



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

SUSANA SILVA CONCEIÇÃO

**ACLIMATAÇÃO DE PLANTAS DE GIRASSOL À SALINIDADE INDUZIDA POR
SILÍCIO**

FORTALEZA

2015

SUSANA SILVA CONCEIÇÃO

**ACLIMATAÇÃO DE PLANTAS DE GIRASSOL À SALINIDADE INDUZIDA POR
SILÍCIO**

Dissertação submetida à coordenação do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/ Fitotecnia, da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Agronomia/Fitotecnia. Área de concentração: Fisiologia e Bioquímica.

Orientador: Prof. Dr. Enéas Gomes Filho.

Coorientador: Prof. Dr. Cândido F. de Oliveira Neto.

FORTALEZA

2015

SUSANA SILVA CONCEIÇÃO

**ACLIMATAÇÃO DE PLANTAS DE GIRASSOL À SALINIDADE INDUZIDA POR
SILÍCIO**

Dissertação submetida à coordenação do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia, da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Agronomia/Fitotecnia. Área de concentração: Fisiologia e Bioquímica.

Aprovada em: 26 de março de 2015

BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Enéas Gomes Filho (Orientador)

Universidade Federal do Ceará – UFC



Prof. Dr. Cândido Ferreira de Oliveira Neto (Coorientador)

Universidade Federal Rural da Amazônia – UFRA.



Prof. Dr. Alexandre Bosco De Oliveira

Universidade Federal do Ceará – UFC.

FORTALEZA

2015

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca de Ciências e Tecnologia

-
- C745a Conceição, Susana Silva.
Aclimação de plantas de girassol à salinidade induzida por silício / Susana Silva Conceição. –
2015.
78 f.: Il. color.
- Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias,
Departamento de Fitotecnia, Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia, Fortaleza,
2015.
Área de Concentração: Fisiologia e Bioquímica.
Orientação: Prof. Dr. Enéas Gomes-Filho.
Coorientação: Dr. Cândido Ferreira de Oliveira Neto.
1. Girassol. 2. Estresse salino. I. Título.

*Ao meu pai, **Pedro**, à minha
Mãe **Antonia**, e à minha
família.*

AGRADECIMENTOS

Antes de tudo, a Deus, que na sua infinita misericórdia me ofereceu juntamente com as dificuldades a força para superá-las.

Aos meus pais, Antonia Sena Silva Conceição e Pedro Ferreira Conceição, a quem dedico este trabalho e, um agradecimento especial à minha mãe pelo apoio incondicional, companheirismo e amor dedicado a mim ao longo dos anos de convívio, e que foram de extrema valia para a concretização desse trabalho.

Aos meus irmãos Davi, Nelson, Salatiel, Samuel, Sara, Semiramis, Suzete, que sempre torceram e oraram incessantemente por mim para que eu tivesse êxito em todos os âmbitos da vida.

Aos demais familiares Cecília Silva, Daniel Raiol Júnior, Daniel Raiol, Edson de Jesus, Elaine Conceição, Eliza Sena Silva, Elizeu Conceição, Ester Silva, Franklin Silva, João, João-Filho, Jéssica Conceição, Márcia Conceição, Max Rodrigues, Natália Silva, Natasha Sena, Nonato Sena, Pedro Lucas, Rosana Silva, Rosiel Silva, Shayene Conceição, Silma Sena, que compartilharam dessa trajetória, estendendo-me em algum momento a mão para que eu continuasse.

À família que carinhosamente me recebeu Adalmir, Adrian, Caris, Francisco, e especialmente ao Vinícius, um anjo de três anos que Deus trouxe de Manaus para alegrar meus dias nos momentos difíceis de solidão em Fortaleza.

Aos amigos irmãos Jean Paulo Tello, Manuel Filipe Garcia, Maryjane Gomes, Marly, Wanderson Salomão, Kadson Frutuoso, os quais conheci durante o mestrado em Fortaleza, pelos momentos de tristeza e alegria compartilhados, e principalmente pelo acolhimento que recebi dessa “grande família” em que nos tornamos.

Aos amigos da graduação Gilberto Filho, Thayana Rodrigues, Sheila Moreira, pelos longos anos de amizades, choros e risos...

Às amigas Ana Regina Araújo e Luciana Domingues pelos dias agradáveis e aprendizados infindáveis no estágio em nutrição mineral de plantas e, principalmente, pelas conversas e ensinamentos que guardo com carinho...

Ao amado amigo, Henrique Tobias Godoy um anjo que surgiu na minha vida, e que me fez acreditar todos os dias que a realização de sonhos é possível, e que a solidariedade humana e o despreendimento de bens materiais, devem fazer parte de nossa essência como veículo para o crescimento pessoal.

À Universidade Federal do Ceará (UFC), em especial ao Departamento de Agronomia/Fitotecnia, pela oportunidade de realização deste curso.

À Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA), na pessoa do professor Dr. Antonio Vinicius Correa Barbosa pela grande colaboração para o desenvolvimento desse trabalho e pela disponibilidade em participar na elaboração das análises estatísticas imprescindíveis para a concretização dessa pesquisa.

Ao Dr. Jessivaldo Galvão, da UFRA, pelas horas de dedicação a mim dispensadas, por ter sido um conselheiro e amigo, e pelas valiosas sugestões para a melhoria desse trabalho.

Ao Dr Cândido Oliveira Neto, da UFRA, pela coorientação nessa pesquisa, e pela imensurável contribuição nas análises bioquímicas e fisiológicas complementares a esse trabalho, e pela orientação ao longo de todo o tempo de desenvolvimento do experimento.

Às professoras Dra. Gisele Barata Da Silva e Dra. Telma Fátima Vieira Batista, da UFRA, pela concessão do uso dos equipamentos do laboratório de microbiologia e biotecnologia da referida instituição, o que foi fundamental para o término dessa pesquisa em tempo hábil.

Ao professor Dr. Roberto Cezar Lobo da Costa, da UFRA, a quem aprendi a admirar ao longo do convívio acadêmico durante a monitoria em fisiologia vegetal, em que fui sua orientada, e a quem tenho a mais alta estima e respeito pela sua sabedoria e competência profissional.

Aos professores Alexandre Bosco, Antonio Vinicius Barbosa, Cândido Oliveira Neto, Enéas Gomes-Filho, Jessivaldo Galvão, Roberto César, um agradecimento especial pela confiança depositada, orientação, apoio e incentivo durante o mestrado.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia da UFC, especialmente àqueles de quem tive a oportunidade de ser aluna, pelas experiências e ensinamentos compartilhados comigo, bem como aos demais membros do Departamento de Fitotecnia.

Ao coordenador do curso de Pós Graduação em Agronomia/Fitotecnia da UFC, Renato Inneco pela sua amabilidade em me atender, procurando solucionar com afincos meus problemas, de modo justo e humano.

Ao funcionário Deocleciano Xavier, da UFC, pela paciência e educação com que sempre me recepcionou.

Ao graduando em agronomia da Universidade Federal Rural da Amazônia-UFRA, Lucas Gatte pela ajuda na etapa inicial de execução desse trabalho.

Aos integrantes do Laboratório de Estudos da Biodiversidade em Plantas Superiores (EBPS) Bruno Maltarolo, Ellen Lima, Glauco Nogueira, Jéssica Martins, Karollyne Silva, Kérolem Cardoso, Tamires Borges, Thays Costa, Vítor Resende, Wander Ataíde, pela prontidão com que sempre me acompanharam nas análises bioquímicas e fisiológicas do meu experimento, pelas noites de sono perdidas no laboratório da UFRA, que durante um longo tempo tornou-se nossa casa, pela convivência agradável, pelas alegrias compartilhadas, pelo grande crescimento pessoal e profissional que cada um me proporcionou.

Ao integrante do LABFIV 1, da UFC, Elton Marques pelas correções e sugestões à dissertação mas, principalmente, pelo seu profissionalismo, retidão e pela sua simplicidade e gentileza para comigo, e pela maneira despreendida com que me transmitiu conhecimento.

Às integrantes do laboratório de Fisiologia Vegetal I e II Gyedre Araújo e Viviane Ruppenthal pela parceria e apoio.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela bolsa de mestrado a mim concedida, bem como pelo auxílio financeiro ao desenvolvimento dessa pesquisa.

A todas as pessoas que de qualquer forma contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho e que não foram supracitadas, o meu sincero agradecimento.

“Talvez não tenhamos conseguido fazer o melhor, mas lutamos para que o melhor fosse feito. Não somos o que deveríamos ser, não somos o que iremos ser... mas Graças a Deus, não somos o que éramos.”

(Martin Luther King)

RESUMO

Este trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos do silício (Si) em plantas de girassol submetidas à salinidade, estudando mecanismos fisiológicos e bioquímicos envolvidos. Para isso, sementes de girassol (cultivar Catissol 01) foram semeadas em bandejas de polietileno contendo uma mistura de areia lavada autoclavada e vermiculita, sendo mantidas em casa de vegetação. Sete dias após a semeadura (DAS), as plântulas foram transferidas para vasos com solução nutritiva de Hoagland. O início dos tratamentos ocorreu aos 28 DAS e a coleta das plantas foi realizada 14 dias depois. Foi utilizado um esquema fatorial 4×4 , em delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições, sendo os fatores constituídos por quatro concentrações de Si (0,0; 1,0; 1,5 e 2,0 mM) e quatro concentrações de NaCl (0, 50, 100 e 150 mM). A salinidade reduziu a altura e a matéria seca das plantas de girassol, mas a presença de Si no meio de crescimento reverteu tal efeito, resultando em plantas com maior altura e maior acúmulo de matéria seca, em comparação às aquelas não tratadas com esse nutriente, mesmo quando sob estresse salino. Além disso, o tratamento com Si induziu menor vazamento de eletrólitos nos tecidos foliares e radiculares e maior conteúdo relativo de água nas folhas das plantas sob estresse salino, o que pode ter sido causado pelo acúmulo de cristais de sílica nesses órgãos do vegetal. O Si crescente no meio de cultivo também induziu acúmulo de proteínas solúveis, prolina e N-aminossolúveis nos tecidos foliares e radiculares, e essa resposta relacionou-se ao maior conteúdo de nitrato e à maior atividade da redutase do nitrato, tanto nas folhas, quanto nas raízes das plantas tratadas com esse nutriente. Os danos oxidativos nas folhas e nas raízes de plantas de girassol foram parcialmente atenuados pelo tratamento com Si. De modo geral, a atividade das enzimas dismutase do superóxido, peroxidase do ascorbato e catalase foi aumentada nas plantas mantidas sob condições salinas e tratadas com Si. Assim, conclui-se que a aplicação de Si no meio de crescimento atenuou os efeitos da salinidade nas plantas de girassol, especialmente nas maiores concentrações de Si empregadas (2 mM), levando-as a se aclimatarem adequadamente a esse estresse, por meio de melhorias no estado hídrico da planta, do acúmulo de solutos orgânicos e de um sistema enzimático antioxidativo mais eficiente.

Palavras-chave: *Helianthus annuus*, estresse salino, metassilicato de sódio, enzimas antioxidantes.

ABSTRACT

The aim of the study was to evaluate the effects of silicon (Si) in sunflower plants subjected to salinity, studying physiological and biochemical mechanisms of the plant. Sunflower seeds (cv. Catissol 01) were sown in polystyrene trays containing a mixture of sands (washed with water and sterilized by autoclaving) and vermiculite, conducted in the greenhouse. In 7th days after sowing (DAS), the seedlings were transferred to pots containing the nutrient solution of Hoagland. The beginning of the treatments occurred at 28th DAS, and evaluations of plants were carried out 14th days later. It used a factorial scheme 4×4 , in a randomized design, with four replications, in which the factors consisted of four Si concentrations (0.0; 1.0; 1.5; and 2.0 mM) and four NaCl concentrations (0; 50; 100; and 150 mM). The salinity influenced the decrease in height and the dry matter of sunflower plants, but the presence of Si reversed this effect, resulting in taller plants and increased dry matter, compared to those not treated with this nutrient, even when subjected to saline stress conditions. As well as treatment with Si induced lower electrolyte leakage in leaf and root tissues and higher relative water content in the leaves of plants subjected to saline stress conditions, possibly, caused by the accumulation of silica crystals in these plant tissues. The increase in Si concentrations induced the accumulation of soluble proteins, proline, and N-amino solutes in leaf and root tissues, and this result is related to the higher nitrate content and higher activity of nitrate reductase in the leaves and roots of plants treated with silicon. Oxidative damage in leaves and roots of sunflower plants were partially reduced by treatment with Si. In general, the activity of the enzyme superoxide dismutase, ascorbate peroxidase and catalase was increased in plants subjected to saline stress conditions and treated with Si. Thus, the application of Si in vegetative growth decreased the effects of salinity on sunflower plants, especially, using higher concentrations of silicon (2 mM), allowing the plants to properly acclimate conditions of saline stress, through improvements in the relative water content of the plant, the accumulation of organic solutes and an antioxidant enzyme system more efficient.

Keywords: *Helianthus annuus*, salt stress, sodium metasilicate, antioxidant enzymes.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** – Altura, matéria seca da parte aérea, matéria seca das raízes e matéria seca total de plantas de girassol (*Helianthus annuus* L.) cultivadas em solução nutritiva, em função de concentrações crescentes de silício e de NaCl.....43
- Figura 2** – Conteúdo relativo de água de folhas de plantas de girassol (*Helianthus annuus* L.) cultivadas em solução nutritiva, em função de concentrações crescentes de silício e de NaCl.....47
- Figura 3** – Vazamento de eletrólitos em folhas e raízes de plantas de girassol (*Helianthus annuus* L.) cultivadas em solução nutritiva, em função de concentrações crescentes de silício e de NaCl.....48
- Figura 4** – Teores de proteínas solúveis em folhas e raízes de plantas de girassol (*Helianthus annuus* L.) cultivadas em solução nutritiva, em função de concentrações crescentes de silício e de NaCl.50
- Figura 5** – Teores de N-aminossolúveis em folhas e raízes de plantas de girassol (*Helianthus annuus* L.) cultivadas em solução nutritiva, em função de concentrações crescentes de silício e de NaCl.52
- Figura 6** – Teores de prolina em folhas e raízes de plantas de girassol (*Helianthus annuus* L.) cultivadas em solução nutritiva, em função de concentrações crescentes de silício e de NaCl.....54
- Figura 7** – Teores de carboidratos solúveis em folhas e raízes de plantas de girassol (*Helianthus annuus* L.) cultivadas em solução nutritiva, em função de concentrações crescentes de silício e de NaCl.56
- Figura 8** – Teores de nitrato em folhas e raízes de plantas de girassol (*Helianthus annuus* L.) cultivadas em solução nutritiva, em função de concentrações crescentes de silício e de NaCl.....58
- Figura 9** – Atividade da redutase do nitrato em folhas e raízes de plantas de girassol (*Helianthus annuus* L.) cultivadas em solução nutritiva, em função de concentrações crescentes de silício e de NaCl.60
- Figura 10** – Atividade da dismutase do superóxido, peroxidase do ascorbato e catalase em folhas e raízes de plantas de girassol (*Helianthus annuus* L.) cultivadas em solução nutritiva, em função de concentrações crescentes de silício e de NaCl.....62

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
1.1	Justificativa	14
1.2	Objetivos.....	16
1.2.1	<i>Objetivo geral</i>	16
1.2.2	<i>Objetivos específicos</i>	17
2	REVISÃO DE LITERATURA	18
2.1	O girassol	18
2.1.1	Aplicabilidade do girassol	18
2.2	Salinidade.....	20
2.2.1	<i>Salinidade para as plantas</i>	20
2.2.2	<i>Mecanismos de tolerância à salinidade</i>	22
2.2.3	<i>Salinidade, EROs e enzimas antioxidantes</i>	23
2.2.4	<i>Salinidade e metabolismo do nitrogênio</i>	25
2.3	O silício.....	26
2.3.1	Silício na planta e processos de absorção	27
2.3.2	Benefícios do silício às plantas	29
3	MATERIAL E MÉTODOS	33
3.1	Material vegetal e condições de cultivo.....	33
3.2	Solução nutritiva	33
3.2.1	<i>Concentrações salinas e de silício</i>	34
3.3	Coleta e armazenamento do material	34
3.4	Conteúdo relativo de água	35
3.5	Vazamento de eletrólitos	35
3.6	Solutos orgânicos	36
3.6.1	<i>Obtenção dos extratos</i>	36
3.6.2	<i>Carboidratos solúveis</i>	36

3.6.3	<i>N-aminossolúveis</i>	36
3.6.4	<i>Prolina livre</i>	37
3.7	Metabolismo do nitrogênio	37
3.7.1	<i>Redutase do nitrato in vivo</i>	37
3.7.2	<i>Nitrato</i>	38
3.7.2.1	<i>Obtenção do extrato</i>	38
3.7.3	<i>Proteínas solúveis</i>	39
3.7.3.1	<i>Obtenção do extrato</i>	39
3.8	Sistema antioxidante	39
3.8.1	<i>Extração</i>	39
3.8.2	<i>Dismutase do superóxido</i>	40
3.8.3	<i>Peroxidase do ascobarto</i>	40
3.8.4	<i>Catalase</i>	41
3.9	Delineamento experimental e análise estatística	41
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	42
4.1	Altura e matéria seca das plantas	42
4.2	Conteúdo relativo de água e vazamento de eletrólitos	46
4.3	Proteínas solúveis e solutos orgânicos	50
4.4	Teores de NO ₃ ⁻ e redutase do nitrato	57
4.5	Sistema antioxidante	61
5	CONCLUSÕES	61
6	REFERÊNCIAS	62

1 INTRODUÇÃO

1.1 Justificativa

O girassol (*Helianthus annuus* L.) é considerado uma das culturas anuais mais promissoras ao agronegócio em âmbito global, destacando-se como a quarta oleaginosa em produção de grãos, a quinta, em área cultivada no mundo, e a terceira em produção de óleo, ficando atrás somente da soja e colza (SILVA *et al.*, 2011; GAZOLLA *et al.*, 2011).

No mercado brasileiro, a demanda interna pelo óleo de girassol cresce em média 13% ao ano e, em função disso, nota-se um interesse governamental no que concerne aos incentivos agrícolas para essa cultura (CONAB, 2014). Além da necessidade de atender à indústria alimentícia, o Governo Federal tem promovido iniciativas para sua utilização na matriz energética nacional, tendo em vista que essa espécie representa uma das oleaginosas com maior potencial para a produção de biocombustíveis (SILVA *et al.*, 2007; CORRÊA *et al.*, 2008).

No entanto, as explorações agrícolas de culturas anuais no Brasil e no mundo são submetidas à diversos fatores bióticos e abióticos, potencialmente capazes de causar efeitos negativos no crescimento, no desenvolvimento, e conseqüentemente na produção (NASCIMENTO *et al.*, 2011). Dentre os fatores abióticos, a salinidade vem sendo constantemente relatada nas pesquisas como um dos principais fatores responsáveis pelo decréscimo da produtividade de espécies agrícolas.

O excesso de sais no solo atinge extensas faixas de terras no Brasil e no mundo. Segundo estimativas da FAO, 6% das terras aráveis e 20% das áreas irrigadas no globo são afetadas por esse problema. No Brasil, o nordeste do país apresenta aproximadamente 30% das áreas irrigadas afetadas pela salinidade (AGUIAR NETTO *et al.*, 2007; FAO, 2008). As características climáticas dessa região, como elevadas taxas evapotranspiratórias e baixas precipitações pluviométricas, favorecem os processos de acúmulo de sais no solo (MEDEIROS, 2010). Somado a esses fatores está o manejo inadequado do solo e da água que contribui significativamente para o aumento desse problema na região.

A salinidade promove déficit hídrico devido à osmolaridade da solução do solo, que resulta em seca fisiológica às plantas, mesmo quando o solo encontra-se úmido. O acúmulo de íons tóxicos no protoplasma, principalmente Na^+ e Cl^- , causa desbalanço iônico, desordens metabólicas e nutricionais, com redução dos processos de crescimento vegetal (TOBE; OMASA, 2000; MØLLER; JENSEN; HANSSON, 2007).

Para garantir a sua sobrevivência em condições ambientais desfavoráveis, as plantas acumulam solutos compatíveis, que aumentam a habilidade das células em reter a água sem afetar o metabolismo normal (HAMILTON; HECKATHORN, 2001). No entanto, os mecanismos de tolerância à salinidade também envolvem processos complexos de transporte iônico, síntese molecular e indução enzimática (TAIZ; ZEIGER, 2013).

Os mecanismos enzimáticos envolvem a remoção das espécies reativas de oxigênio (EROs) como: o radical superóxido ($\cdot\text{O}_2^-$), o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e o radical hidroxil ($\cdot\text{OH}$). Esses compostos são subprodutos do metabolismo celular aeróbico e dos processos fotooxidativos, que se acumulam nas células vegetais em condições de estresse salino promovendo danos ao DNA, às proteínas, aos lipídios de membrana causando inativação de diversas enzimas (NOCTOR; FOYER, 1998; MØLLER; JENSEN; HANSSON, 2007).

As principais enzimas envolvidas no mecanismo de defesa antioxidante são a dismutase do superóxido (SOD; E.C. 1.15.1.1), a catalase (CAT; E.C. 1.11.1.6), a peroxidase do ascorbato (APX; E.C. 1.11.1.11), muito embora outras enzimas também contribuam para a eliminação das EROs, ainda que, de forma indireta, como a redutase da glutatona (GR; E.C. 1.8.1.7) que juntamente com a APX, compõem o ciclo ascorbato-glutatona (ASC-GSH) (FOYER; NOCTOR, 2005; GILL; TUTEJA, 2010).

A SOD é responsável pela dismutação do $\cdot\text{O}_2^-$ em H_2O_2 e O_2 . As enzimas CAT e APX regulam os níveis intracelulares de H_2O_2 , em que a primeira dessas enzimas atua na conversão do peróxido de hidrogênio em H_2O e O_2 , e a segunda, elimina o H_2O_2 dos compartimentos celulares, protegendo-os contra os efeitos potencialmente danosos dessa ERO (ALSCHER; ERTURK; HEATH, 2002; FOYER; NOCTOR, 2005; GILL; TUTEJA, 2010; GILL *et al.*, 2013). O aumento da atividade enzimática em condições de estresse, como o induzido por excesso de sais, apresenta-se como um mecanismo regulatório das plantas na tolerância à salinidade (XU *et al.*, 2013).

A literatura tem apontado o silício como um elemento químico que potencializa as respostas do vegetal tanto a estresses bióticos quanto abióticos (HASHEMI *et al.*, 2010). Esse nutriente aparece como o segundo elemento mais abundante na crosta terrestre, ocorrendo em quantidades equivalentes às dos macronutrientes, em espécies de gramíneas (EPSTEIN, 1999).

Embora não tenha sido comprovada a essencialidade do Si, ele influencia as taxas de absorção e translocação de vários micronutrientes, promove a maior resistência ao acamamento e reduz o ataque por pragas e doenças em inúmeras culturas (BYBORDI, 2012;

GUNTZER *et al.*, 2012; ALI *et al.*, 2013; THILAGAM, 2014). Em condições de estresse salino, o Si ameniza os efeitos de toxidez induzidos por excesso de Na^+ nos compartimentos celulares e, ainda, pode aumentar a capacidade de defesa antioxidante em várias espécies vegetais, mediante o aumento da atividade de enzimas correlacionadas com o mecanismo de defesa das plantas (EPSTEIN; BLOOM, 2005; GRATÃO *et al.*, 2005; ASHRAF *et al.*, 2010).

Em virtude disso, um vasto número de pesquisas vem sendo realizadas com culturas acumuladoras de silício, dentre elas, espécies da família Poaceae, principalmente (SHI *et al.*, 2013). No entanto, são raros os estudos que apontam os efeitos fisiológicos e bioquímicos do silício no que se refere à redução da ação tóxica de íons como Na^+ e Cl^- , para as espécies vegetais, que compõem a classe das dicotiledôneas especialmente, àquelas pertencentes à família Asteraceae, como o girassol.

O girassol é uma espécie moderadamente tolerante à salinidade, e que sofre redução progressiva dos parâmetros agronômicos com o aumento da concentração de sais no meio radicular. Para se obter êxito na implantação dessa oleaginosa em áreas do Nordeste, constantemente são realizados estudos à nível genético em que se busca a seleção de genótipos mais adaptados aos ambientes salinos. No entanto, são escassas as pesquisas que correlacionam às modificações bioquímicas e fisiológicas promovidas por elementos químicos utilizados na nutrição mineral de plantas, os quais asseguram o estabelecimento das espécies agrícolas em condições adversas. Sendo assim, o uso do silício constitui uma alternativa para aumentar a capacidade das espécies vegetais de sobreviverem em áreas comprometidas pelo excesso de sais. Desse modo, busca-se a compreensão dessas respostas no mecanismo antioxidante e na aclimação de plantas de girassol à salinidade induzida pelo silício.

1.2 Objetivos

1.2.1 Objetivo geral

Estudar alterações fisiológicas e bioquímicas promovidas pelo estresse salino em plantas de girassol (*Helianthus annuus* L.) e investigar o papel do silício na indução da aclimação dessa espécie à salinidade.

1.2.2 Objetivos específicos

Utilizando-se como material vegetal a variedade de girassol Catissol 01, pretende-se avaliar os efeitos de concentrações crescentes de silício, na forma de metassilicato de sódio (Na_2SiO_3):

- na altura e na matéria seca da parte aérea, das raízes e total das plantas em condições crescentes de salinidade;
- no estado hídrico de folhas das plantas em condições crescentes de salinidade;
- no vazamento de eletrólitos em folhas e raízes das plantas, em condições crescentes de salinidade;
- nos teores de solutos orgânicos (N-aminossolúveis, prolina e carboidratos solúveis) e de proteínas solúveis, em folhas e raízes das plantas em condições crescentes de salinidade;
- no metabolismo do nitrogênio, por meio da determinação da atividade da enzima redutase do nitrato e dos teores de nitrato em folhas e raízes das plantas em condições crescentes de salinidade;
- e na atividade das enzimas antioxidantes SOD, APX e CAT, em folhas e raízes das plantas em condições crescentes de salinidade.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 O girassol

O girassol (*Helianthus annuus* L.) é uma planta dicotiledônea anual originária do norte do México e sudoeste dos Estados Unidos (CASTRO; FARIAS, 2005; ZOBIOLE *et al.*, 2010), pertencente à ordem Asterales, família Asteraceae, sub-família Asteroideae gênero *Helianthus* e espécie *Helianthus annuus*. O gênero *Helianthus* compreende 49 espécies, dentre as quais, 12 são anuais e 37 perenes, com ciclo vegetativo variando entre 65 e 155 dias (JOLY, 1993).

Como característica peculiar, o girassol apresenta as flores reunidas em inflorescências denominadas capítulos (CASTRO; FARIAS, 2005). Na inflorescência, os frutos são complexos, secos, indeiscentes, uniloculares, com uma única semente ligada ao pericarpo pelo funículo, proveniente de um ovário ínfero, denominado de cipsela (MARZINEK *et al.*, 2008).

O desenvolvimento do girassol é baseado em estádios: vegetativo (V) e reprodutivos (R). Os estádios V são subdivididos em (V₁, V₂, V₃, V₄... V_n), determinados, dentre outros fatores, pelo número de folhas com comprimento maior que 4 cm, medidos da base à extremidade foliar (SCHNEITER; MILLER, 1981). São apontados nove estádios R, em que o primeiro deles (R1) é caracterizado pelo surgimento do botão floral; nos estádios R finais, ocorre o enchimento dos grãos (R7 e R8) e a maturação fisiológica (R9) (BLANCHET, 1994).

2.1.1 Aplicabilidade do girassol

O girassol apresenta ampla utilização. É uma forragem de excelente qualidade, usada na alimentação do gado, e a planta inteira pode ser aproveitada como adubo verde. Seus aquênios *in natura* servem como alimento para aves. Além disso, essa espécie é utilizada como matéria-prima pelas indústrias farmacêuticas, melíferas e pela indústria alimentícia, para a fabricação de óleo vegetal de excelente qualidade nutricional (NOBRE, 2010).

O girassol é considerado uma das culturas mais promissoras ao agronegócio, destacando-se como a quarta oleaginosa em produção de grãos e a quinta em área cultivada no mundo. A produção mundial na safra 2013/2014 foi de aproximadamente 48,3 milhões de toneladas de grãos, 16,7 milhões de toneladas de farelo e 15,9 milhões de toneladas de óleo.

Esses resultados foram 20,2%, 16,6% e 17,8% superiores àqueles obtidos na safra de 2012/2013. Ucrânia, Rússia e Argentina despontam como os maiores produtores mundiais de óleo de girassol (CONAB, 2014).

O girassol representa uma das três mais importantes culturas anuais produtoras de óleo em escala global (CONAB, 2014). A valorização do óleo de girassol é atribuída, dentre outros aspectos, às suas propriedades organolépticas e por ser rico em ácidos graxos polinsaturados e em vitamina E, além da alta digestibilidade de suas proteínas (GROMPONE, 2005). Somado a isso, a cultura apresenta bom rendimento em óleo, com estimativas de 0,5 a 1,9 t de óleo ha⁻¹ e percentuais correspondentes de 30% a 50%, sendo esses valores encontrados principalmente nos aquênios (BRASIL, 2005; LIRA *et al.*, 2011).

O girassol desponta, ainda, como uma das principais oleaginosas com potencial para compor a matriz energética. Ele está entre as 48 espécies autorizadas para a comercialização do biodiesel, tendo em vista sua capacidade de produção diária de óleo, que chega a 11.823,83 m³/dia (ANP, 2009). Esse comércio foi fortalecido pelos incentivos do Governo Federal, através do Programa Nacional de Produção e Uso de Biodiesel (PNPB), lançado em 2004, pelo qual ficou determinada a mistura obrigatória de 2% de biodiesel ao diesel fóssil e, em 2010, esse percentual foi elevado para 5% (ANP, 2014).

Apesar da sua participação em diversos setores da economia, e da crescente demanda pelos produtos de girassol, em âmbito global e nacional, a atuação brasileira ainda não é tão expressiva, contribuindo com apenas 0,5% na produção mundial de grãos dessa oleaginosa, ainda que sejam notórias as frentes de expansão com a cultura no país. Segundo levantamento da Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB), a produção nacional de girassol na safra de 2014 foi de 247,0 mil toneladas de grãos, sendo 125,4% superior à safra anterior. Desse montante, a região Centro Oeste desponta como o principal pólo de produção nacional, seguida pelas regiões Sudeste e Sul. As regiões Nordeste e Norte ainda aparecem como áreas em potencial para o cultivo dessa oleaginosa (CONAB, 2014).

O cultivo do girassol em diversas regiões do país é possível devido às suas características agrônômicas favoráveis, tais como ampla adaptabilidade climática, alta tolerância ao frio nas fases iniciais de desenvolvimento vegetativo, ao calor e à seca, além de ser pouco influenciada pela latitude, altitude e pelo fotoperíodo, e por apresentar alto rendimento em grãos (LEITE, 2007; ZOBIOLE *et al.*, 2010; ALBUQUERQUE *et al.*, 2011).

Nos últimos anos, vem se apresentando como opção de rotação e sucessão de culturas nas regiões produtoras de grãos, especificamente nos estados de Mato Grosso e Goiás. O Nordeste brasileiro vem testando o girassol com grande possibilidade de sucesso,

particularmente no que confere à pequena propriedade. Os agricultores agregam valor por meio da extração mecânica do óleo de girassol, de forma rústica e acessível aos produtores, o que garante a sustentabilidade da agricultura familiar (EMBRAPA, 2010).

2.2 Salinidade

2.2.1 Salinidade para as plantas

A salinidade é um fator limitante para o desenvolvimento e a produtividade das espécies vegetais; no entanto, dependendo do genótipo, do tipo de sal, do tempo de exposição, e do estágio fenológico da planta, as respostas ao estresse salino podem variar. Tais respostas envolvem alterações morfológicas, fisiológicas e bioquímicas. Processos como a fotossíntese, a respiração e a síntese de proteínas são afetados pelo estresse salino, bem como, as reações enzimáticas e as relações hídricas também são alteradas (PARIDA; DAS, 2005; CARMONA *et al.*, 2011; WILLADINO *et al.*, 2011, SCIVITTARO *et al.*, 2012).

Um dos efeitos mais imediatos do estresse por NaCl envolve a redução considerável no crescimento e no desenvolvimento vegetal. Essa alteração é decorrente do efeito iônico ou osmótico ou ambos, promovidos pelo excesso de sais (MUNNS; TESTER, 2008; SILVEIRA *et al.*, 2010; HASEGAWA, 2013).

Os efeitos iônicos resultam da elevada absorção de íons, particularmente os íons Na^+ e Cl^- que alteram a homeostase iônica das células, a qual é essencial para a atividade de muitas enzimas e para a manutenção do potencial de membrana celular (YU; WANG; WANG, 2012). Por outro lado, os efeitos osmóticos decorrem do menor potencial hídrico do ambiente radicular diminuem a disponibilidade de água aos tecidos celulares, limitando dessa forma as etapas de crescimento e expansão celulares (MUNNS; TESTER, 2008; DIAS; BLANCO, 2010; PRISCO; GOMES-FILHO, 2010).

Altas concentrações de sais no meio radicular podem elevar a pressão do solo a níveis que as plantas não conseguem mais superar o potencial osmótico do solo e, como consequência, a absorção de água é drasticamente reduzida. Em função disso, a planta sofre estresse hídrico, mesmo quando o solo encontra-se úmido, sendo esse processo também denominado seca fisiológica (DIAS; BLANCO, 2010; PRISCO; GOMES-FILHO, 2010).

A água nas células vegetais tem a importante função de gerar a pressão de turgescência, o que é fundamental para que ocorra a divisão e a expansão celulares, e, sob estresse salino, esse processo é drasticamente reduzido. Como consequência imediata, há

redução no crescimento, menor área de superfície foliar e diminuição das gemas e ramos laterais, sendo esses resultados mais pronunciados em espécies sensíveis ao excesso de sais (ALVES *et al.*, 2011; TAIZ; ZEIGER, 2013).

Internamente os íons Na^+ e Cl^- podem ser transportados para a parede celular, o que pode causar por sua vez a desidratação da célula (DIAS; BLANCO, 2010; AMORIM *et al.*, 2010; ISLÃ; ARAGUÉS, 2010). O acúmulo de íons sódio e cloreto em excesso nas células podem causar na planta danos por toxicidade, quando não excluídos ou compartimentados no vacúolo (WILLADINO *et al.*, 2011; ULRICH *et al.*, 2014). Além disso, o aumento na concentração desses íons no citoplasma interfere negativamente no funcionamento de algumas proteínas, compromete a integridade das membranas e limita a absorção, o transporte, a assimilação e a distribuição de nutrientes, necessários ao desenvolvimento vegetal (GRATTAN; GRIEVE, 1999; MUNNS; TESTER, 2008).

O Na^+ , quando acumulado nos tecidos vegetais em concentrações acima de 100 mM, é potencialmente tóxico, promovendo o desbalanço iônico e desregulando o estado nutricional da planta, por inibir a absorção de K^+ , devido à similaridade química desses dois íons, aumentando, dessa forma, a relação Na^+/K^+ no meio intracelular (BLUMWALD *et al.*, 2000; HORIE; SHOEDER, 2004). O acúmulo de íons Na^+ e Cl^- promove altas relações de $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$, Na^+/K^+ e $\text{Cl}^-/\text{NO}_3^-$, o que decorre do efeito de competição entre esses íons pelos mesmos transportadores (GRATTAN; GRIEVE, 1999; YOSHIDA, 2002; WEST *et al.*, 2004; MEDEIROS, 2010; SILVA *et al.*, 2010; HASEGAWA, 2013).

A homeostase iônica deve envolver a exclusão de Na^+ do citosol para o meio externo e sua compartimentação no vacúolo, a fim de manter uma alta relação K^+/Na^+ e o balanço hídrico entre o meio externo, o citosol, as organelas nele mergulhadas e o vacúolo (GRATTAN; GRIEVE, 1999; BLUMWALD *et al.*, 2000; MILLER *et al.*, 2007; ZHAO *et al.*, 2007).

Em condições não salinas, as plantas mantêm elevadas concentrações de K^+ (100-200 mM) e baixas concentrações de Na^+ (0-10 mM) no citosol (BLUMWALD *et al.*, 2000). Essa situação é essencial aos processos fisiológicos das plantas, pois o Na^+ é inibidor de várias enzimas citoplasmáticas, enquanto que o K^+ , que é um íon móvel, é essencial à manutenção do balanço osmótico e no controle estomático, atuando como co-fator enzimático e auxiliando na ascensão capilar do NO_3^- no xilema (MUNNS; TESTER, 2008; TURKAN, 2011; TAIZ; ZEIGER, 2013). Em adição, Munns e Tester (2008) afirmam que a absorção de nutrientes minerais, especialmente NO_3^- , K^+ e Ca^{2+} , é severamente afetada em função das altas taxas de NaCl no solo.

2.2.2 Mecanismos de tolerância à salinidade

As espécies vegetais diferem quanto à tolerância à salinidade. Algumas delas, as halófitas, demandam de um ambiente salino para que seu ciclo de vida seja completado, enquanto outras, como as glicófitas, apresentam seus mecanismos fisiológicos e bioquímicos drasticamente afetados pelos sais. No entanto, a maioria das culturas tem os estádios de crescimento e de desenvolvimento significativamente comprometidos quando a condutividade elétrica do extrato de saturação do solo é superior a $3,0 \text{ dS m}^{-1}$ (CHINNUSAMY; JAGENDORF; ZHU, 2005).

Durante o seu processo evolutivo, as plantas desenvolveram mecanismos de adaptação e ou tolerância à salinidade e, dentre eles, está o ajustamento osmótico, mediante o acúmulo de íons, principalmente os tóxicos, no vacúolo e de solutos orgânicos no citosol, os quais, não interferem no metabolismo celular mesmo estando em altas concentrações (PRISCO; GOMES-FILHO, 2010; CHIRAZ *et al.*, 2012; ASHRAF; HARRIS, 2013). Esses solutos são hidrofílicos e podem desempenhar papel protetor na estrutura de proteínas citoplasmáticas e daquelas associadas às membranas. Além disso, protegem as macromoléculas da célula contra a ação deletéria das EROs (HASEGAWA *et al.*, 2000; BOTELA *et al.*, 2005; GUPTA; HUAN, 2014).

O papel dos osmólitos parece envolver a redução do potencial hídrico da folha, órgão mais sensível à percepção do estresse, sem que ocorra a redução do potencial de turgescência celular. Esses solutos baixam o potencial osmótico por terem alta solubilidade em água, ausência de carga líquida em pH neutro e baixa massa molecular (CHIRAZ *et al.*, 2012; GUPTA; HUAN, 2014).

Os solutos que mais comumente participam do ajustamento osmótico são os aminoácidos, dentre eles, a prolina, os compostos quaternários de amônio, como a glicina betaína, os carboidratos solúveis e os poliálcoois (HARE *et al.*, 1998; MANSOUR, 2000; ASHRAF; HARRIS, 2013; CHANG, *et al.*, 2014).

A resposta vegetal ao menor potencial hídrico decorrente da salinidade é promovida, também, por meio de alterações na condutância estomática. O fechamento dos estômatos minimiza as perdas de água pelo processo transpiratório, mas, por outro lado, limita o fornecimento de CO_2 à carboxilase/oxigenase da ribulose-1,5-bisfosfato (rubisco) e a sua entrada nos cloroplastos (ASHRAF; HARRIS, 2013; OZGUR *et al.*, 2013). Desse modo, as reações de carboxilação são assim significativamente reduzidas, predispondo a uma baixa regulação fotossintética, com consequente diminuição na síntese de carboidratos e declínio na

produtividade das culturas (CHAVES; FLEXAS; PINHEIRO, 2008; GARCIA *et al.*, 2010; WILLADINO; CAMARA, 2010). Portanto, considera-se que tanto mecanismos estomáticos, quanto não estomáticos resultantes do efeito tóxico das concentrações salinas podem induzir a um decréscimo na eficiência do fotossistema II (ASHRAF; HARRIS, 2013).

Os mecanismos de tolerância das plantas à salinidade envolvem, ainda, a regulação nos processos de absorção de íons pelas raízes, bem como, o seu transporte para as partes aéreas; alterações na estrutura de membrana; modificações nas vias relacionadas à fotossíntese líquida; indução do balanço hormonal e da expressão de enzimas antioxidantes. De forma isolada ou em conjunto, essas alterações nas vias bioquímicas e fisiológicas das plantas, promovem o restabelecimento da homeostase celular e a retomada do crescimento vegetal (BOTELLA *et al.*, 2005; PARIDA; DAS, 2005; MUNNS; TESTER, 2008).

2.2.3 Salinidade, EROs e enzimas antioxidantes

As menores concentrações de CO_2 implicam menor disponibilidade de nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato na forma oxidada (NADP^+), que constitui um aceptor de elétrons no fotossistema I. Sendo assim, ocorre um efeito competitivo entre o oxigênio e o NADP^+ com agentes redutores, o que gera as EROs, tais como o oxigênio singlet ($^1\text{O}_2$), o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), o radical superóxido (O_2^-) e o radical hidroxil (OH^\cdot) (NABATI, *et al.*, 2011; RISHI; SNEHA, 2013).

No estado molecular, o O_2 é pouco reativo. No entanto, o processo de absorção da energia radiante nos tilacóides, bem como a maneira de receber elétrons altera seu estado fundamental. As EROs são geradas a partir da redução parcial do O_2 , em que a energia de excitação transmitida ao O_2 altera consideravelmente sua capacidade reativa. Desse modo, o oxigênio singlet $^1\text{O}_2$ é gerado no fotossistema II e no complexo antena contíguo, através da excitação de suas clorofilas contituíntes. O $^1\text{O}_2$ apresenta ampla capacidade de se difundir para o interior das células e causar danos ao fotossistema II e aos constituintes das membranas dos tilacóides (SCANDALIOS, 2000; GILL; TUTEJA, 2010). As espécies reativas a serem formadas dependem, no entanto, da quantidade de elétrons aceitos pelo O_2 . Assim, podem ser formados o radical superóxido O_2^- , o peróxido de hidrogênio H_2O_2 e o radical hidroxil OH^\cdot , à medida em que são aceitos um, dois e três elétrons, respectivamente (SCANDALIOS, 2000).

As EROs são geradas durante as etapas bioquímicas normais das células, sendo os cloroplastos, mitocôndrias e peroxissomos, os principais locais de produção (AZEVEDO;

GOMES-FILHO; PRISCO, 2008; VOSS *et al.*, 2013). As reações no Fotossistema I, em que os elétrons são transferidos da ferredoxina imediatamente para o O₂ (reação de Mehler) em detrimento da redução pelo NADP⁺ são responsáveis pela geração do [•]O₂⁻, nos cloroplastos. Esse radical livre apresenta reatividade seletiva a alguns componentes celulares, sendo altamente reativa a proteínas, em particular, as que apresentam átomos de Fe e S. No entanto, no que diz respeito aos carboidratos e lipídeos, essa ERO apresenta baixa ou nenhuma reatividade (GILL; TUTEJA, 2010).

O H₂O₂ é formado nos mesmos sítios celulares que o [•]O₂⁻. Quando em alta concentração na célula, inibe a fixação de carbono, uma vez que muitas enzimas do ciclo de Calvin são extremamente sensíveis a ele (SCANDALIOS, 2000). Essa ERO é capaz de romper as membranas celulares e causar danos ao DNA. A literatura aponta que o [•]O₂⁻ e o H₂O₂ ativam uma sequência de reações, que têm início com a reação de Haber-Weiss e que levam à formação do radical [•]OH e de outras espécies potencialmente mais tóxicas ao metabolismo celular (BOWLER *et al.*, 1992).

As EROs danificam o metabolismo celular, causam, dentre outros problemas, a fotoinibição, a fotooxidação nos cloroplastos, a inativação de enzimas, a degradação de pigmentos fotossintéticos e a peroxidação lipídica de membranas celulares, além de danos ao DNA (CHAVES; FLEXAS; PINHEIRO; 2008; WILLADINO *et al.*, 2011; ASHRAF, 2013).

A toxicidade das EROs à maquinaria bioquímica das plantas está diretamente relacionada à sua concentração. Em condições normais, as EROs atuam como moléculas sinalizadoras em diversos processos celulares e, deste modo, auxiliam o vegetal nas respostas a estresses bióticos e abióticos (FINKEL, 2003). No entanto, para evitar a toxicidade das EROs, é necessário que haja um balanço adequado entre sua síntese e sua eliminação. Sob condições de estresse, como as induzidas por salinidade, há acúmulo desses compostos nos compartimentos celulares, o que causa o estresse oxidativo, que é definido como um desbalanço na relação entre compostos antioxidantes e oxidantes, em que, estes últimos são consideravelmente aumentados (FINKEL, 2003; AZEVEDO; GOMES-FILHO; PRISCO, 2008).

Para evitar os danos oxidativos, as plantas apresentam mecanismos antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos de eliminação das EROs, sendo uma maneira de manter esses compostos em concentrações não tóxicas ao metabolismo celular (MOLLER *et al.*, 2007). Dentre as enzimas antioxidantes envolvidas na detoxificação das EROs, destacam-se a dismutase do superóxido (SOD; E.C. 1.15.1.1), a catalase (CAT; E.C. 1.11.1.6) e a peroxidase do ascorbato (APX; E.C.1.11.1.11). Essas enzimas convertem os compostos

potencialmente danosos ao metabolismo vegetal em H_2O e O_2 (MUNNS; TESTER, 2008; WANG *et al.*, 2013; GILL, *et al.*, 2013).

A SOD é considerada a primeira enzima da linha de frente contra o estresse oxidativo, sendo responsável pela dismutação do $\cdot O_2$ em H_2O_2 e O_2 . É uma metaloproteína e apresenta três isoformas A Cu/Zn-SOD é encontrada no estroma dos cloroplastos e no citosol; a Mn-SOD é encontrada tanto nas mitocôndrias, quanto nos peroxissomos, e a Fe-SOD, principalmente nos cloroplastos (ALSCHER *et al.*, 2002).

A CAT converte o peróxido de hidrogênio em H_2O e O_2 , e por isso, é considerada como a principal enzima responsável pela manutenção de níveis ideais de H_2O_2 no metabolismo vegetal. Os sítios de atuação dessa enzima são peroxissomos e glioxissomos, sendo assim, atua na conversão do peróxido de hidrogênio gerado durante a conversão do glicolato em glioxilato durante a fotorrespiração, bem como inativa o H_2O_2 formado durante a oxidação dos ácidos graxos (IGAMBERDIEV; LEA, 2002).

A APX é também uma importante enzima de defesa de tecidos fotossintéticos contra o estresse fotooxidativo. Além destes locais, ela pode também ser encontrada no citosol das células não fotossintetizantes, atuando na redução dos níveis de EROs. Tal como a CAT, ela degrada o H_2O_2 , e para isso, utiliza o ascorbato como substrato enzimático (ASADA, 1999).

2.2.4 Salinidade e metabolismo do nitrogênio

De acordo com Taiz e Zeiger (2013), o desenvolvimento das plantas apresenta elevada relação com o suprimento de nitrogênio, principalmente porque esse nutriente participa diretamente do metabolismo vegetal, atuando como constituinte da molécula de clorofila, ácidos nucleicos, aminoácidos e proteínas.

O nitrato (NO_3^-) é a principal forma nitrogenada absorvida pelas plantas, sendo sua absorção mediada por processos ativos intermediados por co-transportadores de alta e baixa afinidade (MILLER *et al.*, 2007). As plantas o assimilam em compostos orgânicos sendo, no entanto, necessária a ocorrência de reações de redução. Nas etapas primárias, após sua absorção pelos vegetais, a redutase do nitrato (RN) cataliza a reação de redução do NO_3^- à nitrito (NO_2^-) no citosol, utilizando o NADH e/ou NADPH como doadores de elétrons (TAIZ; ZEIGER, 2013). O NO_2^- gerado, é transportado para os cloroplastos (folhas) e plastídios (raízes) em que, nestes compartimentos celulares, é reduzido à amônio (NH_4^+), pela enzima redutase do nitrito (ABD- ELBAKI *et al.*, 2000).

As reações de sequência assimilatória de incorporação do N em compostos nitrogenados ainda envolvem duas enzimas diretamente correlacionadas com a conversão do amônio a aminoácidos. A primeira delas, a sintetase da glutamina (GS), que catalisa a reação do amônio com o glutamato para formar a glutamina; a segunda, a sintase do glutamato (GOGAT), que produz o glutamato por meio da transferência do grupo amida da glutamina para o 2-oxo-glutarato, produzindo, desse modo, duas moléculas de glutamato (TAIZ; ZEIGER, 2013).

O estresse salino afeta o metabolismo do nitrogênio, alterando a atividade da RN e de enzimas relacionadas, como a redutase do nitrito, a GOGAT dependente de NADH (NADH-GOGAT) e a GOGAT do tipo dependente de ferredoxina (Fd-GOGAT). Dessa forma, a síntese de aminoácidos e proteínas é comprometida levando à diminuição da produção de biomassa vegetal e à perda de produtividade das culturas (GOUIA *et al.*, 1994; FLORES *et al.*, 2001; DEBOUBA *et al.*, 2007; CARILLO *et al.*, 2008). Essas alterações são decorrentes das mudanças osmóticas, devido à diminuição da taxa transpiratória, o que reduz a absorção do NO_3^- , e iônicas, decorrentes do efeito de competição deste íon com o Cl^- (DEBOUBA *et al.*, 2007; MOLLER ; JENSEN; HANSSON, 2007).

A habilidade das plantas em sobreviver e manter o seu crescimento sob condições salinas é conhecido como tolerância ao sal, o que depende da ativação de vias bioquímicas que permitam o acúmulo de água nos tecidos vegetais, protegendo dessa forma as atividades fotossintéticas e preservando a homeostase osmótica e iônica (ESTEVES; SUZUKI, 2008). Esses mecanismos são fundamentais para que as espécies agrícolas apresentem melhores rendimentos, mesmo quando cultivadas em regiões áridas e semiáridas salinizadas.

2.3 O silício

O silício é o segundo elemento mais abundante da crosta terrestre, representando 27% em massa, sendo superado apenas pelo oxigênio (EPSTEIN, 1999; GONG *et al.*, 2006). Nas rochas terrestres, chega a representar 87% em massa. Nas rochas ígneas e metamórficas, 80% delas são constituídas por silicatos (sais em que a sílica encontra-se em formas combinadas); percentual menor é encontrado nas rochas sedimentares (JONES; HANDRECK, 1967). Apresenta-se em elevadas concentrações, mesmo em sais nutrientes, água e ar altamente purificado (WERNER; ROTH, 1983).

Conforme Reis *et al.*, (2007), o Si, não é encontrado na forma elementar na natureza. Devido a sua afinidade pelo oxigênio, forma óxidos de silício (SiO_2) que é a base da

estrutura da maioria dos argilominerais, compreendendo entre 50% e 70 % em massa no solo, razão pela qual, plantas cultivadas apresentam teores consideráveis de Si nos tecidos. Apresenta-se associado a outros elementos químicos, como Mg, Ca, Fe, K.

O acúmulo de Si nos solos é resultante, em parte, dos processos de decomposição dos resíduos vegetais, dissociação do ácido silícico e liberação do silício dos óxidos e hidróxidos de Fe e Al, processos estes que se constituem em fontes naturais desse nutriente para as plantas (EPSTEIN, 1999). No entanto, os processos de lixiviação da solução do solo e/ou sua adsorção a óxidos e hidróxidos de Fe e Al constituem-se em drenos, os quais reduzem a concentração de Si do meio de cultivo (LIMA FILHO *et al.*, 1999). A intemperização dos solos também contribui para essas reduções, em que as quantidades do mineral podem chegar a valores menores que 2 mg kg^{-1} (BRADY, 1992). Para Snyder (1991), solos com teores abaixo de 10 mg dm^{-3} de Si são considerados deficientes, portanto, devem receber adubação silicatada. Sendo assim, em razão do avançado grau de intemperização em que se encontram os solos tropicais, o Si é encontrado basicamente na forma de opala e quartzo ($\text{SiO}_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$) e outras formas não-disponíveis às plantas (KORNDÖRFER, 2007).

No solo, o Si ocorre principalmente como: a) ácido monossilícico, também denominado de ácido ortossilícico ou simplesmente ácido silícico [H_4SiO_4 ou $\text{Si}(\text{OH})_4$]. Essa forma disponível do ácido, não dissociada, é encontrada predominantemente em solos com pH 7,0 que é devido a sua constante de dissociação ($\text{pK}_1 = 9,6$) e solubilidade média correspondente a 0,1 a $0,6 \text{ mmol L}^{-1}$; b) o Si pode ainda ser encontrado no solo como mineral silicatado- cristalino ou amorfo; c) ou pode ainda, estar adsorvido ou precipitado com óxidos de ferro e alumínio (JONES; HANDRECK, 1967; RAVEN, 1983; EPSTEIN, 1999).

2.3.1 Silício na planta e processos de absorção

As plantas absorvem o silício da solução do solo na forma de ácido monossilícico (H_4SiO_4). A dissolução do silício na forma monomérica ocorre através da membrana, podendo acontecer via apoplasto ou simplasto. Após o ácido silícílico ser absorvido pelas raízes, ocorre seu fluxo ascendente pelo xilema até a parte aérea. Esse processo pode ser estimulado, dentre outros fatores, pelo aumento da taxa transpiratória. No entanto, é importante destacar que nem sempre pode haver essa correspondência com o processo de transpiração, podendo sua absorção ser de um processo ativo desencadeado pelo estímulo à proteção contra estresses, como os induzidos por salinidade, doenças etc. (JONES; HANDRECK, 1967; CHIBA *et al.*, 2009).

Em girassol, o ácido monossilícico deposita-se como sílica amorfa ou opala biogênica ($\text{SiO}_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$), inicialmente nos tecidos mais jovens e posteriormente nos tecidos senescentes; ou como um sólido imóvel, na forma de sílica polimerizada (SiO_2) em que forma complexos com polifenóis de grande estabilidade e baixa solubilidade. No apoplasto, a maior parte do silício encontra-se na forma polimerizada (99%), e apenas (1%) na forma coloidal ou iônica (JONES HANDRECK, 1967; DAYANANDUN; KAUFMAN; FRANKIN, 1983; MA; YAMAJI, 2008).

Em espécies dicotiledôneas, quando a concentração de silício excede 2 mM no xilema, ocorre a sua polimerização nos espaços extracelulares, porém, em plantas como trigo e arroz, essa concentração é significativamente maior, e nas quais predomina a forma monomérica do ácido monossilícico (MA; YAMAJI, 2008; LIANG *et al.*, 2006).

Seguindo o fluxo transpiratório, o $\text{SiO}_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ deposita-se nas paredes das células epidérmicas das folhas e dos vasos do xilema (FAWE *et al.*, 2001). Os maiores acúmulos ocorrem nas paredes celulares mais externas das folhas (71%), quando comparadas às raízes, caule ou colmo, em que são apontadas taxas de acumulação de 13%, 10% e 6%, respectivamente. Essa distribuição e concentração dependem, dentre outros fatores, do desenvolvimento e maturação celular dos tecidos, e da espécie vegetal (FAWE *et al.*, 2001).

As plantas diferem na capacidade de absorver silício, o que é em parte atribuído à peculiaridades da membrana plasmática e às concentrações desse nutriente no meio externo (LIANG *et al.*, 2006; MA; YAMAJI, 2008). Durante muito tempo, acreditou-se que a absorção radicular do ácido monossilícico era essencialmente não seletiva e energeticamente passiva (difusão e fluxo de massa), o que era atribuído a ausência de carga elétrica do H_4SiO_4 (MITANI; MA, 2005; RODRIGUES *et al.*, 2011). No entanto, a literatura tem apontado também processos ativos, mediados por proteínas codificadas por genes específicos, localizados na membrana plasmática de células da raiz (WERNER; ROTH, 1983; MITANI; MA, 2005).

Dependendo da forma como o silício é absorvido e acumulado nas plantas, estas são classificadas basicamente em dois grupos. As acumuladoras, que absorvem Si predominantemente por processos ativos, e nas quais o teor foliar desse nutriente é encontrado em taxas superiores a 1%, como em arroz (*Oryza sativa*) e trigo (*Triticum vulgare* Vill.). Por outro lado, plantas não acumuladoras ou exclusoras de silício, e dentre elas, as dicotiledôneas, absorvem-no de forma passiva e seu teor foliar apresenta coeficiente igual ou inferior a 0,5% o que é considerado baixo (GUNES *et al.*, 2008; MA; YAMAJI, 2008; CHIBA *et al.*, 2009).

Para Raven, Evert e Eichhorn (2001), o baixo coeficiente de permeabilidade da membrana $10^{-10} \text{ m s}^{-1}$, explica a absorção ativa de Si pela membrana plasmática. Ma e Yamaji (2006) observaram que existe um transportador com um k_m de 0,15 mM, que medeia o transporte de silício para as células corticais em plantas que acumulam altos, médios e baixos níveis do mineral, e que a taxa de transporte depende da densidade do transportador. Esses autores ainda afirmam ainda que alterações no metabolismo e baixas temperaturas inibem o transporte, o que implica menores concentrações internas desse nutriente nas plantas.

Particularmente para o girassol, os processos de absorção do ácido monossilícico podem ocorrer tanto de forma ativa, quanto passiva, e o fator determinante para o tipo de transporte é a concentração do mineral no meio de cultivo e, em baixas concentrações, é reduzido o transporte por fluxo de massa (GUNES *et al.*, 2008). Segundo a classificação de Ma (2001), o girassol é considerada uma espécie acumuladora de silício, pois os teores desse nutriente acumulados na parte aérea (especialmente nas folhas), superam o equivalente a 10 g kg^{-1} necessários para uma planta ser considerada acumuladora desse elemento.

2.3.2 Benefícios do silício às plantas

A absorção de Si traz inúmeros benefícios às plantas contra estresses bióticos e abióticos, atuando, por exemplo, na resistência ao ataque de insetos, nematoides, bactérias e fungos (MA; YAMAJI, 2008; EPSTEIN 2009; GUNTZER *et al.*, 2012; THILAGAM, 2014). O mineral reduz substancialmente a ação de enzimas de degradação da parede celular, associando-se aos constituintes de parede, conferindo maior resistência mecânica à penetração de hifas nas folhas, acumulando-se nos tecidos da epiderme logo abaixo da cutícula (FAUTEUX *et al.*, 2006; FAUTEUX *et al.*, 2006; KORNDÖRFER; OLIVEIRA, 2010; HECKMAN, 2013; THILAGAM, 2014).

O silício é um nutriente que potencializa a síntese de enzimas antioxidantes relacionadas ao mecanismo de defesa das plantas contra as EROs, e a expressão de genes envolvidos na produção de compostos secundários do metabolismo, como polifenóis, e fitoalexinas (EPSTEIN; BLOOM, 2005; GRATÃO *et al.*, 2005).

Os silicatos promovem tolerância às condições de estresse hídrico e/ou salino, garantindo a integridade e a estabilidade da membrana celular (KAFI; RAHIMI, 2011; MATEOS; ANDRADES; DAVY, 2013). Especialmente quando plantas são cultivadas em ambientes salinos, o silício induz a redução da absorção de íons tóxicos, como o Na^+ , e promove o aumento na captação de K^+ (LIANG *et al.*, 1999; ASHRAF *et al.*, 2010), o que é

atribuído ao seu papel estimulador de atividades metabólicas, fisiológicas e estruturais dos vegetais (SHEN *et al.*, 2010).

O Si torna as células epidérmicas das folhas mais eretas, com menor abertura do ângulo foliar, reduzindo o autossombreamento, e induzindo maior absorção de CO₂, em função disso, há um aumento na eficiência fotossintética, no teor de clorofila e, indiretamente, também contribui para incrementos na produtividade das culturas (HECKMAN, 2013). Além disso, o Si reduz as taxas transpiratórias, dado a sua sobreposição nas regiões foliares, onde a água é perdida, junto às células-guarda dos estômatos, promovendo um melhor aproveitamento no uso da água, fortalecendo a estrutura da planta e reduzindo o acamamento, (BYBORDI, 2012; ALI *et al.*, 2013; MATEOS; ANDRADES; DAVY, 2013; SHI *et al.*, 2013). Em função desses resultados, o Ministério da Agricultura, pelo Decreto Lei número 4954, aprovado em 14 de janeiro de 2004, que dispõe sobre a legislação de fertilizantes, considerou o silício (Si) como um micronutriente benéfico (BRASIL, 2004).

Muito embora o silício seja um constituinte majoritário (0,1 a 10%) do peso seco dos vegetais, ele não é considerado um nutriente essencial ou funcional do ponto de vista fisiológico para o crescimento e desenvolvimento das plantas, pois não atende aos critérios diretos e indiretos de essencialidade propostos por Arnon e Stout, (1939), *apud* Jones e Handreck (1967). Corroborando com esses conceitos, Gong *et al.*, (2006), afirmam que o silício estimula o crescimento apenas de algumas espécies vegetais, e ainda quando em condições específicas.

Para Epstein e Blum (2005), esses conceitos sobre essencialidade são rígidos e apontam para os resultados de pesquisas com a microquímica, que estabelecem que a ausência de silício na solução nutritiva, ou no meio de cultivo, compromete a capacidade biológica dos vegetais, no que diz respeito a resistência à estresses bióticos e abióticos, e sua presença resulta em melhorias nas características físicas das plantas, favorecendo uma série de processos fisiológicos, contrapondo, deste modo, os critérios de essencialidade estabelecidos por aqueles autores.

Em estudos realizados com a cultura do girassol (*Helianthus annuus* L.) foi observado que o silício reduziu os danos provocados pelo estresse hídrico, em que, na presença desse nutriente, houve uma melhor eficiência no uso da água e redução da taxa de transpiração (GUNES *et al.*, 2008), bem como, houve incrementos significativos na produção de matéria seca das inflorescências e das raízes, e aumentos no diâmetro caulinar (OLIVEIRA *et al.*, 2013).

Um vasto número de pesquisas também aponta o efeito do silício na redução do estresse salino para algumas espécies agrícolas, dentre elas, o girassol, o arroz (*Oryza sativa*) e a alface (*Lactuca sativa*) em que, sob nutrição com esse elemento, as plantas mostraram aumentos na atividade das enzimas antioxidantes correlacionadas com o mecanismo de defesa vegetal (MILNE *et al.*, 2012; ALI, *et al.*, 2013; KIM *et al.*, 2014). No entanto, as alterações nas vias bioquímicas induzidas pelo silício em plantas sob essa condição adversa, também envolve aumentos na concentração de osmólitos compatíveis em culturas como a beldroega (*Potularca oleracea* L.) (KAFI; RAHIMI, 2011), bem como, incrementos na taxa fotossintética de tomateiros (*Solanum lycopersicum*) (ROMERO *et al.*, 2006).

Plantas sob condição de estresse salino apresentam seus processos de crescimento e desenvolvimento afetados pelo excesso de sais. O silício ameniza esses efeitos, o que é confirmado pelo melhor resultado no crescimento de plantas de milho (ALBUQUERQUE *et al.*, 2011; ZHU; GONG, 2014); pelos maiores incrementos na produção de biomassa de folhas, raízes de plantas de tomate (ROMERO *et al.*, 2006) e pelo crescimento de brotos em arroz, em que para essa última cultura, esse resultado foi alcançado quando a aplicação exógena de silício correspondeu a 3 mM (GONG *et al.*, 2006).

Embora não tenha sido constatado o efeito tóxico do silício às plantas, níveis elevados do nutriente podem provocar aumentos do pH, e saturação por bases acima do desejado, o que impede a absorção de micronutrientes (cobre, ferro, zinco e manganês) e de fósforo, devido aos processos de insolubilização deles, acarretando em desequilíbrios nutricionais (KORNDÖRFER; OLIVEIRA, 2010). Alguns autores, como Datnoff, Snyder e Korndorfer (2001), consideram que a dose máxima de silício em solução nutritiva deve ser de 1,8 mmol L⁻¹, e que acima desse valor ocorre a polimerização do nutriente, tornando-o indisponível para as plantas.

O silício tem sido empregado no Brasil na forma de adubação por ocasião da semeadura ou em cobertura, utilizando-se nesse processo as escórias de siderurgia que são abundantes no país, as quais são reconhecidas como importantes fontes desse nutriente. As escórias de siderurgia são subprodutos da indústria ferrogusa. Seus constituintes são principalmente os silicatos de cálcio (CaSiO₃) e magnésio (MgO₄SiO₂H₂O), os quais podem ser excelentes fontes de Si para a utilização na agricultura desde que, apresentem, dentre outras características, uma alta solubilidade e uma boa correlação entre as concentrações ideais de cálcio (Ca) e magnésio (Mg) requeridas para o bom desenvolvimento das espécies agrícolas (KORNDÖRFER *et al.*, 2010).

Esses subprodutos da indústria ferrogusa comportam-se de forma semelhante aos calcários, a wollastonita, e aos subprodutos da produção de fósforo elementar, que desempenham importante papel, especialmente em solos altamente intemperizados com excesso de acidez por disponibilizarem bases trocáveis, aumentando com isso, a capacidade de troca catiônica (CTC) dos solos e, como consequência, esse complexo de saturação de bases promove um melhor equilíbrio nutricional às plantas o que é atribuído ao seu envolvimento no balanço entre a absorção de macro e micronutrientes pelas espécies vegetais (LIMA-FILHO *et al.*, 1999; KORNDÖRFER *et al.*, 2010).

Em pesquisas são usadas preferencialmente as fontes comerciais de silício (metassilicatos de sódio e potássio), em cultivos hidropônicos e fertilização foliar, em função da alta solubilidade desses produtos que chega a ser de 200 g/L, bem como, na forma de ácido silícico (BÉLANGER *et al.*, 1995). Esses compostos apresentam efeitos semelhantes no que se refere aos benefícios trazidos às espécies agrícolas como, melhorias no crescimento, no desenvolvimento e na produtividade. Na forma de silicato de potássio, aumenta a eficiência no uso de nutrientes imóveis (RODRIGUES *et al.*, 2011), além disso, ânions silicatos elevam o pH do meio a níveis adequados quando utilizados em concentrações ótimas e, dessa forma, reduzem a ação de elementos tóxicos, precipitando-os em compostos insolúveis ou formando polímeros de baixa disponibilidade para as plantas, promovendo com isso, uma regulação nutricional (SAVANT *et al.*, 1999; MALAVOLTA, 2006).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Material vegetal e condições de cultivo

O experimento foi conduzido no período de abril a junho de 2014, em casa de vegetação situada à 01°28'03"S; 48°29'18" W, sendo as análises bioquímicas e fisiológicas realizadas no Laboratório de Estudos da Biodiversidade em Plantas Superiores (EBPS), ambos pertencentes ao Instituto de Ciências Agrárias (ICA) da Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA), campus Belém, Pará. Durante o período experimental, foram registradas no interior da casa de vegetação médias de temperatura diurna, noturna e da umidade relativa do ar de 38 ± 2 °C, 32 ± 2 °C e $90 \pm 3\%$ respectivamente.

No presente trabalho, foi utilizado o genótipo de girassol (*Helianthus annuus* L.) Catissol 01, sendo as sementes dessa cultivar fornecidas pelo EBPS. As sementes de girassol foram inicialmente selecionadas com base em características morfológicas, em que foram escolhidas àquelas sem deformidades, com tamanhos semelhantes e que não apresentassem manchas. Após essa seleção, as sementes foram desinfetadas com hipoclorito de sódio a 0,5% (v/v), durante 5 min e, em seguida, lavadas exaustivamente com água destilada, para retirar o resíduo da solução. Após isso, cerca de 300 sementes foram semeadas em bandeja de polietileno, contendo uma mistura de areia lavada autoclavada e vermiculita na proporção de 3:1. A profundidade de semeadura adotada foi de 1,5 cm e as bandejas foram umedecidas com 300 mL de água desionizada.

3.2 Solução nutritiva

Aos 7 dias após a semeadura (DAS), plântulas de girassol medindo aproximadamente 18 cm de altura, foram transferidas para vasos contendo 2,5 L de solução nutritiva de Hoagland e Arnon (1950), com $\frac{1}{4}$ de força iônica. Cada vaso continha três plântulas.

A solução nutritiva foi trocada a cada três dias ou quando a condutividade elétrica atingiu 75% do seu valor inicial. O pH da solução foi verificado diariamente e mantido em $5,5 \pm 0,5$ empregando-se soluções de NaOH ou HCl a 1N, quando necessário. Realizou-se ainda a reposição da solução perdida por evapotranspiração, quando o volume de solução no vaso foi inferior a 2,5 L.

Aos 10 DAS, procedeu-se ao desbaste das plantas sendo deixada uma planta por vaso. O critério adotado para a seleção obedeceu a escala fenológica proposta por Schneiter e Miller (1981), em que as plantas escolhidas apresentavam um par de folhas de 4 cm de comprimento. Cada planta foi então transferida para vasos contendo 1 L da mesma solução inicial, sendo mantidas por quatro dias nessas condições. Após esse período, a solução nutritiva foi modificada para 50% da sua concentração original. Foi usado um total de 64 vasos, e cada um deles correspondeu a uma unidade experimental.

3.2.1 Concentrações salinas e de silício

As plantas foram mantidas por 14 dias nessa condição para aclimação e desenvolvimento das raízes. Aos 28 DAS, as plantas foram submetidas aos tratamentos salinos (NaCl a 0, 50, 100 e 150 mM) e de silício (Si a 0,0; 1,0; 1,5 e 2,0 mM). A fonte de Si utilizada foi o metassilicato de sódio (Na_2SiO_3). Essas concentrações de NaCl e de Na_2SiO_3 , foram adicionadas aos vasos contendo solução nutritiva e, cada uma dessas concentrações correspondeu a um tratamento e cada um deles foi composto de quatro repetições. As plantas foram mantidas sob tratamento salino e de silício durante 14 dias.

3.3 Coleta e armazenamento do material

A coleta das plantas ocorreu aos 42 DAS às 05:30 h. Nessa ocasião, foi determinada a altura das plantas, usando-se uma régua. Para a determinação do conteúdo relativo de água (CRA), foram selecionadas, ainda em casa de vegetação, folhas primárias completamente expandidas de cada uma das repetições. Parte desse material, no estado fresco, juntamente com as raízes (terço distal) foi reservado para a determinação da atividade da redutase do nitrato (RN) e vazamento de eletrólitos. As plantas foram posteriormente separadas em folhas e raízes, envolvidas em papel alumínio e armazenadas em ultrafreezer a -80 °C. Para a determinação das atividades enzimáticas e análises bioquímicas, o material vegetal foi primeiramente congelado em nitrogênio líquido sendo posteriormente liofilizado. Após a liofilização, determinou-se a massa seca da parte aérea, das raízes e total. O material seco foi triturado em moinho até a obtenção de um pó fino e, devidamente armazenado em tubos falcon até a sua utilização nos ensaios.

3.4 Conteúdo relativo de água

O CRA foi determinado segundo o método descrito por Slavick (1979), com algumas modificações. Foram retirados de cada planta 20 discos foliares frescos de 10 mm de diâmetro ao acaso, utilizando-se para isso, um vazador de aço-inoxidável. Logo em seguida, os discos foram pesados em balança analítica para a obtenção da massa fresca (MF). Para a obtenção da massa túrgida (MT), os discos foram transferidos para uma placa de petri contendo 35 mL de água destilada e deixados à temperatura ambiente (25 °C) por um período de 12 horas, e em constante iluminação (densidade do fluxo de radiação fotossinteticamente ativa de aproximadamente $40 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Após esse período, os discos foliares foram removidos da placa de petri e colocados em folhas de papel de filtro para retirar o excesso de água. Imediatamente os discos foram pesados e a MT foi determinada. Para a determinação da massa seca (MS) os discos foram colocados em sacos de papel e levados à estufa de ventilação forçada de ar à $65 \pm 5 \text{ °C}$, por 24 h. Os resultados foram expressos em porcentagem, conforme fórmula abaixo:

$$\text{CRA} = (\text{MF} - \text{MS}) / (\text{MT} - \text{MS}) \times 100$$

3.5 Vazamento de eletrólitos

O vazamento de eletrólitos foi estimado de acordo com Blum e Ebercon (1981), com pequenas modificações sendo essa uma medida indireta para a determinação do grau de danos de membrana. Foram pesados, separadamente, 100 mg de parte aérea, e raízes e após tripla lavagem com água desionizada, o material vegetal foi transferido para tubos de ensaio, aos quais foram adicionados 10 mL de água desionizada. Os frascos foram deixados em repouso sob temperatura ambiente (25 °C) durante 6 h, sob agitação a cada 20 min. Após esse período, o sobrenadante foi transferido para novos tubos de ensaio e, com o auxílio de um condutivímetro, foi mensurada a condutividade elétrica (C_1) da solução dos tubos de ensaio. Após isso, os tubos foram novamente fechados e aquecidos em banho maria a 100 °C, por 1 h. Após resfriamento dos tubos de ensaio à temperatura ambiente, a condutividade elétrica do extrato (C_2) foi novamente medida. O vazamento de eletrólitos foi estimado através da seguinte equação abaixo:

$$\text{VE (\%)} = (C_1 / C_2) \times 100.$$

3.6 Solutos orgânicos

3.6.1 Obtenção dos extratos

Os extratos para a determinação dos solutos orgânicos foram obtidos a partir de 100 mg do pó liofilizado de folhas e raízes, os quais foram adicionados em tubos de ensaio de 15 mL. O material foi homogeneizado com 10 mL de tampão fosfato de potássio a 100 mM, pH 7,5, contendo NaCl a 0,1 M. O homogenato resultante permaneceu em agitação por 30 min e, em seguida, foi centrifugado a $3.000 \times g$, por 10 min. O sobrenadante (extrato) coletado, filtrado em papel de filtro e armazenado em frascos de vidro a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$.

3.6.2 Carboidratos solúveis

Os teores de carboidratos solúveis foram determinados de acordo com o método descrito por Dubois *et al.* (1956). Em alíquotas de 0,5 mL do extrato (proporcionalmente diluído), foram adicionados 0,5 mL de fenol a 5% e 2,5 mL de ácido sulfúrico (H_2SO_4) concentrado. Os tubos foram vigorosamente agitados e colocados na bancada para repouso por 20 minutos e sua leitura foi feita em espectrofotômetro a 490 nm. Os teores de carboidratos solúveis foram estimados por meio de uma curva padrão de glicose D (+) anidra. Cada extrato e suas repetições foram dosados em duplicata, sendo os resultados expressos em $\text{mmol g}^{-1}\text{MS}$.

3.6.3 N-aminossolúveis

Os teores de N-aminossolúveis foram determinados de acordo com o método de Yemm e Cocking (1955). Em tubos de ensaio, foram adicionados 0,5 mL dos extratos devidamente diluídos, 0,25 mL de tampão citrato a 0,2 M (pH 5,0), 0,5 mL de KCN a 0,2 mM, em metilcelosolve, e 0,1 mL de ninhidrina a 5%, em metilcelosolve. Após terem sido bem homogeneizados em vórtex, os tubos foram hermeticamente fechados e colocados em banho-maria por 20 min à temperatura de $100\text{ }^{\circ}\text{C}$. Em seguida, a reação foi interrompida em banho de gelo e, após o resfriamento, foram adicionados 0,65 mL de etanol a 60%. Os teores de N-aminossolúveis foram estimados através de leituras de absorbância em 570 nm, tendo como referência uma curva padrão de glicina. Cada extrato e suas repetições foram dosados em duplicata, sendo os resultados expressos em $\mu\text{mol g}^{-1}\text{MS}$.

3.6.4 Prolina livre

Os teores de prolina foram determinados de acordo com o método de Bates, Waldren e Teare (1973). Em tubos de ensaio contendo 1 mL do extrato proporcionalmente diluído, foram adicionados 1 mL de ninhidrina ácida e 1 mL de ácido acético glacial. Para um total de 50 amostras, o reagente da ninhidrina ácida foi preparado dissolvendo-se 1,25 g de ninhidrina em 30 mL de ácido acético e 20 mL de ácido fosfórico a 6 M. Os tubos foram fechados (hermeticamente) e levados a agitação em vórtex e colocados em banho-maria por 1h a 100 °C. Completado esse tempo, os tubos foram retirados do banho-maria. A reação foi interrompida colocando-se os tubos de ensaio imediatamente em banho de gelo. Após o resfriamento, foram adicionados 2,0 mL de tolueno aos tubos e, posteriormente, eles foram levados a agitação vigorosa em vórtex por 20 s (o tolueno extrai a substância cromófora) formando um complexo colorido (róseo para vermelho). A fase superior densa (cromóforo + tolueno) foi aspirada com o auxílio de uma pipeta Pasteur para posterior leitura de absorvância em 520 nm. Os teores de prolina foram estimados tendo como referência uma curva padrão de prolina e utilizando-se o tolueno como branco. Cada extrato e suas repetições foram dosados em duplicata, sendo os resultados expressos em $\mu\text{mol g}^{-1} \text{MS}$.

3.7 Metabolismo do nitrogênio

3.7.1 Redutase do nitrato *in vivo*

A atividade da redutase do nitrato, *in vivo*, foi determinada de acordo com o método descrito por Hageman e Hucklesby (1971), com modificações. O método baseia-se na infiltração no tecido de uma solução composta por nitrato e na posterior dosagem do nitrito gerado na reação, o qual difunde-se no meio de incubação. Com o auxílio de um furador, foram retirados discos foliares de 0,5 cm de diâmetro e, em seguida, foram pesados 200 mg desse material vegetal e 300 mg de raízes. As amostras foliar e radicular foram colocadas em tubos de ensaio contendo 5 mL do meio de incubação constituído por tampão fosfato de potássio a 0,1 mM, pH 7,5; KNO_3 a 50 mM; isopropanol a 1% (v/v) e cloranfenicol a 15 mg/L. Imediatamente após essa etapa, os tubos foram devidamente lacrados e envoltos com papel alumínio e infiltrados à vácuo por 2 min, quando então o vácuo foi desfeito. Posteriormente infiltrou-se por mais 2 min. Em seguida, as amostras foram incubadas no escuro a 30 °C, em banho-maria, por 30 min. A concentração de nitrito foi determinada

colorimetricamente pela adição de 1 mL de sulfanilamida a 1% (p/v), preparada em HCl a 2,4 M, e 1 mL de N-naftil-etilenodiamina a 0,02% (p/v) a 2 mL do meio de incubação. A absorvância foi determinada em 540 nm, tendo como referência uma curva padrão ajustada a partir de concentrações crescentes de NaNO_2 . A atividade enzimática foi expressa em $\text{mol NO}_2^- \text{ produzido h}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ MF}$ e representa a média de quatro repetições sendo cada extrato dosado em duplicata.

3.7.2 Nitrato

3.7.2.1 Obtenção do extrato

Foram adicionados 100 mg de pó liofilizado de folhas e raízes em tubos de ensaio contendo 5 mL de água destilada. Em seguida, o material foi colocado em banho-maria a 100 °C por 30 minutos. Após esse período, os tubos de ensaio foram colocados sobre a bancada para resfriar à temperatura ambiente (25 °C), sendo posteriormente centrifugados a $3.000 \times g$, por 10 min. O sobrenadante foi coletado em tubo de ensaio e o precipitado foi ressuspenso com outros 5 mL de água destilada, sendo repetido o procedimento da extração anterior. Em seguida, os extratos foram coletados em um tubo de ensaio graduado e o volume foi completado com água destilada até atingir 10 mL. Os extratos obtidos foram congelados a -20 °C para posterior análise.

Os teores de nitrato foram determinados de acordo com Cataldo *et al.* (1975), com pequenas modificações, sendo os valores das alíquotas reduzidos para $\frac{1}{4}$ dos mencionados por esses autores. A reação foi preparada em tubo de ensaio, contendo 100 μL do extrato e 200 μL de solução de ácido salicílico a 5% (p/v), em ácido sulfúrico concentrado e, posteriormente, os tubos foram levados a agitação em vórtex. Imediatamente após esse processo, os tubos de ensaio foram colocados sobre a bancada por 20 min até atingir a temperatura ambiente e imediatamente após esse processo, foram adicionados 4.700 μL de NaOH a 2 M, sendo a solução vigorosamente agitada até atingir pH 12. A absorvância foi determinada em 410 nm, tendo como referência uma curva padrão ajustada a partir de concentrações crescentes de KNO_3 usando a água destilada e reagente como o branco. Cada extrato e suas repetições foram dosados em duplicata, sendo os resultados expressos em $\text{mol de NO}_3^- \text{ kg}^{-1} \text{ MS de tecido}$.

3.7.3 Proteínas solúveis

3.7.3.1 Obtenção do extrato

Para a preparação do extrato, em tubos de ensaio de 15 mL, adicionaram-se 100 mg de pó liofilizado de folhas e raízes e depois 5,0 mL do tampão de Tris-HCl a 25 mM, pH 7,6. Em seguida, deixou-se sob agitação durante 2 h em agitador orbital com os tubos devidamente lacrados. Após a extração, os tubos foram centrifugados em centrífuga de bancada a $2.000 \times g$, por 10 min, sendo o sobrenadante coletado para a dosagem das proteínas solúveis.

Os teores de proteínas solúveis foram determinados pelo método descrito por Bradford (1976). Para isso, foi preparado previamente o reagente de Bradford. Para isso, foram adicionados 105,26 mg de Comassie Brilliant Blue G (SIGMA 95%) em um béquer (revestido com papel alumínio) e acrescentados 50 mL de álcool etílico. A mistura foi deixada sob agitação por 15 min. Imediatamente após essa etapa, a solução foi transferida para um balão volumétrico de 1000 mL igualmente revestido em papel alumínio. Foram adicionados 100 mL do ácido fosfórico a 85% e completado o volume para 1000 mL com água destilada. Foram realizadas duas filtrações com papel de filtro. Em seguida, foram adicionados em tubos de ensaio 100 μ L da amostra e 2,5 mL do reagente de Bradford, os tubos foram agitados delicadamente (para não desnaturar as proteínas). A mistura foi deixada em repouso por 15 min, sendo então submetida à leitura de absorbância em 595 nm. Como padrão, foi utilizado a albumina de soro bovina. Cada extrato foi dosado em duplicata, sendo os teores de proteínas solúveis expressos em mg proteína g^{-1} MS de tecido.

3.8 Sistema antioxidante

3.8.1 Extração

O extrato para a determinação da atividade das enzimas SOD, APX e CAT foi obtido a partir da homogeneização em almofariz, a 4 °C, de 0,1 g do pó liofilizado de folha e raiz com 5 mL de solução-tampão fosfato de potássio (a 4 °C) a 0,1 mM, pH 7,0, contendo EDTA a 0,1 mM, seguida de homogeneização por 4 min. As adições do tampão fosfato foram feitas de forma fragmentada, sendo 50% do volume total desta solução (2,5 mL) utilizada na homogeneização durante 2 min, após isto, imediatamente adicionaram-se os

outros 50%, sendo a mistura homogeneizada em tempo equivalente ao anterior. O homogenato foi filtrado em tecido de nylon e transferido para tubos de ensaio, sendo mantidos a 4 °C por duas horas, realizando-se agitações ocasionais. O homogenato filtrado foi centrifugando a 12.000 x g, durante 15 min, a 4 °C. O sobrenadante, o extrato bruto, foi armazenado em freezer a -80 °C até serem utilizados nos ensaios de atividade enzimática.

3.8.2 Dismutase do superóxido

A atividade da SOD (EC 1.15.1.1) foi determinada pela inibição da fotorredução do cloreto de azul de nitrotetrazólio (NBT), conforme Giannopolitis e Ries (1977). A mistura de reação (1,5 mL) foi composta por tampão fosfato de potássio a 50 mM (pH 7,8), EDTA a 1 µM, L-metionina a 13 mM e NBT a 75 µM e 50 µl do extrato, convenientemente diluído com o tampão de extração. A reação foi iniciada pela adição de riboflavina a 2 µM, seguida da iluminação do meio de reação com duas lâmpadas fluorescentes de 20 W em caixa fechada. Após 15 min, a reação foi interrompida pelo desligamento das luzes e as leituras foram realizadas a 560 nm. Uma unidade de atividade (UA) foi considerada como a quantidade de enzima requerida para inibir 50% da fotorredução do NBT por 15 min em comparação com o meio de reação sem o extrato proteico. Cada extrato foi dosado em duplicata, sendo a atividade da SOD expressa em UA mg⁻¹ de proteína.

3.8.3 Peroxidase do ascorbato

A atividade da APX (EC 1.11.1.11) foi determinada pelo método de Nakano e Asada (1981). A mistura de reação (1,5 mL) foi constituída de 50 µL de tampão fosfato de potássio (pH 6,0), EDTA a 0,1 µM, ascorbato a 0,5 mM, H₂O₂ a 1 mM e 300 µL do extrato, convenientemente diluído com tampão de extração. A reação foi iniciada pela adição de 300 µL do extrato enzimático, e a atividade da APX foi determinada pela oxidação do H₂O₂ dependente do ascorbato, sendo a leitura realizada em espectrofotômetro a 290 nm durante 1 min. O coeficiente de extinção molar do ascorbato (2,8 mM cm⁻¹) foi usado para quantificar a atividade enzimática levando-se em consideração que dois moles de ascorbato são necessários para redução de 1,0 mol de H₂O₂ (MCKERSIE; LESHEM, 1994). Cada extrato foi dosado em duplicata, sendo a atividade da APX expressa em µmol H₂O₂ min⁻¹ mg⁻¹ de proteína.

3.8.4 Catalase

A atividade da CAT (EC 1.11.1.6) foi determinada pelo método de Beers Jr. e Sizer (1952), com modificações. A mistura de reação (1,5 mL) foi constituída de solução tampão fosfato de potássio a 100 mM (pH 7,0), EDTA a 0,1 μ M, H₂O₂ a 20 mM e 150 μ L do extrato. A reação foi iniciada pela adição de 150 μ L do extrato enzimático ao meio de reação; e a atividade enzimática foi determinada pelo consumo de H₂O₂, sendo a redução monitorada por leituras de absorbância em 240 nm, por 5 min em que cada extrato foi dosado em duplicata. O coeficiente de extinção molar do H₂O₂ (36 M⁻¹ cm⁻¹) foi usado para determinar a atividade da CAT que foi expressa em μ mol de H₂O₂ min⁻¹g⁻¹.

3.9 Delineamento experimental e análise estatística

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, (DIC) em esquema fatorial 4 x 4, com 4 repetições, sendo os fatores constituídos por níveis de salinidade (NaCl a 0, 50, 100 e 150 mM) e doses de silício (Si a 0, 1,0 , 1,5 e 2,0 mM). Os dados obtidos foram submetidos à análise estatística, utilizando-se o aplicativo “Statistical Analysis System” (SAS INSTITUTE, 2000) e o modelo da equação de regressão $Y(X_1, X_2) = B_0 + B_1X_1 + B_2 X_1^2 + B_3 X_2 + B_4X_2^2 + B_5X_1*X_2$. foi gerado pelo procedimento PROC Rs reg. Realizou-se o teste F e para os casos de significância ($p < 0,05$) da interação entre os níveis de salinidade e doses de silício, efetuou-se a análise de regressão polinomial (superfície de resposta). Os gráficos foram gerados pelo programa SCILAB 5.5.0.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Altura e matéria seca das plantas

Neste estudo, foi analisada a influência do Si sobre as variáveis: matéria seca da parte aérea (MSPA), matéria seca da raiz (MSR), matéria seca total (MST) e altura das plantas de girassol, variedade Catissol 01, submetidas por 14 dias ao estresse salino. De acordo com os dados obtidos na presente pesquisa, de modo geral, foram observadas interações significativas ($p < 0,01$) entre os fatores salinidade (NaCl) e dosagens de silício (Si) para as variáveis analisadas, exceto a variável altura da planta, para a qual não se observou interação significativa. Todas as variáveis ajustaram-se ao modelo de regressão polinomial.

Pela análise da superfície de resposta, pode-se observar que a altura das plantas de girassol foi reduzida ligeiramente pela salinidade, e que o aumento da concentração de Si resultou em acréscimos significativos nessa variável, mesmo nas condições salinas (Figura 1). Na ausência de NaCl, os valores de altura das plantas tratadas com Si a 2 mM aumentaram 58%, em comparação àquelas das plantas não tratadas (Si a 0 mM).

De modo geral, as variações ocorridas na MSPA, na MSR e na MST foram semelhantes, havendo reduções nelas à medida que a concentração de NaCl aumentou, e concomitante aumento desses valores, quando a concentração de Si foi aumentada. De fato, os maiores valores de MSPA, MSR e MST foram observados na ausência de NaCl e nas maiores concentrações de Si, ocasião em que o aumento induzido pelo Si foi máximo (Figura 1).

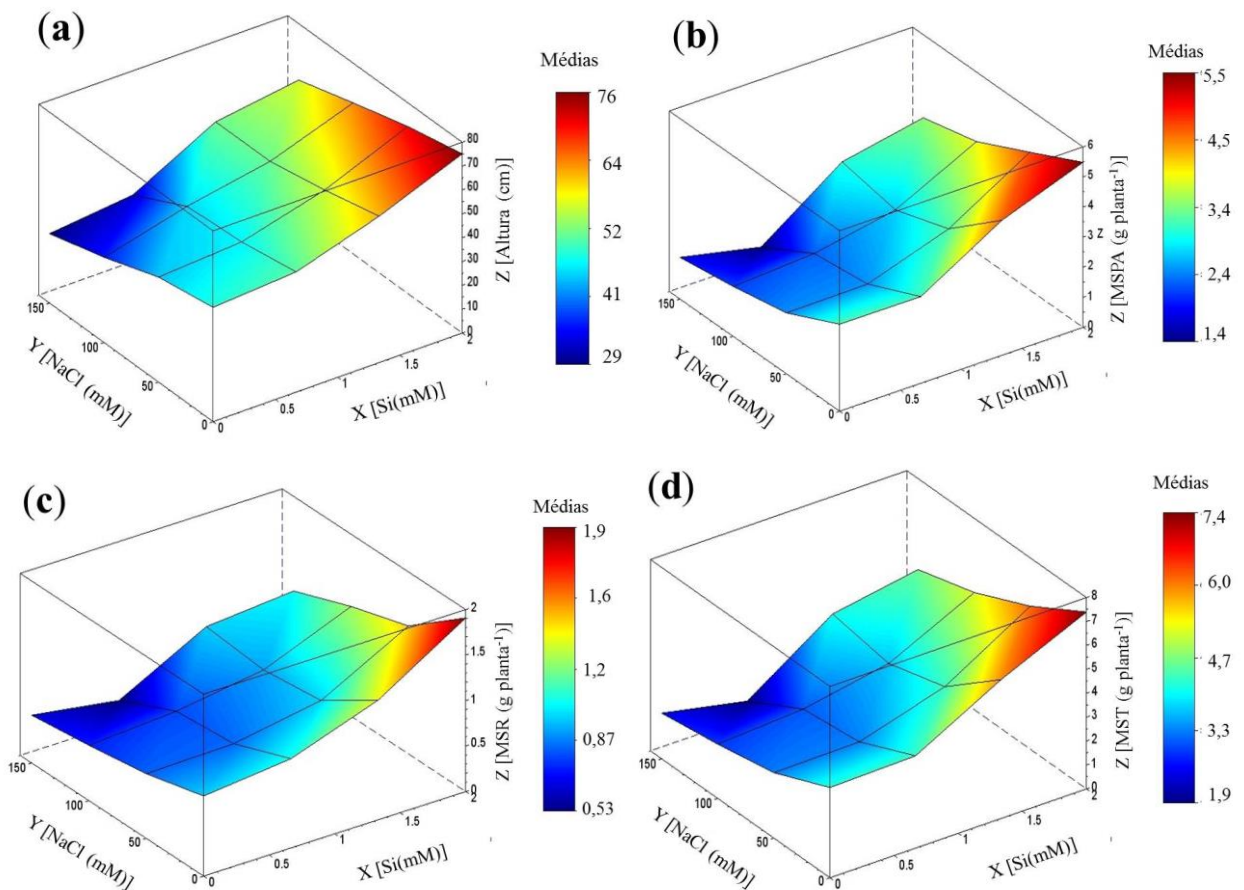
A interação significativa ($p < 0,01$), entre as concentrações salinas e de silício mostra que a adição de Si na solução nutritiva promoveu aumentos significativos na massa seca dos diferentes órgãos de girassol, sendo essa resposta observada tanto nas plantas cultivadas exclusivamente com dosagens de Si, como naquelas cultivadas em solução nutritiva acrescida de NaCl e na presença daquele nutriente mineral.

Pela equação de regressão, fica evidente que plantas sob estresse salino a 150 mM e nutridas com Si a 2 mM, apresentaram incrementos de 4,4 g planta⁻¹, 0,83 g planta⁻¹ e 5,4 g planta⁻¹ na MSPA, MSR e MST respectivamente. Tais aumentos foram 68%, 36% e 65% superiores àquelas encontrados nas plantas sob tratamento com a maior concentração salina e na ausência de Si.

Plantas sensíveis à salinidade, como o girassol, apresentam seu crescimento consideravelmente reduzido nessa condição adversa, o que já vem sendo amplamente reportado na literatura científica (SILVA *et al.*, 2009; MACIEL *et al.*, 2012; GUEDES-

FILHO *et al.*, 2013; CENTENO *et al.*, 2014). Este estudo mostra que a salinidade afetou de maneira significativa o crescimento das plantas de girassol, em comparação àquelas crescendo sob condições controle. A inibição do crescimento pela salinidade foi mais acentuada quando as plantas foram submetidas à maior concentração salina (NaCl 150 mM). Esse comportamento é típico de plantas glicófitas as quais apresentam o crescimento reduzido em razão do estresse por NaCl (MUNNS; TESTER, 2008).

Figura 1 – Altura (a), matéria seca da parte aérea (MSPA; b), matéria seca das raízes (MSR; c) e matéria seca total (MST; d) de plantas de girassol (*Helianthus annuus* L.) cultivadas em solução nutritiva, em função de concentrações crescentes de silício (Si) e de NaCl.



$$Z_{\text{altura}} = 47,506 - 0,093Y + 5,266X - 0,0001Y^2 + 4,054X^2 \quad (R^2 = 0,99)$$

$$Z_{\text{MSPA}} = 2,927 - 0,022X + 0,00076Y - 0,00034XY + 0,000078X^2 + 0,0000659Y^2 \quad (R^2 = 0,96)$$

$$Z_{\text{MSR}} = 0,885 - 0,0054Y - 0,0018XY + 0,000023Y^2 + 0,0000220X^2 \quad (R^2 = 0,97)$$

$$Z_{\text{MST}} = 3,812 - 0,027Y - 0,0051XY + 0,000102Y^2 + 0,879X^2 \quad (R^2 = 0,97)$$

Uma das explicações mais aceitas para a inibição do crescimento vegetal pela salinidade é o desvio de energia para a manutenção. Em outras palavras, a salinidade aumenta

o requerimento energético para a preservação da condição normal do metabolismo celular. Sendo assim, as plantas restringem a entrada de carbono, alterando a condutância estomática, diminuindo com isso o processo transpiratório. Desse modo, as perdas de água são minimizadas, o que assegura o estabelecimento das plantas em ambientes salinos, mas, por outro lado, a maquinaria fotossintética e o consequente ganho de carbono são afetados (VIEGAS, 2004).

Essa diminuição do crescimento pode ser ainda, decorrente dos efeitos osmóticos e iônicos induzidos pelo estresse por NaCl. A alteração do potencial osmótico do ambiente de crescimento do vegetal promove modificações na pressão de turgescência e na propriedade da parede celular, o que é consequência dos níveis tóxicos de íons Na^+ e Cl^- na zona radicular e no citosol (FLOWERS, 2004). O aumento da pressão osmótica do meio e a consequente redução da disponibilidade de água a ser consumida afetam os processos de alongamento e divisão celulares, tendo como efeito mais imediato a redução do processo de crescimento vegetal.

Altas concentrações de íons Na^+ e Cl^- causam um desequilíbrio nutricional na planta, tendo em vista que eles interferem na absorção de nutrientes essenciais ao seu crescimento e desenvolvimento, como o nitrogênio, sendo esse um constituinte de aminoácidos e proteínas (MUNNS; TESTER, 2008; TAIZ; ZEIGER, 2013).

Pela análise de superfície, fica evidente que, embora a interação entre níveis de salinidade e doses de silício não tenha sido significativa, a nutrição com Si parece atenuar os efeitos negativos da salinidade sobre a altura das plantas de girassol (Figura 1 a).

O silício promoveu incrementos graduais na altura das plantas de girassol, e esses resultados são corroborados por aqueles encontrados por Kamenidou *et al.* (2008) e discordam daqueles encontrados por Oliveira *et al.* (2013), os quais verificaram que o Si não promoveu aumentos significativos na altura de duas cultivares de girassol ornamental cultivadas em vaso. A diferença dos resultados pode ser decorrente do tempo, condição experimental e da solubilidade da forma de silício utilizada.

Hwang *et al.* (2008), em estudo com duas cultivares de arroz sob estresse salino, observaram que aplicação de Si e nitrogênio (N) reforçaram a síntese de GA1 forma bioativa mais comum das giberelinas, (hormônio relacionado ao crescimento vegetal). A GA1 codifica a sintase do ent-copalil difosfato (CPS), a primeira enzima relacionada à biossíntese do ácido giberélico (GA 20). As giberelinas promovem o alongamento e a divisão celular em caules, com consequente aumento na altura da planta. Embora este estudo não aborde as alterações hormonais promovidas pelo silício, considera-se, a partir de outras pesquisas, que a nutrição

com esse elemento pode ter estimulado a síntese de giberelinas nas plantas de girassol, com consequente aumento na altura das plantas.

Em diversas espécies, a tolerância à salinidade é aumentada ao se aplicar o Si no meio de cultivo ou através de pulverização foliar, como por exemplo, em milho (LIMA *et al.*, 2011), canola (FARSHIDI *et al.*, 2012), calêndula (BAYAT *et al.*, 2013) e sorgo (NASCIMENTO *et al.*, 2014), e em todos esses casos houve indução do crescimento pelo Si.

Para Liang *et al.* (1999), o efeito benéfico do Si na tolerância das plantas à salinidade é decorrente dos mecanismos de complexação com íons potencialmente tóxicos como o Na^+ . O depósito de sílica na exoderme e endoderme da raiz aumenta a imobilidade de íons Na^+ pela planta, impedindo-o de chegar até a parte aérea. Os autores sugerem ainda que, sob condições salinas, plantas cultivadas com Si apresentam maior absorção de íons K^+ , em detrimento de íons Na^+ , o que é decorrente do mecanismo de seletividade de transporte e de absorção de íons pelo Si.

Como se sabe, o K^+ ativa a ação de fitohormônios envolvidos no crescimento de tecidos meristemáticos. Além disso, regula a manutenção de água na planta (mecanismo de abertura e fechamento dos estômatos), promove a síntese da enzima carboxilase/oxigenase da ribulose 1,5-bifosfato (rubisco), envolvida na fixação de carbono, induz a translocação de fotossintetatos recém-produzidos e participa na mobilização do material estocado (TAIZ; ZEIGER, 2013). Não se pôde precisar neste estudo a maior regulação do K^+ pelo Si, mas se acredita que, na presença daquele nutriente, as plantas tenham absorvido mais K^+ em detrimento de íons Na^+ o que possivelmente resultou no maior crescimento das plantas sob estresse por NaCl.

Em muitas pesquisas têm sido apontado que a salinidade compromete a partição de biomassa vegetal entre as raízes e a parte aérea da planta, o que, dentre outros fatores, está relacionado a uma limitação da aquisição e distribuição de carbono em condições de estresse por NaCl, e a inibição da hidrólise de amido e sua translocação para os drenos (órgãos em crescimento) (GOMES *et al.*, 2011). Uma das respostas primárias das plantas em condições de estresse salino é a considerável redução dos mecanismos de expansão e divisão celulares, com consequente redução da biomassa, resultando nos menores acúmulos de massa seca pelo vegetal (MUNNS, 2002).

Segundo Araújo *et al.* (2010), a redução da produção de massa seca está associada principalmente ao efeito tóxico de íons como o Na^+ e Cl^- sobre a fixação líquida de carbono e consequente produção de fotoassimilados. Pressupõe-se, a partir deste estudo, que o menor acúmulo de matéria seca nas plantas de girassol foi decorrente possivelmente do acúmulo

excessivo de íons, Na^+ e Cl^- , na zona radicular. A presença desses íons no ambiente de cultivo reduz o potencial osmótico da solução nutritiva e promove o fluxo passivo de água do vegetal para o meio de crescimento da planta.

A complementação com Si na solução nutritiva resultou em incrementos consideráveis na MSPA, MSR, MST, sendo este resultado observado particularmente nas plantas que receberam as maiores concentrações desse nutriente (Si a 2mM). Resultados similares foram encontrados com outras culturas tais como feijão de corda (LIMA *et al.*, 2011), arroz (ALI *et al.*, 2012), erva doce (RAHIMI; ROOHI; ARMAND, 2012) e sorgo (NASCIMENTO *et al.*, 2014).

O efeito benéfico do Si está associado à sua natureza hidrofílica, que protege as plantas de girassol da seca fisiológica induzida pelo estresse salino. Parte desse benefício às plantas pode decorrer de sua interação positiva com o maior acúmulo de solutos orgânicos, bem como por induzir um menor potencial hídrico nas folhas.

Desse modo, a suplementação com àquele nutriente parece ter aumentado a eficiência no uso da água. Sendo assim, é provável que os aumentos na massa seca em girassol estejam relacionados às alterações no estado hídrico do vegetal induzidas pelo Si.

4.2 Conteúdo relativo de água e vazamento de eletrólitos

Neste estudo, também foi avaliada a influência do silício no conteúdo relativo de água (CRA), em folhas, e no vazamento de eletrólitos (VE), em folhas e raízes de plantas de girassol submetidas ao estresse salino.

A determinação do CRA é uma maneira de conhecer o estado hídrico das plantas, e pode refletir alterações ocorridas na atividade metabólica dos tecidos vegetais. Pelo modelo de regressão quadrática ($Z=81,260 + 12,158X - 3,145X^2$; $R^2 = 0,95$), nota-se que, em condições não salinas, as concentrações crescentes de Si foram significativas ($p<0,01$). O Si, induziu aumentos consideráveis no CRA (Figura 2), particularmente quando utilizada a maior concentração (Si a 2 mM). Sob efeito desse tratamento, a variável estudada alcançou 93,0%, um valor 14,4% e 27% maior ao das plantas controle (NaCl a 0 mM e Si a 0 mM) e estresse por NaCl a (150 mM) respectivamente. Os menores valores para o CRA, 66%, ocorreram sob as maiores concentrações de NaCl (150 mM).

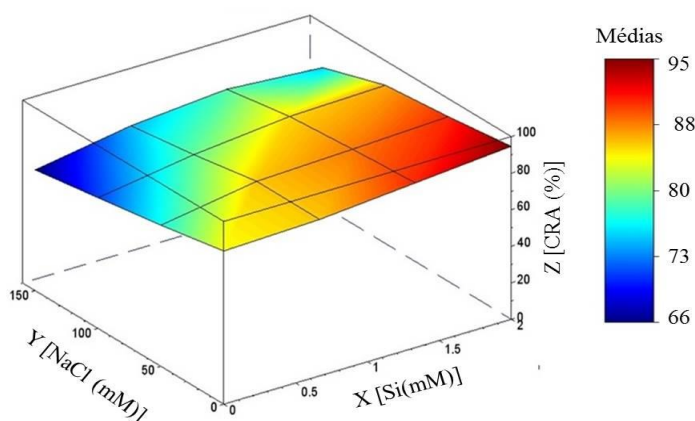
A presença crescente de Si no meio de cultivo aumentou o CRA de folhas de girassol sob estresse salino, mesmo nas maiores concentrações de NaCl. Esses resultados apontam, portanto, que o Si mitigou os efeitos deletérios da salinidade sobre o CRA em

plantas de girassol (Figura 2). Em estudo com a cultura do milho, Souza *et al.* (2014) observaram que as dosagens de Si a 0,5; 1,0 e 1,5 mM promoveram acréscimos de 72%, 70% e 74%, respectivamente, no CRA das plantas sob déficit hídrico, porém a concentração de Si a 2,0 mM ocasionou decréscimos na variável em análise, diferindo, portanto, do que ocorreu neste estudo.

Sabe-se que a salinidade compromete consideravelmente os processos fisiológicos do vegetal, alterando o conteúdo de água no interior de suas células. O acúmulo de sais nas folhas promove alterações morfológicas, como a diminuição da área foliar, em razão do menor potencial de turgescência decorrente do estresse osmótico (TAIZ; ZEIGER, 2013).

De acordo com Ali *et al.* (2014), os efeitos do estresse salino sobre as relações hídricas das plantas podem ser amenizados pelo silício, uma vez que esse nutriente estimula os processos de absorção de água pelo vegetal, o que auxilia na diluição dos sais tóxicos e garante, dessa forma, a manutenção da turgescência celular.

Figura 2 – Conteúdo relativo de água (CRA) de folhas de plantas de girassol (*Helianthus annuus* L.) cultivadas em solução nutritiva, em função de concentrações crescentes de silício (Si) e de NaCl.



$$Z = 81,260 + 12,158X - 3,145X^2 \quad (R^2 = 0,95)$$

O silício é absorvido pela planta como ácido monossilícico e se acumula nas folhas preferencialmente junto às células-guarda. A presença do Si junto aos locais por onde a planta perde água por transpiração causa diminuição da abertura estomática, o que minimiza consideravelmente as perdas de H₂O pelo processo transpiratório (JONES; HANDRECK, 1967). Além disso, o aumento do CRA em condições de estresse salino, promovido por esse nutriente, pode ser atribuído à formação da dupla camada de sílica nas células epidérmicas, a

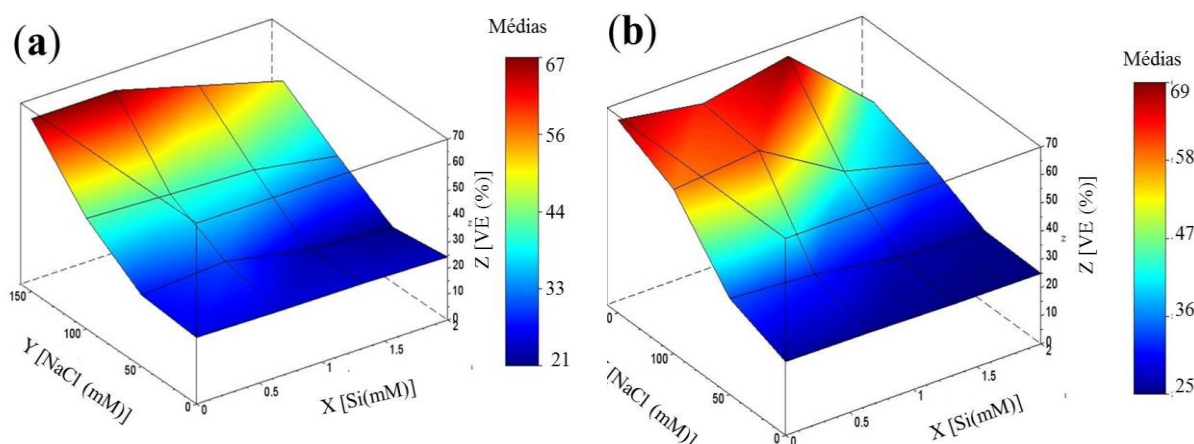
qual aumenta a resistência à perda de água pela cutícula, devido a um espessamento na parede (PEI *et al.*, 2010).

No entanto, não se pode explicar os acréscimos induzidos pelo Si no CRA apenas pelos processos estomáticos. Liang *et al.*, (1999) apontam que, sob condições de estresse por NaCl, o Si protege as plantas da seca fisiológica e estimula a maior absorção de água pelas raízes.

Para Sonobe *et al.* (2010), o efeito benéfico do silício ao vegetal refere-se ao abaixamento do potencial osmótico da planta, o que restabelece o gradiente de potencial hídrico entre as raízes e a solução do meio de cultivo, o que foi confirmado por Amin *et al.* (2014), que observaram que a aplicação de silício modificou o potencial osmótico foliar de dois genótipos de milho sob condição de déficit hídrico, tornando-o mais negativo.

Na ausência de Si, o vazamento de eletrólitos (VE) aumentou progressivamente com a salinidade, sendo os maiores valores observados na concentração de NaCl a 150 mM. Ainda na ausência de Si, ao se comparar as plantas controle (NaCl a 0 mM) com aquelas sob o maior nível de salinidade (NaCl a 150 mM), observa-se que houve aumentos no VE de 52% e 63% em folhas e raízes concomitantemente (Figura 3).

Figura 3 – Vazamento de eletrólitos (VE) em folhas (a) e raízes (b) de plantas de girassol (*Helianthus annuus* L.) cultivadas em solução nutritiva, em função de concentrações crescentes de silício (Si) e de NaCl.



$$Z_{\text{folhas}} = 24,209 + 0,00097Y + 0,21XY + 0,20X^2 \quad (R^2 = 0,98)$$

$$Z_{\text{raízes}} = 24,490 + 0,359Y + 7,584X + 0,75XY - 0,0103Y^2 + 2,34X^2 \quad (R^2 = 0,92)$$

No entanto, tal efeito foi parcialmente atenuado pelas concentrações crescentes de Si utilizadas. Houve efeito interativo ($p < 0,01$), entre as concentrações salinas e de silício tanto nas folhas quanto nas raízes (Figura 3 a, b). Como evidenciado pelos modelos de regressão

polinomial ($Z_{\text{folhas}} = 24, 209 + 0,00097Y + 0,21XY + 0,20X^2$; $R^2 = 0,98$) e ($Z_{\text{raízes}} = 24,490 + 0,359Y + 7,584X + 0,75XY - 0,0103Y^2 + 2,34X^2$; $R^2 = 0,92$), nas folhas e nas raízes, o Si a 2 mM promoveu redução de 88% e 97% respectivamente no VE em plantas sob estresse por NaCl a 150 mM.

O VE foi aumentado gradualmente com o incremento da concentração de NaCl, indicando ter havido danos às membranas celulares. Uma das causas dessa resposta pode ter sido o acúmulo de íons Na^+ em concentrações tóxicas (FILEK *et al.*, 2012).

O Na^+ em excesso pode substituir o Ca^{2+} , que é um componente estrutural da membrana plasmática, o que é devido a um efeito de competição entre Na^+ e Ca^{2+} por sítios de ligação à membrana, o que contribui para a sua desestabilização e o consequente vazamento de componentes citoplasmáticos (CRAMER *et al.*, 1985; MENGEL; KIRKBY, 2001). A atenuação da toxicidade salina na presença de Si deveu-se provavelmente à redução no conteúdo de Na^+ dos tecidos celulares e ao efeito de diluição dos sais tóxicos, já que aquele nutriente aumentou o teor de água na planta como evidenciado na figura 2.

Os resultados deste experimento estão de acordo com Bayat *et al.* (2013), em estudo com calêndula, que observaram o aumento do extravasamento de eletrólitos em tratamento salino e consequente redução desse efeito quando as plantas estiveram na presença de Si.

Saeed *et al.* (2009) também verificaram que roseiras sob estresse com NaCl e cultivadas com Si apresentaram redução da permeabilidade da membrana plasmática de células foliares, e eles atribuíram essa resposta ao efeito do Si na melhora da estabilidade da membrana, que impediu sua deterioração estrutural e funcional em condições de estresse salino. Outra razão para o efeito benéfico do Si no VE de plantas de girassol pode ter sido a menor peroxidação dos lipídios de membrana, um processo que altera a permeabilidade seletividade da membrana, acarretando vazamento de eletrólitos, devido aos danos causados pelo excesso de espécies reativas de oxigênio (EROs) (LIANG *et al.*, 2003).

Gong *et al.* (2008) considera que o Si atua na redução da peroxidação lipídica e consequentemente ameniza os danos oxidativos induzidos por estresses, através da redução da produção de EROs, que são altamente tóxicas, e podem levar à ruptura das membranas, com consequente vazamento de eletrólitos (GILL; TUTEJA, 2010).

Assim, sugere-se que o Si melhorou o status hídrico das plantas de girassol, devido à estabilização e redução da permeabilidade das membranas celulares, o que pode estar correlacionado com a redução da peroxidação lipídica, denotando que a tolerância do

girassol à salinidade depende amplamente da manutenção da integridade das estruturas membranares.

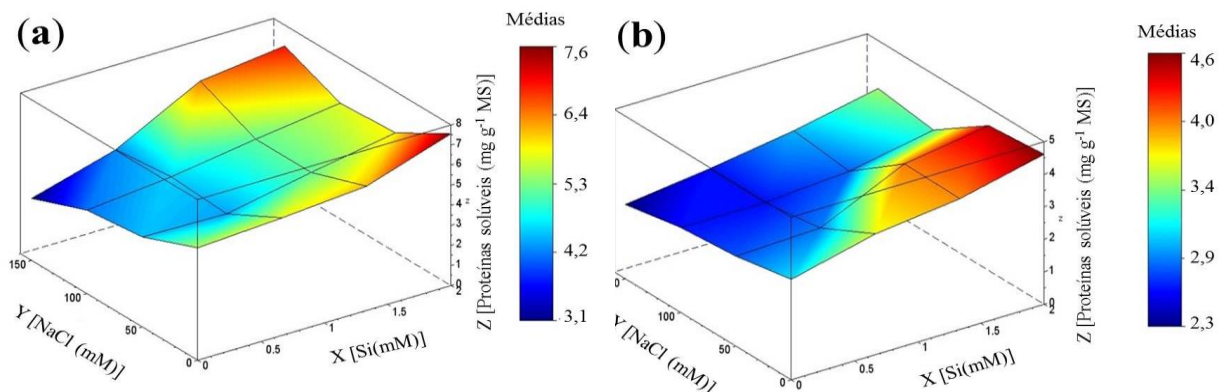
4.3 Proteínas solúveis e solutos orgânicos.

A análise de variância mostrou que, para os teores de proteínas solúveis e solutos orgânicos, houve significância ($p < 0,01$) da interação entre os níveis de salinidade e dosagens de silício e essas variáveis ajustaram-se ao modelo de regressão polinomial.

Pela superfície de resposta, observa-se que os teores de proteínas solúveis sofreram decréscimos com o aumento da salinidade, especialmente na ausência de Si, ocasião em que essa variável foi reduzida em 47% e 8%, em folhas e raízes respectivamente, ao se comparar plantas controle e aquelas sob estresse com NaCl a 150 mM (Figura 4).

A síntese de proteínas é afetada sob condições de estresse salino, sendo esse parâmetro um importante indicador do estado fisiológico das plantas (VIESTRA, 1993). O excesso de íons Na^+ nos tecidos celulares reduz a quantidade de RNA, devido a mudanças nos níveis de DNA e RNA citoplasmáticos, com conseqüente alteração dos mecanismos de síntese proteica (YU; RENGEL, 1999). Aliado a isso, o excesso de sais afeta muitas vias metabólicas, de modo que as proteínas podem sofrer modificações ou ser degradadas, em conseqüência dos danos oxidativos ou do aumento na atividade de enzimas proteolíticas, respectivamente, resultando na redução de sua concentração final (DEMIRAL; TURKAN, 2006).

Figura 4 – Teores de proteínas solúveis em folhas (a) e raízes (b) de plantas de girassol (*Helianthus annuus* L.) cultivadas em solução nutritiva, em função de concentrações crescentes de silício (Si) e de NaCl.



$$Z_{\text{folhas}} = 3,158 + 5,68X - 0,0092X^2 + 0,020XY \quad (R^2 = 0,87)$$

$$Z_{\text{raízes}} = 5,732 - 0,039Y + 0,07XY + 0,0012Y^2 \quad (R^2 = 0,88)$$

A salinidade interfere também no metabolismo do nitrogênio, pois a incorporação de N-NO_3^- é consideravelmente afetada, e ainda compromete o transporte de NO_3^- do vacúolo para o citosol, que implica redução da síntese proteica, tendo em vista que esse processo é altamente dependente do nitrogênio assimilado pelas plantas (MARTINEZ; CERDA, 1989).

No entanto, os decréscimos promovidos pela salinidade sobre esse composto nitrogenado, foram atenuados pelo Si crescente no meio de cultivo, sendo verificadas interações significativas ($p < 0,01$) entre as concentrações de Si e NaCl (Figura 4). Em plantas sob estresse por NaCl, a maior concentração de Si 2 mM, aumentou expressivamente a concentração de proteínas, o que ficou mais evidente nas raízes (Figura 4 b).

A equação de regressão polinomial ($Z_{\text{raízes}} = 5,732 - 0,039Y + 0,07XY + 0,0012Y^2$; $R^2 = 0,88$), mostra que nos tecidos radiculares, sob efeito do tratamento combinado (Si 2 mM e NaCl 150 mM), a concentração de proteína encontrada foi de 74 mg. g^{-1} MS. Sendo este resultado 95% superior ao encontrado em raízes de girassol sob tratamento isolado com NaCl a 150 mM (Figura 4 b). Nas folhas, sob efeito do mesmo tratamento, pela equação de regressão ($Z_{\text{folhas}} = 3,158 + 5,68X - 0,0092X + 0,020XY$; $R^2 = 0,87$), a concentração obtida foi de 48mg. g^{-1} MS de proteína, resultado 89% superior ao encontrado nas folhas (Figura 4 a) das plantas sob estresse por NaCl a 150 mM.

Em um estudo com plantas de girassol, Ali *et al.* (2013) também observaram que os teores de proteínas solúveis foram reduzidos pela salinidade, sendo significativamente aumentado na presença de silício. Segundo Al-Aghabary *et al.* (2004), o Si atua como um indutor da síntese de proteínas, visto que a presença desse nutriente em plantas sob condições de estresse por salinidade aumenta a síntese de RNAm e conseqüentemente há um maior incremento na concentração proteica. Para esses autores, o Si também reduz a degradação de proteínas, decorrente da elevada concentração de NaCl.

Sharaf (2010) também observou acréscimos no conteúdo de proteínas solúveis em grãos de trigo suplementados com Si a 2 mM, em condições de estresse por NaCl a 100 mM, e uma resposta contrária foi observada quando apenas na presença de NaCl a 100 mM, em que houve reduções significativas no conteúdo proteico.

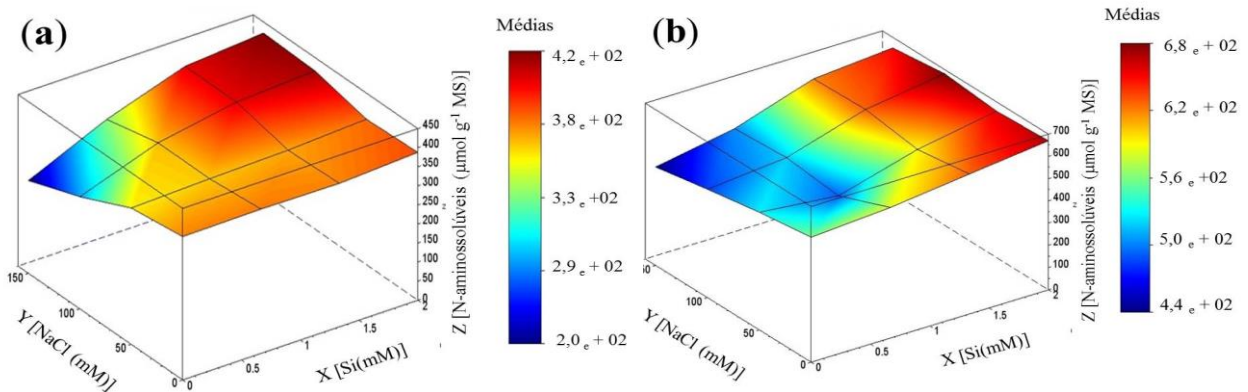
Pela superfície de resposta (Figura 5), observa-se que, na ausência de Si, houve redução nos teores de N-aminossolúveis à medida que as plantas foram submetidas a níveis crescentes de salinidade, sendo os menores valores dessa variável encontrados em plantas não tratadas com Si e submetidas a NaCl a 150 mM. Essa resposta foi mais evidente nas folhas (Figura 5 a), em que os decréscimos corresponderam a 78% enquanto nas raízes (Figura 5 b),

as reduções na concentração da variável em análise foram de 64% em comparação aos resultados encontrados nas plantas controle.

Grande parte dos N-aminossolúveis é formada por aminoácidos livres, assim se pode assumir que as alterações ocorridas nessa variável são ditadas por tais compostos. Os aminoácidos livres podem ter sua concentração aumentada nas plantas devido a processos anabólicos (síntese) ou catabólicos (degradação de proteínas) (VIESTRA, 1993).

Segundo Rocha (2003), decréscimos nos teores de aminoácidos livres, decorrentes do estresse por NaCl, estão associados, dentre outros fatores, à sua utilização na síntese de novas proteínas. No entanto, tal resposta não é condizente com os resultados deste experimento, uma vez que não houve aumento no conteúdo protéico (Figura 4), de plantas de girassol sob estresse salino. Acredita-se então que as alterações nos teores de aminoácidos livres, e, por conseguinte, de N-aminossolúveis, estejam mais relacionadas com efeitos da salinidade nos processos envolvidos na assimilação do nitrogênio, o que afeta a síntese desses compostos.

Figura 5 – Teores de N-aminossolúveis em folhas (a) e raízes (b) de plantas de girassol (*Helianthus annuus* L.) cultivadas em solução nutritiva, em função de concentrações crescentes de silício (Si) e de NaCl.



$$Z_{\text{folhas}} = 558,429 + 0,42653Y - 0,856X + 0,0412XY \quad (R^2 = 0,93)$$

$$Z_{\text{raízes}} = 376,430 + 0,741X + 16,688Y^2 - 0,001668XY \quad (R^2 = 0,91)$$

Nobre *et al.* (2010) verificaram que a absorção de N-NO_3^- por plantas de girassol foi comprometida pela salinidade induzida por NaCl, provavelmente devido à competição entre NO_3^- e Cl^- pelos sítios de absorção. Silva *et al.* (2014), por outro lado, observaram que a salinidade não teve efeito sobre o conteúdo de N-aminossolúveis em folhas de plantas de

girassol, porém, nas raízes, a concentração desses solutos variaram em função do tempo de exposição ao excesso de sais, em que, inicialmente, houve aumentos no teores de N-aminossolúveis e uma posterior redução significativa, atribuída ao maior tempo sob estresse por NaCl.

Nesta pesquisa, constatou-se que o tratamento com Si, reverteu os efeitos negativos da salinidade sobre as concentrações N-aminossolúveis na medida em que houve interação significativa ($p < 0,01$) entre as concentrações (NaCl e Si) em folhas e raízes (Figura 5 a, b). Pelos modelos de regressão polinomial ($Z_{\text{folhas}} = 3,158 + 5,68X - 0,0092X + 0,020XY$; $R^2 = 0,87$ e $Z_{\text{raízes}} = 5,732 - 0,039Y + 0,07XY + 0,0012Y^2$; $R^2 = 0,88$), plantas nutridas com Si a 2 mM e sob condições de estresse por NaCl (150 mM), tiveram os teores de N-aminossolúveis aumentados em 78,5% e 62%, em ambos os órgãos respectivamente, em relação ao tratamento por NaCl a 150 mM. Nota-se que, os efeitos da nutrição com Si a 2 mM sobre a variável estudada, foram mais expressivos nas folhas do que nas raízes (Figura 5 a, b) concomitantemente.

Neste trabalho não se pôde estabelecer correlações entre as taxas de absorção e translocação de Na^+ e Cl^- nas plantas de girassol, mas foi notório que quando a concentração de Si foi aumentada, as plantas apresentaram melhor aclimatação à salinidade, aumentando a síntese de compostos orgânicos de baixo peso molecular, como os N-aminossolúveis, para a melhor regulação do balanço hídrico.

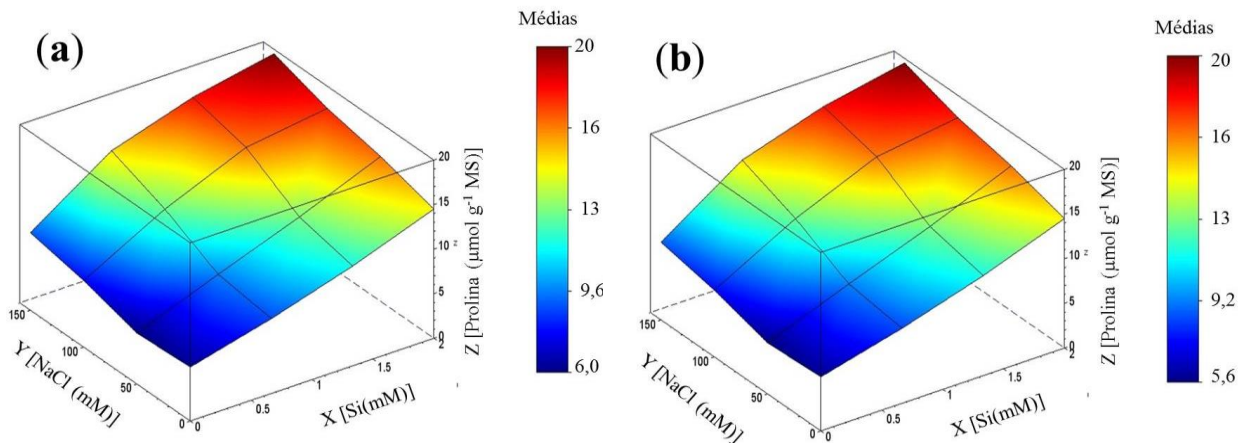
No presente estudo, os teores de prolina foram expressivamente aumentados pelo estresse salino, em ambos os órgãos das plantas de girassol, como visto pela análise da superfície de resposta apresentada na figura 6. Na ausência do Si, tal aumento foi 68% maior nas raízes (Figura 6 b), e isso pode ser explicado pelo fato de que elas são o primeiro órgão a entrar em contato mais diretamente com os sais no ambiente de cultivo, e assim se espera que esse órgão responda mais eficientemente, no que diz respeito à síntese e ao acúmulo de osmorreguladores.

Em resposta ao estresse salino, as plantas apresentam como estratégia bioquímica primária a indução da síntese e o acúmulo de solutos compatíveis no citosol, como forma de equilibrar a pressão osmótica promovida pelo excesso de íons tóxicos (Na^+ e Cl^-) no vacúolo. A prolina está dentre os que mais se acumulam sob condições de estresse (MUNNS; TESTER, 2008). Esse soluto é um osmorregulador que apresenta papel fundamental na resistência ao estresse induzido por excesso de sais, na medida em que garante a redução do potencial hídrico celular na planta.

A prolina é um aminoácido sintetizado em condições de estresse hídrico e salino, preferencialmente a partir do glutamato, mas, em condições normais, sua síntese pode ocorrer a partir da arginina (BERTELI *et al.*, 1995). Algumas espécies vegetais acumulam naturalmente esse osmólito no citoplasma em condições de estresse salino, em função desse soluto não promover qualquer efeito prejudicial sobre a atividade das enzimas citosólicas (FLORES; COLMER, 2008).

Esse aminoácido aparece como um marcador bioquímico de alterações metabólicas responsáveis pelo ajustamento osmótico, bem como atua na proteção de estruturas subcelulares da planta. Além disso, está envolvido no processo de eliminação das espécies reativas de oxigênio, uma vez que utiliza-se o NADPH durante sua síntese via glutamato, fornecendo assim NADP^+ , que pode atuar como receptor de elétrons no fotossistema I, impedindo, dessa forma, que os elétrons reduzam o O_2 a formas mais reativas (HARIR; MITLLER, 2009).

Figura 6 – Teores de prolina em folhas (a) e raízes (b) de plantas de girassol (*Helianthus annuus* L.) cultivadas em solução nutritiva, em função de concentrações crescentes de silício (Si) e de NaCl.



$$Z_{\text{folhas}} = 6,349 + 2,985Y + 0,110X - 0,0062XY + 0,00523Y^2 - 0,0002X^2 \quad (R^2 = 0,77)$$

$$Z_{\text{raízes}} = 5,705 + 4,324Y + 0,108X - 0,0008XY \quad (R^2 = 0,83)$$

Houve efeito de interação significativa ($p < 0,01$) entre os fatores analisados (NaCl e Si), em que, o Si no meio de crescimento aumentou expressivamente a concentração de prolina (Figura 6). Pelo modelo de equação polinomial de regressão ($Z_{\text{raízes}} = 5,705 + 4,324Y + 0,108X - 0,0008XY$; $R^2 = 0,83$), os maiores acúmulos desse osmólito $653 \mu\text{mol g}^{-1} \text{MS}$, ocorreram nas raízes (Figura 1b) sob tratamento combinado Si a 2 mM e NaCl a 150 mM, enquanto que para as folhas, (Figura. 6 a) como evidenciado pela equação de regressão

($Z_{\text{folhas}} = 6,349 + 2,985Y + 0,110X - 0,0062XY + 0,00523Y^2 - 0,0002X^2$; $R^2 = 0,77$), os teores de prolina foram de $570 \mu\text{mol g}^{-1}$ MS. Estes resultados foram, respectivamente, 25% e 29% superiores àqueles encontrados em plantas sob estresse por NaCl a 150 mM e na ausência de Si (Figura 6).

Em um estudo com sorgo forrageiro em condições de estresse salino, Yin *et al.* (2013) observaram que houve redução na concentração de prolina quando houve suplementação com silício. Tal resultado difere do que foi observado neste estudo, já que o tratamento com Si induziu um maior acúmulo de prolina em folhas e raízes de girassol. Uma justificativa para isso é que, plantas tolerantes à salinidade, acumulam em maior grau esse osmólito, quando comparadas a plantas sensíveis ao estresse, o que, de certo modo, nos permite inferir que o sorgo mostrou-se menos tolerante à salinidade, e que a nutrição com silício potencializou o mecanismo de ajustamento osmótico em girassol, promovendo um maior acúmulo desse aminoácido.

Tale Ahmad e Haddad (2011) relataram que o conteúdo de prolina foi significativamente aumentado em trigo sob estresse hídrico, sendo esse incremento consideravelmente maior sob efeito combinado dos tratamentos de Si e estresse hídrico, em relação aos respectivos controles.

Pereira *et al.* (2013), trabalhando com duas cultivares de pimenta (*Ceapsicum annum*), também observaram que o conteúdo de prolina foi significativamente aumentado na combinação entre estresse hídrico e a maior concentração de silício (1,75 mM). Sendo assim, esses resultados corroboram a presente pesquisa, sugerindo que o efeito da nutrição com Si reflete diretamente no maior acúmulo de prolina e indiretamente no melhor estado hídrico da planta.

Neste estudo, a prolina acumulada provavelmente não foi gerada a partir da proteólise; acredita-se que isso tenha resultado da síntese “de novo” desse composto, por meio da rota metabólica que utiliza o glutamato como precursor, com envolvimento da ação coordenada das enzimas sintetase e redutase da pirrolina-5-carboxilato (SZABADOS; SAVOURÉ, 2010). Somado a isso, a baixa utilização da prolina durante o estresse salino, estimulados pela presença do silício, pode ter contribuído para o maior acúmulo desse osmólito.

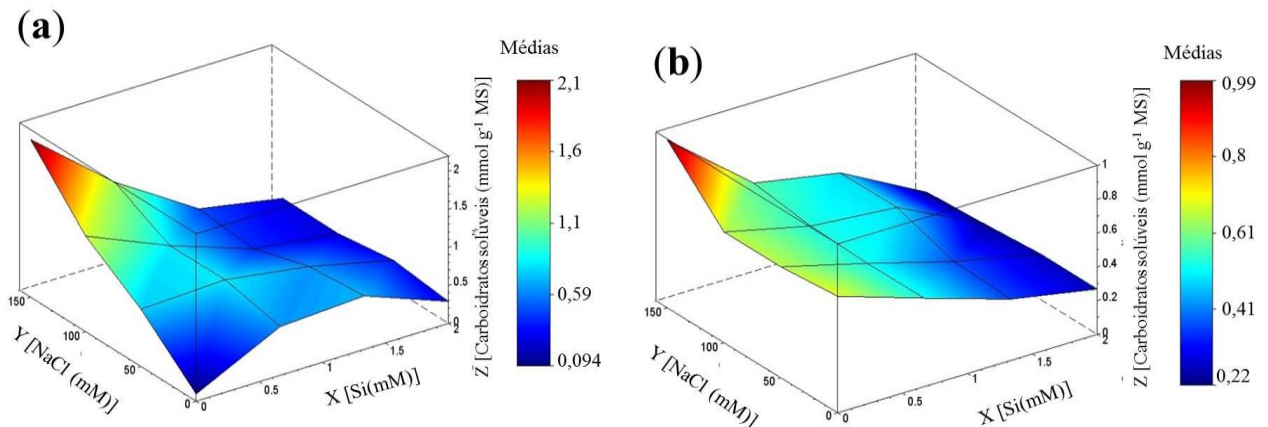
Os níveis crescentes de salinidade aumentaram os teores de carboidratos solúveis, mas isso só foi evidente em concentrações baixas de Si, visto que o aumento da concentração desse nutriente pouco afetou essa variável, nas maiores concentrações de NaCl (Figura 7).

Esse composto, dentre outras funções, atua na proteção de estruturas subcelulares, e na redução dos danos oxidativos induzidos por NaCl (SILVEIRA, *et al.*, 2010). Dentre os solutos orgânicos analisados, os carboidratos solúveis provavelmente foram os que mais contribuíram para o ajustamento osmótico das plantas de girassol sob condições salinas, dada sua concentração 1.000 vezes maior que a dos demais osmólitos estudados aqui.

Ao se comparar os teores de carboidratos solúveis em plantas de girassol, percebe-se que o acúmulo induzido pelo NaCl foi maior nas folhas que nas raízes (Figura 7), e isso pode ter decorrido de distúrbios metabólicos provocados pela salinidade na taxa de translocação de compostos orgânicos.

Diversos processos podem elevar a concentração de açúcares nas plantas. Bezerra *et al.* (2003) afirmam que, sob estresse salino, há uma regulação da atividade fotossintética, no que diz respeito à produção de fotoassimilados. Assim, esses solutos são acumulados como soluto compatível no citosol. Além da compartimentação dessas moléculas no citosol, esses açúcares são quebrados por ação das enzimas α -amilases, as quais hidrolisam o amido para formar carboidratos solúveis, sendo estes, mais prontamente utilizados pelas plantas nos processos metabólicos (PAUL; FOYER, 2001).

Figura 7 – Teores de carboidratos solúveis em folhas (a) e raízes (b) de plantas de girassol (*Helianthus annuus* L.) cultivadas em solução nutritiva, em função de concentrações crescentes de silício (Si) e de NaCl.



$$Z_{\text{folhas}} = 0,273 + 0,202Y + 0,009X - 0,007XY - 0,022Y^2 \quad (R^2 = 0,86)$$

$$Z_{\text{raízes}} = 0,651 - 0,273Y + 0,0002X - 0,0004XY + 0,047Y^2 + 0,000008X^2 \quad (R^2 = 0,92)$$

Em concordância com os resultados, Cunha *et al.* (2013) observaram que a salinidade aumentou em 78% os teores de carboidratos em folhas de pinhão manso sob

estresse salino, quando comparados ao controle. Sacramento *et al.* (2014) também verificaram aumentos de 147% nos teores de carboidratos nas folhas de aguapé sob estresse salino. Neste experimento, as maiores concentrações de carboidratos solúveis ocorreram em plantas sob estresse salino, de maneira surpreendente foi observado que a maior concentração de Si decresceu os teores desses compostos, em 47,6% nas folhas (Figura 7 a), e 38% nas raízes (Figura 7 b), quando comparados aos das plantas sob estresse salino.

Os carboidratos acumulados nas plantas representam reservas de carbono às células. Esses compostos são metabolizados e utilizados nos processos de crescimento e desenvolvimento, implicando gasto energético. A literatura aponta para um mecanismo de correção entre o metabolismo do carbono e o dos aminoácidos. Os esqueletos de carbono decorrentes do metabolismo dos carboidratos são requeridos para promover a energia necessária para a assimilação do nitrogênio em aminoácidos (TAIZ; ZEIGER, 2013).

Desse modo, sugere-se aqui que os decréscimos nos teores de carboidratos estimulados pelo Si apresentem relação com os acréscimos no conteúdo de aminoácidos nas plantas. Acredita-se que o Si estimule a utilização da energia proveniente do metabolismo dos carboidratos para induzir o vegetal a sintetizar aminoácidos. Estes resultados podem ser confirmados pelos maiores incrementos na concentração de N-aminossolúveis estimulados pelo Si (Figura 5).

4.4 Teores de NO_3^- e redutase do nitrato

Houve efeito de interação significativa ($p < 0,01$) entre a concentração de Si e salinidade para a variável nitrato (NO_3^-) (Figura 8), apenas nas raízes, visto que nesse órgão, o efeito da salinidade dependeu da concentração de Si presente no meio de crescimento (Figura 8 b). Os valores de NO_3^- ajustaram-se ao modelo de regressão polinomial ($Z_{\text{raízes}} = 1,935 + 375X + 2,300 XY$; $R^2 = 0,97$) e mostra que, quando a concentração de Si aumentou no meio de cultivo, houve um intenso acúmulo de nitrato que atingiu valores máximos nas maiores concentrações estimadas de Si (2 mM) e de NaCl (150 mM), alcançando-se 62 mmol Kg MS. de NO_3^- . Este resultado foi 98% a superior a concentração de nitrato encontrada em plantas sob estresse por NaCl (150 mM) e na ausência de Si (2 mM).

Fica evidente pela superfície de resposta (Figura 8) que, muito embora, a salinidade tenha promovido reduções significativas de 34% e 42% no conteúdo de NO_3^- em folhas e raízes de girassol, respectivamente, (Figura 8 a, b) quando comparado ao tratamento com Si a 2 mM, nota-se que esse nutriente reverteu o efeito negativo da salinidade,

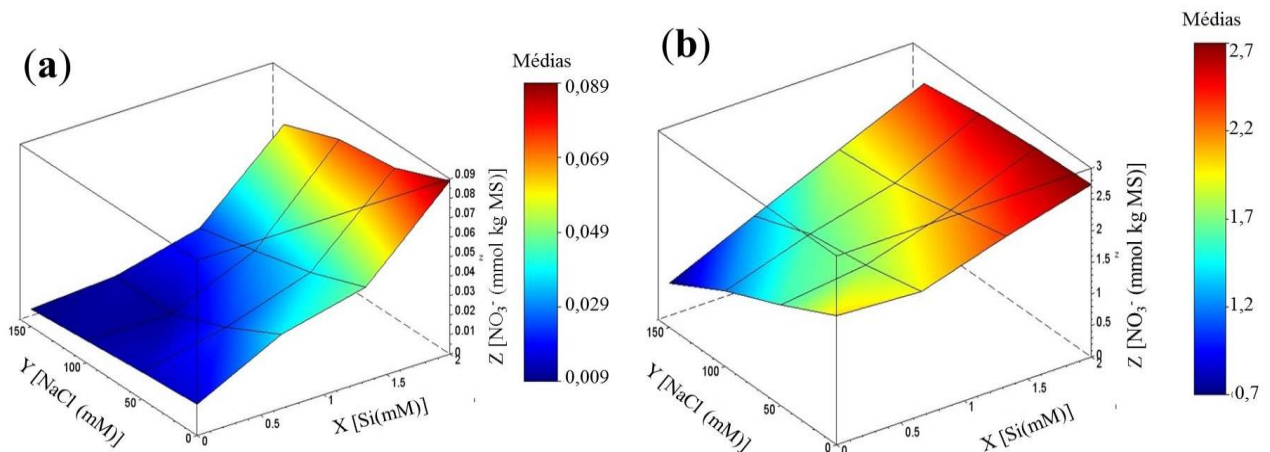
promovendo incrementos consideráveis nos teores da variável analisada em ambos os órgãos estudados.

O efeito da salinidade na absorção de nitrato já foi relatado em pesquisas com várias espécies com tolerância diferencial ao estresse salino (DING *et al.*, 2010; FREITAS *et al.*, 2010). Segundo Aragão *et al.* (2011), os decréscimos na concentração de NO_3^- como consequência da salinidade são atribuídos ao efeito de competição entre Cl^- e NO_3^- pelo mesmo transportador, na membrana plasmática. Desse modo, a taxa de translocação do NO_3^- via xilema é afetada.

Neste estudo as raízes acumularam mais nitrato, sob tratamento com a maior concentração de Si. Segundo Taiz e Zeiger, (2013), o carregamento do nitrato no xilema depende de sua concentração no citosol. Provavelmente, o Si estimulou a absorção e acumulação de NO_3^- no vacúolo das células radiculares o que contribuiu para o maior ajustamento osmótico em plantas de girassol sob estresse por NaCl.

O NO_3^- é a principal forma nitrogenada absorvida pelas plantas, sendo posteriormente reduzido a amônio (NH_4^+) através de reações sequenciais de redução, catalisadas pelas enzimas redutase do nitrato, redutase do nitrito, glutamina sintetase e glutamato sintase, o que leva consequentemente à síntese de aminoácidos (DEBOUBA *et al.*, 2007). Parte do NO_3^- absorvido é assimilado nas raízes, e o restante segue o fluxo transpiratório, sendo transportado internamente nas plantas via xilema até a parte aérea (TAIZ; ZEIGER, 2013).

Figura 8 – Teores de nitrato (NO_3^-) em folhas (a) e raízes (b) de plantas de girassol (*Helianthus annuus* L.) cultivadas em solução nutritiva, em função de concentrações crescentes de silício (Si) e de NaCl.



$$Z_{\text{folhas}} = 0,24 + 0,307Y + 0,52 X^2 \quad (R^2 = 0,98)$$

$$Z_{\text{raízes}} = 1,935 + 375X + 2,300XY \quad (R^2 = 0,97)$$

As alterações nos teores de NO_3^- em plantas de girassol foram coerentes com os resultados observados anteriormente neste estudo, para os teores de proteínas solúveis (Figura 4) e N-aminossolúveis (Figura 5), que foram significativamente reduzidos em folhas e raízes de girassol, devido à salinidade.

Freitas (2010), analisando os efeitos do estresse salino em plantas de sorgo e algodão, também encontrou resultados similares aos obtidos neste estudo, em que o conteúdo de NO_3^- foi reduzido pelo aumento da concentração de sais no meio de cultivo. Por outro lado, de forma correlata aos resultados encontrados nessa pesquisa, Souza *et al.* (2014) também verificaram que o Si promoveu aumentos na concentração de NO_3^- em plantas de milho sob déficit hídrico, quando comparadas aos respectivos controles.

Mansour (2013) considera que alterações na integridade da membrana também afetam a taxa de concentração de NO_3^- nas plantas, o que, de certa forma, corrobora os resultados obtidos neste experimento, em que foram observadas reduções significativas no vazamento de eletrólitos (Figura 3) de plantas tratadas com Si, em condição de estresse salino, o que, provavelmente, contribuiu para a maior absorção de NO_3^- pelas plantas de girassol.

De acordo com a superfície de resposta (Figura 9), a atividade da enzima redutase do nitrato (RN) nas folhas das plantas de girassol, pouco variou, na ausência do Si. Já nas raízes, nessa mesma condição, a atividade da RN decresceu gradualmente com o aumento da salinidade.

Na ausência de Si e sob a maior concentração salina (150 mM), ocorreram decréscimos de 6% na atividade da enzima RN, nos tecidos foliares mostrando que a salinidade pouco influenciou na variação da concentração da enzima nesse órgão (Figura 9 a). Nas raízes, os decréscimos na atividade da RN foram de 28% (Figura 9 b).

O metabolismo do nitrogênio é afetado em condições de estresse, uma vez que a atividade das enzimas envolvidas nesse processo, tais como a RN e a redutase do nitrito, são drasticamente reduzidas pela salinidade, o que pode acarretar menor síntese de aminoácidos e proteínas (DEBOUBA *et al.*, 2007).

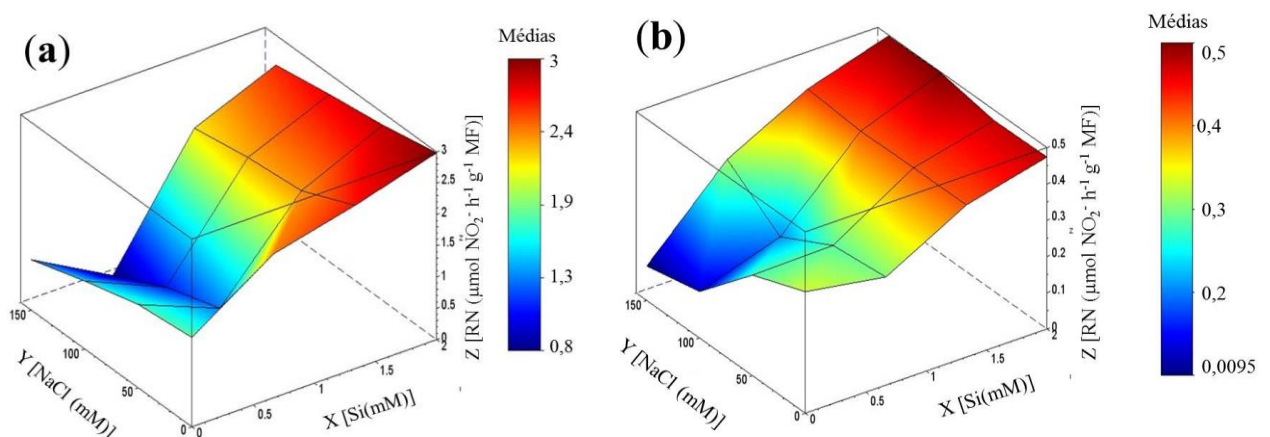
A redução da atividade da RN pode também ser decorrente dos efeitos osmóticos induzidos por NaCl, que alteram a taxa de transpiração, causando menor absorção e translocação do NO_3^- (substrato da enzima), bem como, pelo efeito iônico, devido a competição entre NO_3^- e Cl^- (ARAGÃO *et al.*, 2011). Somado a isso, os efeitos da salinidade sobre a atividade da enzima pode ser devido ao estímulo à sua degradação e/ou inativação, ou ainda pela menor expressão do gene de síntese da RN (FLAGELA *et al.*, 2004).

Concordantemente com essa pesquisa, Bybordi (2010), em estudo com canola, também verificou reduções na atividade dessa enzima, quando as plantas foram submetidas à salinidade.

Houve interação significativa ($p < 0,01$) entre as concentrações salinas e de silício (Si), em ambos os órgãos estudados. A atividade da enzima ajustou-se ao modelo de regressão quadrático nas folhas ($Z_{\text{folhas}} = 1,614 - 0,0082Y + 0,296X + 0,12XY + 0,239X^2$; $R^2 = 0,87$) (Figura 9 a) e linear nas raízes ($Z_{\text{raízes}} = 0,321 - 0,0018Y + 180X - 0,891XY$; $R^2 = 0,94$) (Figura 9 b).

Com o aumento da concentração de Si, a atividade da RN foi significativamente aumentada, independentemente da concentração de NaCl. Nota-se que, as respostas da variável estudada em função do aumento da salinidade no meio de crescimento, dependeram das concentrações de Si utilizadas. De acordo com a equação de regressão, o tratamento combinado Si a 2 mM e NaCl a 150 mM, promoveu aumentos na atividade da RN de 98% nas folhas (Figura 9 a) e 180% nas raízes (Figura 9 b), em relação às plantas sob estresse por NaCl a 150 mM.

Figura 9 - Atividade da redutase do nitrato (RN) em folhas (a) e raízes (b) de plantas de girassol (*Helianthus annuus* L.) cultivadas em solução nutritiva, em função de concentrações crescentes de silício (Si) e de NaCl.



$$Z_{\text{folhas}} = 1,614 - 0,0082Y + 0,296X + 0,12XY + 0,239X^2 \quad (R^2 = 0,87)$$

$$Z_{\text{raízes}} = 0,321 - 0,0018Y + 180X - 0,891XY \quad (R^2 = 0,94)$$

O efeito benéfico do Si sobre a RN pode ser atribuído ao estímulo da atividade dessa enzima em plantas sob estresse por NaCl, nas quais o estado nutricional é consideravelmente afetado. Desse modo, pode-se sugerir que o Si contribuiu para a maior

absorção de NO_3^- , em detrimento do Cl^- , permitindo o melhor aproveitamento daquele íon pela RN (FENG *et al.* 2010).

Tal sugestão parece plausível, visto que plantas de girassol estressadas por NaCl e tratadas com Si apresentaram maiores incrementos nas concentrações de proteínas solúveis, (Figura 4), bem como, houve aumentos significativos nos teores de NO_3^- (Figura 8), o que nos leva a crer que, o Si, mitigou os efeitos da salinidade estimulando as vias de assimilação do nitrogênio em folhas e raízes de (*Helianthus annuus* L.) sendo tais efeitos mais pronunciados nos tecidos radiculares.

Em estudo com girassol, Ebrahimian e Bybordi (2011) também observaram decréscimos na atividade da RN, quando sob estresse salino, não sendo verificado, no entanto, efeito de interação entre NaCl e Si sob a atividade enzimática. Considera-se que as diferenças nos resultados podem ser atribuídas ao tempo de exposição das plantas ao estresse, bem como, pelas concentrações de Si utilizadas.

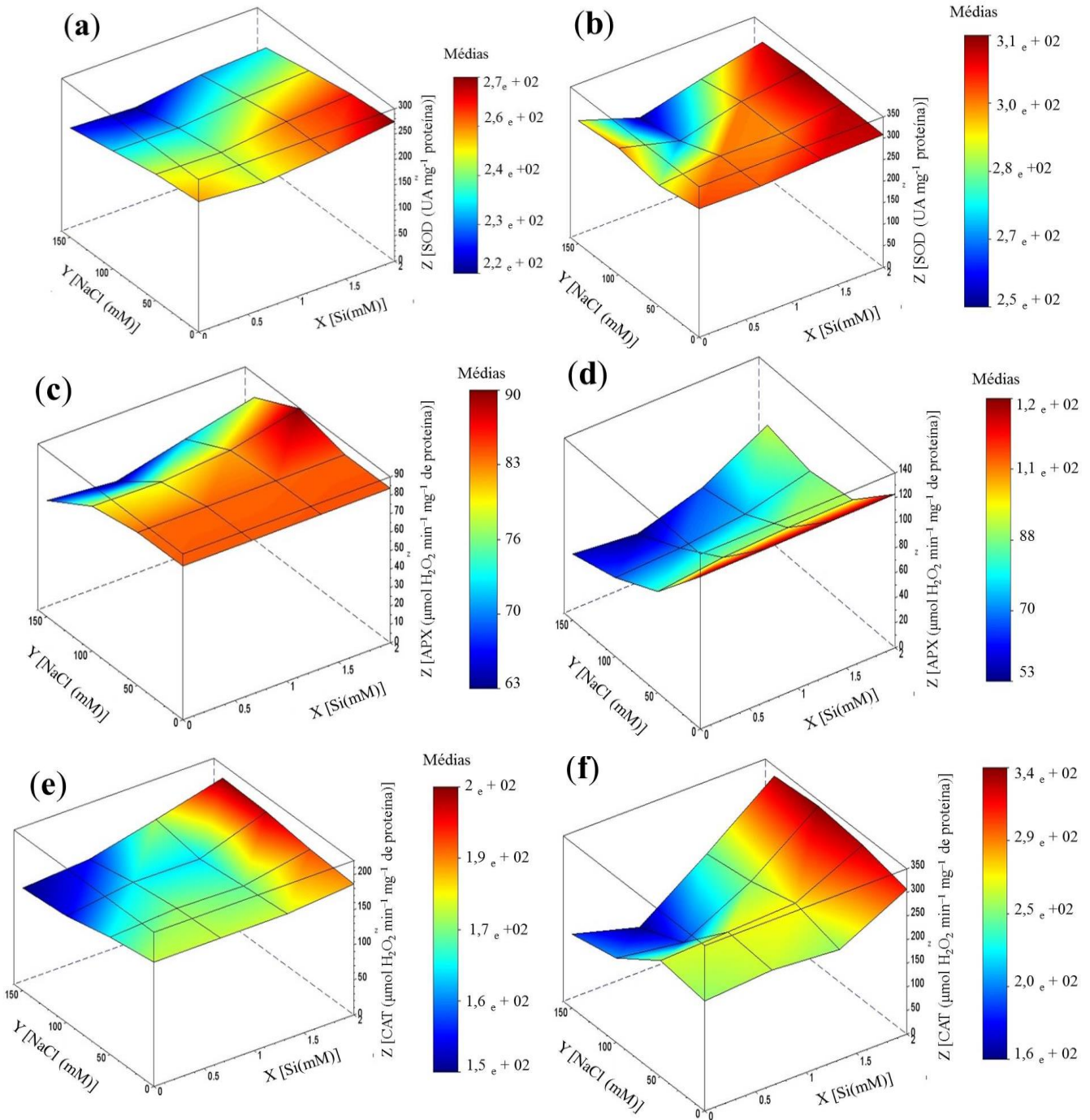
4.5 Sistema antioxidante

Com o objetivo de verificar o efeito do tratamento com Si e da salinidade na eficiência do sistema antioxidante, foi determinada a atividade das enzimas SOD, CAT e APX, em folhas e raízes de plantas de girassol. De modo geral, o aumento da concentração de Si promoveu incrementos na atividade dessas enzimas, cujos valores ajustaram-se ao modelo de regressão polinomial.

Pela análise de superfície de resposta nota-se que, na ausência do tratamento com Si, a salinidade (150 mM) reduziu em 15,7% a atividade da dismutase do superóxido (SOD) nas folhas ao se comparar às plantas controle (NaCl a 0 mM) (Figura 10 a). Enquanto que nas raízes, houve pouca variação na atividade dessa enzima sob efeito do mesmo tratamento (Figura 10 b). Ainda nos tecidos radiculares, para a peroxidase do ascorbato (APX), as reduções foram de 68% (Figura 10 d), enquanto que para a Catalase (CAT), os decréscimos foram mais expressivos 76% (Figura 10 f). Nas folhas, a atividade de ambas as enzimas foram diminuídas em 26% e 31% respectivamente sob efeito de tratamento por NaCl a 150 mM (Figura 10 c, e).

Tensões de plantas, incluindo o estresse salino, são conhecidos por perturbar a homeostase celular, potencializando a produção e acúmulo de espécies reativas de oxigênio (EROs) (GILL *et al.*, 2013). Sendo assim, SOD, CAT e APX desempenham papel crucial na proteção celular contra os danos oxidativos (RISHI; SNEHA, 2013).

Figura 10 – Atividade da dismutase do superóxido (SOD), peroxidase do ascorbato (APX) e catalase (CAT) em folhas (a, c, e) e raízes (b, d, f) de plantas de girassol (*Helianthus annuus* L.) cultivadas em solução nutritiva, em função de concentrações crescentes de silício (Si) e de NaCl.



$$\text{SOD:Z}_{\text{folhas}} = 254.483 - 0.073 Y + 0.0090 XY + 0.0013 Y^2 + 6.178 X^2 \quad (R^2 = 0.97)$$

$$\text{SOD:Z}_{\text{raízes}} = 299.877 - 24.800 X + 0.025 XY + 16.858 X^2 \quad (R^2 = 0.65)$$

$$\text{APX:Z}_{\text{folhas}} = 124.614 - 0.955 Y - 11.131 X + 0.115 XY + 0.0031 Y^2 + 5.495 X^2 \quad (R^2 = 0.97)$$

$$\text{APX:Z}_{\text{raízes}} = 84.786 + 0.052 Y - 6.264 X + 0.051 XY - 0.0013 Y^2 \quad (R^2 = 0.91)$$

$$\text{CAT:Z}_{\text{folhas}} = 179.949 - 0.329 Y - 14.370 X + 0.160 XY + 15.261 X^2 \quad (R^2 = 0.95)$$

$$\text{CAT:Z}_{\text{raízes}} = 246.823 + 0.407 Y - 71.212 X - 0.0037 Y^2 + 35.903 X^2 + 0.00015 XY \quad (R^2 = 0.93)$$

Os decréscimos na atividade enzimática foram revertidos pelo Si. Houve interação significativa ($p < 0,01$), entre as concentrações de Si e NaCl para todas as variáveis analisadas, e em todos os órgãos estudados, sendo mais evidentes nas raízes. Sob tratamento com Si a 2 mM, pelas equações de regressão (APX: $Z_{raízes} = 84,786 + 0,052Y - 6,264X + 0,051XY - 0,0013Y^2$; $R^2 = 0,91$ e CAT: $Z_{raízes} = 246,823 + 0,407Y - 71,212X - 0,0037Y^2 + 35,903X^2 + 0,00015XY$; $R^2 = 0,93$) a atividade dessas enzimas foram respectivamente 48% e 60% superiores às encontradas nas raízes de plantas sob estresse por NaCl a 150 mM. (Figura 10 d, f). No entanto, para a SOD as respostas ao tratamento com Si induziram a aumentos similares na sua expressão em folhas e raízes 26% e 23%, concomitantemente (Figura 10 a, b).

A salinidade promove a acumulação de EROs nas células vegetais. Desse modo, as plantas dependem de vias de sinalização, dentre outros processos, que induzam a aclimação ao estresse por NaCl, eliminando as EROs.

Em espécies tolerantes, geralmente há incrementos na atividade das enzimas antioxidativas em condição de estresse por NaCl. Szarka *et al.* (2012) afirmam que tais espécies apresentam uma maior atividade da SOD para se protegerem dos danos oxidativos causados pelo estresse salino. Essa enzima é considerada a primeira da linha de defesa, no que diz respeito à eliminação das EROs, e é responsável pela dismutação do $\cdot O_2^-$ em H_2O_2 e O_2 , prevenindo, dessa forma, a formação do radical hidroxil $\cdot OH$ (ALSCHER *et al.*, 2002).

O aumento na atividade da SOD regulada pelo Si permite inferir que, provavelmente, esse elemento proporcionou maior remoção das EROs e, menor dano oxidativo às células, mesmo sob estresse com NaCl a 150 mM.

A eliminação do H_2O_2 depende de agentes antioxidantes inter-relacionados, tais como a APX e a CAT. A atividade da APX nas raízes foi a mais afetada pelo estresse salino. Essa peroxidase desempenha um papel fundamental na remoção de H_2O_2 , que é acumulado na célula sob condições de estresse por NaCl (MARQUES, 2013).

O H_2O_2 é formado nos mesmos sítios celulares em que o $\cdot O_2^-$ é gerado. Quando em alta concentração na célula, essa EROs inibe a fixação de carbono, uma vez que muitas enzimas do ciclo de Calvin são extremamente sensíveis ao H_2O_2 . Esse composto é capaz de romper as membranas celulares e causar danos a biomoléculas, como lipídeos e proteínas de membrana, além de ocasionar o extravasamento de eletrólitos, somado a prejuízos no DNA (GILL; TUTEJA, 2010).

Neste estudo, foi observado que sob condições de estresse por NaCl (concentrações elevadas), plantas de girassol apresentaram reduções no vazamento de eletrólitos quando nutridas com Si, como observado na figura 3, o que pode ser

correlacionado com o aumento da atividade das enzimas antioxidantes que, possivelmente, contribuíram para a eliminação mais eficiente de compostos oxidantes prejudiciais ao metabolismo do girassol.

Zhu *et al.* (2004) indicaram que o Si induz tolerância ao estresse nas plantas, e isso pode ser parcialmente explicado pelo aumento da atividade de enzimas antioxidantes, que por sua vez diminui os danos oxidativos à célula. Pressupõe-se, assim, que o Si promove a redução da formação de radicais livres. No entanto, o aumento da atividade antioxidante não reduziu completamente os efeitos deletérios da salinidade, porque não foram observados decréscimos no VE concordante com os elevados níveis de atividade das enzimas do estresse oxidativo, o que sugere, provavelmente, que o Si regulou reduções moderadas dos efeitos da salinidade.

Nessa pesquisa, a aplicação de Si tendeu a aumentar a atividade da APX e CAT em condições salinas, sendo que as respostas mais expressivas ocorreram nas raízes. Kafi *et al.*, (2011), trabalhando com duas variedades de sorgo forrageiro, observaram que a aplicação de Si promoveu incrementos na atividade da APX, CAT e SOD, sugerindo que a redução do estresse salino foi associado com o aumento da atividade antioxidante atribuída àquele nutriente. Resultados similares aos obtidos neste experimento foram encontrados por Ali *et al.* (2013), que observaram que o uso de Si promoveu incrementos na atividade das enzimas antioxidantes CAT e SOD em plântulas de girassol em condição de estresse induzido por NaCl. No entanto, não foi observado efeito significativo na atividade da APX em plantas sob tratamento com Si e NaCl.

A resposta da CAT e da APX nas folhas foi similar, mas a presença de silício em meio de cultivo ocasionou acréscimos consideravelmente maiores na atividade da CAT nas raízes. Desse modo, pode-se inferir que a CAT foi mais eficiente na remoção de H_2O_2 , o que pode ser atribuído a sua maior especificidade pelo H_2O_2 .

Essas enzimas metabolizam o H_2O_2 em diferentes formas e compartimentos celulares, e a maior ou a menor regulação depende, sobretudo, da afinidade das enzimas por esse composto, o que é fundamental para provocar a modulação do H_2O_2 com consequente sinalização e proteção oxidativa. Os resultados apontam que a CAT parece aqui desempenhar um papel essencial na remoção das EROs, pois apresentou as maiores atividades sob tratamento com Si em relação à APX e SOD.

5 CONCLUSÕES

A presença de Si no meio de cultivo induziu a aclimação de plantas de girassol (cultivar Catissol 01) à salinidade, especialmente quando a sua concentração esteve próxima de 2 mM, resultando em maior crescimento das plantas, mesmo sob condições elevadas de NaCl.

A aclimação das plantas de girassol à salinidade, mediada pelo Si, esteve relacionada a um melhor estado hídrico das folhas, ao acúmulo de solutos orgânicos e à redução dos danos oxidativos em folhas e raízes, por meio de um sistema antioxidativo mais eficiente, em função principalmente do aumento que o Si causou na atividade das enzimas peroxidase do ascorbato (APX) e catalase (CAT).

Os aumentos nos teores foliares e radiculares de prolina e N-aminossolúveis, induzidos pelo Si, puderam ser associados ao acúmulo de nitrato nesses órgãos, bem como, pela uma maior atividade da enzima redutase do nitrato, sugerindo o envolvimento desse nutriente no metabolismo do nitrogênio.

Sugere-se aqui que o Si apresente-se como sinalizador pós-estresse, sendo capaz de preparar vias bioquímicas que asseguram a homeostase celular das plantas em resposta aos efeitos adversos da salinidade.

6 REFERÊNCIAS

- ABD-EL BAKI, G.K.; SIEFRITZ, F.; MAN, H.M.; WEINER, H.; KALDENHOFF, R.; KAISER, W. M. Nitrate reductase in *Zea mays* L. under salinity. **Plant, Cell and Environment**, v. 23, p. 515-521, 2000.
- ADATIA, M.H.; BESFORD, R. T. The effects of silicon on cucumber plants grown in recirculating nutrient solution. **Annals of Botany**, v.58, p. 343-351, 1986.
- AGUIAR NETTO, A. O.; GOMES, C. C. S.; LINS, C. C. V.; BARROS, A. C.; CAMPECHE, L. F. S. M.; BLANCO, F. F. Características químicas e salino sodicidade dos solos do Perímetro Irrigado Califórnia, SE, Brasil. **Ciência Rural** v.37, p.1640–1645, 2007.
- ALBUQUERQUE, L.; M; CASTRO, V. F., VIDAL, J. B., ENÉAS-FILHO, J. Aplicação de silício em milho e feijão-de-corda sob estresse salino. **Revista Ciência Agrônômica**, v.42, n. 2, p.398-403, 2011.
- AL-AGHABARY, K.; ZHU, Z.; SHI, Q. H. Influence of silicon supply on chlorophyll content, chlorophyll fluorescence, and antioxidative enzyme activities in tomato plants under salt stress. **Journal of plant nutrition** v.27, p. 2101-2115, 2004.
- ALI, A.; BASRA, S. M.; HUSSAIN, S.; IQBAL, J. Increased Growth and Changes in Wheat Mineral Composition through Calcium Silicate Fertilization under Normal and Saline Field Conditions. **Chilean Journal of Agricultural Research**, v.72, n.1, p.98-103, 2012.
- _____.; BASRA, S. M.; IQBAL, J.; HUSSAIN, S.; SUBHANI, M. N.; SARWAR, M.; AHMED, M. Augmenting the salt tolerance in wheat (*Triticum aestivum*) through exogenously applied silicon. **African Journal of Biotechnology**, v.11, n.3, p. 642-649, 2014.
- ALI, M. A. M., RAMEZANI, A., FAR, S. M., & SADAT, K. Application of silicon ameliorates salinity stress in sunflower (*Helianthus annuus* L.) plants. **International Journal of Agriculture and Crop Sciences**. v. 6, n. 20, p.1367-1372, 2013.
- ALI, S.; FAROOQ, M. A.; YASMEEN, T.; HUSSAIN, S.; ARIF, M. S.; ABBAS, F.; BHARWANA, S. A.; ZHANG, G. The influence of silicon on barley growth, photosynthesis and ultra-structure under chromium stress. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, Maryland Heights, v. 89, n. 1, p. 66–72, 2013.
- ALVES, F. A. L. *et al.* Efeito do Ca_2^+ externo no conteúdo de Na^+ e K^+ em cajueiros expostos a salinidade. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v.6, n.4, p.602-608, 2011.
- ALSCHER RG, ERTURK N, HEATH LS. Role of superoxide dismutases (SODs) in controlling oxidative stress in plants. **Journal of Experimental Botany** v.53, p.1331–1341, 2002.

AMIN, M.; AHMAD, R.; BASRA, S.; MURTAZA, G. Silicon induced improvement in morpho-physiological traits of maize (*zea mays l.*) under water déficit **Pakistan Journal of Agricultural Sciences**, v.51,n.1, p.187-196, 2014.

AMORIM, A. V.; GOMES-FILHO, E.; BEZERRA, M. A.; PRISCO, J. T.; Lacerda, C. F. Respostas fisiológicas de plantas adultas de cajueiro anão precoce à salinidade. **Revista Ciência Agrônômica**, v.41, p.113-121, 2010.

ANP-AGÊNCIA NACIONAL DO PETRÓLEO, GÁS NATURAL E BIOCMBUSTÍVEIS. **Boletim Mensal de Biodiesel**. Maio de 2009. Disponível em: www.anp.gov.br/?dw25747. Acesso em: fevereiro de 2015.

ANP-AGÊNCIA NACIONAL DO PETRÓLEO, GÁS NATURAL E BIOCMBUSTÍVEIS. **Relatório técnico N° 03/2014/SBQ/RJ**. Disponível em: http://www.desenvolvimento.gov.br/arquivos/dwnl_1399574667.pdf >Acesso em 11 de março, 2015.

ARAGÃO, R. M.; SILVEIRA, J. A. G.; SILVA, E. N.; LOBO, A. K. M.; DUTRA, A. T. B. Absorção, fluxo no xilema e assimilação do nitrato em feijão-caupi submetido à salinidade. **Revista Ciência Agrônômica**, v.41, n.1, p.100-106, 2010.

ARAGÃO, R. M.; DA SILVA, J. S.; DE LIMA, C. S.; GOMES, J. A. Salinidade modula negativamente a absorção e assimilação de NO. **Revista Ciência Agrônômica**, v.42, n.2, p.382-389, 2011.

ASHRAF, M.; FOOLAD, M. R. Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. **Environmental and Experimental Botany**, v.59, p.206-216, 2007.

_____, RAHMATULLAH, M.; AFZAL, R.; AHMED, F.; MUJEEB, A. S.; ALI, L. Alleviation of detrimental effects of NaCl by silicon nutrition in salt-sensitive and salt-tolerant genotypes of sugarcane (*Saccharumofficinarum L.*). **Plant Soil**, 326: 381–391, 2010.

_____, HARRIS, P.J.C. Photosynthesis under stressful environments. **Photosynthetica**, v. 51, p. 163-190, 2013.

ASADA K. The water-water cycle in chloroplasts: scavenging of active oxygens and dissipation of excess photons. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v.50, p.601-639, 1999.

AZEVEDO NETO, A. D.; GOMES FILHO, E. PRISCO, J.T. Salinity and oxidative stress. In: KHAN, N.A.; SINGH S. (Org). Abiotic stress in plant responses. **Aligarh: IK international group**, p.58-82, 2008.

BATES, L. S., WALDREN, R. P. e TEARE, I. D. Rapid determination of free proline for waterstress studies. Short communication. **Plant and Soil**. v. 39, p.205-207, 1973.

BAYAT, H.; ALIREZAIE, M.; NEAMATI, H.; SAADABAD, A. A. Effect of Silicon on Growth and Ornamental Traits of Salt-stressed *Calendula* (*Calendula officinalis* L.). **Journal of Ornamental Plants**, v.3,n.4, p.207-214, 2013.

BEERS, Jr R. F.; SIZER, W. A spectrophotometric method for measuring the breakdown of hydrogen peroxide by catalase, **Journal of Biological Chemistry**, n. 195, p. 133–140, 1952.

BÉLANGER, R.R.; BOWEN, P.A.; EHRET, D.L.; MENZIES, J.G. SOLUBLE silicon its role in crop and disease management of greenhouse crops. **Plant Disease**, v. 79, n.4, p.329-336, 1995.

BERTELI, F.; CORRALES, E.; GUERRERO, C.; ARIZA, M.J.; PILEGO, F. and VALPUESTA, L. Salt stress increase ferredoxin-dependent glutamate synthase activity and protein level in the leaves of tomato. **Physiologia Plantarum**, 93:259-264, 1995.

BEZERRA, M. A.; OLIVEIRA, R. A.; LACERDA, C. F.; PRISCO, J. T.; GOMES-FILHO, E.; Fotossíntese de plantas de cajueiro-anão precoce submetidas ao estresse salino. **Proceedings of the Interamerican Society for Tropical Horticulture**, v.47, n.353, p.149-152, 2003.

BOWLER C, VANMONTAGU M, INZÉ D. Superoxide dismutase and stress tolerance. Annual Review of **Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, 43:83-116, 1992.

BLANCHET, R. Ecophysiologie et élaboration du rendement du tournesol: principaux caractères. In: LOMBE, L.; PICARD, D. (Ed.). Élaboration du rendement des principales cultures annuelles. Paris: **INRA**, p. 97-99, 1994.

BLUM, A.; EBERCON, A. Cell membrane stability as a measure of drought and heat tolerance in wheat. **Crop Science**, v.21, p.43-47, 1981.

BLUMWALD, E.; AHARON, G. S.; APSE, M. P. Sodium transport in plant cells. **Biochimica et Biophysica Acta**, v.1465, p.140-151, 2000.

BOTELLA M.; ROSADO, A.; BRESSAN, R.A.; HASEGAWA, P.M. Plant adaptive responses to salinity stress. In: JENKS, M.A.; HASEGAWA, P.M. (ed.). **Plant abiotic stress**. New York: Blackwell Publishing, p. 37-70, 2005.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Anal. Biochem.** V. 72: 248-254, 1976.

BRADY, N.C. **The nature and properties of soil**. 10.ed. New York: Macmillan Publishing, 1992.

BRASIL. Decreto no 2954, de 14 de janeiro de 2004. Aprova o regulamento da lei no 6894 de 16 de janeiro de 1980, que dispõe sobre a inspeção e fiscalização da produção e do

comércio de fertilizantes, corretivos, inoculantes ou biofertilizantes destinados à agricultura, e dá outras providências. **Normas jurídicas (Texto integral)**- DEC 004954, 14 Jan., 2004. 27p.

BRASIL. MINISTÉRIO DA CIÊNCIA E TECNOLOGIA. **Plano Nacional de Agroenergia**. Brasília, 2005. 120p.

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**, Beijing, v. 11, n. 10, p. 1610-1620, 2012.

CARILLO, P.; MASTRLONARDO, G.; NACCA, F.; PARISI, D.; VERLOTA, A.; FUGGI, A. Nitrogen metabolism in durum wheat under salinity: accumulation of proline and glycine betaine. **Functional Plant Biology**, v. 35, p. 412-426, 2008.

CARMONA, F. de C., ANGHINONI, I., WEBER, E. J. **Salinidade da água e do solo e seus efeitos sobre o arroz irrigado no Rio Grande do Sul**. Cachoeirinha: IRGA/Estação Experimental, Seção de Agronomia, (Boletim Técnico, 10), 2011. 54 p.

CASTRO, C.; FARIAS, J. R. B. **Ecofisiologia do Girassol**. In: LEITE, R. M. V. B. C.; BRIGHENTI, A. M.; CASTRO, C. (Ed.). *Girassol no Brasil*. Londrina: EMBRAPA Soja, p. 163-210, 2005.

CATALDO, D. A.; HAROON, S. L. E & YOUNGS, V. L. Rapid colorimetric determination of nitrate in plant tissue by nitration of salicylic acid. **Commum Soil Science Plant Analyse**, v.6: n.1, p.71-80, 1975.

CENTENO, C. M.; DOS SANTOS, J. B.; XAVIER, D. A.; DE AZEVEDO, C. A. V.; GHEYI, H. R. Biometria do girassol embrapa 122-v2000 cultivado em função da salinidade da água de irrigação e adubação nitrogenada. **II Inovagre International Meeting, Fortaleza**, 2014.

CHANG, B.; YANG, L.; CONG, W.; ZU, Y.; TANG, Z. The improved resistance to high salinity induced by trehalose is associated with ionic regulation and osmotic adjustment in *Catharanthus roseus*. **Plant Physiology and Biochemistry** v. 77, p.140-148, 2014.

CHAVES, M.M.; FLEXAS, J.; PINHEIRO, C. Photosynthesis under drought and salt stress: Regulation Mechanisms from whole plant to cell. **Annals of botany**, 3:1-10, 2008.

CHIBA, Y.; MITANI, N.; YAMAJI, N.; MA, J. F. HvLSI1 is a silicon influx transporter in barley. **The Plant Journal**, v.57, p. 810-818, 2009.

CHINNUSAMY, V.; JAGENDORF, A.; ZHU, J-K. Understanding and improving salt tolerance in plants. **Crop Science**, v. 45, p. 437-448, 2005.

CHIRAZ, C.H., H.N. AFEF, H.A. CARRAYOL, G.M. HABIB AND G. HOUDA. Long-term salt stress responsive growth, carbohydrate metabolism and proline and anti-stress enzymes in *Nicotiana tabacum*. **African Journal of Biotechnology**. v. 11, p.8117-8126, 2012.

CONAB, (2014). Disponível em: <http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/14_07_16_16_42_56_girassoljunho2014.pdf>. Acesso em: 17 de fevereiro de 2015.

CORRÊA, I. M.; MAZIERO, J. V. G.; ÚNGARO, M. R.; BERNARDI, J. A.; STORINO, M. Desempenho de motor diesel com mistura de biodiesel de óleo de girassol. **Ciências Agrotécnicas**, Lavras, v. 32, n. 3, p. 923-928, 2008.

CUNHA, P.C.; MENDES, B.S.S.; OLIVEIRA FILHO, R.A.; CAMARA, T.R.; WILLADINO, L.G. Crescimento, síntese de solutos orgânicos e equilíbrio iônico de plântulas de pinhão-mansão sob estresse salino. **Revista Caatinga**, Mossoró, v.26, n.3, p.46-52, 2013.

DATNOFF, L. E.; SNYDER, G. H.; KORNDORFER, G. H. Silicon in agriculture. **Elsevier**, v. 8, 2001 p.57-86.

DAYANANDUM, P., KAUFMAN, P. B., FRAKIN, C. I. Detection of silica in plants. **American Journal of Botany**, v. 70, p.1079-1084, 1983.

DEBOUBA, M.; MAÂROUFI-DGHIMI, H.; SUZUKI, A.; GHORBEL, M.H.; GOUIA, H. Changes in growth and activity of enzymes involved in nitrate reduction and ammonium assimilation in tomato seedlings in response to NaCl stress. **Annals of Botany**, v. 99, p. 1143-1151, 2007.

DEMIRAL T, TURKAN I. Exogenous glycinebetaine affects growth and proline accumulation and retards senescence in two rice cultivars under NaCl stress. **Enviro Experi Bio**. 56, 72-79, 2006.

DIAS, N. S.; BLANCO, F.F. Efeitos dos sais no solo e na planta. In: GHEYI, H. R.; DIAS, N. da S.; LACERDA, C. F.. (Org.). **Manejo da salinidade na agricultura: estudos básicos e aplicados**. Fortaleza: Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Salinidade, 2010, v., p.133-144, 2010.

DING, X.; TIAN, C.; ZHANG, S.; SONG, J.; ZHANG, F.; MI, G.; FENG, G. Effects of NO_3^- N on the growth and salinity tolerance of *Tamarix laxa* Willd. **Plant and Soil**, v.331, p.57-67, 2010.

DUBOIS, M.; GILLES, K. A.; HAMILTON, J. K.; REBERS, P. A.; SMITH, F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analytical Chemistry**. V.28, n.3, p.350-356, 1956.

EMBRAPA. Cultura do girassol na agricultura familiar. Aracajú, março 2010. Disponível em: <<http://hotsites.sct.embrapa.br/prosarural/programacao/2010/a-cultura-do-girassol-na-agricultura-familiar>>. Acesso em 15 de setembro de 2014.

EBRAHIMIAN, E.; BYBORDI, A. Influence of different ratios of nitrate and ammonium and silicon on growth, nitrate reductase activity and fatty acid composition of sunflower under salt stress. **Journal of Food, Agriculture & Environment** v.9, n.1. p.438- 443, 2011.

_____, E. Silicon. *Annual Review of Plants Physiology and Plant Molecular Biology*, v. 50, p. 641-664, 1999.

_____, E. AND A.J. BLOOM. *Mineral Nutrition of plants: principles and perspectives*. Second edition. Sinauer Associates, Inc. Sunderland/MA, 2005.

EPSTEIN, E. Silicon: its manifold role in plants. *Ann Appl Biol* 155:155–160, 2009.

ESTEVEZ, B.S.; SUZUKI, M.S. Efeito da salinidade sobre as plantas. ***Ecologia Australis***, v.12, n.4, p.662-679, 2008.

FAO. Organização Mundial da Saúde Land and plant nutrition management service. Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2008.

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

FAUTEUX, F.; CHAIN, F.; BELZILE, F.; MENZIES, J. M.; BÉLANGER, R. The protective role of silicon in the Arabidopsis-powdery mildew Pathosystem. ***Proc Nat Acad Sci*** 46:17554–17559, 2006.

FAWE, A.; MENEZES, J.G.; CHÉRIF, M.; BÉLANGER, R.R. Silicon and disease resistance in dicotyledons. In: DATNOFF, L. E.; SNYDER, G.H.; KORNDORFER, G. H. (Ed.). *Silicon in agriculture*. Amsterdam: **Elsevier**, p. 159-170, 2001.

FENG, J.; SHI, Q.; WANG, X.; WEI, M.; YANG, F.; XU, H. Silicon supplementation ameliorated the inhibition of photosynthesis and nitrate metabolism by cadmium (Cd) toxicity in *Cucumis sativus* L. ***Scientia Horticulturae***, Amsterdam, v. 123, n. 4, p. 521–530, 2010.

FINKEL, T. Oxidant signals and oxidative stress. *Current opinion in: Cell biology*, v.15.p.247-245, 2003.

FILEK, M.; WALAS, S.; MROWIEC, H.; RUDOLPHY-SKO, R, S. K. A. E.; SIEPRA, W. S. K. A. A; BIESAGA-KOSCIELNIAK J. Membrane permeability and micro- and macroelement accumulation in spring wheat cultivars during the short-term effect of salinity- and PEG-induced water stress. ***Acta Physiol Plant*** 34:985–995, 2012.

FLAGELLA, Z.; GIULIANI, M. M.; ROTUNNO, T.; DI CATERINA, R.; AND DE CARO, A. Effect of saline water on oil yield and quality of a high oleic sunflower (*Helianthus annuus* L.) hybrid. ***European Journal of Agronomy*** 21:267-272, 2004.

FLORES, P.; CARVAJAL, M.; CERDA, A.; MARTINEZ, V. Salinity and ammonium/nitrate interactions on tomato plant development, nutrition and metabolites. ***Journal of Plant Nutrition***, v. 24, p.1561-1573, 2001.

FLOWERS, T. J. Improving crop salt tolerance. **Journal of Experimental Botany**, v. 55, n. 396, p. 307-319, 2004.

_____, COLMER, T. D. Salinity tolerance in halophytes. **New Phytol.** 179, 945–963. 2008.

FOYER, C.H.; NOCTOR, G. Redox homeostasis and antioxidant signalling: a metabolic interface between stress perception and physiological responses. **The Plant Cell**, 17: 1866-1875, 2005.

FREITAS, V.S. Aspectos fisiológicas e bioquímicos relacionados com a tolerância à salinidade em algodão, feijão de corda e sorgo. 2010. 97p. Dissertação (Mêstrado em Bioquímica) Centro de Ciências, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2010.

GARCIA, G. O.; NAZÁRIO, A. A.; MORAES, W. B.; GONÇALVES, I. Z.; MADALÃO, J. C. Respostas de genótipos de feijoeiro á salinidade. **Engenharia na Agricultura**, v.18, p. 330-338, 2010.

GAZZOLA A., FERREIRA JR. C. T. G., CUNHA A. D. BORTOLINI E., PAIAO G. D., PRIMIANO, I. V., PESTANA J., D'ANDRÉ M. S. C., OLIVEIRA M. S. **A cultura do girassol: Plantas Oleaginosas**. Universidade de São Paulo Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" Departamento de Produção Vegetal, Piracicaba – SP, 2011.

GIANNOPOLITIS C. N.; RIES S. K.; Superoxide dismutases. I Occurrence in higher plants. **Plant Physiology**. n.59, p.309-314, 1977.

GILL, S. S.; ANJUM, N.; HASANUZZAMAN, A.; GILL, M. R.; TRIVEDI, D. K.; AHMAD, I.; PEREIRA, E. ; TUTEJA, N. Glutathione and glutathione reductase: A boon in disguise for plant abiotic stress defense operations. **Plant Physiology and Biochemistry. Elsevier**, 2013.

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

GOMES, K.R.; AMORIM, A.V.; FERREIRA, F.J.; FILHO, F.L.A.; LACERDA, C.F.; GOMES-FILHO, E. Respostas de crescimento e fisiologia do milho submetido a estresse salino com diferentes espaçamentos de cultivo. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.15, n.4, p.365–370, 2011.

GONG, H.J., D.P. RANDALL and T.J. FLOWERS. Silicon deposition in the root reduces sodium uptake in rice seedlings by reducing bypass flow. **Plant Cell e Environment**, 111: 1-9, 2006.

GONG, H. J.; CHEN, K. M.; ZHAO, Z. G.; CHEN, G. C.; ZHOU, W. J. Effects of silicon on defense of wheat against oxidative stress under drought at diferent developmental stages. **Biolgia Plantarum** 52 (3): 592-596, 2008.

GOUÏA, H.; GHORBAL, M.H.; TOURINE, B. Effects of NaCl on flows of N and mineral ions and on NO₃⁻ reduction rate within whole plants of salt-sensitive bean and salt-tolerant cotton. **Plant Physiology**, v. 105, p. 1409-1418, 1994.

GRATÃO, P. L. *et al.* Making the life of heavy metal-stressed plants a little easier. **Functional Plant Biology**, v.32, p.481-494, 2005.

GRATTAN, S.R.; GRIEVE, C.M. Salinity-mineral nutrient relation in horticultural crops. **Scientia Horticulturae**, v. 78, p. 127-157, 1999.

GROMPONE, M.A. Sunflower oil. In: SHAHIDI, F. **Bailey's industrial oil & fat products**. 6.ed. Hoboken, NJ: John Wiley & Sons, 2005. V.2.

GUEDES FILHO, D. H.; DOS SANTOS, J. B.; GHEYI, H. R.; CAVALCANTE, L. F.; DE FARIAS, H. L. Biometria do girassol em função da salinidade da água de irrigação e adubação nitrogenada. **Revista Brasileira de Agricultura Irrigada**, 7(5), 277-289, 2013.

GUPTA, B. AND B. HUAN. Mechanism of salinity tolerance in plants: **physiological**, biochemical, and molecular characterization. **International Journal of Genome**, 2014:701596, doi: 10.115, 2014.

GUNES, A. et al. Influence of silicon on sunflower cultivars under drought stress, I: Growth, antioxidant mechanisms, and lipid peroxidation. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, New York, v.39, n.13-14, p.1885-1903, 2008.

GUNTZER, F., KELLER, C, MEUNIER, J.-D. Benefits of plant silicon for crops: A review. **Agronomy for Sustainable Development**, 32(1): 201-213, 2012.

HAGEMAN, R. H. G; HUCKLESBY, D. P., Nitrate reductase from higher plants, in: **Methods In Enzimology**, 17 A: 491-503, 1971.

HAMILTON, E.W.;HECKATHORN, S.A. Mitochondrial adaptation to NaCl:Complex I is protected by anti-oxidants and small heat shock proteins, whereas complex II is protected by proline and betain. **Plant Physiology**, v.126, p.1266–1274, 2001.

HARE, P.D.; CRESS, W.A.; VAN STADEN, J. Dissecting the roles of compatible osmolyte accumulation during stress. **Plant Cell Environ**, v.21, p.535–553, 1998.

HARIR, Y.; MITTLER, R. The ROS Signaling Network of Cells. In: DEL RIO, L. A. & PUPPO, A. (Ed.). Reactive oxygen species in plants signaling.berlin, **Springer-Verlag**, 2009, cap. 10, p. 165-174.

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

HASEGAWA, P. M.; BRESSAN, R. A.; ZHU, J.-K.; BOHNERT, H. J. Plant cellular and molecular responses to high salinity. **Annual Review of Plant Physiology and Molecular Biology**, v.51, p.463-499, 2000.

HASHEMI, A.; ABDOLZADEH, A.; SADEGHIPOUR, H. R. Beneficial effects of silicon nutrition in alleviating salinity stress in hydroponically grown canola, *Brassica napus* L., plants. **Soil Science and Plant Nutrition**, Tokyo, v. 56, p. 244-253, 2010.

HECKMAN. Silicon: A Beneficial Substance. **Better Crops** 97(4): 14-16. 2013.

HOAGLAND, D.R.; ARNON, D.I. The water culture method for growing plants without soil. Calif. Agric. Csp. Stn. Univ. Calif. Berkeley Cir. p. 137:147, 1950.

HORIE, T.; SCHOEDER, J. I. Sodium transporters in plants. Diverse genes and physiological functions. **Plant Physiology**, v.136, p.2457-2462, 2004.

HWANG, S.J.; HAMAYUN, M.; KIM, H.Y.; NA, C.I.; KIM, K.U.; SHIN, D.H.; KIM, S.Y.; LEE, I.J. Effect of nitrogen and silicon nutrition on bioactive gibberellin and growth of Rice under field conditions. **Journal of Crop Science and Biotechnology**. 10: 281-286, 2008.

IGAMBERDIEV A. U.; LEA, P. J. The role of peroxisomes in the integration of metabolism and evolutionary diversity of photosynthetic organisms. **Phytochemistry**, 60:651-674, 2002.

ISLÃ, R.; ARAGUÉS, R. YIELD and plant ion concentrations in maize (*Zea mays* L.) subject to diurnal and nocturnal saline sprinkler irrigations. **Field Crops Research**, v.116, p.175-183, 2010.

JOLY, A.B. **Botânica introdução à taxonomia vegetal**. 11.ed. São Paulo: Editora Nacional, 1993. 777p.

JONES, L. H. P.; HANDRECK, K. A. Silica in soils, plants and animals. **Advances in Agronomy**. 19, 107-149, 1967.

KAFI, M.; RAHIMI, Z.. Effect of salinity and silicon on root characteristics, growth, water status, proline contents and ion accumulation of purslane (*Portulaca oleracea* L.). **Soil Sci Plant Nutrition** 57:341–347, 2011.

KAMENIDOU, S.; CAVINS, T. J.; MAREK, S. Silicon supplements affect horticultural traits of greenhouse-produced ornamental sunflowers. **Hort Science**, v.43, p.236-239, 2008.

KIM, Y. H., KHAN, A. L., WAQAS, M., SHIM, J. K., KIM, D. H., LEE, K. Y., & LEE, I. J.. Silicon application to rice root zone influenced the phytohormonal and antioxidant responses under salinity stress. **Journal of Plant Growth Regulation**, 33(2), 137-149, 2014.

KORNDÖRFER, G. H. Uso do silício na agricultura. **Informações Agronômicas**, Piracicaba, p. 9-11, n. 117, 2007.

KORNDÖRFER, G. H.; OLIVEIRA, L.A. **Uso do silício em culturas comerciais**. In: Simpósio Brasileiro sobre Silício na Agricultura, 5., 2010, Viçosa. Anais.Viçosa: UFV/DFP, p. 3-25, 2010.

LEE SC, LUAN S. ABA signal transduction at the crossroad of biotic and abiotic stress responses. **Plant Cell Environ**, 35:53–60, 2012.

LEITE, R. M. V. B. C.; CASTRO, C.; BRIGHENTI, A. M.; OLIVEIRA, F. A.; CARVALHO, C. G. P.; OLIVEIRA, A. C. B. **Indicações para o cultivo de girassol nos Estados do Rio Grande do Sul, Paraná, Mato Grosso do Sul, Mato Grosso, Goiás e Roraima, Londrina**: Embrapa Soja, 2007. 4p. (Embrapa Soja, Comunicado Técnico, 78).

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

_____; CHEN, Q.; LIU, Q.; ZHANG, W. AND DING, R. Exogenous silicon (Si) increases antioxidant enzyme activity and reduced lipid peroxidation in roots of salt-stressed barley (*Hordeum vulgare* L.). **J Plant Physiol**. 160:1157-11, 2003.

_____; YONGCHAO LIANG.; HUA, H.; ZHU, Y.G.; ZHANG, J.;CHENG, CHUNMEI.; RÖMHELD,V. Importance of plant species and external silicon concentration to active silicon uptake and transport. **New Phytologist**, Cambridge, v.172, n.1, p.63-72, 2006.

_____.; SUN, W.; ZHU, Y.G.; CHRISTIE, P. Mechanisms of silicon mediated alleviation of abiotic stresses in higher plants a review. **Environmental Pollution**, London, V.147. p. 422-428, 2007.

LIMA FILHO, O. F.; LIMA, M. T. G.; TSAI, S. M. O silício na agricultura. **Informações Agrônomicas**, Piracicaba, v. 87, n. 1, p. 1-7, 1999.

LIMA, M. A.; CASTRO, V. F.; VIDAL, J. B.; ENEAS-FILHO, J. Aplicação de silício em milho e feijão-de-corda sob estresse salino. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 42, n. 2, p. 398-403, 2011.

LIRA, M.A.; CARVALHO, H.W.L. de; CHAGAS, M.C.M. das; BRISTOT, G.; DANTAS, J.A.; LIMA, J.M. P. de. **Avaliação das potencialidades da cultura do girassol como alternativa de cultivo no semiárido nordestino**. Natal: EMPARN, 2011. Documentos, n. 40, 43p.

MACIEL, M. P., SOARES, T. M., GHEYI, H. R., REZENDE, E. P., & OLIVEIRA, G. X. Produção de girassol ornamental com uso de águas salobras em sistema hidropônico NFT. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, 16(2), 165-172, 2012.

MA JF, YAMAJI N. Function and transport of silicon in plants. **Cell Mol Life Sci** 65:3049–3057, 2008.

MA, J.F.; YAMAJI, N. Silicon uptake and accumulation in higher plants. **Trends in Plant Science**, v.11, n.08, p.392-397, 2006.

MA, J.F.; MIYAKE, Y.; TAKAHASHI, E. Silicon as a beneficial element for crop plant. In: *Silicon in Agriculture*. Edited by DATNOFF, L. E., KORNDÖRFER, G. H., SNYDER, G. New York: **Elsevier science**. p. 17-39, 2001.

MALAVOLTA, E. **Manual de nutrição mineral de plantas**. Piracicaba: Editora Ceres, 2006. 631p.

MANSOUR, M.M.F. Nitrogen containing compounds and adaptation of plant to salinity stress. **Biologia Plantarum**, v.43, p.491-500, 2000.

_____. Plasma membrane permeability as an indicator of salt tolerance in plants. **Biologia Plantarum**, v. 57.p.1-10, 2013.

MARQUES, E.C. **Aclimação de plantas de milho à salinidade mediada pelo pré-tratamento com nitroprussiato de sódio**. Tese (doutorado)-Universidade Federal do Ceará. Centro de Ciências. Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular. Programa de Pós Graduação em Bioquímica. Fortaleza, 2013.

MARZINEK, J.; DE-PAULA, O. C.; OLIVEIRA, D. M. T. Cypsela or achene? Refining terminology by considering anatomical and historical factors. **Revista Brasileira de Botânica**, v.31, n.3, p.549-553, 2008.

MARTINEZ, V.; CERDA, A. Nitrate reductase activity in tomato and cucumber leaves as influenced by NaCl and N source. **Journal Plant Nutrition**, v. 12, p. 1335-1350, 1989.

MATEOS, N., E.; ANDRADES, M, L.; DAVY, A. J. Silicon alleviates deleterious effects of high salinity on the halophytic grass *Spartina densiflora*. **Plant Physiology and Biochemistry**, Paris, v. 63, n. 1, p. 115-121, 2013.

MCKERSIE BD, LESHEM YY. **Stress and stress coping in cultivated plants**. Kluwer Academic Publishes, London, 1994.

MEDEIROS, P. R. F. **Manejo da fertirrigação em ambiente protegido visando o controle da salindade para a cultura do tomate em solo franco-argiloso**. Tese (Doutorado em Irrigação e Drenagem). Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba-SP, 2010, 86p.

MENGEL, K.; KIRKBY, E.A. Principles of plant nutrition. Netherlands, Kluwer **Academic Publishers**, 2011.

MILLER, A. J.; FRAN, X. R.; ORSEL, M.; SMITH, S.J.; WELLS, D. M. Nitrate transport and signalling. **Journal of Experimental Botany**, 58:2297-2306, 2007.

MILNE, C. J., LAUBSCHER, C. P., NDAKIDEMI, P. A., MARNEWICK, J. L., & RAUTENBACH, F. Salinity induced changes in oxidative stress and antioxidant status as affected by applications of silicon in lettuce (*Lactuca sativa*). **International Journal of Agriculture & Biology**, 14(5), 763-768, 2012.

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

MOLLER, I.M.; JENSEN, P.E.; HANSSON, A. Oxidative modifications to cellular components in plants. **Annual Reviews Plant Biology**, 58:459–481, 2007.

MUNNS R. Comparative physiology of salt and water stress. **Plant Cell and Environment**, 25, 239-250, 2002.

_____; TESTER, M. Mechanisms of Salinity Tolerance. **The Annual Review of Plant Biology**, 59:651–81, 2008.

NABATI J, KAFI M, NEZAMI A, MOGHADDAM PR, MASOUMI A, MEHRJERDI MZ. Effect of salinity on biomass production and activities of some key enzymatic antioxidants in *Kochia scoparia*. **Pakistan Journal of Botany**.43:539–48, 2011.

NAKANO, Y.; ASADA, K. Hydrogen peroxidase is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplast. **Plant and Cell Physiology**, v. 22, p. 887-880, 1981.

NASCIMENTO, SEBASTIÃO P.; BASTOS, E. A.; ARAÚJO, E. C. E.; FILHO, F.R. F.; SILVA, E. M. Tolerância ao déficit hídrico em genótipos de feijão-caupi. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 15, n. 08, p. 853-860, 2011.

NASCIMENTO, E. H. S., RUPPENTHAL, V., DO NASCIMENTO, I. L., SILVA, M. L. S., SABÓIA, C. B., & ENEAS-FILHO, J. Utilização de silício na atenuação dos efeitos do estresse salino em plantas de sorgo. **II Inovagre International Meeting, Fortaleza**, 2014.

NOBRE, R. G.; GHEYI, H. R.; CORREIA, K. G.; SOARES, F. A. L.; ANDRADE, L. O. Crescimento e floração do girassol sob estresse salino e adubação nitrogenada. **Revista Ciência Agronômica**, v. 41, p.358-365, 2010.

NOCTOR, G.; FOYER, C.H. Ascorbate and glutathione: keeping active oxygen under control. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v. 49, p. 249-279, 1998.

OLIVEIRA, J. T., CAMPOS, V. B., CHAVES, L. H., GUEDES FILHO, D. H. Silicon fertilization on growth of ornamental sunflower cultivars. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, 17(2), 123-128, 2013.

OZGUR R, UZILDAY B, SEKMEN AH, TURKAN I. Reactive oxygen species regulation and antioxidant defence in halophytes. **Functional Plant Biology** 40, 832–847, 2013.

PARIDA, A., DAS, A. B. Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.60, p.324-349, 2005.

PEI, Z. F.; MING, D.; LIU, G. L.; WAN, X. X.; GENG, H. J.; GONG AND, W. J.; ZHOU. Silicon improves the tolerance to water-deficit stress induced by polyethylene glycol in wheat (*Triticum aestivu*) **Journal Plant Growth Regul**, 2010 29:106–115. DOI 10.1007/s00344-009-9120-9.

PEREIRA, T. S.; DA SILVA LOBATO, A. K.; TAN, D. K. Y.; DA COSTA, D. V.; UCHOA, E. B.; DO NASCIMENTO FERREIRA, R.; SILVA GUEDES, E. M. Positive interference of silicon on water relations, nitrogen metabolism, and osmotic adjustment in two pepper ('capsicum annum') cultivars under water deficit. **Australian Journal of Crop Science**, 7(8), 1064, 2013.

PAUL, M.J.; FOYER, C.H. Sink regulation for photosynthesis. **Journal of Experimental Botany**, v.52, p.1383-1400, 2001.

PRISCO, J.T.; GOMES-FILHO, E. Fisiologia e bioquímica do estresse salino em plantas. In: GREYI, H.R.; DIAS, N.S.; LACERDA, C.F. In: **Manejo da salinidade na agricultura: Estudos básicos e aplicados**. Fortaleza: Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Salinidade, p.143-159, 2010.

RAHIMI, R.; ROOHI, A. M. V.; ARMAND, N. Effects of salt stress and silicon nutrition on chlorophyll content, yield and yield components in fennel (*Foeniculum vulgare* Mill. **International Journal of Agriculture and Crop Sciences**, Vol., 4 (21), 1591-1595, 2012.

RAVEN, J.A. The transport and function of silicon in plant. **Biological Reviews, Cambridge**, v.58, n.2, p.179-207, 1983.

RAVEN, P. H.; EVERT, R. F. & EICHHORN, S. E. 2001. **Biologia vegetal**. 6ª edição. Edit. Guanabara Koogan S.A., Rio de Janeiro.

REIS, T. H. P.; GUIMARÃES, P. T. G.; FIGUEIREDO, F. C.; POZZA, A. A. A.; NOGUEIRA, F. D.; RODRIGUES, C. R. **O silício na nutrição e defesa de plantas**. Belo Horizonte: EPAMIG, 2007. 119 p. (Boletim técnico, 82).

RISHI A.; SNEHA, S. Antioxidative defense against reactive oxygen species in plants under salt stress. **International Journal of Current**; 5:1622–7, 2013.

ROCHA, I. M. A. **Regulação metabólica da acumulação de prolina em folhas de cajueiro expostas ao estresse salino**. Tese Doutorado. Universidade Federal do Ceara-UFC. Fortaleza-CE, 2003.104p.

RODRIGUES, F. A.; OLIVEIRA, L. A.; KORNDÖRFER, A. P. et al. **Silício: um elemento benéfico e importante para as plantas**. Informações Agrônômicas, Piracicaba, n. 134, p. 14-20, 2011.

- ROMERO-ARANDA, M.R., O. JURADO and J. CUARTERO. Silicon alleviates the deleterious salt effect on tomato plant growth by improving plant water status. **Journal of Plant Physiology**, 163: 847-855, 2006.
- SAEED, R.; MESBAH, B. S. K.; SEYYED, M. O.; BYOUNG, R. J. Silicon alleviates salt stress, decreases malondialdehyde content and affects petal color of salt-stressed cut rose (*Rosa xhybrida* L.) 'Hot Lady'. **African Journal of Biotechnology**, 8(8), 1502-1508, 2009.
- SALEH, J.; NAJAFI, N.; OUSTAN, S.; ALIASGHARZAD, N.; GHASSEMI-GOLEZANI, K. Changes in extractable Si, Fe and Mn as affected by silicon, salinity and waterlogging in a sandy loam. **Commun Soil Sci Plant Anal** 44:1588–1598, 2003.
- SAS INSTITUTE, SAS/STAT: User`s guide, version 8.0. Cary : **SAS Institute**, 2000.
- SAVANT, N. K.; *et al.* Effects of silicon nutrition on metabolism and translocation of nutrients in rice plants. **Journal of Plant Nutrition**, v. 12, n. 22, p.1853-1903, 1999.
- SAYED, S. A.; M. GADALLAH, A. A. Effects of Silicon on Zea mays Plants Exposed to Water and Oxygen Deficiency. **Russian Journal of Plant Physiology**, 2014, Vol. 61, No. 4, pp. 460–466. Pleiades Publishing, *Ltd.*, 2014. . ISSN 1021_4437.
- SCANDALIOS JG, ACEVEDO A, RUZSA S. Catalase gene expression in response to chronic high temperature stress in maize. **Plant Science**, 156:103-110, 2000.
- SCHNEITER, A. A.; MILLER, J.F. Description of sunflower growth stages. **Crop Science**, Madison, v. 21, p. 901-903, 1981.
- SACRAMENTO, B. L.; CRUZ, T. S.; SILVA, L. L.; MOTA, K. N. A. B.; NETO, A. D. A. Pigmentos e teores de solutos orgânicos em plantas de aguapé sob estresse salino. **Enciclopédia Biosfera**. v.10, n.18; p. 2014.
- SCIVITTARO, W. B., SILVA, R. S. da., MARCO, E. de., KLUMB, E. K., SILVA, P. S. da. **Tolerância de Genótipos de Arroz à Salinidade da Água de Irrigação na Fase Vegetativa**. In: FERTBIO 2012, Maceió (AL). Anais.Maceió (AL): CnptiaEmbrapa, p.1-4.1, 2012. CD-ROM.
- SHARAF, A. E. M. M. Improvement Growth, and Yield of Wheat Plants Grown Under Salinity Stress by Using Silicon. **Journal of American Science**, 6(11), 2011.
- SHEN, X.; ZHOU, Y.; DUAN, L.; LI, Z.; ENEJI, A. E.; LI, J. 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.
- SHI, Y.; WANG, Y.; FLOWERSB, T. J.; GONG, H. Silicon decreases chloride transport in rice (*Oryza sativa* L.) in saline conditions. **Journal of Plant Physiology**, Jena, v. 170, n. 9, p. 847– 853, 2013.

SILVA, L. E. N. et al. Photosynthetic changes and protective mechanisms against oxidative damage subjected to isolated and combined drought and heat stresses in *Jatropha curcas* plants. **Journal of Plant Physiology**, v. 167, n. 14, p. 1157–1164, 2010.

SILVA, A. R. A.; BEZERRA, F. M. L.; SOUSA, CARMEM, C. M. FILHO, J. V. P.; FREITAS, CLEY, A. S. Desempenho de cultivares de girassol sob diferentes lâminas de irrigação no Vale do Curu, CE. **Revista Ciência Agronômica**, v. 42, n. 01, p. 57-64, 2011.

SILVA, M. L. S.; FEIJÃO, A. R.; MARQUES, E. C.; FILHO, E. G.; PRISCO, J. T. Growth, accumulation of solutes and nitrogen metabolism in plants of sunflower under salt stress. **II INOVAGRI International Meeting**, 2014.

SILVA, M. L. O. E.; FARIA, M. A.; REIS, R. P.; SANTANA, M. J.; MATTIOLI, W. Viabilidade técnica e econômica do cultivo de safrinha do girassol irrigado na região de Lavras, MG. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 31, n. 01, p. 200-205, 2007.

SILVA, T. D.; ZOLNIER, S.; GROSSI, J. A. S.; BARBOSA, J. G.; MOURA, C. R. W.; MUNIZ, M. A. Crescimento do girassol ornamental cultivado em ambiente protegido sob diferentes níveis de condutividade elétrica de fertirrigação. **Revista Ceres**, 56(5), 602-610, 2009.

SILVEIRA, JOAQUIM A. G.; SILVA, SÉRGIO L. F.; SILVA, EVANDRO, N.; VIÉGAS, R. A. **Mecanismos biomoleculares envolvidos com a resistência ao estresse salino em plantas**. Manejo da salinidade na agricultura: Estudos básicos e aplicados. INCTSAL, Fortaleza, ISBN 978-85-7563-489-9, 2010.

SLAVICK, B. **Methods of studying plant water relations**. New York, Springer Verlag. p.449, 1979.

SNYDER, G. H. **Development of silicon soil test for Histosol-grown rice**. Belle Glade: University of Florida, 1991.

SONOBE, K., T. HATTORRI, P. AN, W. TSUJI, A.E. ENEJI, S. KOBAYASHI, Y. KAWAMURA, K. TANAKA AND S. INANAGA. Effect of silicon application on sorghum root responses to water stress. **Journal of Plant Nutrition**, 34: 71-82, 2010.

SOUZA, L. C. D.; MOTA SIQUEIRA, J. A.; SOUSA SILVA, J. L.; SILVA, J. N. D.; RESUENO COELHO, C. C.; NEVES, M. G.; LOBATO, A. K. D. S. Compostos nitrogenados, proteínas e aminoácidos em milho sob diferentes níveis de silício e deficiência hídrica. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, 13(2), 117-128, 2014.

SZABADOS, L.; SAVOURÉ, A. Proline: a multifunctional amino acid. **Trends in Plant Science**, v.15, p.89-97, 2010. DOI: 10.1016/j.tplants.2014.11.014.

SZARKA A; TOMASSKOVICS. B.; BÁNHEGYI, G. The ascorbate– glutathione– α -tocopherol triad in abiotic stress response. **International Journal of Molecular Sciences** 13, 4458–4483, 2012

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5. ed. Porto Alegre: ArtMed, 2013. 954p.

TALE AHMAD, S.; HADDAD, R. Study of silicon effects on antioxidant enzyme activities and osmotic adjustment of wheat under drought stress. **Czech Journal of Genetics and Plant Breeding**, 47(1), 17-27, 2011.

THILAGAM, V. K., MOHANTY, S., SHAHID, M., TRIPATHI,R., NAYAK, A. K., KUMAR, A. Role of Siliconas Beneficial Nutrient for Rice Crop. **Popular Kheti** 2(1): 105-107, 2014.

TOBE, K.; LI, X.; OMASA, K. Effects of NaCl on seed germination and growth of two Chinese desert shrubs, *Haloxylon ammodendron* and *H. persicum* (Chenopodiaceae). **Australian Journal of Botany**, 2000.

TURKAN, I. Plant Responses to Drought and Salinity Stress: Developments in Post Genomic Era. In *Advances in Botanical Research*. Vol. 57. **Elsevier**. p. 593, 2011.

ULRICH, D.; AARON, B. S.; TOMOAKI, H.; WEI, L.; GUOHUA, X.; AND JULIAN, I. S.; Plant salt-tolerance mechanisms. **Trends in Plant Science**, 2014, Vol. 19, N°. 6.

VIÉGAS, R.A.; SILVA, L.M.M.; VIÉGAS, P.R.A; QUEIROZ, J.E.; ROCHA, I.M.A. Redução assimilatória de NO₃- em plantas de cajueiros cultivados em meio salinizado. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.8, n.2-3, p.189-195, 2004.

VIESTRA, R. D. Protein degradation in plants. **Annual Review Plant Physiology Plant Molecular Biology**, v. 44, p. 385-410, 1993.

VOSS, I.; SUNIL, B.; SCHEIBE, R.; RAGHAVENDRA, A. S. Emerging concept for the role of photorespiration as na important part of abiotic stress response. **Plant Biology** ISSN 1435-8603, 2013.

WANG X, HOU C, LIU J, HE W, NAN W, GONG H, BI Y (2013) Hydrogen peroxide is involved in the regulation of rice (*Oryza sativa* L.) tolerance to salt stress. **Acta Physiologiae Plantarum**, 35:891-900, 2013.

WERNER, D.; ROTH, R. Silica metabolism. In: LÄUCHLI, A.; BIELESKI, R.L. (ed.). **Encyclopedia of plant physiology**. New Series, Berlin: Springer-Verlag, v.15B, p.682-694, 1983.

WEST, G., INZÉ, D., BEEMSTER, G.T.S. Cell cycle modulation in the response of the primary root of *Arabidopsis* to salt stress. **Plant Physiologic**, 135:1050-1058, 2004.

WILLADINO L., GOMES E. W. F.; SILVA, E. F. F.; MARTINS, L. S. S.; CAMARA, T. R. Efeito do estresse salino em genótipos tetraplóides de bananeira. **Revista Brasileira Engenharia Agrícola Ambiental**, 15:53–59, 2011.

WILLADINO, L.; CAMARA, T. R. Tolerância das plantas à salinidade: aspectos fisiológicos e bioquímicos. **Enciclopédia Biosfera**, v. 6, n. 11, p. 123, 2010.

XU, J.; DUAN, X.; YANG, J.; BEECHING, J.R.; ZHANG, P. Coupled expression of Cu/Zn-superoxide dismutase and catalase in cassava improves tolerance against cold and drought stresses. **Plant Signaling and Behavior**, v. 8, e24525, 2013.

YEMM, E.W.; COCKING, E.C. The determination of amino-acids with ninhydrin. **Analyst**, v. 80, p. 209-213, 1955.

YIN, L.; WANG, S.; LI, J.; TANAKA, K.; OKA, M. Application of silicon improves salt tolerance through ameliorating osmotic and ionic stresses in the seedling of Sorghum bicolor. **Acta Physiologiae Plantarum**, 35(11), 2013, 3099-3107.

YOSHIDA, K. Plant biotechnology genetic engineering to enhance plant salt tolerance. **Journal Bioscience Bioengineering**, v.94, n.4, p.585-590, 2002.

YU, Q.; RENGEL, Z. Drought and salinity differentially influenced activities of superoxide dismutase in narrow-leafed lupine. **Plant Science**, 142, 1999.

YU, S.; WANG, W.; WANG, B. Recent progress of salinity tolerance research in plants. **Russian Journal of Genetics**, v. 48, p. 497-505, 2012.

ZHAO, G.Q., MA, B. L., REN, C. Z. Growth, gas exchange, chlorophyll fluorescence, and ion content of naked oat in response to salinity. **Crop Science**, 44:806-811, 2007.

ZHU, Y.; GONG, H. Beneficial effects of silicon on salt and drought tolerance in plants. **Agronomy for Sustainable**. 2014.