFLUENCIAR NO DESEMPENHO DA ALFACE EM CULTIVO HIDROPÔNICO?

Hozano de Souza Lemos Neto^{1*}, Marcelo de Almeida Guimarães¹, Italo Marlone Gomes Sampaio², Janiquelle da Silva Rabelo¹, Caris dos Santos Viana¹ e Rosilene Oliveira Mesquita¹

¹Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Departamento de Fitotecnia. 60356-001, Fortaleza, Ceará, Brasil.

²Universidade Federal Rural da Amazônia, Instituto de Ciências Agrárias, Departamento de Solos, Belém, Pará, Brasil.

*Autor correspondente: hozanoneto@hotmail.com

RESUMO

Apesar de não ser considerado um elemento essencial para as plantas, o silício (Si) tem proporcionado efeitos benéficos para várias espécies, principalmente as gramíneas, incluindo aumentos na produtividade e na resistência às pragas e doenças, redução dos efeitos dos estresses salino e hídrico, dentre outros. O objetivo desse estudo foi avaliar o efeito do silício no desempenho da alface em cultivo hidropônico. O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado, cujos tratamentos constaram de cinco doses de silício (0; 2; 4; 6; 8 mM) na solução nutritiva. Observou-se que a partir da dose de 2 mM, houve redução na maior parte das variáveis analisadas. A dose de 0,4 mM possibilitou maior incremento de massa fresca da parte aérea. A maior taxa fotossintética foi na dose de 3,19 mM. Os sólidos solúveis, acidez titulável e pH foram maiores na dose de 4 mM. O silício proporciona melhoria na produção da alface, com a dose de 0,40 mM possibilitando maior massa fresca da parte aérea, sendo a mais indicada para o cultivo da alface em sistema hidropônico.

Palavras-chave: *Lactuca sativa* L. Acidez titulável. Clorofila, Fotossíntese. Silicato de sódio.

ABSTRACT

Although not considered an essential element for plants, silicon (Si) has provided benefits for various species, especially grasses, including increases in yield and resistance to pests and diseases, reducing the effects of salt and water stresses, among others. The objective of this study was to evaluate the effect of silicon on the performance of lettuce in hydroponic cultivation. The experiment was carried out in a completely randomized design, with treatments of five doses of silicon (0, 2, 4, 6, 8 mM) in the nutrient solution. It was observed that from the dose of 2 mM, there was a reduction in most of the analyzed variables. The dose of 0.4 mM allowed a greater increase of fresh shoot mass. The highest photosynthetic rate was at the dose of 3.19 mM. Soluble solids, titratable acidity and pH were higher at the 4 mM dose. The silicon provides improvement in lettuce production, with a dose of 0.4 mM allowing a greater fresh mass of the aerial part, being the most indicated for the cultivation of the lettuce in hydroponic system.

Keywords: *Lactuca sativa* L. Titrable acidity. Chlorophyll. Photosynthesis. Sodium silicate.

Introdução

A alface (*Lactuca sativa* L.) é a hortaliça folhosa mais comercializada e também a de maior aceitação no Brasil, tendo assim, uma expressiva importância econômica e social para o país (SALA; COSTA, 2012; FREITAS *et al.*, 2013). Em função de suas folhas serem um produto de rápida perecibilidade, a produção concentra-se no entorno das grandes cidades, os chamados “cinturões verdes” (AZEVEDO *et al.*, 2015). Estima-se que o quantitativo de perdas pós-colheita das hortaliças variem de 35 a 40% (VILELA; LANA; MAKISHIMA, 2003; TOFANELLI *et al.*, 2009), o que pode ser considerado dado expressivo, tendo em vista o volume de produção desse grupo de alimentos.

No intuito de reduzir essas perdas pós-colheita de hortaliças, existem algumas práticas que podem ser adotadas nos sistemas de produção, uma dessas é a adubação, já que pode interferir diretamente na respiração, transpiração, composição química, características visuais e sabor das hortaliças (MATTIUZ, 2007). A adição de silício na solução nutritiva pode aumentar a produção e a vida útil pós-colheita de diversas culturas. Isso já foi constatado para diferentes espécies de plantas, como alface, morango e tomate (RESENDE; YURI; SOUZA, 2007; FIGUEIREDO, 2010; GALATI *et al.*, 2015; MARODIN *et al.*, 2016).

O Si é absorvido pela planta na forma de ácido monossilícico (H_4SiO_4) e, se acumula nas áreas de máxima transpiração, geralmente na epiderme foliar, na forma de sílica amorfa hidratada ou sílica polimerizada (SiO_2). A melhoria na qualidade pós-colheita, com a adição de Si, pode estar relacionada à formação da dupla camada cuticular de sílica, o que reduz a perda de água durante o período de armazenamento (KORNDÖRFER *et al.*, 2006; MITANI; MA, 2005).

Este elemento mineral tem sido citado na literatura como importante proporcionador de benefícios para as plantas: i) confere maior resistência às pragas e doenças - é depositado nas paredes celulares das células epidérmicas; ii) reduz os efeitos de metais potencialmente tóxicos que estejam em excesso na solução de cultivo; iii) ameniza os efeitos do estresse salino e da deficiência hídrica; iv) aumenta a resistência ao acamamento e, v) diminui o fluxo transpiratório (LIANG *et al.*, 2007; RODRIGUES *et al.*, 2011; BYBORDI, 2012; MARODIN *et al.*, 2016).

Na fisiologia das plantas, têm-se observado que o Si aumenta a fotossíntese líquida de algumas espécies, principalmente de gramíneas, este reduz a taxa de transpiração, atua no balanço da absorção mineral e na regulação da absorção de água pelas raízes, dentre outros (ZHU; GONG, 2014; SAHEBI *et al.*, 2015). Apesar da comprovação dos benefícios do silício em algumas culturas, ainda são poucas as pesquisas que tratam de seus efeitos em hortaliças, principalmente no que se refere à fisiologia da alface.

Na pós-colheita da alface, Galati *et al.* (2015), verificou que o Si proporcionou uma menor perda de água durante o armazenamento, bem como aumentou a firmeza das folhas. Sendo assim, objetivou-se com este trabalho, avaliar o efeito do silício no desempenho da alface em cultivo hidropônico.

Material e Métodos

Área experimental

O experimento foi realizado no período de agosto a outubro de 2016, em ambiente protegido na horta didática da Universidade Federal do Ceará (UFC), Campus do Pici, Fortaleza-CE ($3^{\circ}43'6''$ S, $38^{\circ}32'36''$ O e altitude média de 14 m). A classificação do clima é do tipo 'As', ou seja, tropical com estação seca (ALVARES *et al.*, 2013).

O ambiente protegido usado foi do tipo viveiro telado, com cobertura de malha negra com 30% de atenuação da radiação solar. A estrutura apresenta como dimensões, pé

direito de 1,8 m, comprimento e a largura de 8,0 m. As médias de temperaturas e umidade relativa do ar máximas e mínimas no interior do abrigo foram de 36,4 °C, 25,4 °C e 78,3%, 25%, respectivamente. As leituras de temperatura e umidade relativa do ar foram realizadas diariamente, utilizando um termohigrômetro.

Material vegetal e condições de cultivo

As sementes da cultivar Lucy Brown, do grupo americana, com pureza de 99,9% e germinação de 95%, foram colocadas para germinar em espuma fenólica a 1,0 cm de profundidade, sendo realizadas duas irrigações feitas com regador do tipo crivo, no início da manhã e final da tarde. Aos sete Dias Após a Semeadura (DAS), foi feita uma adubação foliar com a solução nutritiva de Furlani *et al.* (1998) a 50% da força iônica e condutividade elétrica (CE) de 2 dS m⁻¹ para suprir possíveis demandas nutricionais das plântulas.

Aos 10 DAS, as mudas foram transplantadas para bandejas de polietileno branca com 7,0 L de solução nutritiva baseada na recomendação de Furlani *et al.* (1998) a 50% da força iônica. Ficaram dispostas doze plântulas por bandeja, sendo que, cada bandeja correspondia a um tratamento, já com a concentração determinada de silicato de sódio (63% de SiO₃ e 18% de Na₂O). As doses de silicato de sódio (Na₂SiO₃) foram: 0; 2; 4; 6; 8 mM.

Esta fase funcionou como um berçário para adaptação das mudas e teve duração de sete dias. Após esse período, as mudas foram transferidas para vasos com 5,0 L de solução nutritiva a 75%, onde foram novamente aplicados os diferentes níveis de silicato de sódio (Na₂SiO₃). O sistema hidropônico utilizado foi o DFT (Deep film technique) ou “floating”, instalado sobre uma bancada de madeira (0,8 m de altura, 1,5 m de largura e 3,0 m de comprimento). Para aeração da solução nutritiva, utilizaram-se compressores de ar do tipo Chang 9000.

A qualidade da água utilizada no preparo da solução foi classificada como C2S1, proveniente do abastecimento da Companhia de Água e Esgoto do Ceará (Cagece). As características químicas da água foram: pH = 7,0; CE = 0,46 dSm⁻¹; Ca²⁺, Mg²⁺, K⁺, Na⁺, Cl⁻ e HCO⁻³ (0,40; 2,30; 0,80; 1,10; 3,20; 1,40 mmol_c L⁻¹, respectivamente).

A reposição da solução nutritiva nos vasos ocorreu diariamente com volume necessário para suprir as perdas por evapotranspiração. Na ocasião, o pH da solução nutritiva foi ajustado para a faixa de 5,5 a 6,5 utilizando ácido cítrico (C₆H₈O₇) ou hidróxido de sódio (NaOH). A solução nutritiva era monitorada diariamente, observando sempre os valores de condutividade elétrica (CEsol) com um condutivímetro de bancada com correção de

temperatura. A solução nutritiva foi renovada a cada cinco dias.

Aos 40 DAS, foram realizadas as análises de trocas gasosas e, em seguida, as plantas foram colhidas e levadas para o laboratório para as análises de pigmentos fotossintéticos, fitotécnicas e pós-colheita.

Análise de trocas gasosas

As avaliações de trocas gasosas foram realizadas no terceiro par de folhas totalmente expandidas, utilizando-se um analisador de gás por vermelho - IRGA (*Infra-Red Gas Analysis*) modelo, LI-6400XT, Licor, USA. Foram mensurados a fotossíntese líquida (A - $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), condutância estomática (g_s - $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), transpiração (E - $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), razão entre a concentração de CO_2 interna e a ambiente (C_i/C_a), eficiência instantânea de carboxilação (E_iC), obtida pela razão entre A e C_i , e eficiência instantânea de uso da água (E_iUA - $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mmol H}_2\text{O}$), calculada pela razão entre A e E . Essas avaliações foram realizadas, entre 08:00h e 11:00h, em dia de céu limpo, com iluminação artificial de $1.200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ na câmara de avaliação do equipamento, de forma a manter as condições ambientais homogêneas.

Análise de pigmentos fotossintéticos

Os teores das clorofilas 'a', 'b', totais e dos carotenoides foram determinados através do método descrito por Wellburn (1994), utilizando um espectrofotômetro nas absorvâncias de 665, 649 e 480, com os resultados expressos em $\text{mg g}^{-1} \text{ MS}$.

Medição das variáveis fitotécnicas

Foram medidas as variáveis de comprimento da parte aérea e da raiz (CPA e CR) - determinados com o auxílio de uma régua graduada em cm; número de folhas (NF) - determinado pela contagem simples das folhas totalmente expandidas; área foliar (AF) - determinada a partir da utilização de um integrador de área foliar do tipo LI-3100 (Área meter, Li-Cor, Inc. Lincoln, Nebraska, USA), sendo os resultados expressos em cm^2 ; massa fresca da parte aérea e da raiz (MFPA e MFR) - realizadas a partir da separação da raiz e parte aérea e ambas as partes pesadas em balança de precisão, com quatro casas decimais; massa seca de parte aérea e da raiz (MSPA e MSR) - as amostras de ambas as partes foram colocadas em

uma estufa com circulação forçada de ar à temperatura de 65 °C, até atingir massa constante, sendo posteriormente, realizada a pesagem das amostras em balança analítica de precisão, com os resultados expressos em g planta⁻¹.

Análises pós-colheita da alface

Sólidos solúveis (SS) - determinado por leitura em refratômetro (mod.103, com escala de 0 a 32%), a partir de 1,0 g das amostras das folhas maceradas em almofariz, transferindo 2 a 3 gotas para o prisma do refratômetro, sendo os resultados expressos em % (AOAC, 2002).

Vitamina C - determinada por meio da titulação com solução de DFI (2,6 diclorofenolindofenol a 0,02%) até a coloração róseo claro, utilizando 1,0 g de folha macerada em almofariz, sendo os resultados expressos em mg ácido ascórbico por 100 g de folha (STROHECKER; HENNING, 1967).

Acidez titulável (AT) - determinado a partir da utilização de 1,0 g da folha da alface macerada em almofariz, sendo utilizado o indicador fenolftaleína a 1% e a titulação com hidróxido de sódio (NaOH) a 0,1 N, sendo os resultados expressos em % de ácido cítrico (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2005).

Relação SS/AT - determinada pela relação direta entre o quociente dos sólidos solúveis totais e acidez titulável.

pH - determinado por meio da maceração de 1,0 g da folha diluída em 30 ml de água destilada, utilizando um potenciômetro digital com membrana de vidro (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2005).

Aparência externa – foi baseada em limites de tolerância para a coloração da folha, queimadura das bordas, presença de algum tipo de inseto e manchas nas folhas, sendo atribuídas as seguintes notas: 3,1- 4,0 (ótimo); 2,1 - 3,0 (bom); 1,1 - 2,0 (regular); 0 - 1 (ruim) (MORAIS *et al.*, 2011).

Delineamento experimental e tratamentos

O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado, com quatro repetições e cinco tratamentos, constituídos das seguintes doses de silício: 0; 2; 4; 6 e 8 mM, sendo a parcela constituída por um vaso com duas plantas de alface.

Análise estatística dos resultados

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância (teste F de Snedecor; $p \leq 0,05$), e posteriormente, ajustou-se modelos de regressão para as doses de silício. Para tanto a escolha de cada modelo foi baseada na significância dos parâmetros via teste ‘t-student’ e no coeficiente de determinação ($R^2 \geq 0,70$). As médias das variáveis de pós-colheita foram comparadas pelo teste de Scott-Knott, uma vez que apenas as três primeiras doses de silício possibilitaram a obtenção de material vegetal de qualidade aceitável para serem realizadas as análises de pós-colheita.

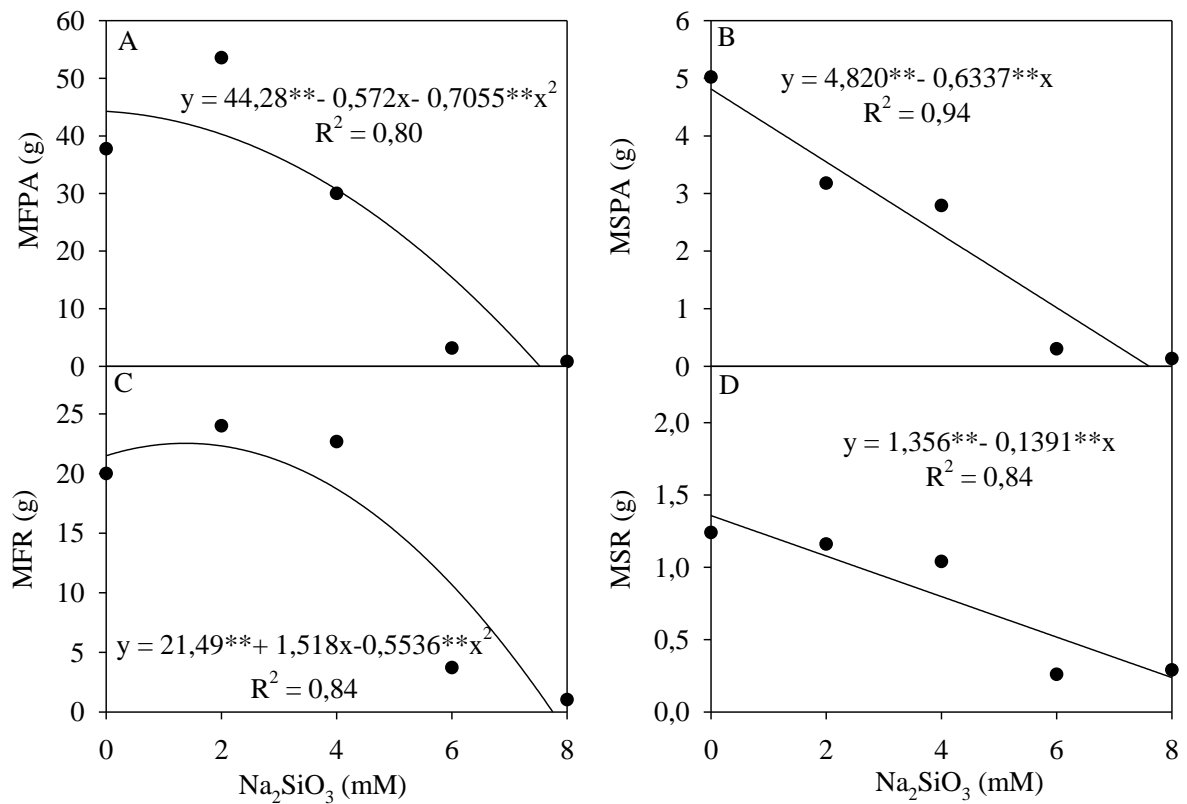
Resultados

De acordo com a ANOVA, há efeitos significativos das doses de silício (Si) para as variáveis comprimento da raiz e parte aérea (CR e CPA), massa fresca e seca de raiz e parte aérea (MFR, MSR, MFPA e MSPA), número de folhas e área foliar (NF e AF), acidez titulável (AT), sólidos solúveis (SS), pH, vitamina, trocas gasosas, clorofilas ‘a’, ‘b’ e carotenoides. Para observar o comportamento destas variáveis em função das doses de Si, ajustaram-se modelos de regressão.

Efeito do silício na acumulação de biomassa da alface

Com a utilização do silício em diferentes doses, verificaram-se incrementos na massa fresca da parte aérea (MFPA), com máximo de 43,93 g na dose de 0,40 mM e na de raiz (MFR), com máximo de 22,53g na dose de 1,4 mM (Figura 5 A, C). Já a massa seca da parte aérea (MSPA) e da raiz (MSR), decresceu de forma linear em função do aumento das doses de silício (Figuras 5 B, D).

Figura 5 - Plantas de alface cultivadas em solução nutritiva com diferentes doses de silício. A: massa fresca da parte aérea (MFPA), B: massa seca da parte aérea (MSPA), C: massa fresca de raiz (MFR) e D: massa seca de raiz (MSR)

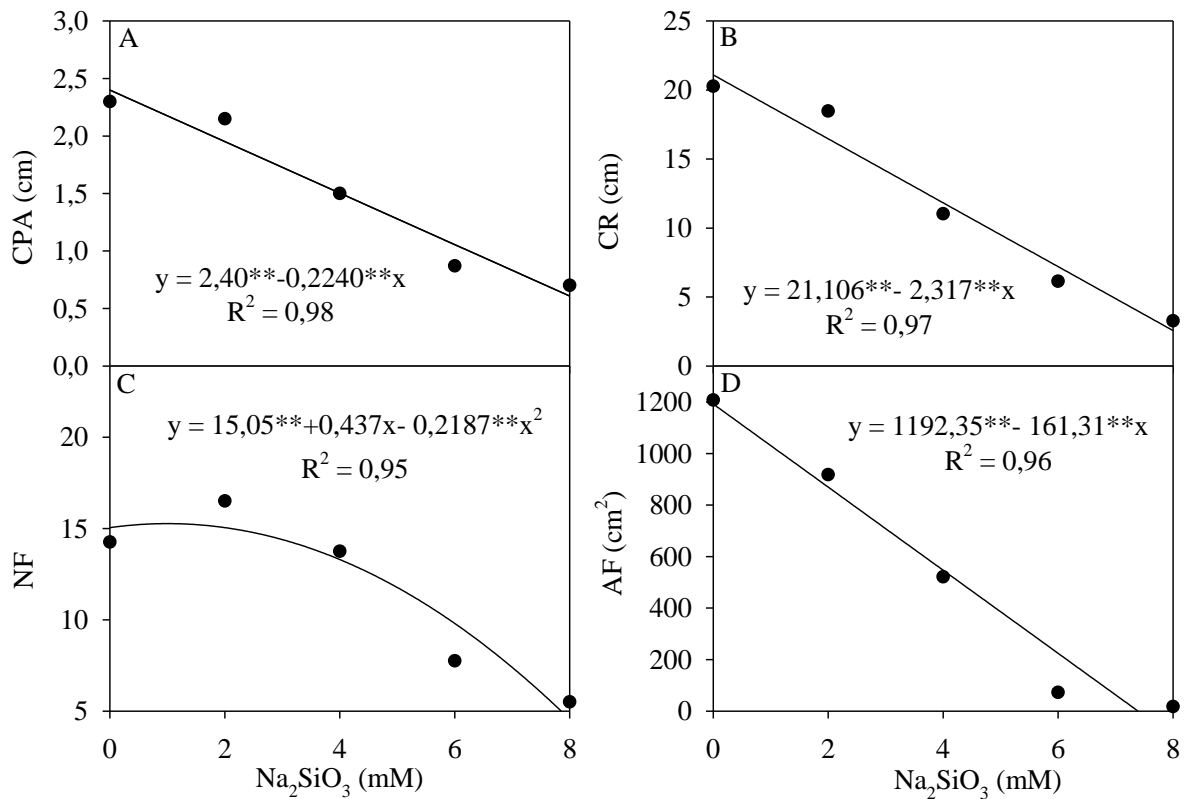


Fonte: Elaborada pelo autor.

** - Significativo a 1% pelo teste "t-student".

O incremento das doses crescentes de silício reduziu linearmente as variáveis de comprimento da planta e área foliar (Figura 6 A, B, D). O número de folhas seguiu um comportamento quadrático, com máximo de 15 folhas na dose de 1 mM (Figura 6 C).

Figura 6 - Plantas de alface cultivadas em solução nutritiva com diferentes doses de silício. A: comprimento da parte aérea (CPA), B: comprimento de raiz (CR), C: número de folhas (NF) e D: área foliar (AF)



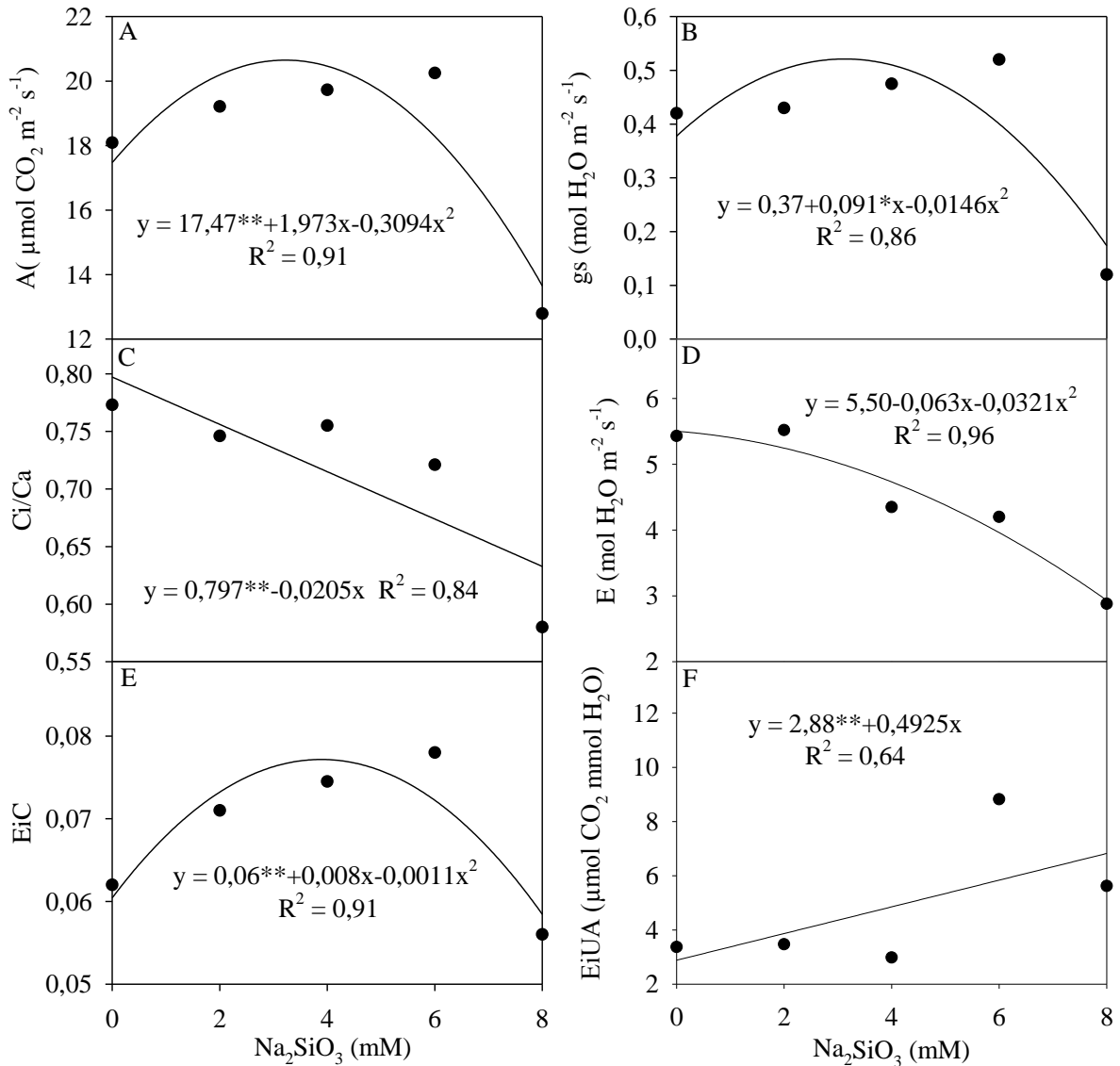
Fonte: Elaborado pelo autor.

** - Significativo a 1% pelo teste "t-student".

Silício alterando as trocas gasosas em alface

Para as variáveis relacionadas às trocas gasosas, verificou-se ajuste quadrático para a fotossíntese líquida (*A*), condutância estomática (*g_s*), transpiração (*E*) e eficiência instantânea de carboxilação (*E_{iC}*), com máximos em 3,19 mM (20,61 μmol CO₂ m⁻² s⁻¹); 3,12 mM (0,51 mol H₂O m⁻² s⁻¹); 1 mM (5,40 mol H₂O m⁻² s⁻¹) e 3,63 mM (0,075 μmol m⁻² s⁻¹), respectivamente (Figura 7 A, B, D, E).

Figura 7 - Plantas de alface cultivadas em solução nutritiva com diferentes doses de silício. A: fotossíntese líquida (A), B: condutância estomática (gs), C: razão entre a concentração interna de CO₂ e a externa (Ci/Ca), D: transpiração (E), E: eficiência instantânea de carboxilação (EiC) e F: eficiência instantânea do uso de água (EiUA)



Fonte: Elaborada pelo autor.

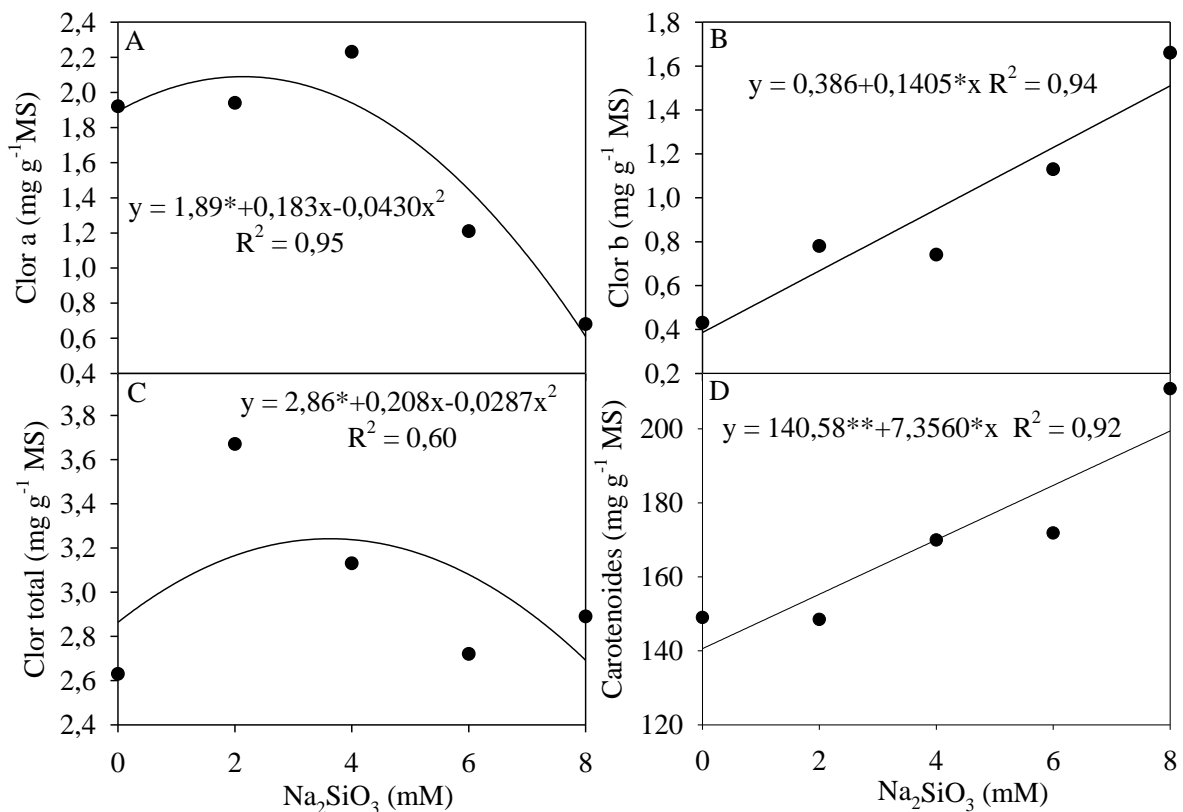
** e * - Significativo a 1% e a 5%, respectivamente, pelo teste "t-student".

A razão Ci/Ca apresentou comportamento linear decrescente em função do aumento nas dosagens de Si (Figura 7 C). Para a A seu incremento observado até a concentração de 3,19 mM de Si, proporcionaram maior consumo do CO₂ interno presente nos espaços intercelulares. Resultado similar foi observado para a gs, no entanto, para este fator, nas doses acima de 3,12 mM de Si, observou-se um decréscimo, provavelmente causado por um fechamento estomático, o que impediu as trocas gasosas e a renovação do suprimento interno de CO₂ na câmara subestomática, o que reduziu a A, a Ci/Ca e proporcionou aumento na eficiência instantânea do uso de água (EiUA). A EiUA apresentou um comportamento linear crescente com o aumento das doses de Si (Figura 7 F).

O Si alterando os pigmentos fotossintéticos de alface

Para as clorofilas 'a' e total o modelo de regressão que melhor se ajustou foi o quadrático, com máximos de 2,08 e 3,23 mg g⁻¹, nas doses de 2,12 e 3,62 mM (Figura 8 A, C). Já para a clorofila 'b' e carotenoides, o modelo linear crescente foi o que melhor representou, com maiores valores na dose máxima utilizada de 8 mM (Figura 8 B, D).

Figura 8 – Pigmentos de plantas de alface cultivadas em solução nutritiva com diferentes doses de silício. A: clorofila a (Clor 'a'), B: clorofila b (Clor 'b'), C: clorofila total e D: carotenoides



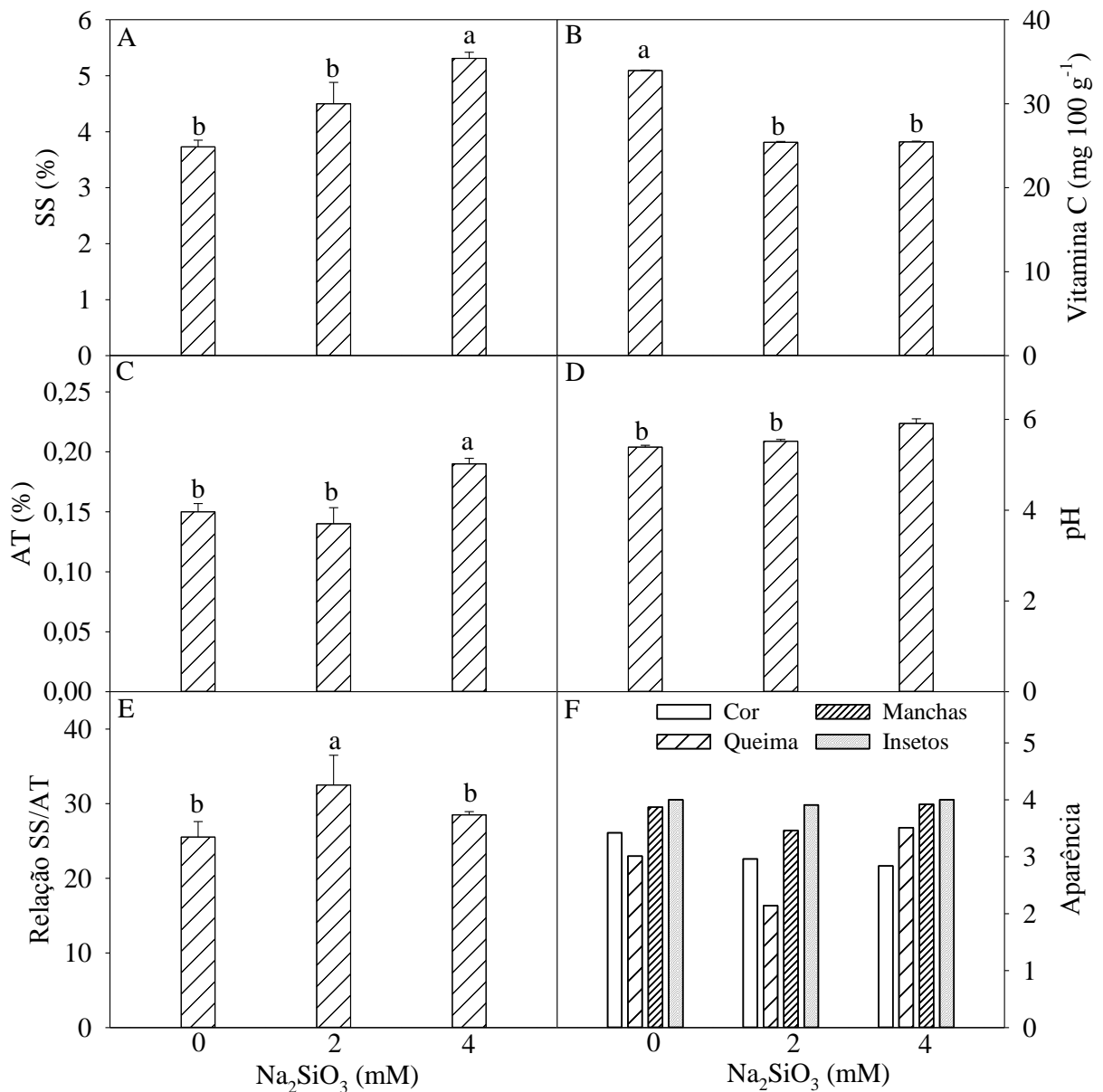
Fonte: Elaborada pelo autor.

** e * - Significativo a 1% e a 5%, respectivamente, pelo teste "t-student".

O Si alterando as variáveis pós-colheita da alface

Em relação às variáveis de pós-colheita, os sólidos solúveis, acidez titulável e pH, tiveram as maiores médias na dose de 4 mM de silício, já para a relação SS/AT a dose de 2 mM foi a que proporcionou as maiores médias (Figura 9 A, C, D, E). A vitamina C reduziu com o silício (Figura 9 B) e a aparência externa das plantas não foi influenciada pelo silício (Figura 9 F).

Figura 9 - Plantas de alface cultivadas em solução nutritiva com diferentes doses de silício. A: sólidos solúveis (SS), B: vitamina C, C: acidez titulável (AT), D: pH, E: relação entre os sólidos solúveis e a acidez titulável (SS/AT) e F: aparência externa



Fonte: Elaborada pelo autor.

Médias seguidas por letras minúsculas diferentes evidenciam diferenças entre si pelo teste de Scott-Knott ($p \leq 0,05$). As barras representam o erro padrão da média.

Discussão

A adição de pequenas concentrações de silício na solução nutritiva foi benéfica para o crescimento das plantas de alface, já que proporcionou aumento na massa fresca de raiz e parte aérea (Figura 5 A, C). Tal resultado pode estar relacionado a um maior teor de água na planta, deixando-a mais túrgida, por conta da presença do Si. Isso é importante para as plantas de alface já que a maior turgescência, por mais tempo, possibilita um incremento no tempo de

prateleira para a espécie. É importante ressaltar que esse aumento na turgescência só se verifica até um determinado ponto (1,40 mM para MFR e 0,40 mM para MFPA), em que o acúmulo de silício na planta deixa de propiciar acúmulo de biomassa fresca. Tal resultado também já foi verificado por Resende, Yuri e Souza (2007), que ao trabalharem com diferentes doses de silício e épocas de plantio da alface americana, verificaram comportamento quadrático para massa fresca total e comercial.

O fato de não ter sido verificado incremento na massa seca com o aumento das doses de silício na solução nutritiva, pode ser explicado por uma possível ocorrência de competição entre íons nos canais de absorção. Isso porque a presença do ânion H_2SiO_4^- na solução pode ocasionar uma redução na absorção de outros ânions como sulfato (SO_4^{2-}) e fosfato (H_2PO_4^-). O sulfato é essencial para a formação de aminoácidos como metionina e cisteína. No caso de deficiência de sulfato a formação desses aminoácidos é reduzida e as proteínas não são formadas, por conseguinte, as plantas não conseguem assimilar o N em proteínas (CANTARELLA, 2007). Esses nutrientes são considerados de grande importância para o crescimento celular e que estão diretamente relacionados ao acúmulo de massa seca (MALAVOLTA, 2006). De acordo com Marschner (2012), tal competição pode ser influenciada pelas propriedades do transporte de cada elemento e pela diferença na concentração dos íons em solução. Este fato explicaria o porquê das plantas não terem convertido a massa fresca em seca, mesmo com aumento na disponibilidade do silício em solução.

Sendo assim, apesar do silício possibilitar aumento na turgescência e na massa fresca das plantas, o mesmo não contribuiu para o aumento da produção de massa seca quando comparado ao controle (Figuras 5 B, D). Luz, Guimarães e Korndörfer (2006) observaram menor massa fresca da parte aérea em plantas de alface cultivadas em solução nutritiva com $1,5 \text{ mmol L}^{-1}$ de silício, no entanto, a utilização de Si não prejudicou a produção final da alface, pois apesar da menor massa, as mesmas atingiram o tamanho comercial e também tiveram menor incidência de queima dos bordos nas folhas, justificando assim a ação benéfica deste elemento para a cultura.

Para as trocas gasosas, observamos que o aumento na fotossíntese líquida (A), foi acompanhado de aumento na condutância estomática (g_s), o que significa maior abertura do poro estomático para entrada de CO_2 e, conseqüentemente, maior taxa transpiratória (E). No entanto, com base nos resultados vê-se que A , g_s e E aumentaram com o incremento nas doses de Si, até atingirem um ponto de máximo (Figuras 7 A, B, D), sendo que a partir desse ponto, ocorreu decréscimo em todos esses parâmetros.

O Si proporcionou um aumento na produção de clorofila 'a' até 2,09 mM (Figura 8 A), isso pode ter desencadeado um aumento na captura de luz no fotossistema II (FSII). Tal fato pode ter desencadeado uma maior excitação do centro de reação do FSII, sendo mais elétrons transportados para redução de NAD^+ a NADPH e produção de ATP, ambos utilizados na fase bioquímica da fotossíntese para redução do CO_2 a carboidratos (MARENCO; LOPES, 2009). Assim, esse aumento nas trocas gasosas pode ter sido estimulado pelo aumento na síntese da clorofila 'a'. Com o aumento da fotossíntese, mais CO_2 entrou na câmara subestomática e, portanto, maior C_i e g_s , pois o estômato permaneceu mais aberto para entrada de CO_2 , o que proporcionou também maior taxa de transpiração (E) pela planta.

A relação C_i/C_a decresceu de forma linear com o aumento nas doses de Si. Esse decréscimo pode estar relacionado a uma possível limitação de ordem difusiva, já que os resultados obtidos demonstram que não foi ocasionada por uma limitação bioquímica do processo. Essa limitação de ordem difusiva se deve principalmente ao aumento da resistência a entrada de CO_2 . Como os estômatos estão se fechando, a tendência é que menos CO_2 entre no interior da folha. Se a maquinaria fotossintética no cloroplasto não estiver comprometida e permanecer intacta, o CO_2 continua a ser fixado, mesmo com o estômato se fechando. Neste caso, a quantidade de CO_2 interna diminui, havendo uma redução na razão C_i/C_a devido a menor entrada de CO_2 .

A ocorrência dessa limitação difusiva também pode estar relacionada ao fato de que à medida que o Si vai sendo absorvido, a planta vai transpirando e este vai se acumulando nos órgãos onde ocorrem transpiração, esse acúmulo de Si forma uma camada de sílica amorfa na região da epiderme foliar (MITANI; MA, 2005; KORNDÖRFER, 2006), o que reduz a transpiração por reduzir e dificultar a abertura estomática e, conseqüentemente, acaba por reduzir a fotossíntese e a biomassa da planta, no entanto, tal condição proporciona aumento na eficiência do uso da água (Figura 7 F).

Em plantas de trigo, verificou-se aumento nas trocas gasosas (A , g_s e E) com adição de Si nas concentrações de 0 e 2 mM (RIOS *et al.*, 2014). Esse resultado está de acordo com o encontrado neste estudo, já que também foi verificado incremento nas trocas gasosas proporcionado pelo Si, nas concentrações próximas de 2 mM (2,47 a 3,19 mM). Abdalla (2011) usando o diatomito (fonte de Si), em solo, sob déficit hídrico, observou um aumento na taxa fotossintética e condutância estomática em tremoço-branco. Estudos realizados por outros pesquisadores, também demonstraram que a aplicação de Si aumentou significativamente a taxa fotossintética e transpiração em plantas de arroz, soja, pimentão e sorgo em condições de déficit hídrico (HATTORI *et al.*, 2005; SHEN *et al.*, 2010; CHEN *et*

al., 2011; MING *et al.*, 2012; PEREIRA *et al.*, 2013; LIU *et al.*, 2014). De acordo com alguns desses estudos, por exemplo, o de Hattori *et al.* (2005), foi observado que as plantas de sorgo na presença de silício, mantinham um maior nível de absorção de água.

Na maior parte dos estudos que avaliaram trocas gasosas com utilização de Si, como os já mencionados, as plantas encontravam-se sob condições de déficit hídrico, mesmo assim, a aplicação de silício possibilitou aumento nas trocas gasosas (*A*, *E* e *gs*). Nesta pesquisa, as plantas estavam em boas condições de suprimento hídrico, tendo sido verificado aumento nestes parâmetros, até atingirem um ponto considerado ótimo, esse fato reforça a importância do silício em incrementar as variáveis relacionadas às trocas gasosas, pois tanto em condições de déficit quanto de bom suprimento hídrico, ocorreram incrementos nas trocas gasosas com o uso deste elemento mineral, reforçando o seu efeito benéfico.

Em plântulas de milho, Gao *et al.* (2005) constataram que a adição de silício diminuiu a transpiração foliar e taxa de fluxo de água nos vasos do xilema, resultando em maior eficiência do uso da água. Segundo esses pesquisadores a possível causa para os resultados observados podem estar relacionados à deposição de Si na parede celular da raiz, o que poderia afetar as propriedades dos vasos do xilema e, portanto, o transporte de água ou de soluto. Esses resultados corroboram com os encontrados neste trabalho, onde à medida que aumentamos as doses de Si, maior foi a EiUA. Da mesma forma, Gao *et al.* (2005), observaram que a aplicação Si aumentou a EiUA em milho sob déficit hídrico, reduzindo a transpiração, indicando que o Si influencia no movimento estomático das plantas. Além disso, o aumento da EiUA pelo uso de Si também foi observado em plantas de grão-de-bico (*Cicer arietinum* L.) cultivada em vasos (KURDALI; MOHAMMAD; AHMAD, 2013) e em trigo em condições de campo sob déficit hídrico (GONG; CHEN, 2012).

A utilização do silício resultou em aumento nos teores de clorofilas ‘a’ e total para plantas de alface (Figuras 8 A, C), o que também já foi verificado em plantas de arroz (CHEN *et al.*, 2011), trigo (RIOS *et al.*, 2014) e tomateiro (RODRIGUES *et al.*, 2016) em condições de déficit hídrico. Isso pode estar relacionado ao aumento em características como trocas gasosas, potencial de absorção de água e redução de estresse oxidativo. Pois, reduzindo o estresse oxidativo, diminui-se a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs), que causam danos a proteínas, ácidos nucleicos e lipídeos, podendo dessa forma aumentar a síntese de pigmentos.

Para os carotenoides verificou-se aumento com o incremento das doses Si (Figura 8 D). Além de atuarem como pigmentos receptores de luz, os carotenoides protegem as clorofilas do excesso de radiação, neutralizando a ação dos radicais livres que prejudicam as

células (MARENCO; LOPES, 2009). O aumento nos teores de carotenoides está de acordo com o que tem sido reportado como efeito benéfico do uso do silício, uma vez que o Si proporciona um aumento na produção de antioxidantes enzimáticos e/ou não enzimáticos, como os carotenoides. O aumento do conteúdo de compostos antioxidantes não enzimáticos desempenha um papel importante na diminuição do estresse oxidativo nas plantas. Em alguns estudos, já foi observado que a aplicação de Si também aumentou os níveis de antioxidantes não enzimáticos em trigo e girassol (GONG *et al.*, 2005; GUNES *et al.*, 2008; PEI *et al.*, 2010).

Estudos mostram que o Si tem influência nas trocas gasosas, alguns mostram que aumentam e outros que diminuem. Até o momento não se sabe o real mecanismo de como o Si atua nesses processos, sendo necessários ainda mais estudos para compreender os mecanismos pelos quais esse elemento atua nas plantas, principalmente na fisiologia.

O aumento nas variáveis de pós-colheita da alface como SS e relação SS/AT (Figuras 9 A, E) são importantes pelo fato de poderem conferir um melhor sabor as folhas, tornando o vegetal mais palatável. A relação SS/AT indica uma vinculação dos açúcares com os ácidos orgânicos. Na concentração de 2 mM de Si houve um aumento na relação, o que sinaliza maior teor de açúcares em correspondência ao acúmulo de ácidos, podendo indicar uma melhoria quanto ao sabor da alface. Tais resultados estão em acordo com os obtidos por Galati *et al.* (2015), que observaram para a alface americana que a dose de (84 mg L⁻¹) de Si possibilitou a manutenção, em níveis adequados a essa cultura, de parâmetros como acidez titulável e pH por um maior período de armazenamento, significando melhoria da qualidade pós-colheita dessa hortaliça.

Quanto a vitamina C, o fato de seu conteúdo não ter aumentado com o incremento do Si (Figura 9 B), pode estar relacionado à dose ótima utilizada, já que na dose de 2 mM o conteúdo de vitamina C nas plantas de alface já havia reduzido. Em trabalhos realizados com trigo, arroz e pepino, a dose em ótima condição para aumentar o teor de antioxidantes não enzimáticos foi variando de 1µM a 1 mM (SAQIB; ZÖRB; SCHUBERT, 2008; TRIPATHI *et al.*, 2013; KHOSHGOFTARMANESH; KHODARAHMI; HAGHIGHI, 2014).

Conclusão

O uso do silício na dose de 0,40 mM é indicado para o cultivo de alface hidropônico por proporcionar maior massa fresca da parte aérea.

7 SILICON POTENTIAL AS ATTENUATOR OF SALINITY EFFECTS ON GROWTH AND POST-HARVEST QUALITY OF LETTUCE

Artigo publicado na revista *Journal of Agricultural Science*, v. 10, n. 7, 2018.

Hozano de Souza Lemos Neto^{1*}, Marcelo de Almeida Guimarães¹, Rosilene Oliveira Mesquita¹, Italo Marlone Gomes Sampaio², Ana Régia Alves de Araújo Hendges³ & Alexandre Bosco de Oliveira¹

¹Department of Plant Science, Federal University of Ceará, Fortaleza, Ceará, Brazil.

²Federal Rural University of Amazonia, Institute of Agrarian Sciences, Department of Soils, Belém, Pará, Brazil.

³Federal Institute of Education, Science and Technology of Maranhão, São Raimundo das Mangabeiras, Maranhão, Brazil.

*Corresponding author: Hozano de Souza Lemos Neto, Department of Plant Science, Federal University of Ceará, Fortaleza, Ceará, Brazil. E-mail: hozanoneto@hotmail.com

ABSTRACT

Silicon (Si) is a mineral element that provides many benefits to plants and may also assist in tolerance to abiotic stresses such as salinity. The aim of this study was to evaluate the use of Si as a possible attenuator of the deleterious effects of salinity on growth and post-harvest of lettuce cultivated in hydroponic system. The experiment was carried out under protected conditions using a completely randomized design with four replicates, in a 3 x 2 factorial arrangement, composed by three salinity levels of the nutrient solution (1.65, 3.65, 7.65 dS m⁻¹) and two levels of silicon (0 and 2 mM). Increased salinity of the nutrient solution reduced all variables related to plant growth. For fresh and dry mass of the aerial part it was observed that the NaCl caused a reduction of 80%, compared to the lower salinity level. However, parameters related to post-harvest such as titratable acidity, soluble solids and vitamin C increased with nutrient solution salinity. Although not effective in reducing saline stress on plant growth, Si provided significant improvements in the variables related to lettuce post-harvest.

Keywords: *Lactuca sativa* L. Salt stress. Silicate fertilization. NaCl. Vitamin C.

RESUMO

O silício (Si) é um elemento mineral que proporciona diversos benefícios para as plantas, podendo, inclusive, auxiliar na tolerância a estresses abióticos, como a salinidade. O objetivo do estudo foi avaliar o uso do Si como possível atenuador dos efeitos deletérios da salinidade no crescimento e pós-colheita da alface cultivada em sistema hidropônico. O experimento foi desenvolvido em condições protegidas utilizando o delineamento inteiramente casualizado com quatro repetições, em arranjo fatorial 3 x 2, composto por três níveis de salinidade da solução nutritiva (1,65; 3,65; 7,65 dS m⁻¹) e dois níveis de silício (0 e 2 mM). O aumento da salinidade da solução nutritiva reduziu todas as variáveis relacionadas ao crescimento da planta. Para massa fresca e seca da parte aérea observou-se que o NaCl causou redução de 80%, em comparação ao menor nível de salinidade. Já os parâmetros relacionados à pós-colheita, tais como acidez titulável, sólidos solúveis e vitamina C aumentaram com a salinidade da solução nutritiva. O Si, apesar de não ter sido efetivo na redução do estresse salino sobre o crescimento das plantas, proporcionou melhorias nas variáveis relacionadas à pós-colheita da alface.

Palavras-chave: *Lactuca sativa* L. Estresse salino. Adubação silicatada. NaCl. Vitamina C.

Introduction

Salinity is one of the abiotic stresses that most limits crop production (MUNNS; TESTER, 2008). Currently, it is estimated that about 20% of the cultivated soils and 33% of all irrigated land worldwide face some problem of salinization (SHAHBAZ; ASHRAF, 2013; SHRIVASTAVA; KUMAR, 2015). Except Antarctica, all other continents present salinity soils (MARTINEZ-BELTRAN; MANZUR, 2005).

These problems become even more evident in arid and semi-arid zone due to the high evaporation, low precipitation and, low leaching capacity from soils, the salts have a tendency to accumulate on surface and harm plants. In addition, fresh water scarcity forces the farmers use saline waters from wells to irrigation. These wells, in general, have high salt contents ranging from 0.1 to 5.0 dS m⁻¹ (COSTA; HOLANDA; FIGUEIREDO FILHO, 2004) being necessary to look for management strategies to use of the water just to produce under these conditions. In this sense, silicate fertilization can be an important alternative to reduce saline stress and improve post-harvest quality of fruits and vegetables.

Fertilization supplemented with silicon, has shown positive responses related to the gain in production and post-harvest quality of some vegetables such as lettuce (RESENDE; YURI; SOUZA, 2007; GALATI *et al.*, 2015), strawberry (FIGUEIREDO, 2010) tomato (MARODIN *et al.*, 2016). In conditions of salt stress, positive effects of this mineral have already been verified in crops such as wheat, cashew, rice, corn, tomato, among others (MIRANDA *et al.*, 2010; KRASKA; BREITENBECK, 2010; LIMA *et al.*, 2011; LI *et al.*, 2015).

Lettuce (*Lactuca sativa* L.) is a leafy vegetable moderately salt sensitive with slope equal 13% per dS m⁻¹ and, salinity threshold 1.3 dS m⁻¹ (MAAS; POSS; HOFFMAN, 1986). For being the most consumed leafy vegetable in the world and present in the diet of the Brazilian population, with an annual domestic production of around 1.7 million tonnes (ABCSEM, 2014), studies with this hardwood are necessary to soften the effects of salinity in areas suffering from this problem.

Studies with the use of Si in vegetables, such as lettuce, aiming at attenuating the negative effects of salinity, are still incipient and not very informative. Thus, the aimed to evaluate the potential of silicon in reducing the effects of salinity on lettuce growth and post-harvest.

Material and Methods

Experimental área

Experiment was carried out from October to November 2016, in protected environment conditions, in Fortaleza-CE at 3° 44'S, 38° 33'W and average altitude of 14 m. The climate is type 'As', that is, tropical with dry season (ALVARES *et al.*, 2013). The average annual rainfall is 1.448 mm, relative humidity of 78.8%, with a minimum and maximum average temperature of 23.6 °C and 30.1 °C, respectively.

The greenhouse used in this research was a screened nursery 30% shading material, ceiling height of approximately 1.8 m, with length and width of approximately 8.0 m each. Maximum and minimum air temperature and relative humidity values recorded in the nursery were 36.4 °C, 25.4 °C and 78.3%, 25%, respectively.

Sowing and cultivation conditions

Seeds of Lucy Brown were seeded in phenolic foam, with dimensions of 2 x 2 x 2 cm. One seedling per cell was maintained, and received two irrigations daily during ten days. After this period, seedlings were transferred to polyethylene trays containing 7 L of nutrient solution at 50% of ionic strength, for adaptation during seven days (nursery phase). Subsequently, they were transplanted to hydroponic system with 5 L pots with nutrient solution of Furlani *et al.* (1998) at 100% of ionic strength, where they were submitted to the different levels of silicon (0 and 2 mM) and salinity, 1.65 (control); 3.65; 7,65 dS m⁻¹. Sodium silicate (Na₂SiO₃) was used as silicon source and sodium chloride (NaCl) was used for induction of saline stress. With four replicates of two plants each, completely randomized design, in a 3 x 2 factorial arrangement.

Water used in the preparation of nutrient solution was C2S1 (Table 5), obtained from the supply of Companhia de Água e Esgoto do Ceará (Cagece), whose values of electrical conductivity were adjusted with a conductivity meter with temperature correction.

Table 5 - Chemical characteristics of water used in the preparation of the nutritive solution

pH	CE	Ca ²⁺	Mg ²⁺	K ⁺	Na ⁺	Cl ⁻	HCO ₃ ⁻
	dS m ⁻¹	----- mmol _c L ⁻¹ -----					
7.0	0.46	0.40	2.30	0,80	1.10	3.20	1.40

Source: Soil and water laboratory of UFC.

The hydroponic system type used was *floating* (deep pool with static aeration system), installed on a wooden counter (0.8 m high, 1.5 m wide and 3.0 m long). For the aeration of nutrient solution, air compressors *Chang* 9000, 220v were used. Due to evapotranspiration, daily water replacement was performed in all pots for the initial volume (5 L), as well as pH adjustment of the nutrient solution with citric acid (C₆H₈O₇) or sodium hydroxide (NaOH) keeping it in a range of 5.5 to 6.5. Every five days, renewal of nutrient solution was performed. Fourty days after sowing, plants were harvested and taken to the laboratory for growth and post-harvest analyses.

Analysis of plant growth

Plants were harvested and separated into roots and shoot. Then, root and shoot length (RL and SL) were determined with the aid of a graduated ruler (cm); root and shoot fresh mass (RFM and SFM) were measured weighing roots and shoot parts (leaves + stems)

in precision scale with four decimal places. Then, leaf area (LA) was determined through a leaf area meter (LI-COR, Inc. Model LI-3000) with the results expressed in cm² and the number of leaves (NL) by counting the fully expanded leaves. Afterwards, the different parts of the plant were dried in a forced air oven at 65 °C until reaching constant mass, and then weighed to obtain root and shoot dry mass (RDM and SDM), expressed in g.planta⁻¹. Production reduction (PR) was also calculated by the following formula:

$$(PR, \%) = ((PCT - PST)) / ((PCT)) \times 100$$

in which, PCT = production of the control treatment (without salinity); PST = production of the salinity treatment (FAGERIA, 1985, 1992). SDM was considered as production parameter.

Post-harvest quality analysis of leaves

Part of the plant material was taken to the laboratory, where they were macerated and then used to determine the parameters described below:

Titrate acidity (TA) - determined in 1.0 g of macerated leaf, transferred to a 125 ml Erlenmeyer flask and filling the volume to 50 ml with distilled water. Phenolphthalein indicator 1% was used and titration with 0.1N NaOH solution was performed. (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2005). Results were expressed in grams of citric acid per 100 g of leaf.

Hydrogen ionic potential (pH) - pH was determined from 1g of macerated and diluted leaf (1 g of leaf/30 ml of distilled water) using a digital potentiometer with glass membrane (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2005).

Vitamin C - determined by titration with Tilman solution (DFI - 2,6 dichlorophenol-indophenol 0.02%) until light pink color, using 1.0 g of macerated leaves and transferred to a 100 mL volumetric flask with oxalic acid 0.5%, according to the methodology proposed by Strohecker and Henning (1967). Results were expressed as mg ascorbic acid per 100 g of leaf.

Soluble solids (SS) - determined by digital refractometer with automatic temperature correction, from the maceration in mortar of 1.0 g of leaf with 1.0 mL of distilled water, homogenized, filtered and the results expressed in (%).

SS/TA ratio - determined by the quotient between soluble solids and titrate acidity.

Statistical Analysis

Results were submitted to analysis of variance (Snedecor's F test, $p \leq 0.05$) and comparison of the means by the Scott-Knott-test ($p \leq 0.05$).

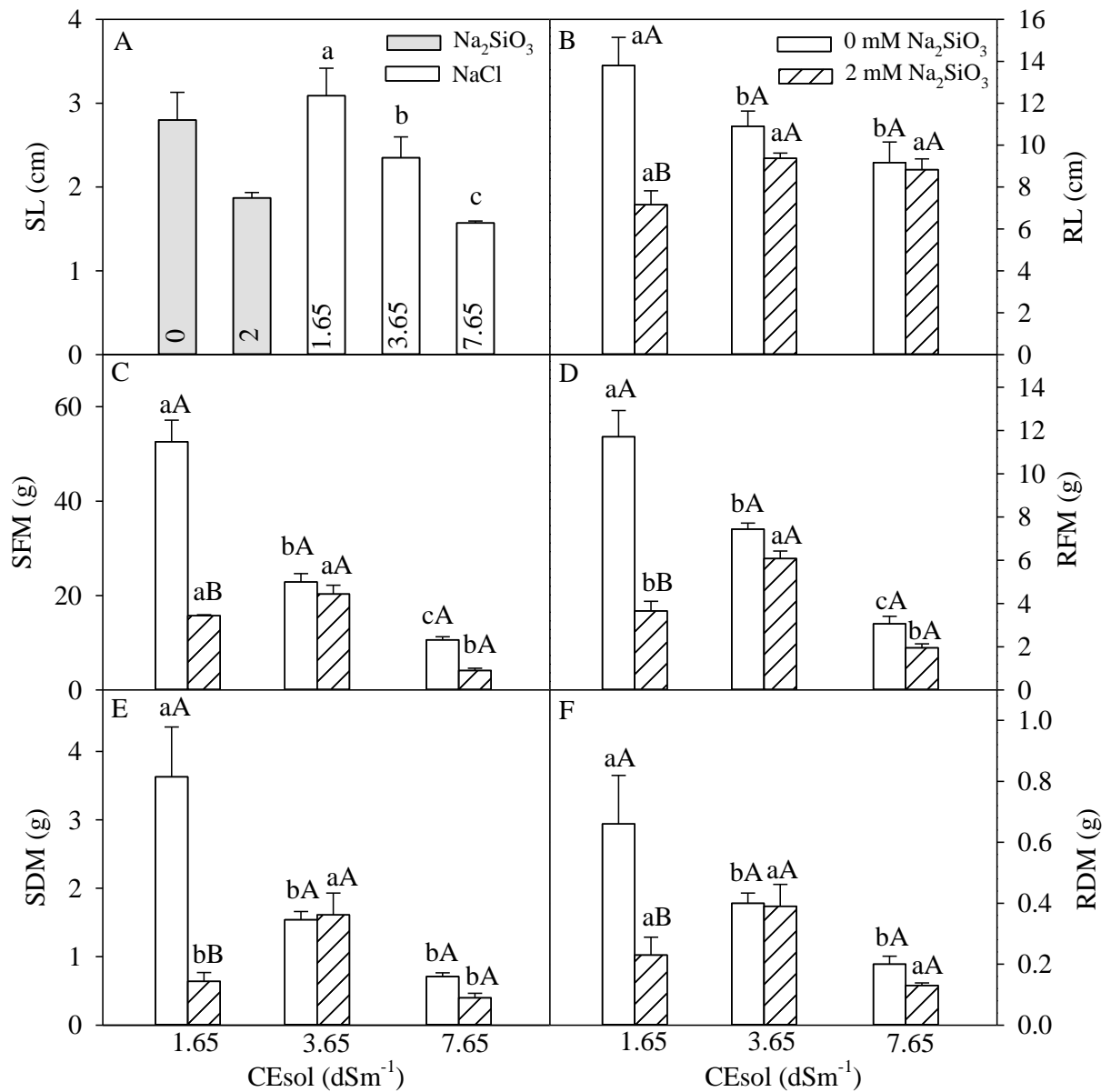
Results

Analysis of plant growth

There was a significant effect ($p \leq 0.05$) of salinity (sodium chloride - NaCl), silicon (sodium silicate - Na_2SiO_3) and interaction for root length (RL), root and shoot fresh mass and root and shoot dry mass (RFM, SFM, RDM, SDM) and leaf area (LA). For shoot length (SL) and number of leaves (NL), there was no interaction effect of the evaluated factors.

Salinity reduced all variables related to plant growth (Figure 10). For SL, when comparing the highest stress level with the control, this reduction was in the order of 49.1% in plant growth (Figure 10 A). The use of silicon (Si) also resulted in lower shoot growth. For shoot fresh and dry mass, this reduction was of 79.80 and 80%, respectively, in comparison to the control (Figures 10 C and E). RL, RFM, RD were all reduced with the increase in NaCl levels, with a more pronounced effect at the highest stress level (Figures 10B, D and F). This fact suggest that silicate fertilization was not effective in mitigating the deleterious effects of salinity on lettuce growth.

Figure 10 - Shoot (SL, A) and root length (RL, B), shoot fresh mass (SFM, C) and root fresh mass (RFM, D), shoot dry mass (SDM, E) and root dry mass (RDM, F) of lettuce plants under salt stress with and without silicon

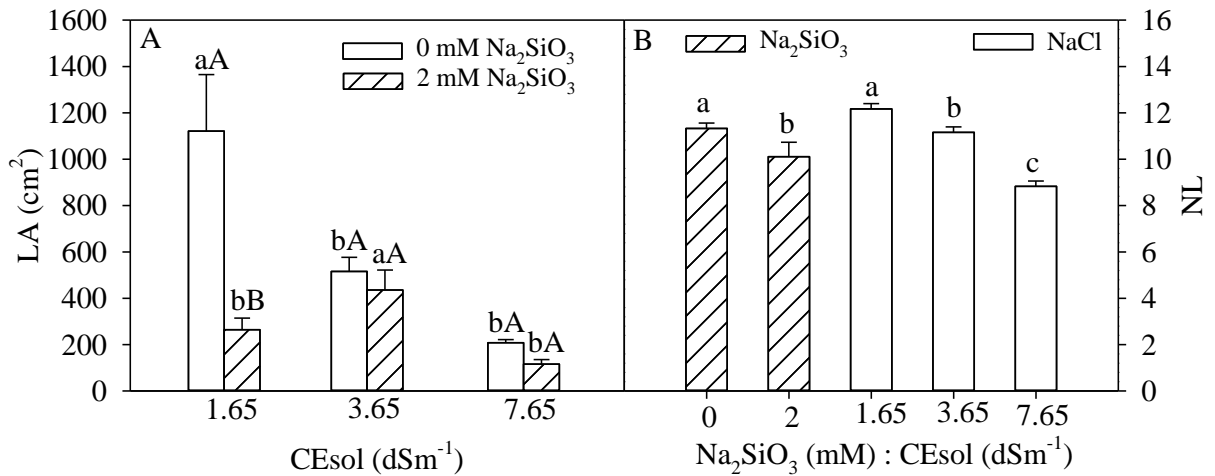


Source: Prepared by the author.

Means followed by different lowercase letters for CEsol levels, or by capital letters different for the presence and absence of Na₂SiO₃, show differences each other them by the Scott-Knott test ($p \leq 0.05$). Bars represent the standard error of the mean.

The production reduction (PR), considering shoot dry mass in relation to the control treatment was 57% for moderate stress (3.65 dS m⁻¹) and 80% for severe stress (7.65 dS m⁻¹). For LA and NL, there was reduction in leaf expansion and leaf emission with salinity increase, being 81.4% and 27.4%, respectively (Figure 11 A and B).

Figure 11 - Leaf area (LA, A) and number of leaves (NL, B) of lettuce plants under salt stress with and without silicon



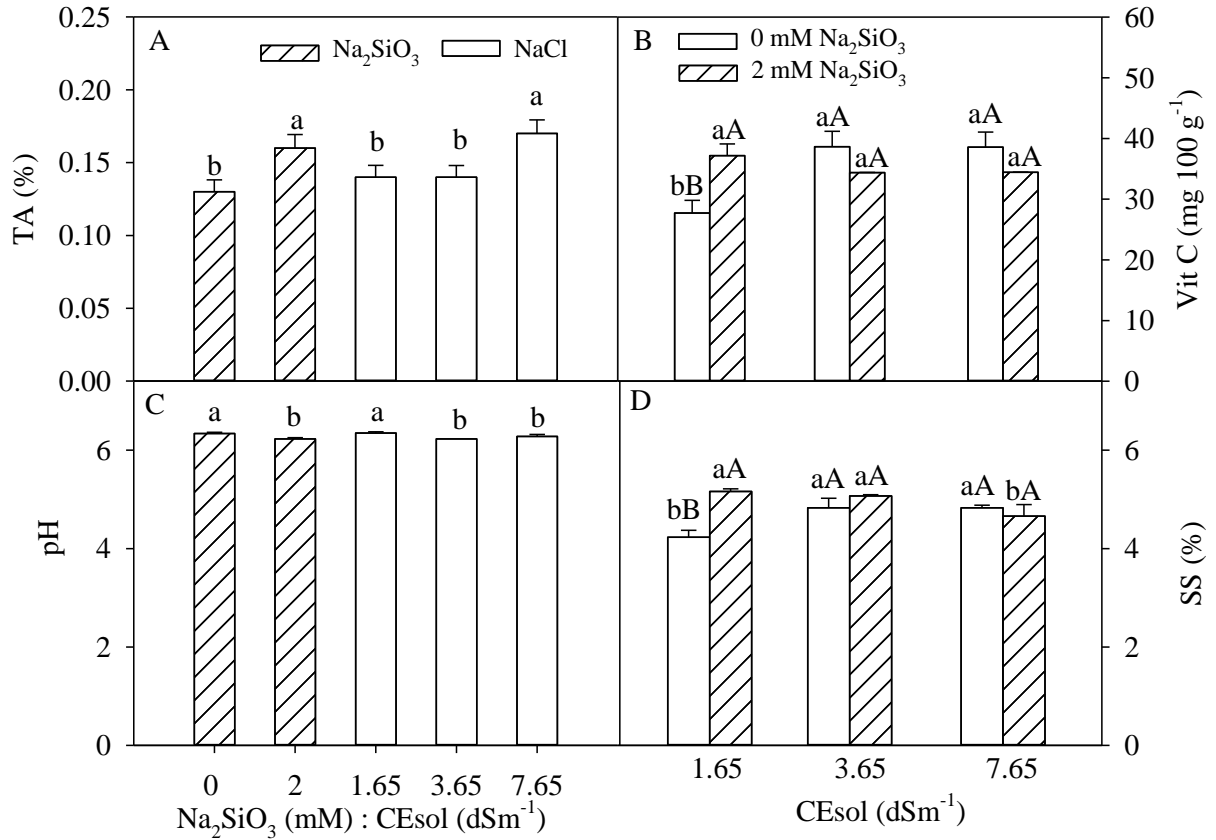
Source: Prepared by the author.

Means followed by different lowercase letters for CEsol levels, or by capital letters different for the presence and absence of Na₂SiO₃, show differences each other them by the Scott-Knott test ($p \leq 0.05$). Bars represent the standard error of the mean.

Post-harvest quality analysis of leaves

There was a significant interaction among the studied factors for vitamin C, soluble solids (SS) and SS/TA ratio. Regarding titratable acidity (TA), there was difference between NaCl and Na₂SiO₃ and for pH, there was no statistical difference. Silicon increased TA by 18.8% and salinity by 21% when compared to control (Figure 12 A). For vitamin C, this increase was 34% with the use of silicon in the absence of stress and 39% for salinity (Figure 12 B) and SS was 22% with silicon (Figure 12 D).

Figure 12 - Titratable acidity (TA, A), vitamin C (Vit C, B), hydrogenation potential (pH, C) and soluble solids (SS, D) of lettuce under salt stress with and without silicon

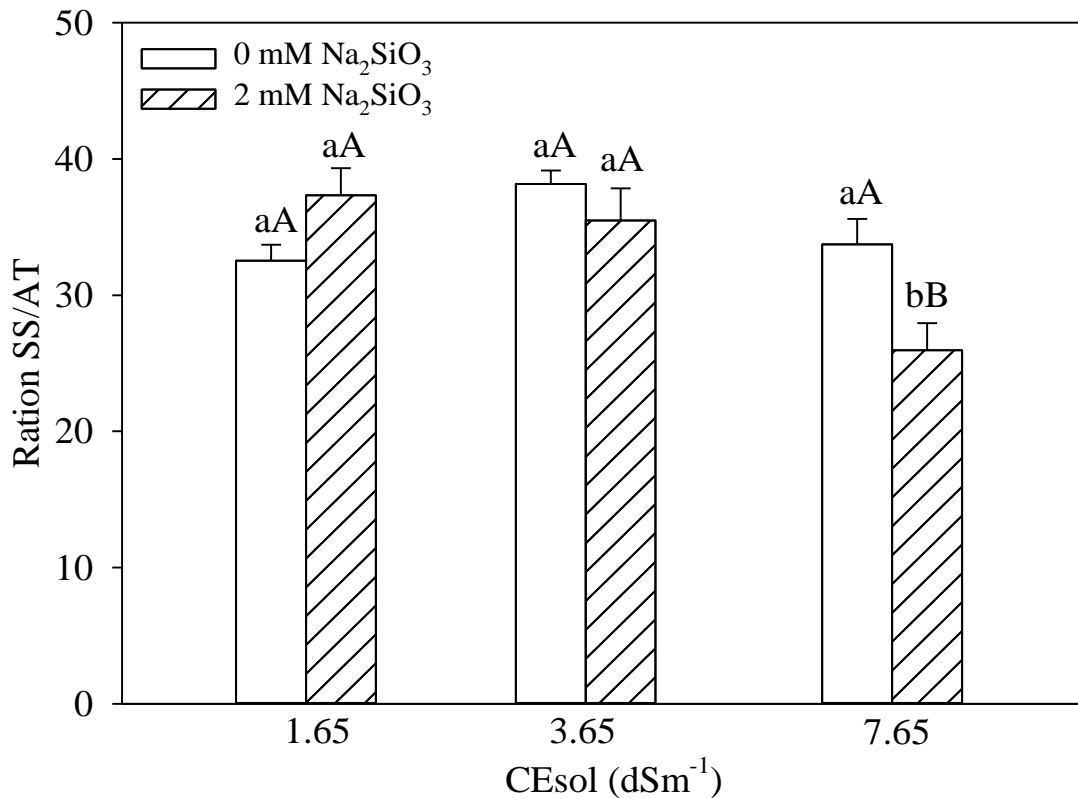


Source: Prepared by the author.

Means followed by different lowercase letters for CEsol levels, or by capital letters different for the presence and absence of Na₂SiO₃, show differences each other them by the Scott-Knott test ($p \leq 0.05$). Bars represent the standard error of the mean.

SS/AT ratio was not affected by salinity. However, in the highest salinity level, silicate fertilization provided a lower mean value for this relation (Figure 13).

Figure 13 - Ration between soluble solids and titratable acidity (SS/AT) of lettuce under salt stress with and without silicon.



Source: Prepared by the author.

Means followed by different lowercase letters for CEsol levels, or by capital letters different for the presence and absence of Na₂SiO₃, show differences each other them by the Scott-Knott test ($p \leq 0.05$). Bars represent the standard error of the mean.

Discussion

Analysis of plant growth

Salinity reduced the main components of lettuce growth as shoot fresh and dry mass (Figure 10 C and E), leaf area (Figure 11 A), etc. In salt of stress conditions, the excess dissolved salts in the external solution of root reduces the osmotic potential of the solution as well as the water. Therefore, water potential of the solution becomes smaller than in the root region; thus, the plant has difficulty absorbing water and begins to suffer from the effects of water stress caused by water deficit (MUNNS; TESTER, 2008; TAIZ *et al.*, 2017).

The first response of the plant to saline stress is generally the reduction of growth rate, as it was observed in this study, in which the increase of salinity caused a reduction in all plant growth parameters (Figure 10). In studies with lettuce cultivated with saline wastewater under hydroponic conditions, it was also observed a reduction in parameters such as NL, LA

and shoot fresh and dry mass, evidencing that lettuce is sensitive to the increase of salinity (DIAS *et al.*, 2011; PAULUS *et al.*, 2012).

The effect of the reduction on LA and NL with salinity occurs because the plant absorbs less water. Thus, less water enters the cell, decreasing the potential of turgescence in the plasma membrane. Subsequently, the cell wall extensibility coefficient is reduced and the limiting pressure is increased, resulting in lower leaf expansion and, consequently, lower leaf area (Figure 11 A) and lower growth rate (TAIZ *et al.*, 2017). Under salt stress, which is usually associated with osmotic stress, plant reduces the expansion and leaf area to decrease the surface of transpiration. With a smaller photosynthetic area, the total photosynthesis of plant tends to decrease and, consequently, causes less accumulation of biomass. Thus, the growth of the plant is lower.

Besides the osmotic effect caused by salt stress, there is also a toxic effect, where high concentrations of ions such as Na^+ and Cl^- in cytosol can cause toxicity to the cells. There is also a nutritional imbalance due to the excess of these ions and, as a result, a deregulation of ionic homeostasis in plants cultivated under salinity conditions is usually observed, resulting in reduced growth and biomass (LIANG *et al.*, 2015; LIU *et al.*, 2015; XIE *et al.*, 2015).

By the yield reduction (YR), using SDM, it can be stated that the cultivar was moderately susceptible to the effects of moderate salt stress (3.65 dS m^{-1}) and susceptible to severe stress (7.65 dS m^{-1}). According to Fageria (1985), when a cultivar is under salinity conditions, there is a reduction in yield of 40 to 60%, which is considered moderately susceptible.

Post-harvest quality analysis of leaves

Salinity increased TA, vitamin C and SS, showing that post-harvest quality of lettuce is influenced by this factor (Figure 12 A, B and D). In other studies, for vitamin C, it was also verified increase of this component as a function of salinity, confirming the significant influence of NaCl on this variable (FREIRE *et al.*, 2009). When lettuce was cultivated in nutritive solution and in conventional cultivation in the soil, an increase of vitamin C was verified in the nutrient solution, showing that it has a higher content in more saline environments (OSHE *et al.*, 2001). Working with lettuce under salt stress, Sarmiento *et al.* (2014) also found an increase in vitamin C and SS content at the highest level of stress.

Salinity produces a secondary stress called oxidative stress, where the production

of excess reactive oxygen species (ROS) occurs, and if the plant does not invest in mechanisms of elimination of these ROS, they can cause damage to the cells. Among the defense mechanisms of the plant against these ROS, there are the enzymatic and non-enzymatic antioxidants, where vitamin C (ascorbic acid) is part of the non-enzymatic and acts both in plants and in animals fighting these ROS. The increase in vitamin C verified in this research and confirmed in other studies with lettuce under salt stress, may be related to the fact that, under these conditions, there is an increase in ROS production, and there is an increase in the levels of vitamin C in plants' tissues as a defense response to combat oxidative stress. There may also be a dilution effect, that is, the osmotic stress caused by salinity reduces water absorption by the plant with a higher concentration of SS (BECKLES, 2012).

Vitamin C was also increased with the presence of silicon. This element is cited in the literature as a beneficial nutrient for crops due to its effects on improving tolerance to abiotic stresses, such as salinity, increasing the activity of antioxidant enzyme system and combating free radicals produced which are excessively produced in stress situations.

Soluble solids increased in response to stress. This is a parameter that represents all soluble compounds in the plant, with total sugars representing approximately 80%. The increase in SS content can be explained by the fact that salinity reduces the cellular turgor, thus concentrating the amount of salts in the vegetal tissues, and with this, increases the soluble solids under these conditions. The increase in SS content can be explained by the fact that salinity reduces the cell turgor, concentrating the amount of salts in vegetal tissues, increasing soluble solids under these conditions (BECKLES, 2012). This effect of SS increase in salinity conditions in irrigation water has already been observed in lettuce cultivars (FREIRE *et al.*, 2009).

Titrate acidity (TA) was also another parameter that increased as a function of salt and silicon stress. This behavior was also observed by Silva *et al.* (2013), who verified an increase in TA contents with the use of Si in strawberry. SS/AT ratio, which expresses a ratio between organic acids and sugars, was also increased with increasing NaCl and Si in the nutrient solution. The increase in this parameter is an interesting response to the post-harvest quality of the crop, since it is related to flavor, and the higher the proportion of sugars over the acids, the more palatable will be the lettuce leaves.

Si provided benefits in some parameters related to post-harvest of lettuce, such as AT, SS and vitamin C, when compared to the control. However, the mechanisms of how Si acts to increase these variables, such as vitamin C, have not been elucidated yet. Another point to be highlighted is that Si did not reduce the deleterious effects of salinity on lettuce

growth.

Conclusion

Salinity reduced plant growth, but improved post-harvest quality of the crop.

Silicon was not effective in mitigating the deleterious effects of salinity on lettuce growth, but provided better results for post-harvest quality parameters.

8 A SUPLEMENTAÇÃO DE SILÍCIO INDUZ ALTERAÇÕES FISIOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS QUE AUXILIAM NA TOLERÂNCIA À SALINIDADE EM ALFACE

Hozano de Souza Lemos Neto^{1*}, Marcelo de Almeida Guimarães¹, Rosilene Oliveira Mesquita¹, Wallace Edelky Sousa Freitas¹, Alexandre Bosco de Oliveira¹, Nildo da Silva Dias², Enéas Gomes-Filho³

¹Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Departamento de Fitotecnia. 60.356-001, Fortaleza, Ceará, Brasil.

²Universidade Federal Rural do Semiárido, Centro de Ciências Agrárias, Departamento de Ciências Agronômicas e Florestais. 59.625-900, Mossoró, RN, Brasil.

³Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências, Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular. 60.440-900, Fortaleza, Ceará, Brasil.

*Autor correspondente: hozanoneto@hotmail.com

RESUMO

O silício (Si) é um elemento benéfico para as plantas, o qual pode conferir tolerância a estresses abióticos para algumas culturas, especialmente as gramíneas. Entretanto, pouco se tem estudado sobre os efeitos do Si sobre os mecanismos fisiológicos, bioquímicos e o balanço nutricional de hortaliças sob condições de salinidade. Objetivou-se com esse trabalho avaliar o papel do silício como atenuador dos efeitos negativos da salinidade nos mecanismos fisiológicos e bioquímicos da alface. Um experimento com a cultura da alface em sistema hidropônico foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado com quatro repetições, em arranjo fatorial 3 x 2. Foram testados três níveis de salinidade (1,65; 3,65; 7,65 dS m⁻¹) na presença e ausência de adubação com Si (0 e 2 mM). Avaliou-se as trocas gasosas, fluorescência da clorofila *a*, pigmentos fotossintéticos, peroxidação de lipídeos, níveis de peróxido de hidrogênio (H₂O₂), mecanismos enzimáticos e não enzimáticos e acúmulo de íons (Na⁺, K⁺, Cl⁻ e Si). As análises dos resultados indicam que a salinidade aumentou a clorofila total e manteve alta a relação Fv/Fm (acima de 0,80). O Si reduziu as trocas gasosas no nível de estresse severo. As enzimas peroxidases do ascorbato (APX) e do guaiacol (GPX) tiveram sua atividade aumentada em função do estresse salino, o que resultou em menor teor de H₂O₂ e peroxidação lipídica. O Si induziu a redução da atividade das enzimas antioxidantes no estresse severo. O ascorbato reduzido (AsA) aumentou e o oxidado (DHA) diminuiu com o estresse e, quando se aplicou o Si, o DHA aumentou. O teor de glutatona diminuiu com o estresse salino e aumentou com o uso do Si no estresse moderado. Os íons Na⁺ e Cl⁻

aumentaram com a salinidade, enquanto K^+ e a relação K^+/Na^+ foi reduzida. O teor de Si na planta aumentou nos tratamentos que se aplicou o silicato de sódio. As alterações fisiológicas e bioquímicas observadas não se refletiram em maior incremento na matéria seca. É provável que o limitado acúmulo de silício nos tecidos da alface não tenha sido suficiente para induzir respostas fisiológicas que propiciem uma maior produção sob condições de salinidade.

Palavras-chave: *Lactuca sativa* L. Efeito osmótico. NaCl. Silicato de sódio. Trocas gasosas. Enzimas antioxidantes. Espécies reativas de oxigênio.

ABSTRACT

Silicon (Si) is beneficial for plants and can confer tolerance to abiotic stresses for some crops, especially at grasses. However, little has been studied about the effects of Si on the physiological, biochemical and nutritional balance of vegetables under salinity conditions. The objective of this work was to evaluate the role of silicon as attenuator of the negative effects of salinity on the physiological and biochemical mechanisms of lettuce. An experiment with lettuce in a hydroponic system was conducted in a completely randomized design with four replicates, in a 3 x 2 factorial arrangement. Three levels of salinity (1.65, 3.65, 7.65 dS m⁻¹) in the presence and absence of Si fertilization (0 and 2 mM). Gas exchange, chlorophyll 'a' fluorescence, photosynthetic pigments, lipid peroxidation, hydrogen peroxide levels (H₂O₂), enzymatic and non-enzymatic mechanisms and accumulation of ions (Na⁺, K⁺, Cl⁻ and Si) were evaluated. Analysis of the results indicated that salinity increased total chlorophyll and maintained a high Fv/Fm ratio (above 0.80). Si reduced gas exchange at severe stress level. The ascorbate peroxidase enzymes (APX) and guaiacol (GPX) had their activity increased due to salt stress, which resulted in a lower content of H₂O₂ and lipid peroxidation. Si induced the reduction of antioxidant enzymes activity in severe stress. Reduced ascorbate (AsA) increased and the oxidized (DHA) decreased with stress, and when Si was applied, DHA increased. Glutathione content decreased with salt stress and increased with the use of Si in moderate stress. Na⁺ and Cl⁻ ions increased with the salinity, while K⁺ and the K⁺/Na⁺ ratio decreased. The Si content in the plant increased in the treatments that were applied the sodium silicate. The observed physiological and biochemical changes did not reflect in a greater increase in dry matter. It is likely that the limited accumulation of silicon in lettuce tissues has not been sufficient to induce physiological responses that lead to increased production under salinity conditions.

Keywords *Lactuca sativa* L. Osmotic effect. NaCl. Sodium silicate. Gas exchange, Antioxidant enzymes.

Introdução

Estima-se que 20% das terras cultivadas no mundo e 33% das áreas irrigadas têm problema de salinidade (SHAHBAZ; ASHRAF, 2013; SHRIVASTAVA; KUMAR, 2015), este cenário torna-se preocupante, uma vez que as intensificações das atividades antrópicas

tendem a aumentar essa condição. A salinidade reduz o crescimento e a produtividade das culturas, devido aos efeitos osmóticos e iônicos, o que causa a redução na absorção de água pelas plantas, além de ocasionar a toxidez por conta do acúmulo em excesso de íons como Na^+ e Cl^- na parte aérea (MUNNS; TESTER, 2008; ASHRAF, 2009; OLIVEIRA *et al.*, 2013).

Além disso, de forma secundária, a salinidade desencadeia o estresse oxidativo, que ocorre pela produção de espécies reativas de oxigênio (EROs), como radicais superóxido ($^{\circ}\text{O}_2^-$), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e radical hidroxil ($^{\circ}\text{OH}$), às quais em excesso são reativas e tóxicas para as células, causando um desequilíbrio no seu estado redox (GILL *et al.*, 2013). Essas EROs também oxidam biomoléculas como proteínas, ácidos nucleicos, inibem a atividade enzimática e causam a peroxidação de lipídeos (MØLLER; JENSEN; HANSSON, 2007; AHMED; UMAR, 2011; PRISCO *et al.*, 2016).

O estresse salino também atua na fisiologia da planta reduzindo a taxa fotossintética de várias maneiras, incluindo redução do suprimento de CO_2 , à medida que o estômato se fecha. Posteriormente, a salinidade afeta a fotossíntese por limitações não estomáticas, que incluem redução no teor de clorofila total, transporte de elétrons no cloroplasto e, por conseguinte, decréscimo na eficiência da maquinaria fotossintética. Além disso, reduz a permeabilidade das membranas celulares ao CO_2 , aumenta a senescência e altera a atividade enzimática (KAFI; RAHIMI, 2011; ARAGÃO *et al.*, 2012; YAN *et al.*, 2012).

Para amenizar esses efeitos deletérios do estresse salino, as plantas aumentam a síntese de antioxidantes enzimático (catalase, dismutase do superóxido, peroxidases do ascorbato e do guaiacol) e não enzimático (carotenóides, ascorbato e glutatona) (ASHRAF, 2009; PRISCO *et al.*, 2016).

Atualmente o uso de estratégias que facilitem a aclimação das espécies vegetais ao estresse salino têm sido muito estudadas. Uma dessas estratégias é a suplementação de silício (Si) ao meio de crescimento das plantas, que tem contribuído para mitigar os efeitos da salinidade em várias espécies de plantas. Nesse sentido, alguns estudos que utilizaram o Si em condições de salinidade demonstraram efeitos positivos em tomate (AL-AGHABARY; ZHU; SHI, 2004; LI *et al.*, 2015), trigo (TUNA *et al.*, 2008), cajueiro (MIRANDA *et al.*, 2010), arroz (KRASKA; BREITENBECK, 2010), milho (PARVEEN; ASHRAF, 2010; LIMA *et al.*, 2011).

Apesar dos benefícios citados a partir da utilização do Si para algumas espécies de plantas cultivadas sob salinidade, a maior parte são com gramíneas. Entretanto, esses benefícios ainda não estão bem compreendidos no que diz respeito aos mecanismos

fisiológicos e bioquímicos. Para hortaliças, como a alface, esses mecanismos ainda não estão bem elucidados, havendo a necessidade de estudos para esclarecer os principais mecanismos envolvidos na resposta dessas plantas, tais como os mecanismos fotossintéticos, enzimáticos e não enzimáticos envolvidos com a tolerância à salinidade nessas condições.

Dessa forma, ampliar os estudos acerca do crescimento da alface em condições de salinidade, bem como avaliar o Si como atenuador dos efeitos negativos na fisiologia e bioquímica é de suma importância. Assim, objetivou-se com este trabalho avaliar o papel do silício como atenuador dos efeitos negativos da salinidade nos mecanismos fisiológicos e bioquímicos da alface.

Material e Métodos

Localização e caracterização da área experimental

A pesquisa foi conduzida no período de outubro a novembro de 2016, em condições de ambiente protegido do Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal do Ceará, Campus Prisco Bezerra (Pici), em Fortaleza (3° 44'S, 38° 33'O e altitude média de 14 m). O clima do local é do tipo 'As', ou seja, tropical com estação seca (ALVARES *et al.*, 2013). A precipitação média anual é de 1.488 mm, com médias de temperaturas mínimas e máximas de 23 °C e 30 ± 2 °C, respectivamente e umidade relativa do ar de 78,8%.

O ambiente protegido era do tipo viveiro telado coberto com uma malha preta a 30%, com as seguintes dimensões: altura do pé direito de 1,8 m, comprimento e a largura de 8,0 m cada. As médias de temperaturas e umidade relativa do ar máximas e mínimas dentro do ambiente de cultivo foram de 36,4 °C, 25,4 °C, 78,3% e 25%, respectivamente.

Tratamentos e delineamento experimental

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado utilizando um fatorial 3 x 2 (níveis de salinidade da solução x doses de silício), com quatro repetições de duas plantas cada. Os níveis de salinidade 1,65 (controle, CE da solução nutritiva), 3,65 (estresse moderado) e 7,65 dS m⁻¹ (estresse severo) foram combinados com a suplementação ou não de silício na solução nutritiva (0 e 2 mM).

Material vegetal e condições de cultivo

As mudas de alface (cultivar Lucy Brown), do tipo americana foram produzidas em espuma fenólica, transplantadas para o *berçário* aos dez dias após a semeadura (DAS). Na fase de *berçário*, as plântulas foram crescidas em bandejas de polietileno contendo 7,0 L de solução nutritiva de Furlani (1998) a 50% da força iônica, durante sete dias. A posteriori, foram transplantadas para vasos de 5,0 L com a solução nutritiva a 100% da força iônica. As plantas foram nutridas com solução nutritiva de diferentes CE (1,65; 3,65; 7,65 dS m⁻¹) como e sem suplementação de silício (0 e 2 mM de Na₂SiO₃). As diferentes CEs foram obtidas adicionando NaCl a solução nutritiva e depois ajustando-se os valores com o auxílio de um condutivímetro.

A solução nutritiva foi preparada com água potável oriunda da Companhia de Água e Esgoto do Ceará (Cagece), com as seguintes características físico-químicas: pH = 7,0; CE = 0,46 dS m⁻¹, Ca²⁺, Mg²⁺, K⁺, Na⁺, Cl⁻ e HCO₃⁻ iguais a 0,40; 2,30; 0,80; 1,10; 3,20; 1,40 mmol_c L⁻¹, respectivamente.

Utilizou-se o sistema Deep film technique (DFT), conhecido como *floating*, o qual foi montado em uma bancada de madeira com 0,8 m de altura, 1,5 m de largura e 3,0 m de comprimento. Para aeração da solução nutritiva, foram usados compressores de ar do tipo Chang 9000, 220 v. A reposição da água evapotranspirada foi feita diariamente até 5,0 L, bem como o ajuste de pH da solução nutritiva entre 5,5 a 6,5 com ácido cítrico (C₆H₈O₇) ou de hidróxido de sódio (NaOH). A solução nutritiva era renovada a cada cinco dias. Aos 40 dias após a semeadura, foram realizadas as seguintes análises:

Trocas gasosas e fluorescência da clorofila 'a'

As avaliações de trocas gasosas foram realizadas no terceiro par de folhas totalmente expandidas a partir do ápice, utilizando o IRGA (Infra Red Gas Analyzer) modelo, LI-6400XT, LI-COR, USA. Foram mensurados a fotossíntese líquida (A - $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$), condutância estomática (g_s - $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$); transpiração (E - $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) e concentração de CO₂ na câmara subestomática (C_i - $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$). De posse desses valores, foi determinada a eficiência instantânea de carboxilação (A/C_i), pelo quociente entre A e C_i e a razão entre a concentração de CO₂ na câmara subestomática e a concentração de CO₂ do ambiente (C_i/C_a). Essas avaliações foram realizadas, entre 08:00 e 11:00 h, em ambiente protegido, com radiação fotossinteticamente ativa (PAR) constante (1.000 μmol

fótons $m^{-2}s^{-1}$).

As medições de fluorescência da clorofila 'a' foram determinadas nas mesmas folhas que foram medidas as trocas gasosas, com o auxílio de um fluorômetro portátil (6400-40, LI-COR, USA) acoplado ao IRGA, aclimatadas ao escuro (com papel alumínio) por 30 min. Foram determinados: 1) eficiência máxima do PSII [$F_v/F_m = (F_v/F_m)$], 2) rendimento quântico máximo efetivo do PSII [$\Phi_{PSII} = (F_m' - F_s)/F_m'$], 3) taxa aparente de transporte de elétrons [$ETR = (\Phi_{PSII} \times PPFD \times 0,5 \times 0,87)$], 4) *quenching* não fotoquímico variável (qN) = $[(F_m - F'm) - (F_m - F_o')]$, 5) *quenching* fotoquímico variável [qP = $(F_m' - F_s)/(F_m' - F_o')$] e 6) *quenching* não fotoquímico [NPQ = $(F_m - F_m')/F_m'$].

Pigmentos fotossintéticos

O teor da clorofila 'a' (Clf a), clorofila 'b' (Clf b), clorofila total (Clf total) e dos carotenoides foram determinados através do método descrito por Wellburn (1994). Três discos foliares com 1,0 cm de diâmetro foram retirados do mesmo par de folhas cujas trocas gasosas foram medidas, sendo colocados em tubos de ensaio contendo 2,0 mL de dimetilsulfóxido (DMSO), saturado com carbonato de cálcio ($CaCO_3$). Os tubos foram previamente revestidos com papel aluminizado e permaneceram no escuro durante toda a análise. Foram incubados a 65 °C, em banho-maria, por 35 min e após terem atingindo a temperatura ambiente, os discos foliares foram reservados e o extrato contendo os pigmentos foram utilizados para a determinação das absorvâncias a 665, 649 e 480 nm. Por fim, os discos foliares foram lavados, para a retirada do excesso de solução e secos a 65 °C por 48 h, em estufa de circulação forçada de ar, para a obtenção de sua massa seca (MS).

Os teores de clorofila a (Clf a), clorofila b (Clf b), clorofila total (Clf total) e carotenoides foram calculados com base nas seguintes equações: Clf a = $(12,47 \times A_{665}) - (3,62 \times A_{649})$; Clf b = $(25,06 \times A_{649}) - (6,5 \times A_{665})$; Clf total = $(7,15 \times A_{665}) + (18,71 \times A_{649})$; Carotenoides = $(1000 \times A_{480} - 1,29 \times Ca - 53,78 \times Cb)/220$; em que: A representa a absorvância em um respectivo comprimento de onda, sendo expressos em $mg\ g^{-1}$ de MS.

Atividade das enzimas antioxidantes

O extrato para determinação da atividade enzimática da SOD, CAT, GPX e APX foi obtido a partir da maceração de 1,0 g da folha fresca em almofariz, com 10,0 mL da solução-tampão fosfato de potássio a 100 mM, pH 7,0, contendo EDTA a 0,1 mM. O

macerado foi filtrado em tecido de náilon de malha fina e centrifugado a $12.000 \times g$, por 15 min. Todos os procedimentos foram realizados a $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ e o sobrenadante (extrato) foi coletado e utilizado para as análises.

A atividade da superóxido dismutase (SOD; 1.15.1.1) foi determinada de acordo com o método de Beauchamp e Fridovich (1971), onde uma alíquota de $50\text{ }\mu\text{L}$ do extrato diluído, foi adicionado a $1450\text{ }\mu\text{L}$ da mistura da reação formada por metionina a $19,5\text{ mM}$, azul de p-nitrobluetetrazólio (NBT) a $750\text{ }\mu\text{M}$, EDTA a $0,1\text{ mM}$ e riboflavina a $10\text{ }\mu\text{M}$, todos em solução tampão de fosfato de potássio a 50 mM e pH 7,8. As amostras nos tubos revestidos com papel alumínio foram colocadas em uma câmara iluminada por lâmpadas fluorescentes a 20 W durante 15 min (GIANNOPOLITIS; RIES, 1975). Em seguida, determinou-se em espectrofotômetro a absorvância a 560 nm e os resultados foram expressos em $\text{UA mg}^{-1}\text{ proteína}$.

A Catalase (CAT; EC 1.11.1.6) foi determinada de acordo com a metodologia de Havir e McHale (1987), onde foi adicionado $150\text{ }\mu\text{L}$ do extrato a um meio contendo $790\text{ }\mu\text{L}$ de uma solução tampão-fosfato de potássio a 100 mM , em pH 7,0, contendo EDTA a $0,1\text{ mM}$ e $60\text{ }\mu\text{L}$ de H_2O_2 a $0,5\text{ M}$. A atividade foi determinada em espectrofotômetro (240 nm) pelo monitoramento da variação da absorção do peróxido de hidrogênio. Os resultados foram expressos em $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2\text{ min}^{-1}\text{ mg}^{-1}\text{ proteína}$, usando como base o coeficiente de extinção molar do H_2O_2 ($\epsilon = 36\text{ M}^{-1}\text{ cm}^{-1}$).

A Peroxidase do Guaiacol (GPX; EC 1.11.1.7) foi determinada de acordo com o método de Kar e Mishra (1976), onde $50\text{ }\mu\text{L}$ do extrato diluído foi adicionado a uma mistura de $950\text{ }\mu\text{L}$ de solução-tampão fosfato de potássio a 100 mM , pH 7,0 contendo EDTA a $0,1\text{ mM}$, $500\text{ }\mu\text{L}$ de guaiacol a 20 mM e $500\text{ }\mu\text{L}$ de H_2O_2 a 60 mM . Foi determinada em absorvância de 470 nm e os resultados expressos em $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2\text{ min}^{-1}\text{ mg}^{-1}\text{ proteína}$.

A Peroxidase do ascorbato (APX; EC 1.11.1.11) foi determinada de acordo com Nakano e Asada (1981), no qual foi adicionado $300\text{ }\mu\text{L}$ do extrato enzimático, com uma mistura de $50\text{ }\mu\text{L}$ de ascorbato 15 mM e $50\text{ }\mu\text{L}$ de H_2O_2 a 30 mM , em $1.100\text{ }\mu\text{L}$ de solução tampão de fosfato de potássio a 50 mM , pH 6,0, contendo EDTA a $0,05\text{ mM}$. Foi feita a leitura a 290 nm . Os resultados foram expressos em $\text{min}^{-1}\text{ mg}^{-1}\text{ proteína}$, usando o coeficiente molar do ascorbato ($\epsilon = 0,0028\text{ M}^{-1}\text{ cm}^{-1}$).

Antioxidantes não-enzimáticos: Ascorbato e Glutationa

O extrato para determinação do ascorbato foi obtido pela maceração de 250 mg do tecido fresco em 3,0 mL de ácido tricloroacético (TCA) a 5%. Em seguida, as amostras foram centrifugadas a 12.000 x g, por 20 min, a 4 °C, e o sobrenadante coletado para ser utilizado nas análises. Para a glutatona foi utilizado o mesmo extrato da atividade enzimática.

A determinação do ascorbato reduzido (AsA) foi feita por meio da reação composta de 300 µL do extrato; 100 µL de tampão fosfato de potássio a 150 mM, pH 7,4; 200 µL de água destilada; 400 µL de TCA a 10%; 400 µL de H₂PO₄ a 44%; 400 µL de bipyridil a 4%, dissolvido em etanol a 70% e 200 µL de FeCl₃ a 3%. Após uma rápida agitação, os tubos de ensaio contendo a mistura da reação foram incubados em banho-maria a 42 °C, por 40 min. Decorrido esse tempo, interrompeu-se a reação em banho de gelo.

O teores de ascorbato reduzido (AsA) e ascorbato total [AsA + DHA] foram determinados de acordo com Law, Charles e Halliwell (1983). Sendo estimado pela redução do Fe³⁺ a Fe²⁺ pelo ascorbato, em meio ácido, e da consequente formação de um complexo entre o Fe²⁺ e o bipyridil, resultando em uma coloração rósea, que absorve luz no comprimento de 525 nm.

O ascorbato total foi determinado após a redução do DHA pelo ditioneitol (DTT), seguindo o mesmo procedimento para determinação do AsA. O meio de reação continha 300 µL de extrato, 100 µL de tampão fosfato de potássio a 150 mM, pH 7,4, 100 µL de DTT a 10 mM mantidos, inicialmente, em banho-maria a 42 °C por 15 min. Em seguida, adicionou-se 100 µL de N-etilmaleiamida (NEM) a 90,5% e aguardamos o tempo de 2 min para então acrescentar os demais reagentes: 400 µL de TCA a 10%, 400 µL de H₂PO₄ a 44%, 400 µL de bipyridil a 4%, em etanol a 70% e 200 µL de FeCl₃ a 3%. A cada novo componente adicionado houve uma agitação vigorosa. Após a adição de todos os integrantes da mistura, os tubos de ensaio foram incubados em banho-maria a 42 °C, por 40 min, os quais tiveram sua reação interrompida, posteriormente, por resfriamento em banho de gelo.

Nas duas determinações, usamos como padrão uma curva obtida a partir de soluções com concentrações crescentes de ácido ascórbico (LAW; CHARLES; HALLIWEL, 1983). O DHA foi determinado através da subtração dos valores do ascorbato total e AsA. Os extratos foram dosados em duplicata e os dados foram expressos em µmol g⁻¹ MF. O *status* redox do ascorbato foi calculado pela razão entre o AsA e o ascorbato total [AsA/

(AsA+ DHA)].

Para determinar o teor de glutathiona reduzida (GSH) o meio da reação foi composto de 100 μL de extrato, 700 μL de tampão fosfato de sódio a 150 mM, pH 7,4, 100 μL de 5,5 ditiobis-(2-ácido nitrobenzólico) (DTNB) a 6 mM. A mistura final foi agitada e mantida em banho-maria a 30 °C por 15 min. Passado esse tempo, a reação foi interrompida por resfriamento em banho de gelo.

Para determinação do conteúdo de glutathiona total [GSH + glutathiona oxidada (GSSG)], a oxidada foi reduzida a GSH pela ação da enzima redutase da glutathiona (GR). Tal reação foi constituída por 100 μL de extrato, 300 μL de tampão fosfato de sódio a 150 mM, pH 7,4, 500 μL de uma unidade da enzima GR (estoque: 3 mg mL⁻¹ e 147 UA mL⁻¹), 500 μL de NADPH a 0,3 mM e 100 μL DTNB a 6 mM, ambos dissolvidos em tampão. Os tubos de ensaio, contendo a mistura de reação, foram agitados e deixados em banho-maria a 30 °C, por 15 min, os quais tiveram sua reação interrompida por resfriamento em banho de gelo.

Os teores de GSH e glutathiona total foram determinados através de leituras de absorvância em 412 nm, que são resultantes da reação do DTNB com GSH, empregando-se o coeficiente de extinção molar do ácido nitrobenzólico produzido na reação ($\epsilon = 0,1415 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$), conforme Griffith (1980).

Os teores de GSSG foram determinados através da diferença entre os valores de glutathiona total e GSH. Os resultados foram expressos em $\mu\text{mol g}^{-1} \text{ MF}$. O *status* redox da glutathiona foi estabelecido através da razão entre a GSH e a glutathiona total [GSH+ (GSH + GSSG)].

Peroxidação de lipídeos e teor de peróxido de hidrogênio (H₂O₂)

Para determinação da peroxidação de lipídeos, utilizamos o mesmo extrato da atividade enzimática. Foi determinado baseado no teste para substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS, do inglês *Thiobarbituric Acid Reactive Substances*), conforme Heath e Packer (1968). A reação ocorreu a partir da adição de 0,5 mL do extrato a 0,5 mL de uma solução de ácido tiobarbitúrico a 0,5%, preparada em TCA a 20%. A mistura foi incubada em banho-maria a 95 °C, por 20 min, e, após esse tempo, a reação foi interrompida por meio de resfriamento dos tubos em banho de gelo. Os teores de TBARS foram estimados após a subtração entre leituras de absorvância em 532 nm e 600 nm e utilizando seu coeficiente de extinção molar ($\epsilon = 0,155 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$).

Para determinação dos teores de H_2O_2 , o mesmo extrato preparado para determinação do ascorbato foi utilizado. Os teores de H_2O_2 foram determinados conforme Gay, Collins e Gebicki (1999), com algumas modificações. Utilizamos 500 μ L do extrato, adicionados a 500 μ L de tampão fosfato. Após isto, foram adicionados 2,0 ml de iodeto de potássio. As amostras foram incubadas ao abrigo da luz por 20 min à temperatura ambiente (25 °C), sendo, em seguida, realizadas leituras de absorvância em 560 nm. O teor de H_2O_2 foi calculado a partir de uma curva padrão com concentrações crescentes de H_2O_2 e os resultados foram expressos em μ mol g^{-1} MF.

Conteúdo de sódio (Na^+), potássio (K^+), cloreto (Cl^-) e silício (Si) no tecido vegetal

Os íons inorgânicos foram determinados a partir de 20 mg do tecido vegetal fresco, pulverizado com nitrogênio líquido e macerado a 25 °C, com água deionizada. Estas amostras, foram centrifugadas a 5.000 x g, por 15 min, e filtrado o sobrenadante em papel filtro. O Na^+ e o K^+ foram determinados através de fotometria de chama (MALAVOLTA; VITTI; OLIVEIRA, 1989). Já para o Cl^- , foi usado 25 μ L do extrato diluído em 2,0 mL de água deionizada, adicionado 167 μ L de tiocianato de mercúrio a 13,2 mM, em etanol absoluto, e nitrato férrico a 20,2% em água deionizada (4:1). Após a agitação, os tubos permaneceram em repouso por 15 min, sendo as concentrações de cloreto estimadas através das leituras da absorvância a 460 nm, foi utilizado NaCl como padrão (GAINES; PARKER; GASCHO, 1984).

O silício (Si) foi determinado conforme a metodologia proposta por Elliott e Snyder (1991) modificada por Korndörfer e Nolla (2004). Para isso, foi utilizado 0,1 g do material triturado, adicionando-se 2,0 mL de peróxido de hidrogênio p.a. e 3,0 mL de hidróxido de sódio em tubos de polipropileno de 50 mL. Estes tubos foram mantidos em banho-maria por uma hora a 85 °C, controlando a espuma com agitação no Vórtex. Após esse processo, foi levado para autoclave por uma hora a temperatura de 123 °C e pressão de 1,5 atm, onde foi resfriado, adicionando-se 45 mL de água destilada. Transcorrido 12 horas de repouso, retirou-se 2,0 mL do sobrenadante, transferindo para copos plásticos de 50 mL, seguido da adição de 18 mL de água destilada, 2,0 mL de ácido clorídrico e 2,0 mL de molibdato de amônio, com posterior agitação, e a formação da cor amarela. Por fim, adicionou-se 2,0 mL de ácido oxálico, sendo que após 2,0 min, foi realizada a leitura em espectrofotômetro a 410 nm.

Análise estatística

Os dados obtidos foram submetidos ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk e, em seguida, realizou-se à análise de variância (teste F de Snedecor; $p \leq 0,05$) e as médias, comparadas pelo teste de Scott-Knott ($p \leq 0,05$). A análise estatística dos dados foi realizada por meio do *software* estatístico SISVAR[®] versão 5.6 (FERREIRA, 2011).

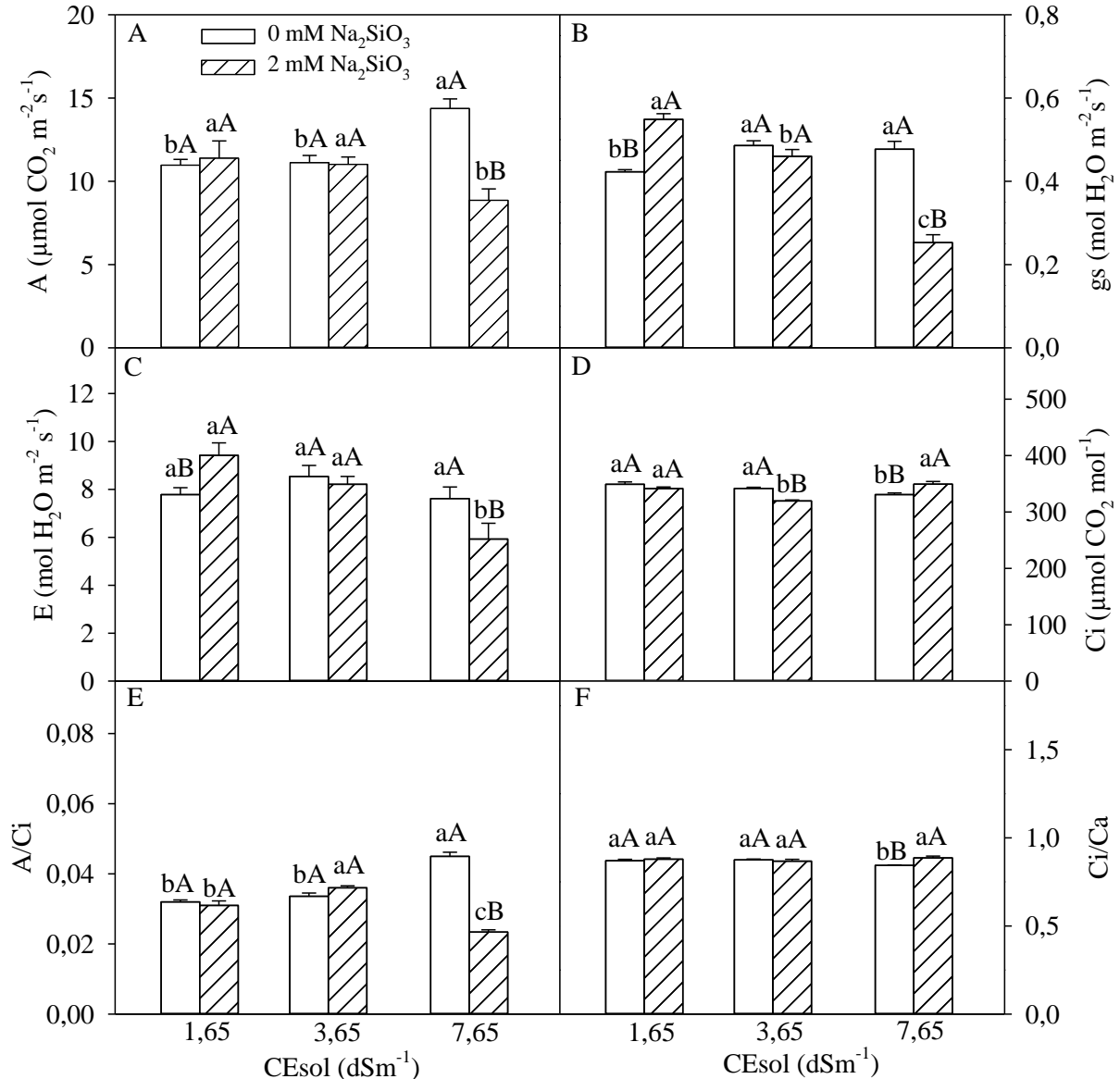
Resultados

O Si atenua os efeitos deletérios do estresse severo na etapa fotoquímica através da maior eficiência de dissipação não fotoquímica

De acordo com a ANOVA, houve interação entre os fatores níveis de salinidade e silício (Si) para as variáveis de trocas gasosas na cultura da alface. Para fotossíntese líquida (A) não foi verificada diferença entre o controle e o nível moderado de estresse salino, tanto na presença como na ausência de Si (Figura 14 A). Entretanto, sob estresse severo houve um aumento na A em relação ao controle e ao estresse moderado. A presença do Si no estresse moderado não resultou em diferença significativa em relação ao controle, mas no estresse severo o Si reduziu a A (Figura 14 B, E). A eficiência instantânea de carboxilação (A/C_i) apresentou o mesmo comportamento da A , tendo uma redução de 48% no estresse severo com a presença do Si (Figura 14 E).

A g_s aumentou nos tratamentos salinos em comparação ao controle, enquanto que para transpiração (E) não houve diferença (Figura 14 B, C). A presença do Si só aumentou à g_s e E na ausência do estresse, pois no estresse moderado a utilização deste elemento não resultou em diferenças e, no estresse severo reduziu g_s e E em 46,96% e 18,75%, respectivamente. Já a concentração interna de CO_2 (C_i) e razão entre a interna e a ambiente (C_i/C_a) permaneceram altas, tanto nos tratamentos com presença do Si, quanto na ausência deste elemento (Figura 14 D, F).

Figura 14 - Respostas de trocas gasosas e incremento de matéria seca na parte aérea em alface sob condições de diferentes níveis de salinidade e silício. A: Fotossíntese líquida (A), B: condutância estomática (gs), C: transpiração (E), D: concentração interna de CO₂ (Ci), E: eficiência instantânea de carboxilação (A/Ci) e F: razão entre a concentração de CO₂ interna e a ambiente (Ci/Ca)



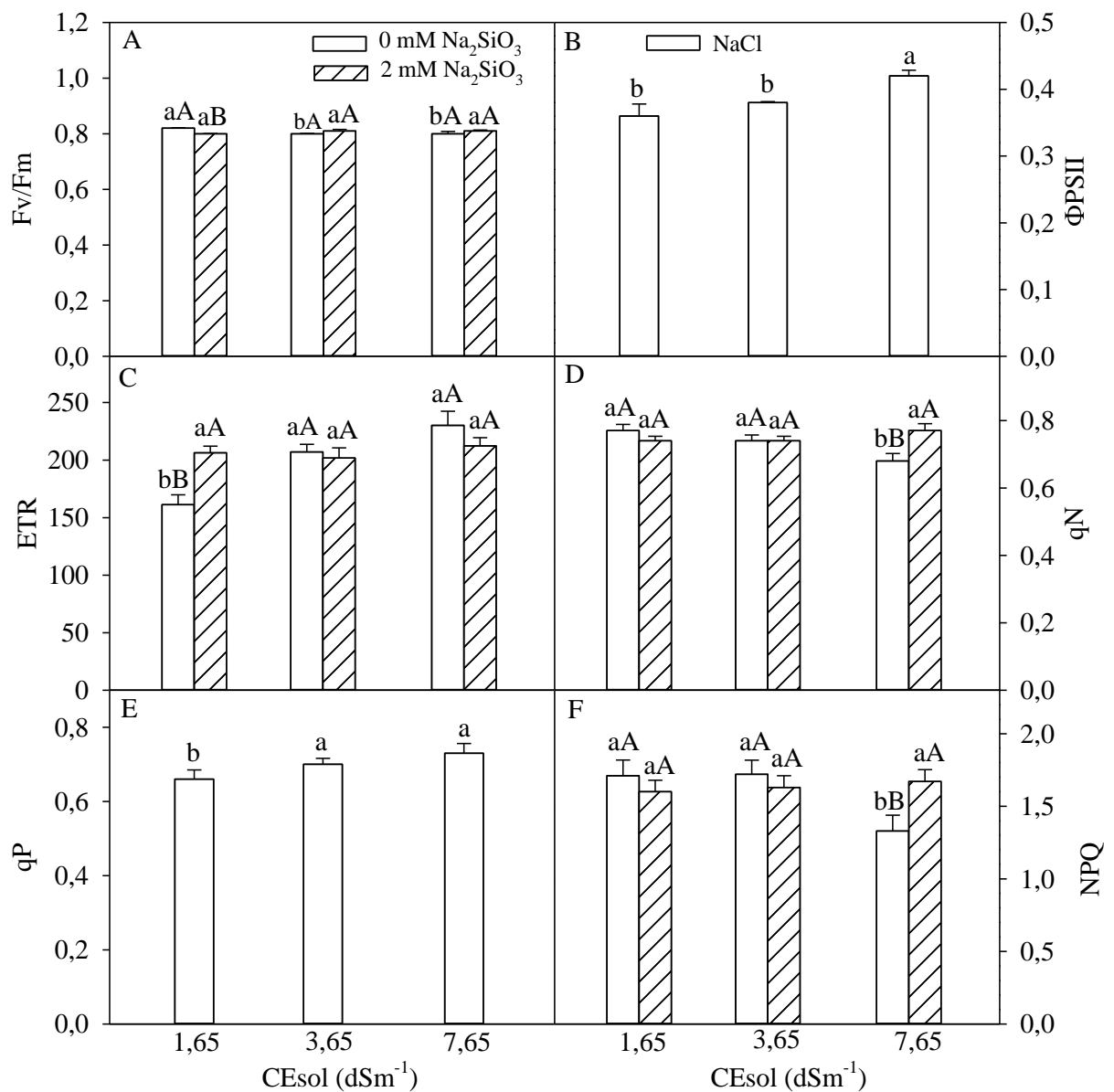
Fonte: Elaborada pelo autor.

Médias seguidas por letras minúsculas diferentes para os níveis de CEsol, ou por letras maiúsculas diferentes para a presença e ausência de Na₂SiO₃, evidenciam diferenças entre si pelo teste de Scott-Knott ($p \leq 0,05$). As barras representam o erro padrão da média.

Analisando os dados de fluorescência da clorofila 'a', pode-se verificar que apenas para o rendimento quântico efetivo do PSII (Φ PSII) e *quenching* fotoquímico variável (qP) não houve interação, tendo efeito significativo apenas para o fator salinidade. O estresse salino não provocou danos no fotossistema II (PSII), pois a relação Fv/Fm se manteve acima de 0,80 em todos os tratamentos (Figura 15 A), o que indica ausência de dano fotoinibitório. Com relação ao Φ PSII (Figura 15 B), pode-se inferir que o estresse salino incrementou esse

rendimento. A taxa de transporte de elétrons (ETR) também foi aumentada em função do estresse salino e da presença do Si (Figura 15 C). O *quenching* não-fotoquímico variável (qN) e o *quenching* não fotoquímico (NPQ), reduziram com a salinidade e não sofreram alterações quando se adicionou o Si (Figuras 15 D, F). Já o qP aumentou com incremento dos níveis de estresse salino (Figura 15 E).

Figura 15 - Fluorescência da clorofila 'a' em alface sob condições de diferentes níveis de salinidade e silício. A: Eficiência máxima do fotossistema PSII (Fv/Fm), B: rendimento quântico efetivo do fotossistema PSII (Φ_{PSII}), C: taxa de transporte de elétrons (ETR), D: quenching não fotoquímico variável (qN), E: quenching fotoquímico variável (qP) e F: quenching não fotoquímico (NPQ)



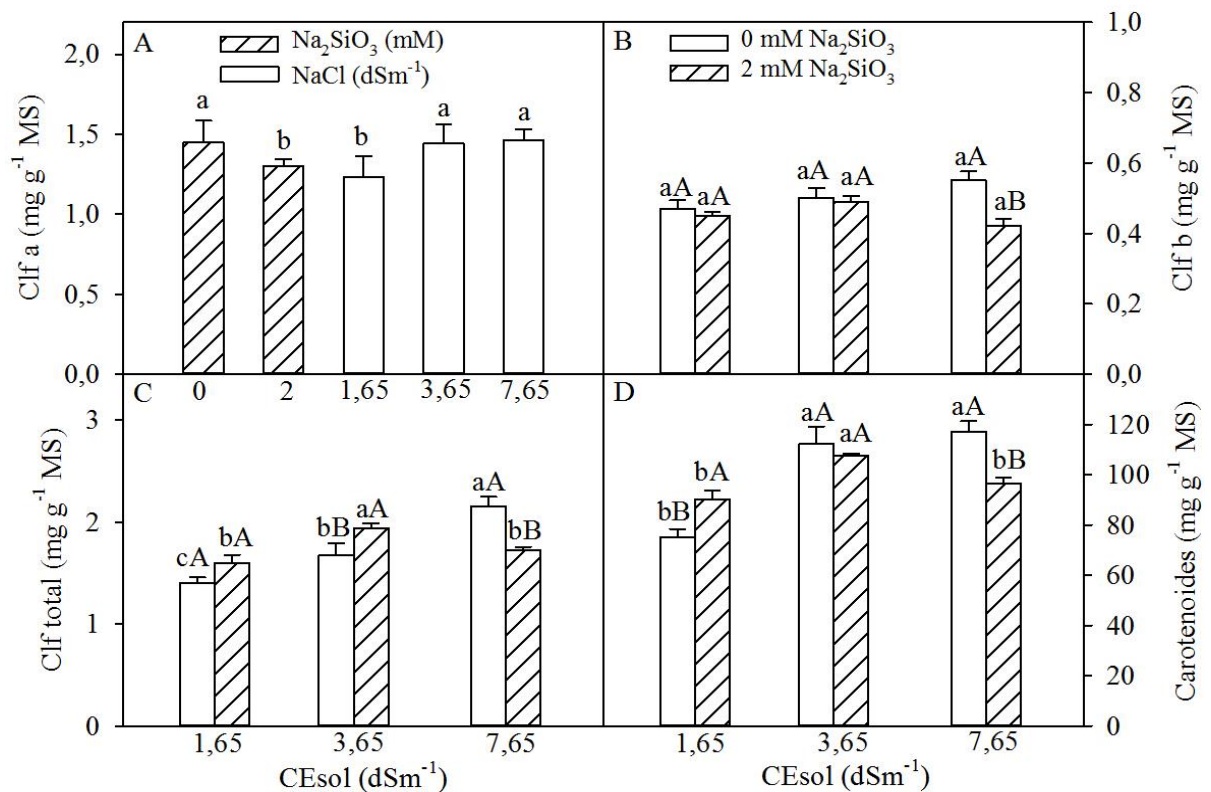
Fonte: Elaborada pelo autor.

Médias seguidas por letras minúsculas diferentes para os níveis de CEsol, ou por letras maiúsculas diferentes para a presença e ausência de Na₂SiO₃, evidenciam diferenças entre si pelo teste de Scott-Knott ($p \leq 0,05$). As barras representam o erro padrão da média.

O Si proporciona aumento nos conteúdos de clorofila total e carotenoides sob condições ideais e de salinidade moderada, mas reduz esses pigmentos sob estresse severo

Para a clorofila ‘a’ não foi verificada interação entre os fatores (salinidade x Si). Esse pigmento aumentou nas plantas expostas a níveis de salinidade médio e alto, se comparado ao controle, enquanto que o uso do Si reduziu esse pigmento (Figura 16 A). Já a clorofila ‘b’ teve uma redução no maior nível de estresse salino com a presença do Si (Figura 16 B). A clorofila total no estresse moderado foi maior com o uso do Si, enquanto que no severo, a utilização do Si resultou em redução (Figura 16 C). O teor de carotenoides aumentou com os níveis de estresse salino e também com a presença do Si. Houve aumento no teor de carotenoides com o Si no menor nível de salinidade da solução nutritiva, já às que estavam no estresse moderado não foram observados efeitos com a presença do Si. Por outro lado na salinidade mais alta, a aplicação do Si ocasionou uma redução no teor de carotenoides (Figura 16 D).

Figura 16 - Conteúdo dos pigmentos fotossintéticos em alface sob condições de diferentes níveis de salinidade e silício. A: Clorofila ‘a’ (Clf a), B: clorofila ‘b’ (Clf b), C: clorofila total (Clf total) e D: carotenoides



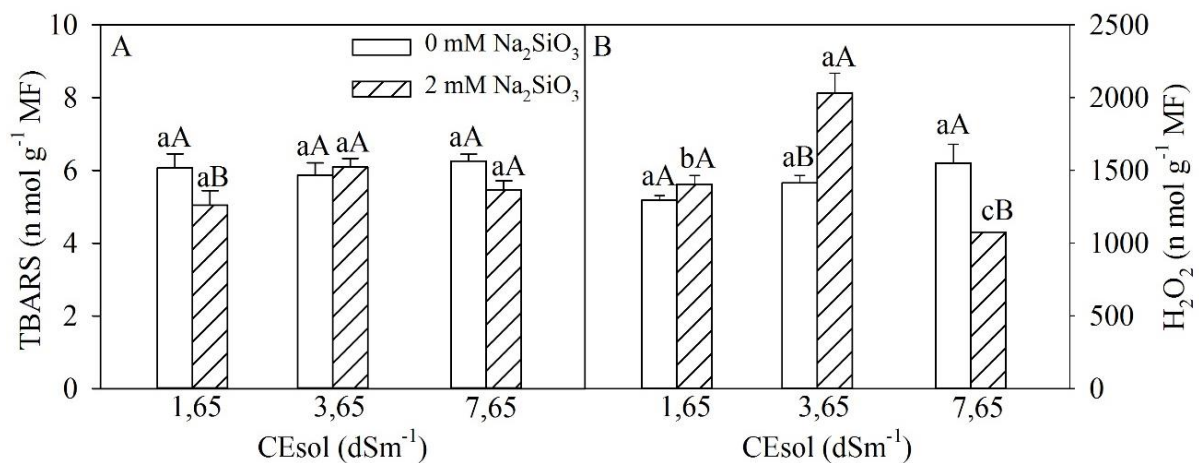
Fonte: Elaborada pelo autor.

Médias seguidas por letras minúsculas diferentes para os níveis de CEsol, ou por letras maiúsculas diferentes para a presença e ausência de Na₂SiO₃, evidenciam diferenças entre si pelo teste de Scott-Knott ($p \leq 0,05$). As barras representam o erro padrão da média.

Silício reduz a peroxidação de lipídeos em condições normais e diminui o teor de peróxido de hidrogênio em alface sob salinidade severa

A peroxidação de lipídeos não variou entre os níveis de estresse salino (Figura 17 A). Na ausência de estresse, o Si reduziu o teor de TBARS, mas em condições de estresse moderado e severo a aplicação do Si não houve efeito significativo. O teor de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) também não diferiu em função dos níveis de salinidade da solução nutritiva (Figura 17 B), mas quando foi adicionado o Si, observamos um aumento significativo nas plantas que estavam sob estresse moderado e, no maior nível de estresse, o Si reduziu o teor de H_2O_2 em 30,48%, mostrando ser eficiente em reduzir a produção dessa espécie reativa de oxigênio (EROs) em condições de maiores teores de NaCl no meio de cultivo.

Figura 17 - Plantas de alface sob condições de diferentes níveis de salinidade e silício. A: teores de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) e B: peróxido de hidrogênio (H_2O_2)



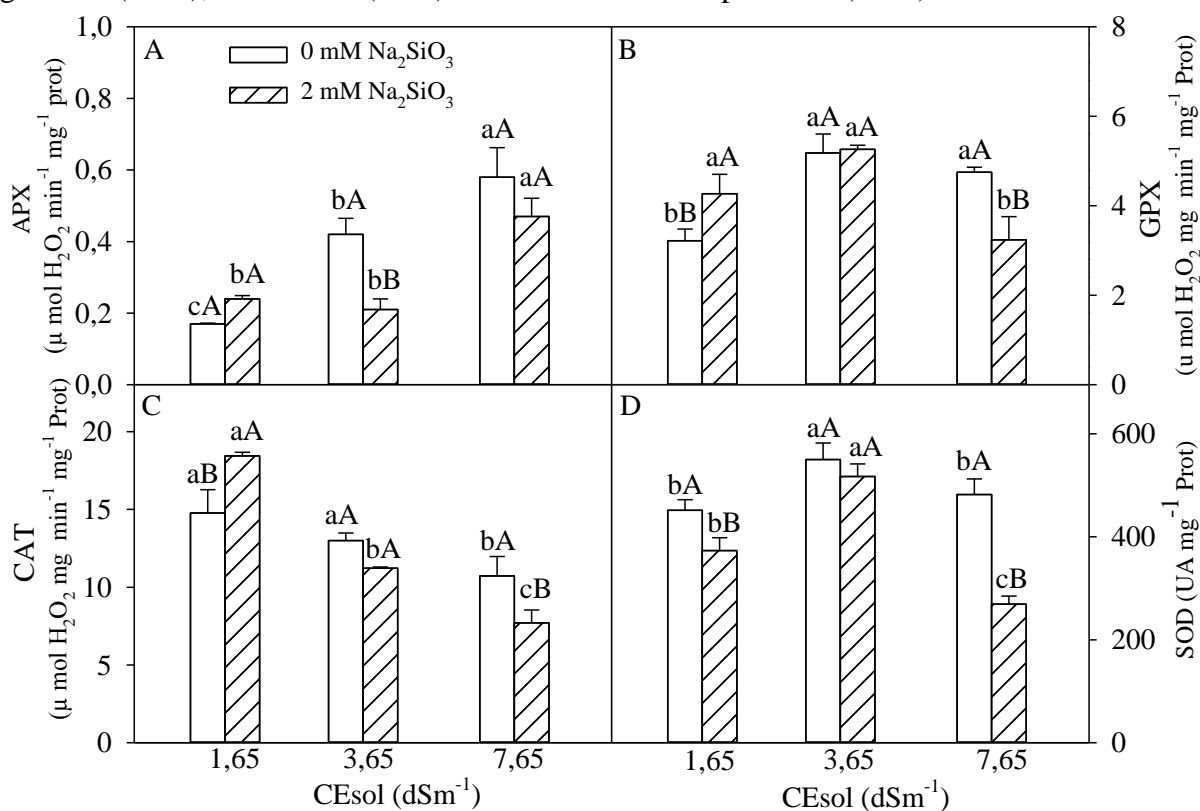
Fonte: Elaborada pelo autor.

Médias seguidas por letras minúsculas diferentes para os níveis de CEsol, ou por letras maiúsculas diferentes para a presença e ausência de Na_2SiO_3 , evidenciam diferenças entre si pelo teste de Scott-Knott ($p \leq 0,05$). As barras representam o erro padrão da média.

A salinidade e o Si influenciam o sistema antioxidativo enzimático e não enzimático em alface

A atividade da enzima peroxidase do ascorbato (APX) aumentou em função do incremento nos níveis de estresse salino, sendo este aumento ainda mais pronunciado no estresse severo, com atividade 153,84% maior do que o controle (Figura 18 A). Quando foi aplicado o Si, houve uma redução na atividade desta enzima de 49,85% no estresse moderado e 18,80% no estresse severo.

Figura 18 - Atividade das enzimas antioxidantes e teor proteínas em alface sob condições de diferentes níveis de salinidade e silício. A: peroxidase do ascorbato (APX), B: peroxidase guaiacol (GPX), C: catalase (CAT) e D: dismutase do superóxido (SOD)



Fonte: Elaborada pelo autor.

Médias seguidas por letras minúsculas diferentes para os níveis de CEsol, ou por letras maiúsculas diferentes para a presença e ausência de Na₂SiO₃, evidenciam diferenças entre si pelo teste de Scott-Knott ($p \leq 0,05$). As barras representam o erro padrão da média.

A atividade da peroxidase guaiacol (GPX) também aumentou com o estresse salino, sendo registrado um acréscimo de 60,86% para o estresse moderado e 38,19% para o estresse severo em relação ao controle (Figura 18 B). O Si aumentou a atividade desta enzima em 32,60% na ausência do estresse salino, em comparação ao controle. No estresse moderado não houve diferença com a aplicação deste elemento e no estresse severo houve redução de 31,78% na atividade desta enzima com o uso do Si.

A atividade da catalase (CAT) reduziu em função do aumento nos níveis de estresse salino (Figura 18 C). Quando foi aplicado o Si na ausência de estresse, foi obtido um aumento na atividade desta enzima em 25% quando comparado ao controle, isto é, sem Si. No estresse moderado não houve efeito do Si, enquanto no severo obteve uma redução de 28,14% com o uso do Si.

A atividade da dismutase do superóxido (SOD) foi reduzida na ausência do estresse com a aplicação do Si, já no estresse moderado tanto na ausência como na presença de Si não houve diferenças (Figura 18 D). Por outro lado, no estresse severo, quando se

adicionou Si, a atividade desta enzima foi reduzida em 44,17%. Assim, o efeito do Si em reduzir a atividade enzimática nas condições de estresse severo foi verificado para todas as enzimas.

Os teores de ascorbato apresentaram efeito de interação entre os fatores níveis de salinidade e silício (Si). Para o ascorbato reduzido (AsA) houve aumento de 23% no estresse moderado e 31% no severo, enquanto que o oxidado (DHA) foi reduzido (Tabela 6). Quando o Si foi aplicado os teores de AsA e DHA aumentaram. O *status* redox aumentou com o estresse e diminuiu quando foi feita a aplicação do Si na solução nutritiva que continha os tratamentos com estresse.

Tabela 6 - Teores de ascorbato reduzido (AsA), oxidado (DHA), *status* redox do ascorbato [AsA/(AsA + DHA)], glutatona reduzida (GSH), oxidada (GSSG) e *status* redox da glutatona [GSH/(GSH + GSSG)] de plantas de alface submetidas diferentes níveis de salinidade e silício

	AsA		DHA		AsA/(AsA + DHA)	
	$\mu\text{mol g}^{-1}\text{ MF}$					
CE (dS m ⁻¹)	0,0 mM	2,0 mM	0,0 mM	2,0 mM	0,0 mM	2,0 mM
1,65	1,87 bB	2,41 aA	3,72 aA	3,84 bA	0,33 bB	0,41 aA
3,65	2,30 aA	2,35 aA	3,67 aA	3,66 bA	0,38 aA	0,35 bA
7,65	2,45 aA	2,47 aA	3,33 aB	4,79 aA	0,41 aA	0,33 bB
C.V. (%)	13,79		10,50		6,13	
	GSH		GSSG		GSH/(GSH + GSSH)	
	$\mu\text{ mol g}^{-1}\text{ MF}$					
CE (dS m ⁻¹)	0,0 mM	2,0 mM	0,0 mM	2,0 mM	0,0 mM	2,0 mM
1,65	0,004 aA	0,003 aA	0,023 aA	0,007 bB	0,18 aA	0,24 aA
3,65	0,0004 bB	0,002 aA	0,011 bB	0,023 aA	0,10 aA	0,07 bA
7,65	0,0007 bA	0,002 aA	0,005 bA	0,005 bA	0,10 aB	0,33 aA
C.V. (%)	49,29		51,59		59,78	

Fonte: Elaborada pelo autor.

Médias seguidas por letras diferentes, minúscula na coluna e maiúscula na linha, evidenciam diferenças entre si pelo teste de Scott-Knott ($p \leq 0,05$). CV - coeficiente de variação.

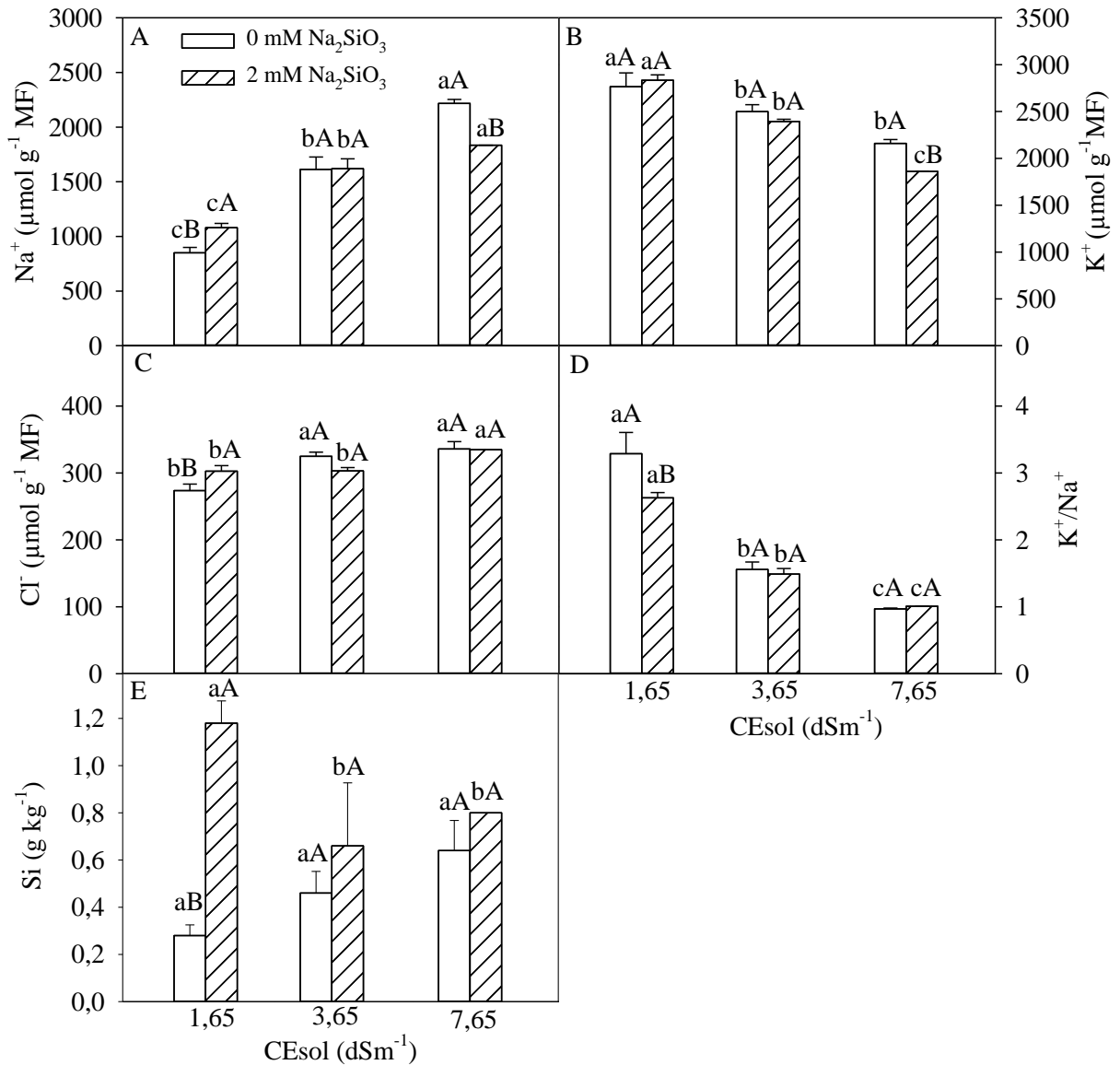
Os teores de glutatona reduzida (GSH) e oxidada (GSSG) diminuíram com o estresse salino e aumentaram com o Si somente no nível de estresse moderado (Tabela 6). No estresse moderado a GSH e GSSG reduziram em 90 e 52%, respectivamente, e no severo em 83 e 28,5%. O *status* redox da glutatona aumentou no maior nível de estresse com o uso do Si.

O Si reduz o conteúdo de Na⁺ na parte aérea da alface no estresse severo.

A concentração dos íons inorgânicos foi afetada pela salinidade da solução nutritiva hidropônica. Os íons sódio (Na⁺) e cloreto (Cl⁻) aumentaram em função dos níveis de estresse na solução nutritiva, tanto na presença quanto na ausência do Si (Figura 19 A, C); enquanto que o potássio (K⁺) sofreu redução com os níveis de estresse (Figura 19 B). O silício no nível de estresse severo reduziu a absorção e transporte de Na⁺ e K⁺ para a parte aérea em 17,24% e 13,80%. A relação K⁺/Na⁺ também teve uma redução com o estresse salino na presença e ausência de Si (Figura 19 D).

A concentração de silício foi maior nas plantas dos tratamentos em que se aplicou o silicato de sódio (Na₂SiO₃), que foi a fonte de Si utilizada no estudo. O aumento no teor de Si nas folhas foi mais pronunciado na ausência do estresse, isto é, onde se tinha aplicado somente a fonte de Si (Figura 19 E). No estresse moderado e severo, a concentração de Si foi maior em 46,7 e 25%, respectivamente, nos tratamentos que foi aplicado a fonte de Si.

Figura 19 - Teores de íons inorgânicos em folhas de alface sob condições de diferentes níveis de salinidade e silício. A: sódio (Na^+), B: potássio (K^+), C: cloreto (Cl^-), D: relação K^+/Na^+ e E: silício (Si)



Fonte: Elaborada pelo autor.

Médias seguidas por letras minúsculas diferentes para os níveis de CEsol, ou por letras maiúsculas diferentes para a presença e ausência de Na₂SiO₃, evidenciam diferenças entre si pelo teste de Scott-Knott ($p \leq 0,05$). As barras representam o erro padrão da média.

Discussão

Trocas gasosas e fluorescência da clorofila 'a'

As plantas apresentam respostas diferenciadas de tolerância à salinidade a depender da espécie (GHEYI *et al.*, 2016). Neste estudo, podemos observar que o estresse salino não reduziu as trocas gasosas da alface. Inclusive, algumas variáveis aumentaram com

o incremento da salinidade na solução, como a A , g_s e E no maior nível de estresse. Apesar das trocas gasosas não terem sido reduzidas em função do estresse salino, a área foliar e a massa fresca da parte aérea foram reduzidas de forma acentuada, o que mostra que o crescimento é mais afetado em condições de salinidade do que as trocas gasosas envolvidas no processo fotossintético.

Esse estudo demonstrou que o estresse salino não gera limitações estomáticas para difusão de CO_2 na alface, e com isso a concentração interna de CO_2 permanece alta, mantendo tanto a fotossíntese como a transpiração em níveis elevados. A C_i e a razão C_i/C_a também permaneceram elevadas em todos os tratamentos, inclusive no maior nível de estresse, o que não era esperado, pois se a A é elevada, espera-se que a C_i reduza, em função da fixação na fase bioquímica da fotossíntese. Possivelmente, alguma limitação de ordem bioquímica ocorreu, pois como a alface é uma espécie que possui mecanismo fotossintético do tipo C3, em condição de temperatura elevada (média de 30,9 °C), talvez a rubisco não tenha atuado de forma tão efetiva em fixar o CO_2 interno. Com essa limitação o CO_2 não foi fixado de forma eficiente e acabou permanecendo em concentração elevada na câmara subestomática, por isso, a A , C_i e a razão C_i/C_a também permaneceram elevadas, mas isso não resultou em maiores incrementos de massa fresca e seca para a planta.

Já a aplicação de silício combinado com o maior nível de estresse, resultou em redução em A , g_s e E . À medida que a planta transpira, o Si se acumula na epiderme foliar, em virtude do fluxo transpiratório, com isso é formada uma camada de sílica polimerizada nas folhas (MITANI; MA, 2005; KORNDÖRFER, 2006), o que pode ter contribuído para a redução da g_s e, conseqüentemente, da E e A . Esses resultados estão de acordo com os de Haghghi e Pessarakli (2013), em que verificaram que a g_s também diminuiu em plantas de tomate com o uso do Si. Já a C_i e a razão C_i/C_a não foram afetadas pela presença do Si, indicando que mesmo o Si alterando as demais variáveis, a assimilação de CO_2 não se alterou. Tal resultado pode ter ocorrido porque mesmo tendo sido observada certa redução em g_s , à mesma não foi significativa a ponto de reduzir a presença do CO_2 na câmara subestomática.

Os níveis de salinidade tanto na ausência como na presença do Si não provocaram danos ao PSII, pois a relação F_v/F_m se manteve próximo de 0,80. Isso pode ser justificado pelo fato do estresse não ter reduzido nem a taxa fotossintética, nem a condutância estomática, além de ter aumentado o conteúdo de clorofila total. Com isso, não houve excesso de energia nos sistemas de captação de luz, os elétrons gerados na fase fotoquímica foram utilizados na fase bioquímica, não havendo assim, excitação em excesso da cadeia transportadora de elétrons (SILVEIRA *et al.*, 2016). Outro ponto a ser cogitado também foi a alta atividade das

enzimas antioxidantes com o aumento do estresse, o que impediu as EROs de causar danos.

Conteúdo de clorofila e carotenoides

As clorofilas 'a' e total aumentaram com o estresse salino. Possivelmente, os níveis de salinidade aplicados nesse experimento podem não ter sido tão danosos para os pigmentos, a ponto de promover a redução da clorofila. Como a clorofila aumentou, fez com que houvesse também aumento da fotossíntese, devido uma maior captura de luz e excitação do PSII. O fato dos carotenoides também terem aumentado, pode ter auxiliado a clorofila na captura de luz, para ser utilizada na fotossíntese, como também pode ter amenizado os danos causados pelas espécies reativas de oxigênio (EROs), que podem atuar degradando a clorofila. Nesse sentido, a suplementação com Si foi benéfica para essa hortaliça, pois proporcionou aumento na clorofila total e os carotenoides no estresse moderado.

Em plantas de tomate (*Solanum lycopersicum* L. cv. 'Falcato'), o teor de clorofila aumentou em condições de estresse salino (HAGHIGHI; PESSARAKLI, 2013), o que concorda com este estudo. Já Li *et al.* (2015), verificaram em tomate cultivar 'Zhongza' que a clorofila e os carotenoides diminuíram com o estresse salino. Assim, esse é um comportamento que pode ser inerente à espécie ou cultivar. Similarmente, ao que verificamos nos presentes estudos, estes pesquisadores também observaram que quando o Si foi adicionado o teor de clorofila e carotenoides aumentaram. Também corroborando com os achados deste estudo, ao utilizar o silicato de potássio como fonte de silício, Rodrigues *et al.* (2016) verificou aumento nos teores de clorofila 'a'. Esses pesquisadores chegaram a relacionar esse aumento na clorofila com o aumento dos carotenoides, pois, estes reduzem os danos causados pelas EROs em muitas moléculas biológicas, inclusive em clorofilas. Nesse contexto, este elemento é citado por trazer vários benefícios para as plantas, incluindo aumento no teor de clorofila (MIRANDA *et al.*, 2010; KRASKA; BREITENBECK, 2010; LIMA *et al.*, 2011; BYBORDI, 2012; LI *et al.*, 2015; MANIVANNAN *et al.*, 2016).

Peroxidação de lipídeos e teores de peróxido de hidrogênio

Foi verificado que o aumento nos níveis de estresse salino não causou danos oxidativos às plantas, pois não houve aumento no teor de TBARS e de H₂O₂. O Si reduziu o teor de H₂O₂ no estresse severo, indicando que este elemento auxiliou na proteção contra danos provocados por EROs.

Sob condições de estresse, a produção de EROs tende a aumentar e de uma forma geral, a planta não consegue evitar os possíveis danos, o que resulta em estresse oxidativo. Este estresse é responsável por causar oxidação de lipídeos de membrana, desnaturação de proteínas e alteração no DNA, causando mutações (MØLLER; JENSEN; HANSSON, 2007). No entanto, as plantas possuem mecanismos enzimáticos e não enzimáticos de eliminação dessas EROs (ASHRAF, 2009). No presente estudo, isso foi verificado por meio da maior atividade das enzimas APX e GPX, que atuaram removendo o excesso de H_2O_2 e evitando assim danos à célula, resultando em ausência de oxidação dos lipídeos de membrana sob salinidade.

Li *et al.* (2015) verificou em plantas de tomate que o estresse salino aumentou o teor de MDA e de H_2O_2 , enquanto que o tratamento com Si não alterou os teores destes quando comparado ao controle. No estudo em questão o estresse salino não alterou essas variáveis, já o Si aumentou o teor de H_2O_2 no estresse moderado e reduziu no maior nível de estresse. Já em outro estudo, Eraslan *et al.* (2007), verificaram em plantas de alface, que a salinidade aumentou a peroxidação lipídica. Esses resultados divergentes indicam que o Si pode atuar de forma diferente sobre a ativação de mecanismos enzimáticos e não enzimáticos de defesa contra o estresse oxidativo, variando conforme a espécie/cultivar e época, duração e intensidade do estresse.

Influência da salinidade e silício na atividade das enzimas antioxidantes

O aumento na atividade das enzimas APX e GPX com o estresse salino resultou em menor peroxidação de lipídeos e, por conseguinte, menores danos à membrana. Em condições de estresse, há um aumento na produção de EROs, e para evitar que estas venham a causar danos as células, a planta aumenta a atividade dessas enzimas para amenizar esses danos (ASHRAF, 2009). Corroborando com esse comportamento, os níveis de H_2O_2 também se mantiveram inalterados, porque possivelmente foram removidos por estas enzimas. O Si também induziu um aumento na atividade da APX e GPX, comprovando os efeitos benéficos atribuídos a esse elemento, já que vários trabalhos têm relatado um aumento na produção de antioxidantes em plantas suplementadas com Si, sendo este um dos seus principais benefícios para as culturas em condições de estresse (AL-AGHABARY; ZHU; SHI, 2004; ZHU *et al.*, 2004; LIANG *et al.*, 2007).

No estresse salino, a SOD teve sua atividade aumentada, o que já era esperado, pois no estresse, aumenta-se a produção de radicais livres, como $^{\circ}O_2^-$ e H_2O_2 e esta enzima

atua modulando os níveis destes radicais. O silício na presença do estresse moderado induziu aumento na atividade dessa enzima, comprovando os efeitos desse elemento sobre o sistema de defesa enzimático antioxidativo das plantas de alface. Estes resultados estão de acordo com Bybordi (2012), onde verificou que a atividade da SOD também foi incrementada com o estresse salino em plantas de canola e também com a aplicação do Si nas plantas estressadas. A SOD é uma enzima que desempenha um papel importante nas plantas contra possíveis danos causados pelas EROs. Esta enzima é responsável pela dismutação do radical superóxido em peróxido de hidrogênio e oxigênio molecular, sendo a primeira linha de defesa das plantas contra o estresse oxidativo (GILL; TUTEJA, 2010).

Em contraposto ao comportamento das outras enzimas, a CAT teve sua atividade reduzida em função do estresse salino. Esta enzima é a principal removedora do peróxido de hidrogênio produzido pela SOD (GILL; TUTEJA, 2010). No entanto, vale ressaltar que a atividade da CAT em condições de estresse salino pode variar conforme a espécie ou genótipo. Portanto, nas plantas de alface da cultivar Lucy Brown esta enzima parece não exercer o papel de principal removedora de H_2O_2 produzido pela SOD. Apesar da APX possuir menor atividade catalítica do que a CAT, tem maior afinidade pelo H_2O_2 e, aparentemente, neste estudo foi a principal removedora do H_2O_2 . O Si aumentou a atividade dessa enzima na ausência do estresse e reduziu no estresse severo, confirmando o que tem sido reportado sobre esse elemento, no que diz respeito a aumentar a atividade de enzimas antioxidantes e amenizar os efeitos do estresse.

Após a reação catalisada pela SOD, o H_2O_2 ainda precisa ser removido da célula, pois o mesmo ainda é tóxico e precisa ser convertido em reações subsequentes a H_2O , e as enzimas associadas a essa remoção são a CAT e APX. Neste estudo, o que podemos observar com relação à atividade das enzimas é que a principal removedora do H_2O_2 produzido pela SOD não foi a CAT e sim as peroxidases APX e GPX. O aumento da atividade destas no estresse salino pode ter contribuído para a manutenção dos teores de H_2O_2 , que não variaram com a salinidade. De forma similar ao que foi observado nesse estudo, Eraslan *et al.* (2007), verificaram em alface sob condições de estresse por salinidade e boro, que a atividade das enzimas APX, CAT e SOD foram aumentadas, sendo que a APX foi a mais importante na remoção do H_2O_2 .

Li *et al.* (2015) verificaram em tomate que a atividade das enzimas CAT e SOD reduziram com o estresse salino, o que também corrobora com esse estudo. Estes mesmos autores, também verificou que o Si aumentou a atividade destas enzimas e amenizou os efeitos deletérios da salinidade. No presente estudo a CAT diminuiu com a aplicação do Si e a

SOD aumentou apenas no estresse moderado.

Ascorbato e glutathiona

O AsA é considerado um dos mais importantes substratos para redução do H_2O_2 em água e oxigênio molecular na célula vegetal. Durante o processo de redução, a APX utiliza duas moléculas de AsA como doadoras de elétrons para reduzir uma molécula de H_2O_2 a H_2O e O_2 , formando duas moléculas do ácido monodeidroascórbico (MDHA) (SILVEIRA *et al.*, 2016). Neste estudo, verificou-se aumento do AsA no estresse severo e moderado, com decréscimo no DHA, o que pode ter proporcionado um eficiente mecanismo de reciclagem do AsA a partir do DHA. Esse aumento do AsA está correlacionado com uma maior atividade da APX. A maior atividade desta enzima e o maior teor de ascorbato amenizaram os efeitos do estresse salino na peroxidação lipídica, indicando que os mecanismos de defesa enzimáticos e não enzimáticos inibiram os efeitos deletérios das EROs sobre os lipídeos de membrana.

Quando foi adicionado o Si, atestou-se que os teores de AsA e DHA foram ainda maiores. Em condições de estresse, o silício aumenta a capacidade antioxidante da planta (AL-AGHABARY; ZHU; SHI, 2004; ZHU *et al.*, 2004; LIANG *et al.*, 2007), o que foi realmente percebido neste estudo para o ascorbato. Como a enzima APX utiliza o ascorbato como doador de elétrons, podemos ver que a atividade desta enzima também foi elevada, talvez por conta de uma maior quantidade de substrato disponível.

O *status* redox do ascorbato, isto é, a fração do ascorbato efetivamente capaz de atuar na proteção oxidativa (CONKLIN; BARTH, 2004), foi maior nos estresses e menor na presença do Si. Como podemos observar, alcançamos um maior teor de AsA nos estresses, com menor DHA, e maior *status* redox, o que indica alta capacidade de proteção oxidativa da planta na condição do estresse, com relação a esse antioxidante. Por outro lado, em plantas suplementadas com Si os teores de ascorbato no seu redox foram menores, justamente pelo fato deste elemento aliviar o estresse.

Os teores de glutathiona reduzida (GSH) e oxidada (GSSG) reduziram com estresse. Nos estresses moderado e severo, conseguimos uma maior atividade da enzima GPX, essa utiliza a GSH como doadora de elétrons, para amenizar danos oxidativos, talvez por isso os teores de GSH tenham sido reduzidos com a presença do estresse. O Si aumentou esse antioxidante apenas no estresse moderado sendo, portanto, mais um papel benéfico deste elemento em plantas cultivadas sob salinidade.

Teores dos íons Na⁺, K⁺, Cl⁻ e Si

Houve aumento na concentração de Na⁺ e Cl⁻ no tecido vegetal, bem como uma redução do K⁺ na parte aérea das plantas de alface nos dois maiores níveis de salinidade. Em condição de salinidade elevada, a concentração desses íons externa a raiz é alta, como os canais de absorção destes não são seletivos, acaba que as plantas não são capazes de distinguir com precisão entre os íons tóxicos (Na⁺ e Cl⁻) e não tóxicos (K⁺) (PRISCO *et al.*, 2016; SILVEIRA *et al.*, 2016). Isso resulta em absorção de íons de forma não seletiva, assim, o íon que estiver em maior concentração acaba sendo absorvido em maior quantidade. Nesse caso o Na⁺ que estava em maior concentração na região radicular foi absorvido em maior quantidade pelas plantas de alface, seguido do Cl⁻, o que resultou em baixa absorção de K⁺.

No entanto, sabemos que o principal distúrbio fisiológico causado pela salinidade, está relacionado à redução na relação K⁺/Na⁺ no citosol. É sabido que a planta operando em seu metabolismo normal, a concentração de K⁺ no citosol oscila de 100 a 200 mM e a de Na⁺ de 1 a 10 mM (PRISCO *et al.*, 2016). A alta concentração de K⁺ no citosol é importante para a síntese de proteínas, atividade enzimática e turgor celular (BLUMWALD, 2000). Por outro lado, o Na⁺ é inibidor da atividade de várias enzimas, assim para as plantas tolerarem o estresse salino, é fundamental manter uma alta relação K⁺/Na⁺ nas folhas (Hasegawa, 2013). Neste estudo, as plantas de alface mantiveram baixa a relação K⁺/Na⁺, fato este que pode ter levado a uma redução no crescimento das plantas.

Com relação ao Si, este elemento é citado por proporcionar vários benefícios para as plantas, principalmente na atenuação dos efeitos da salinidade, por diminuir a absorção e translocação de Na⁺ para a parte aérea das plantas (LIANG; DING; LIU, 1999; LIANG *et al.*, 2007). Isso de fato foi observado nesse trabalho nas plantas que estavam sob estresse severo, nas quais na presença do Si, a concentração de Na⁺ na parte aérea foi reduzida.

Esses resultados estão de acordo com os achados de Savvas *et al.* (2009), ao verificaram em plantas de abobrinha, que no nível de salinidade alta, a concentração de Na⁺ nos tecidos foi significativamente reduzida quando adicionou-se Si a solução nutritiva, em comparação com o tratamento com ausência de Si. A adição de 1,0 mM Si na solução nutritiva sob alta salinidade restringiu a translocação de Cl⁻ para todas as partes da planta de abobrinha, exceto para as raízes. Li *et al.* (2015), também observaram que a concentração de Na⁺ e Cl⁻ foram reduzidas no estresse salino com a aplicação de Si.

Em plantas de arroz, a redução da absorção de Na⁺ imposta por Si foi atribuída à redução da transpiração, devido à deposição de sílica na parede celular das folhas (MATOH;

KAIRUSMEE; TAKAHASHI, 1986). Comportamento semelhante pode ter ocorrido nas plantas de alface desse estudo cultivadas sob estresse severo, uma vez que o Si reduziu a transpiração, o que se correlacionou também com um menor acúmulo de Na^+ na parte aérea.

Ao se observar o conteúdo de silício na parte aérea das plantas, pode-se de fato, reforçar que há menor absorção de Na^+ no estresse severo. Nas plantas deste tratamento o Si estava em maior concentração na parte aérea, tendo sido absorvido em maior concentração quando comparado ao Na^+ . Talvez tenha ocorrido uma competição entre esses íons, pois neste nível a concentração de Si nos tecido da planta foi maior e, por isso, absorvido em maior quantidade do que o Na^+ . No entanto, podemos ver que da mesma forma que o Si reduz o acúmulo de Na^+ na parte aérea, não incrementou o de K^+ , talvez por isso o efeito benéfico do Si na redução do estresse salino não tenha sido tão pronunciado. Nesse sentido, futuros estudos, envolvendo seletividade das vias de absorção destes íons, seriam recomendados no sentido de aprimorar o entendimento do papel do Si, na indução da tolerância à salinidade na cultura da alface.

Conclusão

Apesar de o Si ter proporcionado efeitos positivos na fisiologia e bioquímica da alface, este não foi efetivo em atenuar os efeitos do estresse salino na cultura, pois a sua utilização não resultou em incrementos de massa fresca e seca da parte aérea. Possivelmente, a pequena quantidade de Si absorvido pela planta não tenha sido tão efetiva para surtir efeito na produção da cultura sob estresse salino.

9 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O Si confere tolerância a alface em condição de salinidade, mas a resposta da alface à suplementação com esse elemento depende do estágio de desenvolvimento, da cultivar e do nível de salinidade. Nesse sentido, o silício amenizou os efeitos da salinidade na germinação e crescimento inicial das plântulas de alface. Quando as plantas foram cultivadas em meio hidropônico, verificou-se efeitos positivos nas respostas fisiológicas, bioquímicas e também na pós-colheita, mas esses efeitos não resultaram em incrementos de massa fresca e seca para a planta. Dessa forma, esse elemento não foi efetivo em atenuar os efeitos da salinidade na produção da alface. Diante disso, novos questionamentos com o objetivo de elucidar a atuação do Si na alface, podem ser aventados para o desenvolvimento de pesquisas futuras, como por exemplo, porque o efeito do silício em atenuar a salinidade é tão evidente na germinação e nos estádios iniciais de crescimento, mas não na produção da cultura em cultivo hidropônico.

REFERÊNCIAS

- ABDALLA, M. M. Beneficial effects of diatomite on growth, the biochemical contents and polymorphic DNA in *Lupinus albus* plants grown under water stress. **Agriculture and Biology Journal of North America**, [s.l.], v. 2, [s.n.], p. 207-220, 2011.
- ADATIA, M. H.; BESFORD, R. T. The effects of silicon on cucumber plants grown in recirculating nutrient solution. **Annals of Botany**, London, v. 58, n. 3, p. 343- 351, 1986
- AHMED, P.; UMAR, S. **Antioxidants: oxidative stress management in plants**. New Delhi, Índia: Studium press, 2011. 381p.
- 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**, New York, v. 27, n. 12, p. 2101-2115, 2004.
- ALMUTAIRI, Z. M. Effect of nano-silicon application on the expression of salt tolerance genes in germinating tomato (*Solanum lycopersicum* L.) seedlings under salt stress. **Plant Omics Journal**, Australia, v. 9, n. 1, p. 106-114, 2016.
- ALVARES, C. A. *et al.* Köppen's climate classification map of Brazil. **Meteorologische Zeitschrift**, Berlin, v. 22, n. 6, p.711-728, 2013.
- ARAGÃO, R. M. *et al.* High supply of NO₃⁻ mitigates salinity effects through an enhancement in the efficiency of photosystem II and CO₂ assimilation in *Jatropha curcas* plants. **Acta Physiologiae Plantarum**, Heidelberg, v. 34, n. 6, p. 2135-2143, 2012.
- ARAÚJO, E. B. G. *et al.* Crescimento inicial e tolerância de cultivares de meloeiro à salinidade da água. **Revista Ambiente e Água**, Taubaté, v. 11 n. 2, p. 462-471, 2016.
- ASHRAF, M. Biotechnological approach of improving plant salt tolerance using antioxidants as markers. **Biotechnology Advances**, New York, v. 27, n. 1, p. 84-93, 2009.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DO COMÉRCIO DE SEMENTES E MUDAS (ABCSEM). **2º Levantamento de dados socioeconômicos da cadeia produtiva de hortaliças no Brasil**. Holambra, 2014. Disponível em: <http://www.abcsem.com.br>. Acesso em: 20 mar. 2017.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTRY (AOAC). **Official methods of analysis of AOAC International**. 17 th edition. Gaithersburg, MD, USA, Association of Analytical Communities, 2002.
- AZEVEDO, A. M. *et al.* Agrupamento multivariado de curvas na seleção de cultivares de alface quanto à conservação pós-colheita. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 33, n. 3, p. 362-367, 2015.
- BEAUCHAMP, C.; FRIDOVICH, I. Seperoxide dismutase improved assays and na assay applicable to acrylamide gels. Analytical Biochemistry. **Analytical Biochemistry**, New York, v. 44, n. 1, p. 276-287, 1971.

BECKLES, D. M. Factors affecting the postharvest soluble solids and sugar content of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) fruit. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 63, n. 1, p. 129-140, 2012.

BERNARDES, P. M. *et al.* Qualidade fisiológica de sementes de repolho de alta e baixa viabilidade sob estresse salino. **Nucleus**, Ituverava, v. 12, n. 1, p. 77- 86, 2015.

BLUMWALD, E. Sodium transport and salt tolerance in plants. **Current Opinion in Cell Biology**, London, v.12, n. 4, p.431-434, 2000.

BOCKHAVEN, J. V.; VLEESSCHAUWER, D. D.; HÖFTE, M. Towards establishing broad-spectrum disease resistance in plants: silicon leads the way. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 64, n. 5, p. 1281-1293, 2013.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Brasília: Mapa/ACS, 2009. 399p.

BRAY, E. A.; BAILEY-SERRES, J.; WERETILNYK, E. Responses to abiotic stresses. In: BUCHANAN, B.; GRUISSEM, W.; JONES, R. L. (Eds.). **Biochemistry and Molecular Biology of Plants**. Rockville: Wiley Blackwell, 2015. p. 1158-1203.

BYBORDI, A. Effect of ascorbic acid and silicium on photosynthesis, antioxidant enzyme activity, and fatty acid contents in canola exposure to salt stress. **Journal of Integrative Agriculture**, Oxford, v. 11, n. 10, p. 1610-1620, 2012.

CARVALHO, C. *et al.* **Anuário brasileiro de hortaliças 2013**. Editora Gazeta Santa Cruz, p. 88, 2013.

CASSETARI, L. S. Os tipos de alface e as melhores sementes. **Revista Campos & Negócios**, Uberlândia, v. 1, n. 1, p. 78, 2014.

CANTARELLA, H. Nitrogênio In: NOVAIS, R. F. *et al.* (Ed.). Fertilidade do solo. Viçosa, MG: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2007. p. 375-470.

CHEN, W. *et al.* Silicon alleviates drought stress of rice plants by improving plant water status, photosynthesis and mineral nutrient absorption. **Biological Trace Element Research**, Clifton, v. 142, n. 1, p. 67-76, 2011.

CONKLIN, P. L.; BARTH, C. Ascorbic acid, a familiar small molecule intertwined in the response of plants to ozone, pathogens and the onset of senescence. **Plant, Cell Environment**, Hoboken, v. 27, n. 8, p. 959-970, 2004.

COSTA, D. M. A.; HOLANDA, J. S.; FIGUEIREDO FILHO, A. O. Caracterização de solos quanto a afetação por sais na Bacia do Rio Cabugí-Afonso Bezerra-RN. **Holos**, Barbacena, v. 20, p. 1-13, 2004.

DIAS, N. S. *et al.* Resposta de cultivares de alface à salinidade da solução nutritiva com rejeito salino em hidroponia. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 15, n. 10, p. 991-995, 2011.

DIAS, N. S. *et al.* Efeitos dos sais na planta e tolerância das culturas à salinidade. In: GHEYI, H. R.; DIAS, N. S.; LACERDA, C. F.; GOMES FILHO, E. (Ed.). **Manejo da Salinidade na Agricultura: Estudos Básicos e Aplicados**. 2. ed. Fortaleza, INCTSal, 2016. 504p.

ELLIOTT, C. L.; SNYDER, G. H. Autoclave-induced digestion for the colorimetric determination of silicon in rice straw. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 39, n. 6, p. 1118-1119, 1991.

ERASLAN, F. *et al.* Changes in antioxidative system and membrane damage of lettuce in response to salinity and boron toxicity. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 114, n. 1, p. 5-10, 2007.

FAGERIA, N. K. Salt tolerance of rice cultivars. **Plant and Soil**, Netherlands, The Hague, v. 88, n. 2, p. 237-243, 1985.

FAGERIA, N. K. **Maximizing crop yields**. 1. ed. New York: Marcel Dekker. 1992.

FARSHIDI, M.; ABDOLZADEH, A.; SADEGHIPOU, R. H. R. Silicon nutrition alleviates physiological disorders imposed by salinity in hydroponically grown canola (*Brassica napus* L.) plants. **Acta Physiologiae Plantarum**, Heidelberg, v. 34, n. 5, p. 1779-1788, 2012.

FERREIRA, D. F. Sisvar: A computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011.

FIGUEIREDO, A. S. T. *et al.* Produtividade do morangueiro em função de diferentes doses de silício aplicadas via solo e via foliar. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 28, n. 2, p. 870-876, 2010.

FREIRE, A. G. *et al.* Qualidade de cultivares de alface produzida em condições salinas. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 22, n. 4, p. 81-88, 2009.

FREITAS, G. A. *et al.* Produção de mudas de alface em função de diferentes combinações de substratos. **Ciência Agrônômica**, Fortaleza, v. 44, n. 1, p. 159-166, 2013.

FURLANI, P. R. **Instruções para o cultivo de hortaliças de folhas pela técnica de hidroponia – NFT**. Campinas: Instituto Agrônômico, 1998. 30p. (Documentos IAC, 168).

GAINES, T. P.; PARKER, M. B.; GASCHO, G. J. Automated determination of chlorides in soil and plant tissue by sodium nitrate extraction. **Agronomy Journal**, Madison, v. 76, n. 3, p. 371-374, 1984.

GALATI, V. C. *et al.* Aplicação de silício, em hidroponia, na conservação pós-colheita de alface americana ‘Lucy Brown’ minimamente processada. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 45, n. 11, p. 1932-1938, 2015a.

GAO, X. *et al.* Silicon improves water use efficiency in maize plants. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 27, n. 8, p. 1457-1470, 2005.

GAY, C.; COLLINS, J.; GEBICKI, J. M. Hydroperoxide assay with the ferric-xyleneol Orange complex. **Analytical Biochemistry**, New York, v. 273, n. 2, p. 149-155, 1999.

GHEYI, H. R. *et al.* Melhoramento genético e seleção de cultivares tolerantes à salinidade. In: GHEYI, H. R.; DIAS, N. S.; LACERDA, C. F.; GOMES FILHO, E. (Eds.). **Manejo da Salinidade na Agricultura: Estudos Básicos e Aplicados**. 2. ed. Fortaleza, INCTSal, 2016. 504p.

GIANNOPOLITIS, C. N.; RIES, S. K. Superoxide dismutases. **Annual review of biochemistry**, Palo Alto, v. 44, n. 1, p. 147-159, 1975.

GILL, S. S. *et al.* Glutathione and glutathione reductase: A boon in disguise for plant abiotic stress defense operations. **Plant Physiology and Biochemistry**, Issy-Les-Moulineaux, v. 70, n. 1, p. 204-212, 2013.

GILL, S.S.; TUTEJA, N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, Issy-Les-Moulineaux, v. 48, n. 12, p. 909-930, 2010.

GONG, H. *et al.* Silicon alleviates oxidative damage of wheat plants in pots under drought. **Plant Science**, Limerick, v. 169, n. 2, p. 313-321, 2005.

GONG, H.; CHEN, K. The regulatory role of silicon on water relations, photosynthetic gas exchange, and carboxylation activities of wheat leaves in field drought conditions. **Acta Physiologiae Plantarum**, Heidelberg, v. 34, n. 4, p.1589-1594, 2012.

GRIFFITH, O. W. Determination of glutathione and glutathione disulfide using glutathione reductase and 2-vinylpyridine. **Analytical Biochemistry**, Palo Alto, v. 106, n. 1, p. 207-212, 1980.

GUNES, A. *et al.* Influence of silicon on sunflower cultivars under drought stress, II: Essential and nonessential element uptake determined by polarized energy dispersive X-ray fluorescence. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, Philadelphia, v. 39, n. 13-14, p. 1904-1927, 2008.

GUPTA, B.; HUANG, H. Mechanism of salinity tolerance in plants : physiological, biochemical, and molecular characterization. **International Journal of Genomics**, London, v. 2014, n. 1, p. 1-18, 2014.

GURMANI, A. R. *et al.* Exogenously applied silicate and abscisic acid ameliorates the growth of salinity stressed wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings through Na⁺ exclusion. **Australian Journal of Crop Science**, Lismore, v. 7, n. 8, p. 1123-1130, 2013.

HAGHIGHI, M.; AFIFIPOUR, Z.; MOZAFARIAN, M. The effect of N-Si on tomato seed germination under salinity levels. **Journal of Environmental Sciences**, Beijing, v. 6, n. 16, p. 87-90, 2012.

HAGHIGHI, M.; PESSARAKLI, M. Influence of silicon and nano-silicon on salinity tolerance of cherry tomatoes (*Solanum lycopersicum* L.) at early growth stage. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 161, [s.n.], p. 111-117, 2013.

HASEGAWA, P. M. Sodium (Na⁺) homeostasis and salt tolerance of plants. **Environmental and Experimental Botany**, Oxford, v. 92, n. 1, p. 19-31, 2013.

HATTORI, T. *et al.* Application of silicon enhanced drought tolerance in *Sorghum bicolor*. **Physiologia Plantarum**, Amsterdam, v. 123, n. 4, p. 459-466, 2005.

HAVIR, E. A; MCHALE, N. A. Biochemical and developmental characterization of multiple forms of catalase in tobacco leaves. **Plant physiology**, Rockville, v. 84, n. 2, p. 450-455, 1987.

HEATH, R.L.; PACKER, L. Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, New York, v. 125, n. 1, p. 385-395, 1968.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos**. 4 ed. São Paulo: IAL. 2008, 1020p.

KAFI, M. *et al.* Effect of salinity and silicon application on oxidative damage of sorghum [*Sorghum bicolor* (L.) moench.]. **Pakistan Journal of Botany**, Karachi, v. 43, n. 5, p. 2457-2462, 2011.

KAFI, M.; RAHIMI, Z. Effect of salinity and silicon on root characteristics, growth, water status, proline content and ion accumulation of purslane (*Portulaca oleracea* L.). **Soil Science Plant and Nutrition**, Abingdon, v. 57, n. 2, p. 341-347, 2011.

KAR, M.; MISHRA, D. Catalase, Peroxidase, and Polyphenoloxidase Activities during. **Plant Physiology**, Rockville, v. 57, n. 1, p. 315-319, 1976.

KIM, Y. H. *et al.* Influence of short-term silicon application on endogenous phytohormonal levels of *Oryza sativa* L. under wounding stress. **Biological Trace Element Research**, Totowa, v. 144, n. 1-3, p. 1175-1185, 2011.

KORNDÖRFER, G. H. Elementos benéficos. In: FERNANDES, M. S. (Ed.). **Nutrição mineral de plantas**. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2006. p. 355-374.

KORNDÖRFER, G. H.; NOLLA, A. **Análise de silício: solo, planta e fertilizante**. Uberlândia, 2004. (GPSi-ICIAG-UFU. Boletim técnico; 02), 50f.

KRASKA, J. E.; BREITENBECK, G. A. Survey of the silicon status of flooded rice in Louisiana. **Agronomy Journal**, Madison, v. 102, n. 2, p. 523-529, 2010.

KURDALI, F.; MOHAMMAD, A. C.; AHMAD, M. Growth and nitrogen fixation in silicon and/or potassium fed chickpeas grown under drought and well watered conditions. **Journal of Stress Physiology & Biochemistry**, Russia, v. 9, n. 3, p. 385-406, 2013.

KHOSHGOFTARMANESH, A. H.; KHODARAHMI, S.; HAGHIGHI, M. Effect of silicon nutrition on lipid peroxidation and antioxidant response of cucumber plants exposed to salinity stress. **Archives of Agronomy and Soil Science**, Abingdon, v. 60, n. 5, p. 639-653, 2014.

LABOURIAU, L. G. A. **Germinação das sementes**. Washington: Secretaria Geral da Organização dos Estados Americanos, 1983. 174p.

LAW, M.Y.; CHARLES, S.A.; HALLIWELL, B. Glutathione and ascorbic acid in spinach (*Spinacia oleracea*) chloroplasts. The effect of peroxide hydrogen and paraquat. **The Biochemical Journal**, London, v. 210, n. 3, p. 899-903, 1983.

LI, H. *et al.* Beneficial effects of silicon in alleviating salinity stress of tomato seedlings grown under sand culture. **Acta Physiologiae Plantarum**, Heidelberg v. 37, n. 71, p. 1-9, 2015.

LIANG, X. *et al.* Silicon does not mitigate cell death in cultured tobacco BY-2 cells subjected to salinity without ethylene emission. **Plant Cell Reports**, New York, v. 34, n. 2, p. 331-343, 2015.

LIANG, Y. *et al.* Mechanisms of silicon-mediated alleviation of abiotic stresses in higher plants: A review. **Environmental Pollution**, Oxford, v. 147, n. 2, p. 422-428, 2007.

LIANG, Y.; DING, R.; LIU, Q. Effect of silicon on salt tolerance of barley and its mechanism. **Scientia Agricultura Sinica**, Beijing, v. 32, n. 1, p. 75-83, 1999.

LIMA, M. A. *et al.* Aplicação de silício em milho e feijão-de-corda sob estresse salino. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 42, n. 2, p. 398-403, 2011.

LIU, P. *et al.* Aquaporin-mediated increase in root hydraulic conductance is involved in silicon-induced improved root water uptake under osmotic stress in *Sorghum bicolor* L. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 65, n. 17, p. 4747-56, 2014.

LIU, P. *et al.* Enhanced root hydraulic conductance by aquaporin regulation accounts for silicon alleviated salt-induced osmotic stress in *Sorghum bicolor* L. **Environmental and Experimental Botany**, Oxford, v. 111, n. 1, p. 42-51, 2015.

LOPES, J. C.; MACEDO, C. M. P. Germinação de sementes de couve chinesa sob influência do teor de água, substrato e estresse salino. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 30, n. 3, p. 79- 85, 2008.

LUZ, J. M. Q.; GUIMARÃES, S. T. M. R.; KORNDÖRFER, G. H. Produção hidropônica de alface em solução nutritiva com e sem silício. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 24, n. 3, p. 295-300, 2006.

MA, J. F.; YAMAJI, N. Silicon uptake and accumulation in higher plants. **Trends Plant Science**, Bangalore, v. 11, n. 8, p. 392-397, 2006.

MAAS, E. V.; POSS, J. A.; HOFFMAN, G. J. Salt tolerance of plants. **Applied Agricultural Research**, Abuja, v. 1, [s. n.], p. 12-26, 1986.

MAGUIRE, J. D. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, Madison, v. 2, n. 1, p. 176- 177, 1962.

MALAVOLTA, E. **Manual de nutrição mineral de plantas**. 1. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 2006. 631p.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, A. S. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. Piracicaba: Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fosfato, 1989. 201p.

MANIVANNAN, A. *et al.* Silicon mitigates salinity stress by regulating the physiology, antioxidant enzyme activities, and protein expression in *Capsicum annuum* 'bugwang'. **BioMed Research International**, London, v. 2016, n. 1, p. 1-14, 2016.

MARENCO, R. A.; LOPES, N. F. **Fisiologia Vegetal**. 3. ed. Viçosa: Editora UFV, 2009. 486p.

MARODIN, J. C. *et al.* Tomato post-harvest durability and physicochemical quality depending on silicon sources and doses. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 34, n. 3, p. 361-366, 2016.

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. 3.ed. London: Elsevier, 2012. 643p.

MARTINEZ-BELTRAN, J.; MANZUR, C. L. **Overview of salinity problems in the world and FAO strategies to address the problem**. International salinity forum managing saline soils and water: science, technology and social issues Oral Presentation Abstracts, Riverside Convention Center, Riverside, California, USA, 2005. p. 311-314. Disponível em: <https://eurekamag.com/research/012/808/012808515.php>. Acesso: 22 mar. 2018.

MATOH, T.; KAIRUSMEE, P.; TAKAHASHI, E. Salt-induced damage to rice plants and alleviation effect of silicate. **Soil Science and Plant Nutrition**, Abingdon, v. 32, n. 2, p. 295-304, 1986.

MATTIUZ, B. H. Fatores da pré-colheita influenciam a qualidade final dos produtos. **Revista Visão Agrícola**, Piracicaba, v. 1, n. 7, p.18-21, 2007.

MEDEIROS, J. F. *et al.* Crescimento do meloeiro cultivado sob diferentes níveis de salinidade, com e sem cobertura do solo. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 11, n. 3, p. 248-255, 2007.

MING, D. F. *et al.* Silicon alleviates PEG-induced water-deficit stress in upland rice seedlings by enhancing osmotic adjustment. **Journal Agronomy and Crop Science**, Hoboken, v. 198, n. 1, p. 14-26, 2012.

MIRANDA, J. R. P. *et al.* Avaliação do silício como atenuador dos efeitos da salinidade na nutrição mineral de clones de *Anacardium occidentale* L. **Engenharia Ambiental**, Espírito Santo do Pinhal, v. 7, n. 3, p. 144-155, 2010.

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

MIYAKE, Y.; TAKAHASHI, E. Effect of silicon on the growth of solution-cultured cucumber plant. **Soil science and plant nutrition**, Abingdon, v. 29, n. 1, p. 71-83, 1983.

MØLLER, I. M.; JENSEN, P. E.; HANSSON, A. Oxidative modifications to cellular components in plants. **Annual review of plant biology**, Palo Alto, v. 58, n. 1, p. 459-481, 2007.

MORAIS, P. L. D. *et al.* Qualidade pós-colheita da alface hidropônica em ambiente protegido sob malhas termorefletoras e negra. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 58, n. 5, p. 407-410, 2011.

MUNNS, R. Genes and salt tolerance: bring them together. **New Phytologist**, Hoboken, v. 167, n. 3, p. 645-663, 2005.

MUNNS, R.; TESTER, M. Mechanisms of salinity tolerance. **Annual review of plant biology**, Palo Alto, v. 59, n. 1, p. 651-81, 2008.

NAKANO, Y.; ASADA, K. Hydrogen-Peroxide Is Scavenged by Ascorbate-Specific Peroxidase in Spinach-Chloroplasts. **Plant and Cell Physiology**, Oxford, v. 22, n. 5, p. 867-880, 1981.

NASRI, N. *et al.* Effect of salinity on germination, seedling growth and acid phosphatase activity in lettuce. **American Journal of Plant Sciences**, v. 6, n. 1, p. 57-63, 2015.

OLIVEIRA, A. B.; ALENCAR, N. L. M. GOMES-FILHO, E. Comparison between the water and salt stress effects on plant growth and development, responses of organisms to water stress. In: AKINCI, S. (Ed.). **Responses of Organisms to Water Stress**. 1ed. Rijeka: Intech, 2013, v. 1, p. 67-94.

OLIVEIRA, A. B.; GOMES FILHO, E. Germinação e vigor de sementes de sorgo forrageiro sob estresse hídrico e salino. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 31, n. 3, p. 48-56, 2009.

OLIVEIRA, F. A. *et al.* Desempenho de cultivares de alface submetidas a diferentes níveis de salinidade da água de irrigação. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 15, n. 8, p. 771-777, 2011.

OSHE, S. *et al.* Composição centesimal e teores de vitamina C, cálcio e fósforo de seis cultivares de alface produzidas sob dois sistemas de cultivo. **INSULA: Revista de Botânica**, Florianópolis, v. 30, n. 1, p. 47-62, 2001.

PARIDA, A. K.; DAS, A. B. Salt tolerance and salinity effects on plants: A review. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, San Diego, v. 60, n. 3, p. 324-349, 2005.

PARVEEN, N.; ASHRAF, M. Role of silicon in mitigating the adverse effects of salt stress on growth and photosynthetic attributes of two maize (*Zea mays* L.) cultivars grown hydroponically. **Pakistan Journal of Botany**, Karachi, v. 42, n. 3, p. 1675-1684, 2010.

PAULUS, D. *et al.* Crescimento, consumo hídrico e composição mineral de alface cultivada em hidroponia com águas salinas. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 59, n. 1, p. 110-117, 2012.

PEDÓ, T. *et al.* Desempenho fisiológico de sementes e plântulas de genótipos de cucurbitaceae e solanaceae em ambiente salino. **Tecnologia & Ciência Agropecuária**, João Pessoa, v. 8, n. 2, p. 1-7, 2014.

PEI, Z. F. *et al.* Silicon improves the tolerance to water-deficit stress induced by polyethylene glycol in wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings. **Journal of Plant Growth Regulation**, New York, v. 29, n. 1, p. 106-115, 2010.

- PEREIRA, T. S. *et al.* Positive interference of silicon on water relations, nitrogen metabolism, and osmotic adjustment in two pepper (*Capsicum annuum*) cultivars under water deficit. **Australian Journal of Crop Science**, Lismore, v.7, n. 8, p. 1064-1071, 2013.
- PRISCO, J. T.; GOMES FILHO, E.; MIRANDA, R. S. Physiology and biochemistry of plants growing under salt stress. In: GHEYI, H. R.; DIAS, N. S.; LACERDA, C. F.; GOMES FILHO, E. (Ed.). **Manejo da Salinidade na Agricultura: estudos Básicos e Aplicados**. 2. ed. Fortaleza: INCTSal, 2016. 504p.
- QUEIROGA, R. C. F. *et al.* Germinação e crescimento inicial de híbridos de meloeiro em função da salinidade. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 24, n. 3, p. 315-319, 2006.
- RABBANI, A. R. C. *et al.* Efeito do estresse salino sobre atributos da germinação de sementes de girassol. **Scientia Plena**, Sergipe, v. 9, n. 5, p. 5-10, 2013.
- RESENDE, G. M.; YURI, J. E.; SOUZA, R. J. Épocas de plantio e doses de silício no rendimento de alface tipo americana. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 25, n. 3, p. 455-459, 2007.
- RICHMOND, K. E.; SUSSMAN, M. Got silicon? The non-essential beneficial plant nutrient. **Current Opinion in Plant Biology**, London, v. 6, n. 3, p. 268-272, 2003.
- RIOS, J. Á. *et al.* Photosynthetic gas exchange in leaves of wheat plants supplied with silicon and infected with *Pyricularia oryzae*. **Acta Physiologiae Plantarum**, Heidelberg, v. 36, n. 2, p. 371-379, 2014.
- RIZWAN, M. *et al.* Mechanisms of silicon-mediated alleviation of drought and salt stress in plants: a review. **Environmental Science and Pollution Research**, Heidelberg, v. 22, n. 1, p. 15416-15431, 2015.
- RODRIGUES, C. R. *et al.* Clorofila 'a' e 'b' de tomateiro tratado com silicato de potássio e fungicida. **Global Science and technology**, Rio Verde, v. 9, n. 2, p. 54 - 64, 2016.
- RODRIGUES, F. D. Á. *et al.* Silício: um elemento benéfico e importante para as plantas. **Informações Agronômicas**, Peachtree Corners, v. 134, n. 1, p. 14-20, 2011.
- SAHEBI, M. *et al.* Importance of silicon and mechanisms of biosilica formation in plants. **BioMed Research International**, London, v. 2015, n. 1, p. 1-16, 2015.
- SALA, F. C., COSTA, C. P. Retrospectiva e tendência da alfacicultura brasileira. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 30, n. 2, p. 187-194, 2012.
- SANTOS, A. R. F. *et al.* Water pre-hydration as priming for moringa oleifera lam. seeds under salt stress. **Tropical and Subtropical Agroecosystems**, Mérida, v. 14, n. 1, p. 201-207, 2011.
- SARMENTO, J. D. A. *et al.* Qualidade e conservação da alface cultivada com rejeito da dessalinização. **Revista caatinga**, Mossoró, v. 27, n. 3, p. 90-97, 2014.

SAVVAS, D. *et al.* Silicon supply in soil less cultivations of zucchini alleviates stress induced by salinity and powdery mildew infections. **Environmental and Experimental Botany**, Oxford, v. 65, n. 1, p. 11-17, 2009.

SAQIB, M.; ZÖRB, C.; SCHUBERT, S. Silicon-mediated improvement in the salt resistance of wheat (*Triticum aestivum*) results from increased sodium exclusion and resistance to oxidative stress. **Functional Plant Biology**, Victoria, v. 35, n. 7, p. 633-639, 2008.

SECCO, L. B. *et al.* Qualidade de sementes de acessos de melão (*cucumis melo* L.) em condições de estresse salino. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, Pombal, v. 5, n. 2, p. 01-11, 2010.

SHAHBAZ, M.; ASHRAF, M. Improving salinity tolerance in cereals. **Critical Reviews in Plant Sciences**, Philadelphia, v. 32, n. 4, p. 237-249, 2013.

SHEN, X. *et al.* Silicon effects on photosynthesis and antioxidant parameters of soybean seedlings under drought and ultraviolet-B radiation. **Journal of Plant Physiology**, Jena, v. 167, n. 15, p. 1248-1252, 2010.

SHRIVASTAVA, P.; KUMAR, R. Soil salinity: A serious environmental issue and plant growth promoting bacteria as one of the tools for its alleviation. **Saudi Journal of Biological Sciences**, Amsterdam, v. 22, n. 2, p. 123-131, 2015.

SIDDIQUI, M. H. *et al.* Nano-silicon dioxide mitigates the adverse effects of salt stress on *Cucurbita pepo* L. **Environmental Toxicology and Chemistry**, Hoboken, v. 33, n. 11, p. 2429-37, 2014.

SIDDIQUI, M. H.; AL-WHAIBI, M. H. Role of nano-SiO₂ in germination of tomato (*Lycopersicon esculentum* seeds Mill.). **Saudi Journal of Biological Sciences**, Amsterdam, v. 21, n. 1, p. 13-17, 2014.

SILVA, M. L. S. *et al.* Influência do silício na produção e na qualidade de frutos do morangueiro. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 34, n. 6, p. 3411-3424, 2013.

SILVEIRA, J. A. G. *et al.* Mecanismos biomoleculares envolvidos com a resistência ao estresse salino em plantas. In: GHEYI, H. R.; DIAS, N. S.; LACERDA, C. F.; GOMES FILHO, E. (Ed.). **Manejo da Salinidade na Agricultura: estudos Básicos e Aplicados**. 2. ed. Fortaleza: INCTSal, 2016. 504p.

SOARES, T. M. **Utilização de águas salobras no cultivo da alface em sistema hidropônico NFT como alternativa agrícola condizente ao semi-árido brasileiro**. 2007. 268p. Tese (Doutorado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ/USP), Piracicaba, 2007.

STROHECKER, R.; HENNING, H. M. **Análisis de vitaminas: métodos comprovados**. Madrid: Paz Montalvo, 1967. 428p.

TAIZ, L. *et al.* **Fisiologia e Desenvolvimento Vegetal**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017. 888p.

- TESTER, M.; DAVENPORT, R. Na⁺ tolerance and Na⁺ transport in higher plants. **Annals of Botany**, Oxford, v. 91, n. 1, p. 503-527, 2003.
- TOFANELLI, M. B. D. *et al.* Levantamento de perdas em hortaliças frescas na rede varejista de Mineiros. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 27, n. 1, p. 116-120, 2009.
- TRIPATHI, P. *et al.* Silicon mediates arsenic tolerance in rice (*Oryza sativa* L.) through lowering of arsenic uptake and improved antioxidant defence system. **Ecological Engineering**, Oxford, v. 52, n. 1, p. 96-103, 2013.
- TUNA, A. L. *et al.* Silicon improves salinity tolerance in wheat plants. **Environmental and Experimental Botany**, Oxford, v. 62, n. 1, p. 10-16, 2008.
- VILELA, N. J.; LANA, M. M.; MAKISHIMA, N. O peso da perda de alimentos para a sociedade: o caso das hortaliças. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 21, n. 2, p. 141-143, 2003.
- WANG, X. D. *et al.* Effects of exogenous silicon on seed germination and antioxidant enzyme activities of *Momordica charantia* under salt stress. **Journal of Animal and Plant Sciences**, Lahore, v. 6, n. 3, p. 700-708, 2010.
- WELLBURN, A. R.. The spectral determination of chlorophylls a and b, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. **Journal of Plant Physiology**, Jena, v. 44, n. 3, p. 307-313, 1994.
- XIE, Z. *et al.* Silicon improves maize photosynthesis in saline-alkaline soils. **Scientific World Journal**, New York, v. 2015, n. 1, p. 01-06, 2015.
- YAN, K. *et al.* Responses of photosynthesis and photosystem II to higher temperature and salt stress in sorghum. **Journal of Agronomy and Crop Science**, Hoboken, v. 198, n. 3, p. 218-225, 2012.
- YOKOI, S. *et al.* Differential expression and function of arabidopsis thaliana NHX Na⁺/H⁺ antiporters in the salt stress response. **Plant Journal**, Hoboken, v. 30, n. 1, p. 529-539, 2002.
- ZHU, Y.; GONG, H. Beneficial effects of silicon on salt and drought tolerance in plants. **Agronomy for Sustainable Development**, Paris, v. 34, n. 2, p. 455-472, 2014.
- ZHU, Z. *et al.* Silicon alleviates salt stress and increases antioxidant enzymes activity in leaves of salt-stressed cucumber (*Cucumis sativus* L.). **Plant Science**, Limerick, v. 167, n. 3, p. 527-533, 2004.