Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"

O papel das nanopartículas de silício na mitigação do efeito da salinidade sobre a eletrofisiologia e na atividade fotossintética em plantas glicófitas e não acumuladora de silício

Aldeir Ronaldo Silva

Tese apresentanda com vistas a obtenção do título de Doutor em Ciências. Área de concentração: Fisiologia e Bioquímica de Plantas

Piracicaba
2021

Aldeir Ronaldo Silva
Bacharel em Engenharia Agronômica

O papel das nanopartículas de silício na mitigação do efeito da salinidade sobre a eletrofisiologia e na atividade fotossíntetica em plantas glicófitas e não acumuladora de silício

versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011

Orientador:
Prof. Dr. **RICARDO FERRAZ DE OLIVEIRA**

Tese apresentanda com vistas a obtenção do título de Doutor em Ciências. Área de concentração; Fisiologia e Bioquímica de Plantas

Piracicaba
2021

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA-DIBD/ESALQ/USP

Silva, Aldeir Ronaldo

O papel das nanopartículas de silício na mitigação do efeito da salinidade sobre a eletrofisiologia e na atividade fotossíntese em plantas glicófitas e não acumuladora de silício / Aldeir Ronaldo Silva - - versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011. - - Piracicaba, 2021.
146 p.

Tese (Doutorado) - - USP / Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz".

1. Estresse salino 2. Sinalização elétrica 3. Nanotecnologia 4. Espécie não acumuladora I. Título

Dedicatória

Aos meus pais, Maria Gorete e Ronaldo; a minha noiva, Aline; as minhas irmãs Laisa, Maysa e Thaysa; e aos meus avós José Sebastião e Maria Josefa; Amigos comerciantes e carroceiros da feira livre de Esperança-PB.

"Um pouco de ciência nos afasta de Deus. Muito, nos aproxima".

Louis Pasteur

"Seja você quem for, seja qual for a posição social que você tenha na vida, a mais alta ou a mais baixa, tenha sempre como meta muita força, muita determinação e sempre faça tudo com muito amor e com muita fé em Deus, que um dia você chega lá. De alguma maneira você chega lá".

Ayrton Senna

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, pela dadiva da vida, por sempre me promover coragem, por ter me conduzindo durante minha trajetória de vida e por te me pertimido conhecer mais sobre Ele por meio da ciência.

A minha família. Aos meus pais Maria Gorete, Ronaldo e irmãs Laisa, Maysa e Thaysa pelo auxílio, amor e força durante esse ciclo. Á minha admirável noiva Aline, pelo amor, carinho, cuidado, auxílio e compreensão durante todo o ciclo à distancia. Aos meus avós e tios por sempre acredirem e incentivarem meus projetos.

Ao meu orientador, Professor Ricardo Ferraz de Oliveira, por possibilitar meu crescimento como cidadão e profissional, bem como a concessão de oportunidades ímpares na minha vida. Muito obrigado pela amizade, atenção, cuidado e compreensão no momento mais crítico do doutorado. Não tenho nem como lhe agradecer.

À Universidade de São Paulo, a Escola Superior de Agricultuta "Luiz de Queiroz", pela oportunidade de realizar o doutorando, assim como pela disponibilidade da infraestrutura para realização da pesquisa.

Ao programa de Pós-graduação em Fisiologia e Bioquímica de Plantas, por todo o auxílio durante o doutorado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nivel Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudo.

Aos amigos do Laboratorio de Estudo de Plantas Sob Estresse, Áecio, Diogo, Fábia, Francynês Gabriel e João, pelos momentos compartilhados, companheirismo, conselhos e auxílio durante esse ciclo.

A Dona Nelza, Karinna, Pequeno e Tirolez pelos momentos de alegria, cuidado e companheirismo.

Aos amigos especias da Pós-graduação Albania, Diego, Juliana, Natalia Salib, Natália, Bruno Malaquias, Jessika, Thiago, Zélia.

Ao Cleanderson Fidelis pela amizade e auxílio na análise estatística.

Aos amigos Erivaldo, Michael, Thalles, Leandro, Davi, Kennedy, Pastor Walter, Josemar, Clovis, Tercio, Pedro pelo acolhimento, cuidado e companheirismo ao longo de quatro anos na cidade de Piracicaba.

Aos colegas Anderson Rodrigo, Anderson Tenorio, Andre, Denisvaldo, David de Paulo, Mayara Gomes, Gisliane, Jose de Oliveira, Cris, Fabio, Fabiano, Luan pela amizade, incentivo e ajuda durante vários momentos que precisei.

A todos os professores da Pós-graduação em Fisiologia e Bioquímica de Plantas, professora Sonia e o professor Paulo Libardi pelos ensinamentos, oportunidade e conselhos durante essa trajetória acadêmica.

Ao professor Renato de Mello Prado e sua aluna Gelza pela parceria e auxílio nas análises nutricionais no Laboratorio da UNESP.

Ao querido ex orientador professor Lourival Ferreira Calvacante, pelos conselhos, oportunidades, motivação, cuidado e amizade durante o início da trajetória acadêmica no CCA/UFPB.

Aos meus professores do ensino básico das escolas municipais e estaduais, pelo esforço e dedicação em compartilhar conhecimento e incentivar a continuidade aos estudos, meu muito obrigado.

Agradeço aos amigos carroceiros e comerciante da feira livre de Esperança-PB pelos momentos convividos, bem como os incentivos na minha trajetória de vida durante a minha infância.

SUMÁRIO

RESUMO 9
ABSTRACT 10
1. INTRODUÇÃO GERAL 11
2 REVISÃO DE LITERATURA 19
2.1 A salinidade provoca desordens fisiológicas 19
2.2 Resposta a salinidade, plantas glicófitas e halófitas 22
2.3 Potencial de membrana e sinizalição elétrica 24
2.4 Silício como mitigador aos estresses abióticos 27
2.5 Tomateiro como espécie glicófita e não acumuladora de silício 28
Referências 29
3 NANOPARTÍCULAS DE SILÍCIO COMO MITIGADOR DOS EFEITOS DO ESTRESSE SALINO EM TOMATEIRO 39
Resumo 39
Abstract 39
3.1 Introdução 40
3.2 Material e Métodos 42
3.2.1 Material vegetal, delineamento experimental e condições experimentais 42
3.2.2 Detalhamento das avaliações 44
3.2.3 Análise estatística 46
3.3 Resultados 46
3.3.1 Potencial hídrico 46
3.3.2 Trocas gasosas e fluorescência da clorofila a 47
3.3.3 Concentração de nutrientes, sódio, silício e o balanço nutricional em plantas de tomateiro 48
3.3.4 Análises biométricas 51
3.4 Discussão 53
3.5 Conclusão 59
Referências 59
4 CARACTERIZAÇÃO E DINÂMICA DA SINALIZAÇÃO ELÉTRICA EM PLANTAS GLICÓFITA (*Solanum lycopersicum*) E HALÓFITA (*Chenopodium quinoa*) SOB ESTRESSE SALINO 73
Resumo 73

Abstract 73
4.1 Introdução 74
4.2 Material e métodos 76
4.2.1 Condições do experimento e material vegetal 76
4.2.2 Avaliações 77
4.2.3 Análise estatística 79
4.3 Resultados 79
4.3.1 Potencial hídrico 79
4.3.2 Condutividade elétrica do substrato 80
4.3.3 Potencial de variação em plantas tomate e quinoa. 81
4.3.4 Potencial de ação em plantas de tomate e quinoa. 85
4.3.5 Potencial de superfície do tomate e quinoa sob salinidade 89
4.4 Discussão 91
4.5 Conclusão 95
Referências 95
5 EFEITO DAS NANOPARTÍCULAS DE SILÍCIO SOBRE ATIVIDADE ELÉTRICA EM PLANTAS NÃO ACUMULADORA, SOB ESTRESSE SALINO 103
Resumo 103
Abstract 103
5.1 Introdução 104
5.2 Material e Métodos 106
5.2.1 Condições do experimento e material vegetal 106
5.2.2 Detalhamento das avaliações 107
5.2.3 Análises estatísticas 110
5.3 Resultados 111
5.3.1 Condutividade elétrica e potencial hídrico 111
5.3.2 Potencial de ação em curto e longo estresse salino 113
5.3.4 Silício atenuar os efeitos da salinidade na fotossíntese 124
5.4 Discussão 131
5.5 Conclusão 136
Referências ..... **Erro! Indicador não definido.**
6 CONCLUSÃO GERAL 145

RESUMO

O papel das nanopartículas de silício na mitigação do efeito da salinidade sobre a eletrofisiologia e na atividade fotossíntese em plantas glicófitas e não acumuladora de silício

A salinidade reduz a produtividade das maiorias das culturas agrícolas, causando a inviabilidade da prática agrícola nas áreas afetadas. Existem lacunas ainda não totalmente compreendidas sobre os mecanismos de percepção e reposta, entre espécies sensíveis e tolerantes a salinidade, como a dinâmica iônica e sua influência na atividade elétrica. Sendo assim, obejtivou-se na presente pesquisa, analisar o papel do silício sobre o potencial de membrana e fotossíntese de planta de tomateiro, tomando como referência elétrica, uma espécie halófita. Foram realizados quatro pesquisas independentes para avaliar a participação do silício na atividade elétrica e na atividade fotossintética. No primeiro experimento avaliou-se a efetividade do silício em espécie não acumuladora sob salinidade, a partir de característica agronômicas. No segundo experimento, tratou-se de caracterizar a dinâmica elétrica entre plantas glicófita e halófitas, para fins de referencial elétrico sob estímulo salino. Já no terceiro experimento, analisou-se a execitabilidade elétrica do tomateiro, sob situação de rápido e longo estresse salino com aplicação de nanopartículas de silício. No quarto experimento analisaou-se a mudança na fluorescencia ao longo do estresse salino. As nanopartículas de silício são efetivas na redução da absorção de Na^+ e no aumento dos teores Ca^{2+} em plantas não acumuladora. Também foi observado aumento da eficiência do uso da água, fatores esses que causaram mitigação do efeito do estresse. Assim, a salinidade induziu exicitabilidade elétrica diferentes no tomateiro e na quinoa. Houve maior número de Potecial de ação e Potencial de variação no tomateiro, bem como uma maior variabilidade do potencial elétrico da membrana ao longo do período de medida, demonstrando habilidade de regulação do potencial elétrico em plantas tolerantes a salinidade. Essa menor exicitabilidade elétrica, característico das halófitas, também foi observado com as nanopartículas de silício no tomateiro, uma vez que na ausência de silício, as plantas de tomateiro apresentaram maior numero de PAs. Dessa forma, as plantas tratadas com SiNPs apresentaram comportamento elétrico próximo ao da halófitas, com baixo número de PAs, de menores amplitudes e de rápido reestabelecimento do potencial de membrana, fato esse que pode explicar a atenuação os efeitos do Na^+ sobre a fluorescência da clorofila a partir da regulação da atividade elétrica provocada pelo silício, sendo corroborado pela mudanças drásticas da fluorescencia da clorofila ao longo do estresse do tomateiro sem SiNPs, como a redução do F_v/F_m, Qp e Y(II) e aumento da dissipação de energia atraves do NPQ, F_m e qN. O silício permite ao tomateiro maior controle do influxo de Na^+, oriundo de um ajuste mais rápido do potencial de membrana e resultando em menor emissão de sinais elétricos, dinâmica também observada nas halófitas. Desse modo, a regulação resulta em menor perturbação da fotossíntese e fluorescência e maior tolerância no tomateiro à salinidade, sendo a mesma não acumuladora de Si.

Palavra-chave: *Chenopodium quinoa*, *Solanum lycopersicum*, Sinalização eletrica, Nanotecnologia

ABSTRACT

The role of silicon nanoparticles in mitigating the effect of salinity on electrophysiology and photosynthesis activity in a glycophytes and non-silicon accumulator plants

Salinity reduces the productivity of most agricultural crops, making agricultural practice in the affected areas unfeasible. There are still gaps that are not fully understood about the mechanisms of perception and response, between sensitive and tolerant species to salinity, such as ionic dynamics and its influence on electrical activity. Thus, the objective of this work was to analyze the role of silicon on the membrane potential and photosynthesis of tomato plants, taking a halophyte species as an electrical reference. Four studies were carried out independently to assess the participation of silicon on electrical activity, as well as its influence on photosynthetic activity. The first study evaluated the effectiveness of silicon, in non-accumulating species under salinity, based on agronomic characteristics. The second study aimed to characterize the electrical dynamics between glycophyte and halophyte plants, for purposes of electrical reference under saline stimulation. The third study analyzed the electrical feasibility of tomato plants under conditions of rapid and long salt stress, with the application of silicon nanoparticles. The fourth study aimed to analyze the change in fluorescence during salt stress. Our results demonstrated that silicon nanoparticles are effective in reducing Na^+ absorption and increasing Ca^{2+} levels, in non-accumulating plants, an increase in water use efficiency was also observed, factors that caused mitigation of the stress effects. Salinity induced different electrical excitability between tomato and quinoa species, in which a greater number of PAs and PVs was observed in tomato, as well as greater variability of the membrane electrical potential over the measurement period, which demonstrates the ability to regulate the electrical potential in salinity tolerant plants. This lower electrical excitability, characteristic of halophytes, was also observed with silicon nanoparticles in tomato, since in the absence of silicon, tomato plants had a higher number of PAs. Plants treated with SiNPs electrical shown close to that of halophytes, with a low number of PAs, smaller amplitudes and rapid reestablishment of the membrane potential. This fact may explain the attenuation of Na^+ effects on chlorophyll fluorescence from the regulation of electrical activity caused by silicone. This is corroborated by the drastic changes in chlorophyll fluorescence during the stress of tomato without NanoSi, such as a reduction in Fv/Fm, Qp and Y(II) and an increase in energy dissipation through NPQ, Fm and qN. Our results demonstrate that silicon allows the tomato plant to greater control of the Na^+ influx, resulting from a faster adjustment of the membrane potential, resulting in lower emission of electrical signals, a dynamic that is also observed in halophytes. This regulation, which results in less disturbance of photosynthesis and fluorescence, and greater tolerance of a glycophyte species to salinity, which does not accumulate Si.

Keywords: *Chenopodium quinoa*, *Solanum lycopersicum*, Electrical signaling, Nanotechnology

1. INTRODUÇÃO GERAL

A salinidade é um dos grandes problemas na agricultura, causando diminuição na produtividade ou até perda total do cultivo. Estima-se que, cerca de 932,2 milhões de hectares em todo mundo são afetados pela salinidade, destacando-se as regiões de clima árido e semiárido, tornando-se um dos grandes obstáculos na produtividade agrícola, com ampla ocorrência mundial, presente nos continentes da Ásia, África, América do Sul, Norte e porção da Austrália (Rengasamy, 2016a; Sattar et al., 2016; Munns & Tester, 2008). No Brasil, a grande concentração de sais se demostra ser mais recorrente na região Nordeste, devido à baixa pluviometria, associada também aos teores elevados de íons de sódio e cloro nas camadas do solo. Assim, tais condições influenciam diretamente na qualidade da água de irrigação. Nesses termos, a região Nordeste apresenta valores de condutividade eletrica (CE) superiores a 0,75 dS m^{-3} e percentagem de sódio acima de 60 % (Gheyi et al., 2016).

Dessa maneira, o aumento nos teores de sódio provoca a redução do desenvolvimento na maioria das plantas (Kravchik & Bernstein, 2013), de modo que em baixos teores o Na^+ exerce função benéfica, todavia, quando presente em altas concentrações, reduz a absorção e distribuição em destaque dos íons de K^+, Ca^{2+} e NO_3 (Maathuis, 2014). Logo, grande parte desse Na^+ é transportado por proteínas da subfamília HKT, competindo com o K^+ pelo sítio de ligação, podendo também ser transportado pelos canais NSCCs (canais iônicos não seletivos) (Maathuis, 2014; Demidchik & Maathuis, 2007). Canais esses que estimulam o fluxo de Na^+ a partir da despolarização do potencial de membrana (Kronzucker et al., 2011), que resulta também no influxo de Ca^{2+}, sendo que o Na^+ altera relação antiporte de Na^+ /Ca^{2+} (Maathuis, 2014), na qual existe hipótese que as plantas regulam o fluxo de sódio através da atividade dos canais transmembrana.

O estresse salino promove mudanças no potencial de membrana, mediante ao fluxo de íons e o aumento de Na^+ causa a despolarização do potencial de membrana, abaixo do potencial de repouso, levando a abertura de canais externos seletivos a K^+/Na^+ (Assaha et al., 2017). Esse potencial de repouso possui ação benéfica na absorção de nutrientes essenciais, tais como, Ca^{2+}, Mg^{2+}, K^+, NH^{4+}, Mn^{2+} e Zn^{2+}, entretanto, esse estado de repouso poderá também provocar um potencial de influxo de íons deletérios como Na^+, Cs^+, Pb^{2+}, Hg^+ e Cd^{2+} (Demidchik & Maathuis, 2007).

Dessa forma, o rápido reestabelecimento do potencial de membrana pode diminuir a absorção de sódio e reduzir o efluxo de potássio, sendo que baixos potenciais de membrana reduz a capacidade de absorção de sódio (Maathuis, 2014).

Outra vertente da despolarização da membrana refere-se ao aumento no efluxo de íons de potássio através da ativação do canal GORK (Shabala, 2017), possivelmente sendo causador do desbalanceamento iônico da planta durante o estresse salino. Em contrapartida a manutenção da alta relação K^+ /Na^+ acarreta tolerância ao estresse salino, uma vez que o transporte de cálcio e potássio pelos canais iônicos estão envolvidos com a homeostase iônica em plantas sob estresse salino (Assaha et al., 2017; Maathuis et al., 2014). Assim, a intensidade dessa variação do potencial de membrana pode causa o surgimento de sinais elétricos.

As células dos organismos biológicos originam potenciais elétricos, que induzem o fenômeno elétrico e geram estímulos externos pelos quais diferem quanto ao seu padrão espacial e temporal. (Szechyńska-hebda et al., 2017; Volkov et al., 2007). Nisto, a salinidade promove o Na^+ próximos as raízes, levando a mudanças na permeabilidade da membrana plasmática, que resultam na despolarização da membrana e geração de um potencial de ação (AP) e que junto com o potencial de variação (PV), caracterizam sinais elétrico em plantas (Bouteau & tran, 2012; Vodeneev et al., 2016). A propagação desses sinais elétricos (AP e VP) afeta diversos processos fisiológicos na planta e pode induzir ou não um aumento da resistência ao estresse (Vodeneev et al., 2015), induzindo também repostas fotossintética funcionais como, por exemplo, rápido potencial de variação e a promoção da inativação da fotossíntese (Sukhov et al., 2014).

A tolerância ao estresse está estritamente ligada a faculdade de adaptação da planta às novas condições externas. Esse processo carece de uma prescrição rápida em nível intercelular e intracelular, de modo que os sinais elétricos potencial de ação (APs) e variação de potencial (VPs) compelidos por estímulos locais, conferem um mecanismo rápido de resposta da planta a fatores externos (Sukhov et al., 2014). Podendo estes exercerem função de um sinal sistêmico em reposta ao estresse, uma vez que, sinais sistêmicos se propagam em centenas de segundos mais rápido, em comparação com os mensageiros móveis, como ácido salicílico e jasmônico (Choi et al., 2017; Truman et al., 2007).

Portanto, esse mecanismo pode ser influenciado pelo silício sob condição de estresse salino, na qual o silício pode promover a estabilização da atividade da bomba de prótons, aumento da absorção de potássio pela planta, incremento da relação H^+ /Na^+, além de promover o equilíbrio iônico, resultando na homeostase iônica das células de planta sob estresse salino (Imtiaz et al., 2016).

Considerado importante nutriente na atenuação dos efeitos do estresse salino em plantas (Torabi et al., 2015; Yin et al., 2016; Zhu & Gong, 2014), o silício está presente no

solo basicamente na forma de ácido silício, silicatos minerais e ácido monosilico (H_4SiO_4) (Imtiaz et al., 2016; Kim et al., 2016), sendo absorvido e transportado nas formas passiva e ativa pela planta (Zhu & Gong, 2014).

Dessa forma, plantas sobre estresse salino têm a necessidade de manter nas células, alta concentração de íons de K^+ e baixa concentração de Na^+, sendo que a aplicação de silício reduz a acumulação de íons de sódio nas raízes e folhas (Zhu & Gong, 2014). Disto, a deposição de silício na folha forma uma camada acima da cutícula e reduz a perda de água por transpiração por meio da cutícula (Marschner, 2012).

As nanopartículas de silício são uma das fontes de silício comumente utilizada na agricultura, na qual essas nanopartículas apresentam propriedades específicas e que pode influenciar características físico-químicas da planta, em comparação aos fertilizantes na forma granular (Sabaghnia & Janmohammadi, 2015). Em função do tamanho das partículas com dimensões infe pluviometria riores a 100 nm (Tripathi et al., 2015b), na qual a reposta da planta às nanoparticulas é mais eficiente em comparação aos fertilizantes convencionais, devido a alta concentração de outros nutriente na formulação, como o silicato de potássio.

Dessa forma, as nanopartículas de silício podem contribuir na reposta de lacunas existentes nos mecanismos fisiológicos de percepção e tolerância ao estresse salino. Como o fluxo de íons e ajustamento iônico, da qual envolvem questões enigmáticas como por exemplo, qual o mecanismo que as plantas percebem e monitoram os íons de sódio, uma vez que baixos níveis de salinidade acarretam na redução imediata da absorção de água pela planta (Maathuis, 2014; Yang & Guo, 2018).

Os mecanismos de restrição de entrada e transporte de sódio são rigorosamente regulados nas halófitas, entretanto, não completamente conhecidos (Bose et al., 2014). Havendo a hipótese, de que os sinais elétricos, mediados pelo potencial de membrana, tenham participação nesse mecanismo de tolerância, pois a sobrevivência das plantas halófitas em áreas salinas pode ser resultado do mecanismo eficiente de menor perda de K^+ através dos canais (KOR e NCCS) e redução na síntese de espécies reativas de oxigênio (EROs) (Bose et al., 2014). Logo, visto que as plantas glicófitas e halófitas podem deter semelhantes mecanismo de tolerância, diferenciando-se quanto acerca da eficiência.

JUSTIFICATIVA

A salinidade é um dos grandes problemas mundiais, causando perdas significativas de produtividade e ocasionando sério impacto econômico nas áreas afetadas. O conhecimento

sobre os efeitos e mecanismos de reposta a salinidade, vem sendo motivo de pesquisas por grande número de cientistas. Apesar disso, algumas perguntas permanecem sem repostas, tais como: de qual forma ocorre absorção e controle dos sais em plantas glicófita e halófita, como as plantas percebem o estresse salino, quais os papeis do potencial elétrico, do silício e do K+ sob o estresse salino, etc. A partir dessas lacunas, estudos relacionandos acerca da sinalização elétrica podem contribuir para resolução, através da influência da salinidade sobre atividade de canais iônicos, que afetam o comportamento do potencial de membrana e sinalização elétrica, que são fatores importantes para compreender como as halófitas sobrevivem e as glicófitas não e se a aplicação de nanopartículas de silício em glicófitas propicia um comportamento semelhante as halófitas. Assim, é necessário se entender os mecanismos de tolerancia a salinidade para o desenvolvimento de espécies de importância agrícola mais tolerante a salinidade.

HIPÓTESE

Estudos demonstram que plantas halófitas absorvem lentamente altas concentrações de Na^+, lhe permitindo eficiência maior nos processos de adaptação quando comparado com com as glicófitas. Logo, postula-se que, esse controle ocorre por meio do rápido reestabelecimento do potencial de repouso a partir da imposição de NaCl, na qual as bombas eletrogênicas H^+-ATPase e H^+-PPase reestabelecem o potencial de maneira mais rápida, impedindo assim o maior fluxo Na^+ pelos canais iônicos e em destaque aos canais NSSCs, que absorvem mediante voltagem. Dessa forma, o uso de nanopartículas de silício pode suplementar essa atividade da H^+-ATPase, sendo a mesma de baixa intensidade em glicófitas, fator esse que explicaria a redução de Na^+ e aumento de íons K^+, Ca^{+2} e Mg^{+2} em plantas sobre salinidade com uso de silício, como consta na literatura. Diante disso, espera-se que as plantas glicófitas com silício apresentem comportamento elétrico semelhante ao comportamento das plantas halófitas.

OBJETIVO GERAL

Investigar se as plantas com nanopartículas de silício, mesmo não acumuladoras, podem reestabelecer ou atenuar os efeitos da salinidade sobre a sinalização elétrica e

processos fisiológicos influenciados pela atividade elétrica utilizando como referências as plantas halófitas.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Analisar o papel mitigador das nanopartículas de silício em tomateiro não acumuladoras a partir de parâmetros agronômicos.

Caracterizar o comportamento elétrico de plantas glicófitas e halófitas sob condição de salinidade.

Avaliar o efeito das nanoparticulas de silício sobre o potencial de membrana, sua influência sobre a sinalização elétrica e a atividade fotossintética.

REFERÊNCIAS

Assaha, D., Ueda, A., Saneoka, H., Al-Yahyai, R., & Yaish, M. W. (2017). The Role of Na^+ and K^+ Transporters in Salt Stress Adaptation in Glycophytes. Frontiers in physiology, 8 (509), 1-19. https://doi.org/10.3389/fphys.2017.00509.

Bose, J., Rodrigo-Moreno, A., & Shabala, S. (2014). ROS homeostasis in halophytes in the context of salinity stress tolerance. Journal of experimental botany, 65(5), 1241–1257. https://doi.org/10.1093/jxb/ert430

Bouteau, F., Tran, D. (2012). Plant Response to Stress: Microelectrode Voltage-Clamp Studies. In: Plant Electrophysiology. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, (pp. 69–90. https://doi.org/10.1007/978-3-642-29119-7.

Choi, W. G., Miller, G., Wallace, I., Harper, J., Mittler, R., & Gilroy, S. (2017). Orchestrating rapid long-distance signaling in plants with Ca^{2+} , ROS and electrical signals. The Plant journal : for cell and molecular biology, 90(4), 698–707. https://doi.org/10.1111/tpj.13492.

Demidchik, V., & Maathuis, F. (2007). Physiological roles of nonselective cation channels in plants: from salt stress to signalling and development. The New phytologist, 175(3), 387–404. https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2007.02128.x.

Gheyi, H., Dias, N. da S., Larcerda, C. F., Filho, E. G. (2016) Manejo da salinidade na agricultura: estudos básicos e aplicados (2ª ed). Fortaleza: INCTSal.

Imtiaz, M., Rizwan, M. S., Mushtaq, M. A., Ashraf, M., Shahzad, S. M., Yousaf, B., Saeed, D. A., Rizwan, M., Nawaz, M. A., Mehmood, S., & Tu, S. (2016). Silicon occurrence, uptake, transport and mechanisms of heavy metals, minerals and salinity enhanced tolerance in plants with future prospects: A review. Journal of environmental management, 183(Pt 3), 521–529. https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2016.09.009.

Kim, Y. H., Khan, A. L., & Lee, I. J. (2016). Silicon: a duo synergy for regulating crop growth and hormonal signaling under abiotic stress conditions. Critical reviews in biotechnology, 36(6), 1099–1109. https://doi.org/10.3109/07388551.2015.1084265.

Kravchik, M., & Bernstein, N. (2013). Effects of salinity on the transcriptome of growing maize leaf cells point at cell-age specificity in the involvement of the antioxidative response in cell growth restriction. BMC genomics, 14, 24. https://doi.org/10.1186/1471-2164-14-24.

Kronzucker, H.J. and Britto, D.T. (2011), Sodium transport in plants: a critical review. New Phytologist, 189: 54-81. https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2010.03540.x.

Maathuis, F. J., Ahmad, I., & Patishtan, J. (2014). Regulation of Na(+) fluxes in plants. Frontiers in plant science, 5, 467. https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00467.

MARSCHENER, P. (2012). Mineral Nutrition of Higher Plants (3ª ed) San Diego-EUA: Academic Press is na Imprint of Elsevier.

Munns, R., & Tester, M. (2008). Mechanisms of salinity tolerance. Annual review of plant biology, 59, 651–681. https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.59.0326.

Rengasamy, P. (2016). Soil Chemistry Factors Confounding Crop Salinity Tolerance—A Review. Agronomy, 6(4), 53 b. doi:10.3390/agronomy6040053.

Rengasamy, P. (2016). Soil Salinization. Oxford Research Encyclopedia of Environmental Science,7, 1-33, a. https://doi.org/10.1093/acrefore/9780199389414.013.65.

Sabaghnia, N., Janmohammadi, M. (2015). Effect of nano-silicon particles application on salinity tolerance in early growth of some lentil genotypes. Annales UMCS Biologia, 69 (2), 40-55. http://dx.doi.org/10.17951/c.2014.69.2.39

Sattar, A., Cheema, M.A., Ali, H., Sher, A., Ijaz, M., Hussain, M., Hassan, W. and Abbas, T. (2016), Silicon mediates the changes in water relations, photosynthetic pigments, enzymatic antioxidants activity and nutrient uptake in maize seedling under salt stress. Grassl Sci, 62: 262-269. https://doi.org/10.1111/grs.12132

Shabala S. (2017). Signalling by potassium: another second messenger to add to the list?. Journal of experimental botany, 68(15), 4003–4007. https://doi.org/10.1093/jxb/erx238.

Sukhov, V., Surova, L., Sherstneva, O., & Vodeneev, V. (2014). Influence of variation potential on resistance of the photosynthetic machinery to heating in pea. Physiologia plantarum, 152(4), 773–783. https://doi.org/10.1111/ppl.12208.

Szechyńska-Hebda, M., Lewandowska, M., & Karpiński, S. (2017). Electrical Signaling, Photosynthesis and Systemic Acquired Acclimation. Frontiers in physiology, 8, 684. https://doi.org/10.3389/fphys.2017.00684.

Torabi, F., Majd, Ahmad, M., Enteshari, S. (2015). The effect of silicon on alleviation of salt stress in borage (Borago officinalis L.), Soil Science and Plant Nutrition, 61:5, 788-798, https://doi.org/10.1080/00380768.2015.1005540.

Tripathi, D. K., Singh, V. P., Prasad, S. M., Chauhan, D. K., Kishore Dubey, N., & Rai, A. K. (2015). Silicon-mediated alleviation of Cr (VI) toxicity in wheat seedlings as evidenced by chlorophyll florescence, laser induced breakdown spectroscopy and anatomical changes. Ecotoxicology and environmental safety, 113, 133–144. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2014.09.029.

Truman, W., Bennett, M. H., Kubigsteltig, I., Turnbull, C., & Grant, M. (2007). Arabidopsis systemic immunity uses conserved defense signaling pathways and is mediated by jasmonates. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 104(3), 1075–1080. https://doi.org/10.1073/pnas.0605423104.

Vodeneev, V., Akinchits, E., & Sukhov, V. (2015). Variation potential in higher plants: Mechanisms of generation and propagation. Plant signaling & behavior, 10(9), e1057365. https://doi.org/10.1080/15592324.2015.1057365.

Vodeneev, V.A., Katicheva, L.A. & Sukhov, V.S. (2016). Electrical signals in higher plants: Mechanisms of generation and propagation. BIOPHYSICS 61, 505–512. https://doi.org/10.1134/S0006350916030209.

Volkov, A. G., Lang, R. D., & Volkova-Gugeshashvili, M. I. (2007). Electrical signaling in Aloe vera induced by localized thermal stress. Bioelectrochemistry (Amsterdam, Netherlands), 71(2), 192–197. https://doi.org/10.1016/j.bioelechem.2007.04.006.

Yang, Y., & Guo, Y. (2018). Elucidating the molecular mechanisms mediating plant salt-stress responses. The New phytologist, 217(2), 523–539. https://doi.org/10.1111/nph.14920.

Yin, L., Wang, S., Tanaka, K., Fujihara, S., Itai, A., Den, X., & Zhang, S. (2016). Silicon-mediated changes in polyamines participate in silicon-induced salt tolerance in Sorghum bicolor L. Plant, cell & environment, 39(2), 245–258. https://doi.org/10.1111/pce.12521.

Zhu, Y., Gong, H. Beneficial effects of silicon on salt and drought tolerance in plants. (2014). Agron. Sustain. Dev. 34, 455–472. https://doi.org/10.1007/s13593-013-0194-1

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 A salinidade provoca desordens fisiológicas

A salinidade é considerada um dos grandes problemas da agricultura ao lado do déficit hídrico, provocando a redução significativa da produtividade em regiões áridas e semiáridas (Munns & Gilliham, 2015; Zorb et al., 2019), além de afetar mais de 6% dos solos, com perspectiva de atingir mais 50% dos solos cultivados até 2050 (Munns & Tester, 2008; Shabala & Cuin., 2007). Estima-se que a salinidade promova perdas econômica da ordem de 27,3 bilhões de dólares por ano, afetando atualmente cerca de 1.128 milhões de habitantes (Qadir et al., 2014; Mandal et al., 2018). Além disso, contribui para o aumento do problema da segurança alimentar, evidenciado pela abrangência das áreas afetadas por sais, sendo grande parte dessas áreas localizadas nos continentes da Oceania, Ásia e Américas, que correspondem a 88,1% dos solos salinos no mundo (Shabbir et al., 2018). Com 52 milhões de hectares na Ásia afetados pelo sal (Mandal et al., 2018) e 80 milhões de hectares na África (Shabbir et al., 2018). Disto, na região sudoeste do México e EUA, estima-se que 200 milhões de hectares são afetados pela salinidade (Shahid, 2013) e 20 milhões de hectares na região do oriente médio (Shabbir et al., 2018).

Na américa do Sul, quase todos países apresentam área salinizadas, resultando em aproximadamente 130 milhões de hectares (Oldeman et al., 1991; Taleisnk & Lavado, 2021). No Brasil, a região nordeste apresenta várias áreas em processos de salinização, em virtude da natureza física e química dos solos, associada a alta evaporação, chuvas irregulares e manejo inadequado do solo durante o cultivo (Silva et al., 2011). Além disso, o manejo inadequado da irrigação é outro fator que favorece para salinidade no Nordeste. Assim, apesar dos reservatórios apresentarem condutividade elétricas abaixo de 0,75 dS m^{-1}, o uso errôneo da irrigação acelera os efeitos da salinidade (Gheyi et al., 2016). Dessa maneira, tais fatores condicionam um ambiente susceptível a salinidade, podendo inviabilizar a prática de agricultura no nordeste brasileiro.

O surgimento dessas áreas salinas causa várias mudanças no solo e também na planta ao longo do cultivo, como redução na disponibilidade de nutrientes na solução do solo, que resulta no desbalanceamento nutricional, estresse osmótico ou estresse tóxico por Na^+ (Zorb et al., 2019), causando efeito imediato no crescimento celular e no metabolismo em função do tempo de acúmulo dos sais na planta (Munns & Tester, 2008). O estresse osmótico oriundo da salinidade, advém do efeito do excesso de Na^+ sob a potencial hídrico da planta.

Solos com condutividade elétrica 4 dS m^{-1} ou 40 mM de NaCl possuem uma pressão osmótica de 0,2 MPa, dificultando a absorção da água (Shabala, 2017). E causando perturbação nos processos fisiológico, variando em função da intensidade e tempo e, com isso, a aplicação de NaCl induziu no aumento de açúcar solúvel e proteína, mas causou a redução de proteínas solúveis (Yan et al., 2020). Evidenciado também pela mudança negativa da condutividade hidráulica e expressão dos genes da aquaporina em função da salinidade no arroz (Meng et al., 2017).

O excesso de sais no solo promove o desbalanceamento iônico, através de um antagonismo com outros nutrientes em destaque o K^+. Nestes termos, devido à similaridade do Na^+ com o K^+, quanto ao raio iônico e a energia de hidratação, há ocorrência da competição dos sítios de ligação e permeabilidade dos canais iônicos (Shabala, 2017; Zorb et al., 2019). Mesmo o Na^+ possuindo uma camada de hidratação mais rígida, que dificulta aos íons de Na^+ substituir o K^+ como cofator de enzimas e proteínas (Benito et al., 2014). O qual compromete os níveis de K^+ e suas respectivas funções metabólicas, como por exemplo, distúrbios em enzimas da síntese de amido e proteínas, degradação da clorofila e inibição da atividade fotossintética, fechamento estomático e mudanças no pH da célula (Hafsi et al., 2017; Hedrinch & Shabala, 2018; Hasanuzzaman et al., 2018).

Em consonância, quando ocorre também alteração do potencial de membrana, em virtude do transporte de sódio que ocorre por meio dos canais iônicos, mecanismo esse que ainda não é compreendido. Denota-se que, os canais catiônicos não seletivos (NSCCs) são responsáveis por grande parte do fluxo de Na^+ em dicotiledônea, que difere das monocotiledôneas com os canais HKT seletivos ao Na^+ (Isayenkov & Maathuis, 2019). Porém, outros canais iônicos também estão envolvidos na dinâmica de íons, durante o estresse salino, como atividade antiporte Na^+/H^+ pelos canais NHX (Shabala et al., 2020). Os canais GORK realizam o efluxo de K^+ em função da despolarização da membrana, oriundo do influxo de Na^+ (Assaha et al., 2017).

Assim, tem-se os canais de transporte, HAK de alta afinidade ao K^+, LCT1 de baixa afinidade e canais CHX trocadores catiônicas de H^+, NRT transportador de nitrato (Isayenkov & Maathuis, 2019). Outros canais como CCC estão envolvidos com o transporte em longa distância dos íons de Na^+, K^+ e Cl^- (Henderson et al., 2015). Além dos canais, conjuntos de proteínas intrínsecas da membrana plasmática (PIP), que auxiliam na absorção de água, são também permeáveis ao Na^+ (Byrt et al., 2017). Pouco se compreende sobre essa dinâmica iônica nas plantas durante o estresse salino, na qual confere uma lacuna importante que

necessita de maior investigação e, em destaque, o papel dos canais iônicos dependente da atividade da H^+-ATPase e H^+-PPase no controle da absorção e transporte de íons.

Em virtude dessa ampla abrangência de canais envolvidos, a salinidade não somente afeta a concentração de K^+, mas aos demais nutrientes. As concentrações foliares do nitrogênio, fósforo, potássio, cálcio, magnésio, ferro e zinco foram reduzidas em função da salinidade no tomateiro (Abdeldym et al., 2020), prejudicando a integridade celular em processos fisiológicos, além de requerer alta demanda de energia, tal como o acúmulo e transporte de solutos através da membrana, energia essa, oriundas das bombas de prótons H^+-ATPase e H^+-PPase para transportar contra o gradiente de concentração ou eletroquímico (Neuhaus e Trentmann, 2014; Sulian et al., 2020). Logo, também necessita de altas concentração interna de K^+, na qual absorção desse íon tende a ser impulsionada, justamente pela atividade de ambas bombas (Pedersen & Palmgren, 2017).

Em condição de estresse salino, o mecanismo de exclusão de íons de Na^+ e Cl- também envolve gasto de energia para controle do nível letal dos íons, com o custo de 1 mol de ATP para o efluxo de mol de Na^+, requerendo a manutenção da diferença eletroquímica através da H^+-ATPase (Munns et al., 2019). Ao ponto que, mesmo com atividade em 50% de performance as V-ATPase absorvem grande parte do ATP intracelular nas raízes (Shabala et al., 2020), reduzindo assim a disponibilidade energética para os processos de crescimento e desenvolvimento.

A Salinidade também pode induzir de forma indireta um estresse oxidativo, em virtude da toxicidade dos íons de Na^+. Em baixas concentrações na célula, o sódio apresenta um efeito benéfico na regulação da pressão osmótica e manutenção do tugor das folhas (Barker & Pilbeam, 2007; Marschner, 2012). Todavia, em altas concentrações, o sódio provoca o aumento de moléculas de alta oxidação, que são as espécies reativas de oxigênio (ROS), com as principais formas sendo: singleto oxigênio ($1O_2$), superóxido aníon (O_{2-}), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e radical de hidroxila (HO) (Waszczak et al., 2018).

Logo, o aumento transitório dessas moléculas desencadeia uma sinalização necessária para o processo de aclimatação ao estresse (Taiz et al., 2016). Entretanto, em caso de prolongamento, as ROS inibem processos fisiológicos e bioquímicos, oxidando o conjunto de biomoléculas como DNA, lipídios e proteínas suspendendo o estado redox da célula (Choudhury et al., 2013). As ROS, presentes no cloroplasto, induziram o efluxo de K^+ alterando também os canais NSCCs em plantas de trigo sob salinidade (Wu et al., 2015). A salinidade induziu no aumento da peroxidação lipídica, causando o vazamento de eletrólitos em plantas de tomateiro (Parvin et al., 2019). Nisto, os efeitos da salinidade são

multifacetados, variando conforme a intensidade e tempo, destacando-se os efeitos osmótico, iônico e oxidativo e com a redução do crescimento distribuída ao longo de duas fases: fase rápida da pressão osmótica e uma fase mais lenta em função do acúmulo de Na^+ (Munns & Tester, 2008).

2.2 Resposta a salinidade, plantas glicófitas e halófitas

O crescimento das plantas em ambientes salinos depende de sua capacidade de lidar com as principais restrições (estresse osmótico, iônico e oxidativo) impostas pela salinidade (Bose et al., 2015), o que diferencia de acordo com família e espécie de caráter botânico. Logo, são denominadas halófitas, as espécies que conseguem sobreviver no ambiente salino, necessitando de 10 a 500 Mm de NaCl para se desenvolver (Munns & Tester, 2008; Shabala, 2017).

Entretanto, grande parte as espécies agrícolas são sensíveis ao excesso de sais, sendo denominada espécies glicófitas (Zelm et al., 2020). Essas plantas diferem quanto a capacidade de controlar absorção, fluxo, compartimentalização e a exclusão do excesso de Na^+ na célula. Plantas halófitas absorvem o Na^+ de forma rápida e transitória, embora liberem o Na^+ mesmo sob alta concentração no xilema (Zarei et al., 2020). De acordo com Shabala (2013), esse aumento nas halófitas ocorrem com objetivo de atingir de maneira rápida o limite de sal e induz ao ajuste osmótico mais rápido, mantendo o crescimento normal e condiz ao princípio físico de levitt (1980) ao estresse, com mudanças reversíveis, resultando em tolerância ao estresse (Schulze et al., 2019).

Por sua vez, as halófitas detém maior capacidade para lidar com as altas concentrações de sais no solo e desenvolveram várias adaptações para tolerar altas concentrações, que incluem compartimentalização de íons nos vacúolos, acumúlo de solutos, glândulas e bexiga secretora de sal (Flowers & Colmer, 2008; Shabala & Mackay, 2012), ao ponto que, mesmo em condição de não estresse, as halófitas demandam níveis altos de Na^+ em comparação a glicófitas. Plantas de atriplex apresentaram uma concentração de Na^+ no xilema 10 vezes superior às plantas de feijão (Zarei et al., 2020). Logo, a concentração tende a ser excluída para fora ou compartimentalizada nos vacúolos e o controle desse fluxo de sódio rapidamente é importante em virtude do efeito antagônico sobre os íons de K^+. A aplicação de 100 Mm de NaCl causou despolarização do potencial de membrana, seguida de um efluxo massivo de íons de K^+ em plantas de moderada tolerância (cevada) (Shabala et al., 2010). Isso ocorre em função do influxo de Na^+, que aumenta a carga positiva sob o potencial de

membrana negativo, levando a despolarização do potencial de membrana, seguido do aumento das bombas ATPase para neutralização da despolarização, reduzindo o influxo de Na^+ e efluxo de K^+ (Sun et al., 2009; Zelm et al., 2020).

A exclusão de sais para estrutura anatômica denominadas de bexigas é outra importante adaptação das plantas halófitas. Essas bexigas são estrutura epidérmica modificadas, que são classificadas como tricomas glandulares, espinhos glandulares de superfície (Ishida et al., 2008). Desse modo, presentes em plantas da família Chenopodiaceae e Amaranthaceae, estão dispostas em folhas e caules permitindo o sequestro de grande de quantidade de Na^+ concentradas regiões metabolicamente ativas na planta (Shabala et al., 2014), que além de funcionar com armazenamento de íon de Na^+, as bexigas de sal também promovem a redução da perda de água e diminuição dos danos da luz ultravioleta (Shabala & Mackay, 2011). Através dessas bexigas as halófitas possuem maior capacidade de sequestro e exclusão de íons de Na^+ em comparação com as glicófitas.

O sequestro do íon de Na^+ para vacúolo é outro processo importante para tolerância a salinidade, tanto espécies glicófitas como halófitas detém este tipo de mecanismo. Todavia, diferem quanto as altas concentrações de suporte, processo esse que envolve o transporte canal antiporte H^+/Na^+ (SOS1), canal vacuolar H^+/Na^+ (NHX1) e o canal (HKT1) transportador Na^+/ K^+ (Cushman et al., 2020), pela qual a superexpressão do gene SOS1 Na^+/ H^+ causou aumento da tolerância em plantas de arabidopsis (Yang et al., 2009). Durante esse processo, a atividade das bombas vacuolares H^+-APTase e H^+-PPase são importantes, pois fornecem uma força motriz para os canais NHX, mantendo uma voltagem próxima entre canais de rápida e lenta permeabilidade ao Na^+ (Bonales-Alatorre et al., 2013), possibilitando que maior parte do Na^+ na célula esteja compartimentalizado no vacúolo, mantendo assim atividade metabólica, como por exemplo, a fotossíntese.

Na medida que o Na^+ vai para o vacúolo, a pressão osmótica aumenta em comparação ao citosol. Dessa forma, as plantas acumulam solutos orgânicos compatíveis com o metabolismo, com intuito de manter o equilíbrio osmótico entre o citosol e vacúolo (Munns & Tester, 2008). Nesse contexto, são moléculas de baixo peso molecular como prolina, álcoois de açúcar, aminoácidos, sorbitol e açúcares (Zelm et al. 2020). Esse ajustamento da pressão osmótica assegura o tugor da célula, bem como o volume das organelas para o crescimento (Munns et al., 2020). Todavia, esse processo tende a ser limitado, variando de intensidade entre as espécies gliófitas e halófitas. Com isso, para a produção dessas moléculas é necessário o uso do recurso energético proveniente da fotossíntese, reduzindo os recursos disponíveis para o crescimento da planta (Munns & Gilliham, 2015; Zelm et al., 2020).

Dessa forma, as plantas glicófitas reduzem seu crescimento de forma inversamente proporcional ao acúmulo de Na^+ (Jha et al., 2010). Contudo, em ambas as espécies, o mecanismo pelo o qual o Na^+ é absorvido e transportado não é completamente conhecido, sendo postulado que, além do transporte simplástico e transcelular radial, o transporte dos íons de Na^+ ocorre através de proteínas e efluxo de outros íons pela membrana plasmática de células radiculares com ou sem gasto de energia (Craing & Møller, 2010).

Muitas plantas glicófitas são incapazes de prevenir grande absorção e fluxo de Na^+ pelo xilema e quando o mesmo é superior, a concentração apoplástica de Na^+ aumenta rapidamente, levando posteriormente a inibição de reações fotossintéticas (Percey et al., 2014). Além disso, as plantas sensíveis aos sais, realizam o efluxo dos íons de Na^+ em alta concentração na célula e reduzindo os efeitos. Embora o Na^+ enviado para fora das células se acumule na rizosfera, causando uma ciclagem ineficiente de Na^+ (Shabala et al., 2014), isto demonstra que os processos de reposta a salinidade em plantas glicófitas são limitados em função da concentração de Na^+ e, quando ultrapassado essa concentração, os processos fisiológicos são prejudicados.

A respeito do conhecimento relacionado a dinâmica desses processos de resposta à salinidade em espécie glicófita e halófita, destaca-se a sua necessidade para desenvolvimento de plantas tolerantes a salinidade, pois todos os mecanismos de tolerância à salinidade utilizados nas espécies halófitas também são utilizados nas espécies glicófitas (Bartels e Dinakar, 2013). Para Bonales-Alatorre et al. (2013), não existe um fator chave na resolução dos problemas de salinidade na planta, pois manipular apenas um gene não irá promover tolerância, mas, sim, quando manipular fatores chaves (genes/processos) e vierem a complementar.

2.3 Potencial de membrana e sinizalição elétrica

As plantas são seres vivos responsivos às mudanças do ambiente, através de uma complexa rede de reguladores químicos que interagem com processos fisiológicos de crescimento e desenvolvimento da planta (Choi et al., 2014) com uma rápida rede de comunicação, mensurada através de variação no potencial elétrico da membrana e fluxo iônico (Zimmermann et al., 2009). A salinidade, assim como outros fatores ambientais, pode influenciar no fluxo iônico e também no potencial de membrana. Para Nernst, o fluxo de íons de Ca^{+2} é o principal fator determinante nesse potencial em condição de repouso.

Conforme observado por Choi et al. (2014), a aplicação de NaCl induziu o aumento transitório dos níveis de Ca^{+2}, propagando ondas de Ca^{+2} ao longo da planta. Essa mudança no fluxo de Ca^{+2} está associado alteração do potencial de membrana, que pode causar a emissão de sinas elétricos como reposta ao estímulo. Além disso, variação dos níveis celular de íons, tais como Ca^{+2}, K^{+} e Cl^{-}, pode desencadear potencias de ação (Volkov, 2006).

Esses sinais podem ser categorizados em potencial de ação (PAs), potencial de variação (VPs) e potencias sistêmicos (SPs) (Choi et al. 2016). Podendo levar informações por longas distâncias de um órgão para outro órgão, mesmo que essa voltagem diminua ao longo da propagação pela planta (Felle & Zimmermann, 2007; Zimmermann et al., 2009). O potencial de ação foi o primeiro sinal elétrico comprovado experimentalmente, através de estudos realizados por Bose (1964), no qual demostrou a emissão e propagação nos vasos condutores de plantas de mimosa, que pode ser caracterizado por ser um sinal rápido, que obedece ao princípio do "tudo ou nada" após um limiar de excitação, podendo ser percussor de sinais químicos (Zimmermann et al., 2009; Vodeneev et al., 2016).

A geração desse sinal advém do estímulo de ultrapassar o limiar de excitação do potencial elétrico de repouso da célula, a partir da fase de depolarização do potencial de membrana, que ocorre através de um influxo de Ca^{+2} transiente, que causa ativação e influxo de Cl^{-} e inativação transiente da H^{+}-ATPase (From et al., 2007; Vodeneev et al., 2016). Posteriormente, ocorre a fase repolarização que consiste na reativação da H^{+}-ATPases acompanhada do efluxo de íons de K^{+} (Shukhova, et al., 2017; Vodeneev et al., 2016; Pyatygin et al., 2008).

Comprovado também por Hodgkin e Huxley (1952), foi demonstrado que a abertura dos canais de efluxo de K^{+} causa a repolarização e esses canais são dependentes de voltagem, que são retificadores externos, semelhante aos canais Kv em animais, embora em *Arabidosis* thaliana esses canais são os GORK e SKOR (Hedrich et al., 2016; Riedelsberger et al., 2015). A manifestação e propagação desse tipo de sinal ao longo da planta pode influenciar diversos processos fisiológicos, tais como o aumento da atividade respiratória (Filek & Koscielniak, 1997), inibição transitória da atividade fotossintética, através inativação de enzimas do ciclo de calvin em função do alto influxo de Ca^{+2} (Koziolek, 2004; Sukhov et a., 2014), aumento dos níveis de hormônios vegetais associados ao estresse como ácido abscísico e ácido jasmônico (Fisahn et al.,2004). Dessa forma, propagação de PAs em mutantes de tomateiro em ABA, promoveu mudança nas trocas gasosas (Silva et al., 2020), causando alteração no metabolismo da planta em função da intensidade e estímulo.

Enquanto o potencial de ação exige maior participação do fluxo de íons para geração e propagação, o PV é caracterizado por uma duração mais longa e de propagação nos vasos xilemáticos (Vodeneev et al., 2011; Fromm & Lautner et al., 2006) e estando associado a uma mudança transitória da H^+-ATPase durante despolarização, ambos os sinais apresentam uma fase de despolarização semelhante. Nesse caso, é observado acidificação do citoplasma e alcalinização do apoplasto durante a geração do PV (Katicheva et al., 2014; Sherstneva et al., 2015). Assim, a geração do PV está mais fortemente ligada a mudança da bomba eletrogênica, do que ao fluxo de íons passivos (Vodeneev et al., 2011), também evidenciado por Katicheva et al. (2014), demonstrando que o uso de ortovandato de sódio (supressor da H^+-ATPase) não promoveu reação elétrica em destaque a manifestação de PV.

A propagação do PV ainda não é totalmente compreendida e são aceitas três hipóteses: A primeira hipótese, supõe que o dano aumenta pressão hidráulica, originando uma onda que se propaga pelo xilema, ao mesmo tempo que induz reação elétrica. (Stahlberg et al., 2006; Mancuso, 1999). A segunda hipótese, relata que o PV é uma reposta elétrica local, provocado por um fator, podendo ser a pressão hidráulica ou agente químico (Davies, 2006; Stahlberg et al., 2006). Já a terceira hipótese, pressupõe que o PV tenha propagação semelhante ao princípio do PA (Tsaplev et al., 1980).

A emissão de PVs em plantas de evilha promoveu inativação da fotossíntese e elevação da atividade respiratória das folhas (Sukhov et al., 2014), inibição da síntese de proteínas e polissomos (Davies & Stankovic, 2006), aumento da expressão de genes PIN2 e maximização dos níveis de ácido jasmônico (Fisahn et al., 2014). Dessa forma, a propagação do potencial de variação, reduziu simultaneamente a absorção de CO_2, transporte de elétrons e o rendimento quântico do PSII (Volkov, 2006).

A emissão desses sinais elétricos ao longo da planta pode agir de forma benéfica ou maléfica, dependendo da intensidade do estímulo podendo, assim, aumentar a resistência ao estresse como, por exemplo, modulação ou adaptação do maquinário fotossintético (Retivin et al., 1997). Entretanto, a dinâmica em relação ao comportamento elétrico em plantas sob salinidade é pouco compreendida, uma vez que mudanças em processos fisiológicos estão relacionadas com as gerações de PAs e PVs e sendo essas dependentes do fluxo passivos de íons como K^+, Ca^{+2} e Cl^- (Vodeneev et al., 2015), na qual as concentrações desses mesmos íons são bastante afetadas pelo excesso de sais no solo.

2.4 Silício como mitigador aos estresses abióticos

O silício é o segundo elemento mais presente na terra, compondo 27,7% da costa terrestre, sendo inferior somente ao oxigênio, presente naturalmente na forma de minerais de silicatos cristalinos ou amorfo (Sommer et al., 2006; Khan et al., 2019). Por ser um elemento com funções multifacetadas, são postulados divergência quanto fator de elemento essencial para plantas.

Para Epistem (1994) e Jones (2012), a dificuldade de privar as plantas de Si experimentalmente associados com as funções fisiológicas do Si, criam um argumento quanto essencialidade. Assim, as espécies de plantas diferem quanto a absorção de silício, sendo classificadas em espécies acumuladoras, intermediárias e não acumuladoras (Zhu & Gong, 2014) e, em geral, as plantas monocotiledôneas acumulam Si em maior proporção do que as dicotiledôneas. Nesse caso, plantas de arroz, trigo, milho, cana-de-açúcar, são acumuladoras; já as plantas de abóbora, pepino e soja são consideradas intermediarias e plantas não acumuladoras como o tomateiro, girassol e uva (Hoffmann et al., 2020; Ma et al., 2002; Barker & Pilbeam, 2015; Bakhat et al., 2018).

O silício no solo pode variar a forma química em função do pH. Dessa forma, solos com pH baixo encontra-se na forma ácido silícico não dissociada, já em pH elevado, a forma presente do Si ácido silícico dissociado (Barker & Pilbeam, 2015). Em geral, sua absorção pela raiz ocorre via aploplástica e simplástica, na qual proteínas NIPs, subfamília das aquoporinas, são responsáveis pela absorção na rota simplástica (Murad et al., 2019), sendo o Lsi1 responsável pelo influxo de Si externo para células da raiz, já o Lsi2 é o responsável pelo influxo de Si intracelular (Ma et al., 2006).

Vários estudos demonstram o papel atenuador do silício em plantas sob de estresse, como exemplo, tem-se o incremento nos níveis de prolina, açúcares e proteínas solúveis em tomateiro sob déficit hídrico (Cao et al., 2017). Logo, o silício promoveu aumento nos níveis de clorofila e carotenoides, além da redução do efeito da salinidade sobre a expressão dos genes PetE, PetF, PsbP, PsbQ, PsbW e Psb28 (Zang et al., 2018), ainda nesse contexto, o silício promoveu a redução dos níveis de concentração de Na^+ e aumento dos níveis de K^+ em plantas de sojas (Farhangi-Abriz & Torabian, 2018), aumentou a biossíntese de poliaminas e reduziu o estresse oxidativo em plantas de pepino sob salinidade (Yin et al., 2019). Assim, provou aumento da atividade das enzimas antioxidantes e atividade fotossintética (Khan et al., 2018), reduzindo a absorção de Na^+ e também promovendo o acúmulo de prolina (Ibrahim et

al., 2016), restaurando o equilíbrio nutricional e potencial osmótico de plantas de trigo sob estresse salino (Saleh et al., 2017).

Esses estudos evidenciam o papel do silício como atenuador do estresse, em destaque na regulação iônica, com a redução dos níveis Na^+. No entanto, o mecanismo pelo qual o silício interfere nessa dinâmica iônica através dos canais não é conhecida. Dessa forma, é mediante este mecanismo que as plantas halófitas realizam com alta eficiência (Shabala e Mackay, 2011) e sendo de baixa eficiência em planta glicófitas, porém a aplicação de silício, induziu o aumento da H^+- ATPase em plantas de cevadas proporcional a exclusão de Na^+ (Liang et al., 2005), podendo o silício influenciar nas bombas energéticas, importantes no influxo e efluxo de íons, que reflete em mudanças quanto a sinalização elétrica das plantas.

Para entender esse mecanismo é importante o uso de fonte de altas concentração de Si. Disto, se faz necessário o uso de nanotecnologia através das nanopartículas de silício e, devido ao seu tamanho (de 1 a 100 nm) exibem propriedades química e física específicas, que modificam o metabolismo da planta ao provocarem o aumento da tolerância ao estresse (Rastogi et al., 2019). Assim, sua utilização em planta sob estresse salino é bastante promissora. Resultados comprovam a redução dos efeitos da salinidade sobre o crescimento de ervilhas (Sabaghnia e Janmohammadi 2014), aumento na biomassa de plantas de manjericão (Kalteh et al. 2018), aumento da atividade das enzimas antioxidante, SOD, CAT, POX E APX, e manutenção do nível de K^+ (Farhangi-Abriz et al., 2018). Dessa forma, o uso de nanopartículas como fonte de silício é bastante promissor, embora o mecanismo pelo qual as nanopartículas de silício promovem esses efeitos ainda careçam de mais investigação.

2.5 Tomateiro como espécie glicófita e não acumuladora de silício

O tomate é uma importante espécie modelo nos estudos, além de ser uma cultura agrícola relevante economicamente em todo mundo. Nessa forma, é uma espécie pertencente à família Solanaceae, originária da América do Sul, em destaque do Peru e ilhas Galápago (Jones, 2007). Atualmente, os maiores produtores são China (36,570 milhões de toneladas), Eua (12,835 milhões) e Índia (11,724 milhões), enquanto o Brasil ocupa a 9ª com uma produção de 3,607 milhões de toneladas (FAO 2020), ao mesmo tempo, é considerado uma espécie modelo para material de pesquisa, em virtude do grande número de fenótipos e espécies selvagens (total de 13) que auxiliam no cruzamento e papel evolutivo. Além disso, o conhecimento obtido no tomateiro pode ser utilizado em outra solanáceas de importância econômica, como batata, pimentão, berinjela e tabaco (Kimura & Sinha, 2008). Nesse

contexto, é uma espécie modelo para o desenvolvimento de fruto, característica essa ausente em Arabidopsis e arroz, sendo de fácil cultivo em laboratório a partir do uso de Micro-Tom (Botella & Botela, 2016).

O processo de domesticação do tomateiro levou a uma redução da tolerância a salinidade. A análise de associação genômica de acesso demostrou diferença de genes que codificam grupo HAK/KUP família de transportador de K^+ de alta afinidade (Wang et al., 2020), na qual espécies selvagens como *S. galapagense* e *S. cheesmaniae* oriundos das Ilhas Galápagos apresentam alta tolerância a salinidade, assim como o *S. chilense* (Pailles et al., 2020; Gharbi et al., 2016), possibilitando uma investigação mais detalhada dos mecanismos de resposta a salinidade de um grupo de plantas de importância econômica.

Outro fator importante na utilização do tomateiro como planta modelo está relacionado a espécie não ser acumuladora de silício, pois a super expressão do gene Lsi1 no tomateiro provocou maior acúmulo de Si nas raízes e não nas folhas, apresentando um baixo nível de expressão do gene Lsi2 quando realizado o transporte por efluxo (Sun et al., 2020; Deshmukh et al., 2015). Contudo, em condição de estresse a aplicação de silício promove atenuação dos efeitos na cultura (Hoffmann et al., 2020).

Referências

Abdeldym, E. A., El-Mogy, M. M., Abdellateaf, H. R. L., & Atia, M. A. M. (2020). Genetic Characterization, Agro-Morphological and Physiological Evaluation of Grafted Tomato under Salinity Stress Conditions. Agronomy, 10 (12), 1948. https://doi:10.3390/agronomy10121948.

Al Murad, M., Khan, A. L., & Muneer, S. (2020). Silicon in Horticultural Crops: Cross-talk, Signaling, and Tolerance Mechanism under Salinity Stress. Plants (Basel, Switzerland), 9(4), 460. https://doi.org/10.3390/plants9040460.

Assaha, D., Ueda, A., Saneoka, H., Al-Yahyai, R., & Yaish, M. W. (2017). The Role of Na^+ and K^+ Transporters in Salt Stress Adaptation in Glycophytes. Frontiers in physiology, 8, 509. https://doi.org/10.3389/fphys.2017.00509.

Bakhat, H. F., Bibi, N., Zia, Z., Abbas, S., Hammad, H. M., Fahad, S., et al. (2018). Silicon mitigates biotic stresses in crop plants: a review. Crop Prot. 104, 21–34. https://doi: 10.1016/j.cropro.2017.10.008.

Benito, B., Haro, R., Amtmann, A., Cuin, T. A., & Dreyer, I. (2014). The twins K^+ and Na^+ in plants. Journal of plant physiology, 171(9),723–731. https://doi.org/10.1016/j.jplph.2013.10.014.

Bonales-Alatorre, E., Pottosin, I., Shabala, L., Chen, Z. H., Zeng, F., Jacobsen, S. E., & Shabala, S. (2013). Differential activity of plasma and vacuolar membrane transportes contributes to genotypic differences in salinity tolerance in a Halophyte Species, Chenopodium quinoa. International journal of molecular sciences, 14(5), 9267–9285. https://doi.org/10.3390/ijms14059267.

Bose, D. Ch. (1964). Selected Studies on Excitability of Plants. Nauka, Moscow, Russian].

Bose, J., Rodrigo-Moreno, A., & Shabala, S. (2014). ROS homeostasis in halophytes in the context of salinity stress tolerance. Journal of experimental botany, 65(5), 1241–1257. https://doi.org/10.1093/jxb/ert430.

Bose, J., Rodrigo-Moreno, A., Lai, D., Xie, Y., Shen, W., & Shabala, S. (2015). Rapid regulation of the plasma membrane H^+-ATPase activity is essential to salinity tolerance in two halophyte species, Atriplex lentiformis and Chenopodium quinoa. Annals of botany, 115(3), 481–494. https://doi.org/10.1093/aob/mcu219.

Botella, Jose R.; Botella, Miguel A. (2016). Methods in Molecular Biology Plant Signal Transduction. Humana Press, New York, 47–55. https://doi:10.1007/978-1-4939-3115-65

Byrt, C. S., Zhao, M., Kourghi, M., Bose, J., Henderson, S. W., Qiu, J., Gilliham, M., Schultz, C., Schwarz, M., Ramesh, S. A., Yool, A., & Tyerman, S. (2017). Non-selective cation channel activity of aquaporin $AtPIP_{2;1}$ regulated by Ca^{2+} and pH. Plant, cell & environment, 40(6), 802–815. https://doi.org/10.1111/pce.12832.

Cao, B. L., Wang, L., Gao, S., Xia, J., & Xu, K. (2017). Silicon-mediated changes in radial hydraulic conductivity and cell wall stability are involved in silicon-induced drought resistance in tomato. Protoplasma, 254(6), 2295–2304. https://doi.org/10.1007/s00709-017-1115-y.

Choudhury, S., Panda, P., Sahoo, L., & Panda, S. K. (2013). Reactive oxygen species signaling in plants under abiotic stress. Plant signaling & behavior, 8(4), e23681. https://doi.org/10.4161/psb.23681.

Craig Plett, D., & Møller, I. S. (2010). $Na(^+)$ transport in glycophytic plants: what we know and would like to know. Plant, cell & environment, 33(4), 612–626. https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2009.02086.x.

Cushman, K. R., Pabuayon, I., Hinze, L. L., Sweeney, M. E., & de Los Reyes, B. G. (2020). Networks of Physiological Adjustments and Defenses, and Their Synergy With Sodium (Na^+) Homeostasis Explain the Hidden Variation for Salinity Tolerance Across the Cultivated Gossypium hirsutum Germplasm. Frontiers in plant science, 11, 588854. https://doi.org/10.3389/fpls.2020.588854.

Davies E. & Stankovic B. (2006). Electrical signals, the cytoskeleton, and gene expression: a hypothesis on the coherence of the cellular responses to environmental insult. In F. Baluska, S. Mancuso & D. Volkmann (Eds), Communication in Plants – Neuronal Aspects of Plant Life (pp. 309– 320). Springer-Verlag, Berlin and Heidelberg, Germany.

Davies E. (2006) Electrical Signals in Plants: Facts and Hypotheses. In: Volkov A.G. (eds) Plant Electrophysiology. Springer, Berlin, Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-540-37843-3_17.

Deshmukh, R. K., Vivancos, J., Ramakrishnan, G., Guérin, V., Carpentier, G., Sonah, H., Labbé, C., Isenring, P., Belzile, F. J., & Bélanger, R. R. (2015). A precise spacing between the NPA domains of aquaporins is essential for silicon permeability in plants. The Plant journal : for cell and molecular biology, 83(3), 489–500. https://doi.org/10.1111/tpj.12904.

Epstein E. (1994). The anomaly of silicon in plant biology. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 91(1), 11–17. https://doi.org/10.1073/pnas.91.1.11.

Felle, H. H., & Zimmermann, M. R. (2007). Systemic signalling in barley through action potentials. Planta, 226(1), 203–214. https://doi.org/10.1007/s00425-006-0458-y.

Fisahn, J., Herde, O., Willmitzer, L., & Peña-Cortés, H. (2004). Analysis of the transient increase in cytosolic Ca^{2+} during the action potential of higher plants with high temporal resolution: requirement of Ca^{2+} transients for induction of jasmonic acid biosynthesis and PINII gene expression. Plant & cell physiology, 45(4), 456–459. https://doi.org/10.1093/pcp/pch054.

Flowers, T. J., & Colmer, T. D. (2008). Salinity tolerance in halophytes. The New phytologist, 179(4), 945–963. https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2008.02531.x.

FROMM, J. and LAUTNER, S. (2007), Electrical signals and their physiological significance in plants. Plant, Cell & Environment, 30: 249-257. https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2006.01614.x.

Gharbi, E., Martínez, J. P., Benahmed, H., Fauconnier, M. L., Lutts, S., & Quinet, M. (2016). Salicylic acid differently impacts ethylene and polyamine synthesis in the glycophyte *Solanum lycopersicum* and the wild-related halophyte Solanum chilense exposed to mild salt stress. Physiologia plantarum, 158(2), 152–167. https://doi.org/10.1111/ppl.12458.

Gheyi, H., Dias, N. da S,. Larcerda, C. F., Filho, E. G. (2016) Manejo da salinidade na agricultura: estudos básicos e aplicados (2ª ed). Fortaleza: INCTSal.

Hafsi, C., Falleh, H., Saada, M., Ksouri, R., & Abdelly, C. (2017). Potassium deficiency alters growth, photosynthetic performance, secondary metabolites content, and related antioxidant capacity in Sulla carnosa grown under moderate salinity. Plant physiology and biochemistry :PPB, 118, 609–617. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2017.08.002.

Hasanuzzaman, M., Bhuyan, M., Nahar, K., Hossain, M., Mahmud, J., Hossen, M., … Fujita, M. (2018). Potassium: A Vital Regulator of Plant Responses and Tolerance to Abiotic Stresses. Agronomy, 8(3), 31. doi:10.3390/agronomy8030031.

Hedrich, R., & Shabala, S. (2018). Stomata in a saline world. Current opinion in plant biology, 46, 87–95. https://doi.org/10.1016/j.pbi.2018.07.015.

Henderson, S. W., Wege, S., Qiu, J., Blackmore, D. H., Walker, A. R., Tyerman, S. D., et al. (2015). Grapevine and arabidopsis cation-chloride cotransporters localize to the golgi and trans-golgi network and indirectly influence long-distance ion transport and plant salt tolerance. Plant Physiol. 169, 2215–2229. doi: 10.1104/pp.15.00499.

Hodgkin, A. L., & Huxley, A. F. (1952). A quantitative description of membrane current and its application to conduction and excitation in nerve. The Journal of physiology, 117(4), 500–544. https://doi.org/10.1113/jphysiol.1952.sp004764.

Hoffmann, J., Berni, R., Hausman, J. F., & Guerriero, G. (2020). A Review on the Beneficial Role of Silicon against Salinity in Non-Accumulator Crops: Tomato as a Model. Biomolecules, 10(9), 1284. https://doi.org/10.3390/biom10091284.

Ibrahim, M., Merwad, A., Elnaka, E., Burras, C., and Follett, L. (2016). Application of silicon ameliorated salinity stress and improved wheat yield. J. Soil Sci. Environ. Manage. 7, 81. doi: 10.5897/JSSEM2016.0571.

Ishida, T., Kurata, T., Okada, K., & Wada, T. (2008). A genetic regulatory network in the development of trichomes and root hairs. Annual review of plant biology, 59, 365–386. https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.59.032607.092949.

Jha, D., Shirley, N., Tester, M., & Roy, S. J. (2010). Variation in salinity tolerance and shoot sodium accumulation in Arabidopsis ecotypes linked to differences in the natural expression levels of transporters involved in sodium transport. Plant, cell & environment, 33(5), 793–804. https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2009.02105.x.

Jones, J. B. Jr. (2012). Plant nutrition and soil fertility manual (2 edn). CRC Press Taylor & Francis Group FL, Taylor & Francis Group, Boca Raton.

Kalteh, M., Alipour, Z., Ashraf, S., Marashi Aliabadi, M., Falah Nosratabadi, A. (2018). Effect of silica Nanoparticles on Basil (Ocimum basilicum) Under Salinity Stress. Journal of Chemical Health Risks, 4(3), -. https://doi: 10.22034/jchr.2018.544075.

Katicheva, L., Sukhov, V., Akinchits, E., & Vodeneev, V. (2014). Ionic nature of burn-induced variation potential in wheat leaves. Plant & cell physiology, 55(8), 1511–1519. https://doi.org/10.1093/pcp/pcu082.

Khan, W., Aziz, T., Maqsood, M., Farooq, M., Abdullah, Y., Ramzani, P., et al. (2018). Silicon nutrition mitigates salinity stress in maize by modulating ion accumulation, photosynthesis, and antioxidants. Photosynthetica 56, 1047– 1057. doi: 10.1007/s11099-018-0812-x.

Kimura, S., & Sinha, N. (2008). Tomato (Solanum lycopersicum): A Model Fruit-Bearing Crop. CSH protocols, 2008, pdb.emo105. https://doi.org/10.1101/pdb.emo105

Koziolek, C., Grams, T., Schreiber, U., Matyssek, R., & Fromm, J. (2004). Transient knockout of photosynthesis mediated by electrical signals. The New phytologist, 161(3), 715–722. https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2004.00985.x.

Liang, Y., Zhang, W., Chen, Q., Liu, Y., & Ding, R. (2006). Effect of exogenous silicon (Si) on H+-ATPase activity, phospholipids and fluidity of plasma membrane in leaves of salt-stressed barley (Hordeum vulgare L.). Environmental and Experimental Botany, 57, 212-219.

Ma, J.F.; Takahashi, E. (2002). Soil, Fertilizer, and Plant Silicon Research in Japan; Elsevier: Amsterdam, The Netherlands.

Ma, J. F., Tamai, K., Yamaji, N., Mitani, N., Konishi, S., Katsuhara, M., Ishiguro, M., Murata, Y., & Yano, M. (2006). A silicon transporter in rice. Nature, 440(7084), 688–691. https://doi.org/10.1038/nature04590.

Mancuso S. (1999). Hydraulic and electrical transmission of wound-induced signals in Vitis vinifera. Aust J Plant Physiol, 26, 55-61. http://dx.doi.org/10.1071/PP98098.

Mandal, S., Raju, R., Kumar, A., Kumar, P., and Sharma, P. C. (2018). Current status of research, technology response and policy needs of salt-affected soils in India – a review. Ind. Soc. Coastal Agri. Res. 36 (2), 40–53.

Meng, D., & Fricke, W. (2017). Changes in root hydraulic conductivity facilitate the overall hydraulic response of rice (Oryza sativa L.) cultivars to salt and osmotic stress. Plant physiology and biochemistry: PPB, 113, 64–77. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2017.02.001.

Munns, R., & Gilliham, M. (2015). Salinity tolerance of crops - what is the cost?. The New phytologist, 208(3), 668–673. https://doi.org/10.1111/nph.13519.

Munns, R., & Tester, M. (2008). Mechanisms of salinity tolerance. Annual review of plant biology, 59, 651–681. https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.59.032607.092911.

Munns, R., Passioura, J.B., Colmer, T.D. and Byrt, C.S. (2020), Osmotic adjustment and energy limitations to plant growth in saline soil. New Phytol, 225: 1091-1096. https://doi.org/10.1111/nph.15862.

Neuhaus, H. E., & Trentmann, O. (2014). Regulation of transport processes across the tonoplast. Frontiers in plant science, 5, 460. https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00460.

Oldeman LR, Hakkeling RTA, Sombroek WG (1991) World map of the status of human-induced soil degradation. An explanatory note. Second revised edition. In: International soil reference and information center (ISRIC), Wageningen.

Pailles, Y., Awlia, M., Julkowska, M., Passone, L., Zemmouri, K., Negrão, S., Schmöckel, S. M., & Tester, M. (2020). Diverse Traits Contribute to Salinity Tolerance of Wild Tomato Seedlings from the Galapagos Islands. Plant physiology, 182(1), 534–546. https://doi.org/10.1104/pp.19.00700.

Pedersen, J. T., & Palmgren, M. (2017). Why do plants lack sodium pumps and would they benefit from having one. Functional plant biology: FPB, 44(5), 473–479. https://doi.org/10.1071/FP16422.

Pyatygin, S.S., Opritov, V.A. & Vodeneev, V.A. (2008). Signaling role of action potential in higher plants. Russ J Plant Physiol 55, 285–291. https://doi.org/10.1134/S1021443708020179

Qadir, M., Quillerou, E., Nangia, V., Murtaza, G., Singh, M., Thomas, R. J., et al. (2014). Economics of salt-induced land degradation and restoration. Nat. Res. Forum. 38, 282–295. doi: 10.1111/1477-8947.12054.

Rastogi, A., Tripathi, D., Yadav, S., Chauhan, D., Zivcak, M., Ghorbanpour, M., El-Sheery, N.I., & Brestič, M. (2019). Application of silicon nanoparticles in agriculture. 3 Biotech, 9(90). https://doi.org/10.1007/s13205-019-1626-7.

Retivin VG, Opritov VA, Fedulina SB. (1997). Generation of action potential induces preadaptation of Cucurbita pepo L stem tissues to freezing injury. Russ J Plant Physiol 44, 432-42.

Riedelsberger, J., Dreyer, I., & Gonzalez, W. (2015). Outward Rectification of Voltage-Gated K^+ Channels Evolved at Least Twice in Life History. PloS one, 10(9), e0137600. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0137600.

Sabaghnia N, Janmohammadi M. (2014). Graphic analysis of nano-silicon by salinity stress interaction on germination properties of lentil using the biplot method. Agric For Poljoprivreda i Sumarstvo 60 (3), 29–40.

Saleh, J., Najafi, N., and Oustan, S. (2017). Effects of silicon application on wheat growth and some physiological characteristics under different levels and sources of salinity. Commun. Soil Sci. Plant Anal. 48, 1114–1122. https://doi: 10.1080/00103624.2017.1323090

Shabala and Mackay, (2011). Mackay Ion transport in halophytes Adv. Bot. Res., 57, 51-187. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-387692-8.00005-9.

Shabala, L., Mackay, A., Tian, Y., Jacobsen, S. E., Zhou, D., & Shabala, S. (2012). Oxidative stress protection and stomatal patterning as components of salinity tolerance mechanism in quinoa (Chenopodium quinoa). Physiologia plantarum, 146(1), 26–38. https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2012.01599.x.

Shabala S. (2013). Learning from halophytes: physiological basis and strategies to improve abiotic stress tolerance in crops. Annals of botany, 112(7), 1209–1221. https://doi.org/10.1093/aob/mct205.

Shabala, S. and Cuin, T.A. (2008), Potassium transport and plant salt tolerance. Physiologia Plantarum, 133, 651-669. https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2007.01008.x.

Shabala, S., Chen, G., Chen, Z. H., & Pottosin, I. (2020). The energy cost of the tonoplast futile sodium leak. The New phytologist, 225(3), 1105–1110. https://doi.org/10.1111/nph.15758.

Shabala, S., Chen, G., Chen, Z.-H. and Pottosin, I. (2020). The energy cost of the tonoplast futile sodium leak. New Phytol, 225, 1105-1110. https://doi.org/10.1111/nph.15758.

Shabala, S., Shabala, S., Cuin, T.A., Pang, J., Percey, W., Chen, Z., Conn, S., Eing, C. and Wegner, L.H. (2010). Xylem ionic relations and salinity tolerance in barley. The Plant Journal, 61, 839-853. https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2009.04110.x.

Shabala, Sergey; Bose, Jayakumar; Hedrich, Rainer. (2014). Salt bladders: do they matter? Trends in Plant Science, 19(11), 687–691. https://doi:10.1016/j.tplants.2014.09.001.

Shahid S.A., Zaman M., Heng L. (2018). Soil Salinity: Historical Perspectives and a World Overview of the Problem. In: Guideline for Salinity Assessment, Mitigation and Adaptation Using Nuclear and Related Techniques. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-319-96190-3_2.

Shahid, A. S. (2013). Developments in salinity assessment, modeling, mapping, and monitoring from regional to submicroscopic scales. In Shahid, S.A. Abdelfattah, M.A. Taha, F.K (Eds), Developments in soil salinity assessment and reclamation – innovative thinking and use of marginal soil and water resources in irrigated agriculture (pp 3–4). Springer. https://doi.org/10.1007/978-94-007-5684-7.

Sherstneva, O. N., Vodeneev, V. A., Katicheva, L. A., Surova, L. M., & Sukhov, V. S. (2015). Participation of intracellular and extracellular pH changes in photosynthetic response development induced by variation potential in pumpkin seedlings. Biochemistry. Biokhimiia, 80(6), 776–784. https://doi.org/10.1134/S0006297915060139

Silva, J. L. A., Alves, S. S. V., Nascimento, I. B., Silva, M. V. T., Medeiros, J. F. (2011). Evolução da salinidade em solos representativos do Agropólo Mossoró-Assu cultivado com meloeiro com água de deferentes salinidades. Agropecuária Científica no Semiárido, 7(4), 26-31. http://dx.doi.org/10.30969/acsa.v7i4.138.

Sommer, M., Kaczorek, D., Kuzyakov, Y., and Breuer, J. (2006). Silicon pools and fluxes in soils and landscapes-a review. J. Plant Nutr. Soil Sci. 169, 310–329. doi: 10.1002/jpln.200521981.

Stahlberg R., Cleland R.E., Van Volkenburgh E. (2006) Slow Wave Potentials — a Propagating Electrical Signal Unique to Higher Plants. In: Baluška F., Mancuso S., Volkmann D. (eds) Communication in Plants. Springer, Berlin, Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-540-28516-8_20.

Sukhov, V., Sherstneva, O., Surova, L., Katicheva, L. and Vodeneev, V. (2014). VP influences on photosynthesis due to H^+ influx. Plant Cell Environ, 37: 2532-2541. https://doi.org/10.1111/pce.12321.

Sukhova, E., Akinchits, E., & Sukhov, V. (2017). Mathematical Models of Electrical Activity in Plants. The Journal of membrane biology, 250(5), 407–423. https://doi.org/10.1007/s00232-017-9969-7.

Sulian, L.V., Jiang, P., Tai, F. et al. (2017). The V-ATPase subunit A is essential for salt tolerance through participating in vacuolar Na^+ compartmentalization in Salicornia europaea. Planta, 246, 1177–1187. https://doi.org/10.1007/s00425-017-2762-0

Sun, H., Duan, Y., Mitani-Ueno, N., Che, J., Jia, J., Liu, J., Guo, J., Ma, J. F., & Gong, H. (2020). Tomato roots have a functional silicon influx transporter but not a functional silicon efflux transporter. Plant, cell & environment, 43(3), 732–744. https://doi.org/10.1111/pce.13679.

Sun, J., Dai, S., Wang, R., Chen, S., Li, N., Zhou, X., Lu, C., Shen, X., Zheng, X., Hu, Z., Zhang, Z., Song, J., & Xu, Y. (2009). Calcium mediates root K^+/Na^+ homeostasis in poplar species differing in salt tolerance. Tree physiology, 29(9), 1175–1186. https://doi.org/10.1093/treephys/tpp048.

Taiz, L., Zeiger, E., Moller, I. M., & Murphy, A. (2017). Fisiologia e desenvolvimento vegetal (6 ed., 888p). Artmed, Porto Alegre.

Taleisnik. Lavado, R. S. (2021). Saline and Alkaline Soils in Latin America. Springer International Publishing; Zurich, 473.

Tsaplev, I., & Zatsepina, G. N. (1980). Elektricheskaia priroda rasprostraneniia variabel'nogo potentsiala u tradeskantsii [Electrical nature of the spread of the variable potential of Tradescantia]. Biofizika, 25(4), 708–712.

Van Zelm, E., Zhang, Y., & Testerink, C. (2020). Salt Tolerance Mechanisms of Plants. Annual review of plant biology, 71, 403–433. https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-050718-100005.

Vodeneev, V.A., Katicheva, L.A. & Sukhov, V.S. (2016). Electrical signals in higher plants: Mechanisms of generation and propagation. BIOPHYSICS 61, 505–512. https://doi.org/10.1134/S0006350916030209.

Volkov, G. A. (2006). Plant Electrophysiology; Theory and Methods. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-540-37843-3

Wang, Z., Hong, Y., Zhu, G., Li, Y., Niu, Q., Yao, J., Hua, K., Bai, J., Zhu, Y., Shi, H., Huang, S., & Zhu, J. K. (2020). Loss of salt tolerance during tomato domestication conferred by variation in a Na^+/K^+ transporter. The EMBO journal, 39(10), e103256. https://doi.org/10.15252/embj.2019103256.

Waszczak, C., Carmody, M., & Kangasjärvi, J. (2018). Reactive Oxygen Species in Plant Signaling. Annual review of plant biology, 69, 209–236. https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-042817-040322.

Wu, H., Shabala, L., Zhou, M., & Shabala, S. (2015). Chloroplast-generated ROS dominate NaCl(-) induced K(+) efflux in wheat leaf mesophyll. Plant signaling & behavior, 10(5), e1013793. https://doi.org/10.1080/15592324.2015.1013793.

Yan, G., Fan, X., Peng, M., Yin, C., Xiao, Z., & Liang, Y. (2020). Silicon Improves Rice Salinity Resistance by Alleviating Ionic Toxicity and Osmotic Constraint in an Organ-Specific Pattern. Frontiers in plant science, 11, 260. https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00260.

Yin, J., Jia, J., Lian, Z., Hu, Y., Guo, J., Huo, H., et al. (2019). Silicon enhances the salt tolerance of cucumber through increasing polyamine accumulation and decreasing oxidative damage. Ecotoxicol. Environ. Saf. 169, 8–17. doi: 10.1016/j. ecoenv.2018.10.10.

Zarei, M., Shabala, S., Zeng, F., Chen, X., Zhang, S., Azizi, M., Rahemi, M., Davarpanah, S., Yu, M., & Shabala, L. (2020). Comparing Kinetics of Xylem Ion Loading and Its Regulation in Halophytes and Glycophytes. Plant & cell physiology, 61(2), 403–415. https://doi.org/10.1093/pcp/pcz205.

Zhang, Yi; Shi, Yu; Gong, Hai-jun; ZHAO, Hai-liang; LI, Huan-li; HU, Yan-hong; WANG, Yi-chao (2018). Beneficial effects of silicon on photosynthesis of tomato seedlings under water stress. Journal of Integrative Agriculture, 17(10), 2151–2159. doi:10.1016/S2095-3119(18)62038-6.

Zimmermann, M. R., Maischak, H., Mithöfer, A., Boland, W., & Felle, H. H. (2009). System potentials, a novel electrical long-distance apoplastic signal in plants, induced by wounding. Plant physiology,149(3). https://doi.org/10.1104/pp.108.133884.

3 NANOPARTÍCULAS DE SILÍCIO COMO MITIGADOR DOS EFEITOS DO ESTRESSE SALINO EM TOMATEIRO

Resumo

O aumento na concentração de sais no solo é um problema crescente em várias regiões agrícolas, dado o impacto na produtividade e inviabilizar o cultivo de plantas. No Brasil, a salinidade é recorrente na região nordeste em função das caraterísticas edafoclimáticas. O uso do silício nanoparticulardo (SiNPs) em plantas tem sido associado a melhoria no desempenho fotossintético e na ativação de mecanismos de defesas a diversos estresses abióticos. Todavia, as interações do SiNPs em plantas de tomate sob estresse salino são pouco conhecidas. Nesse sentido, neste experimento objetivou-se avaliar o efeito das SiNPs em processos fisiológicos de plantas de tomate sob estresse salino. Assim, o experimento foi conduzido em casa de vegetação, em blocos inteiramente cauzalizados, com fatorial 2 x 3 referente a três concentrações de NaCl (0, 25 e 40 mM) com e sem aplicação de nanopartículas de silício (0 e 500 mg/L). Após 15, 25, 35, 45 e 55 dias sob exposição aos tratamentos, foram realizadas medidas biométricas das plantas e aos 45 dias foram avaliados o potencial hídrico foliar, trocas gasosas, fluorescência da clorofila a as concentrações foliares de nutrientes, sódio e silício. A aplicação de SiNPs mitigou os efeitos da salinidade sobre a taxa de transpiração e condutância estomática em virtude das mudanças iônica referente ao baixo acréscimo a concentração de Na^+ na folha e aumento dos teores de Ca^{2+}, da qual resultou no aumento da relação K^+/Na^+. Na concentração de 25 mM de NaCl, o tomateiro com SiNPs apresentou maior número de folhas, de flores e menor redução da biomassa, quando comparado com tomateiros sem SiNPs, sob a mesma condição de estresse. Todavia, o uso de silício promoveu menor redução dos efeitos da salinidade.

Palavra-chave: Solanum lycopersicum, Dióxido de silício, Relação K^+/Na^+, Mitigação

Abstract

The increase in the concentration of salts in the soil is a growing problem in several agricultural regions, due to the impact on productivity and the unfeasibility of plant cultivation. In Brazil, salinity is recurrent in the northeast region due to the edaphoclimatic characteristics. The use of nanoparticular silicon (SiNPs) in plants has been associated with an improvement in photosynthetic performance and in the activation of defense mechanisms of several abiotic structures. However, how SiNPs interactions in tomato plants under salt stress are little discussed. In this sense, the present study aimed to evaluate the effect of SiNPs on physiological processes of tomato plants under salt stress. The experiment was conducted in a greenhouse, in cauzalized whole blocks, with a 2x3 factorial referring to three levels of NaCl concentration (0, 25 and 40 mM) and two application levels of silicon nanoparticles (0 and 500 mg / L) . After 15, 25, 35, 45 and 55 days of exposure to the treatments, biometric measurements of the plants were performed and at 45 days, leaf water potential, gas exchange, chlorophyll fluorescence and leaf sacrifices of nutrients, sodium and silicon were performed. The application of SiNPs mitigated the effects of salinity on the transpiration rate and stomatal conductance. Much due to the ionic changes related to the low increase in the Na + concentration in the leaf and the increase in the Ca^{2+} contents, which did not result in any

increase in relation to K^+/Na^+. Under a salinity of 25 mM of NaCl, tomato plants with SiNPs presented a higher number of leaves, flowers and a lower biomass reduction, when compared to plants without SiNPs, under the same stress condition. However, the use of silicon promoted less reduction in the effects of salinity.

Keyword: Solanum lycopersicum, Silicon dioxide, K^+ / Na^+ ratio, Mitigation

3.1 Introdução

A salinidade é considerada um dos grandes problemas da agricultura no contexto atual por prejudicar o desenvolvimento e produtividade de culturas agrícolas (Van Zelm et al., 2020). Estima-se que mais de 800 milhões de hectares de solos são afetadas pela salinidade no mundo (Fao 2005). Em 2050, espera-se que a salinidade possa afetar 50% das terras cultivadas e até então, a agricultura precisará produzir 50% mais alimentos para atender às necessidades de cerca de 9,73 bilhões de pessoas (Fao, 2017), alcançando não somente uma problemática econômica, mas também de segurança alimentar. No Brasil, a região nordeste possui características edafoclimáticas que favorecem o surgimento de áreas salinizadas, sendo encontrado valores de condutividade elétrica (CE) superiores a 0,75 dS m^{-3} e uma percentagem de sódio acima de 60% (Gheyi et al., 2016). Adicionalmente, o baixo regime pluviométrico e mal distribuição das chuvas ao longo do ano contribuem para o surgimento de áreas mais salinizadas no Brasil.

O estresse salino pode induzir mudanças desde a germinação até a fase reprodutiva das plantas (Al Murad et al., 2020). Isso porque em altas concentrações, o sódio promove um efeito osmótico, desiquilíbrio iônico e efeito tóxico nas células (Steinhorst & Kudla, 2019; Munns, 2005). O estresse osmótico reduz a expansão celular e o fechamento estomático (Munns & Tester, 2008), já o desequilíbrio iônico promove uma desordem nutricional nas plantas, devido um efeito antagônico em relação ao aumento do Na^+ e diminuição dos níveis de K^+ (Loudari et al., 2020). Isso ocorre em função da similaridade iônica do Na^+ com K^+, os quais competem pelos mesmos transportadores/canais iônicos não seletivos (NSCC) e de alta afinidade (HTK), modificando o fluxo iônico com o aumento de Na^+ e diminuição de K^+, causando assim mudanças transitórias do pH do apoplasto, em geral alcalinização (Bose et al., 2017; Shabala & Cui, 2008). Em plantas de milho, por exemplo, a salinidade provocou mudança transitória do pH, levou a redução de proteínas envolvida nos processos de crescimento celular, reduzindo o tamanho das folhas e raiz (Geilfus et al., 2018). O excesso de Na^+ também pode induzir a geração de espécies reativas de oxigênio (EROs) no cloroplasto,

provocando o estresse oxidativo (Liu et al., 2021) e danos estruturais as membranas celulares e organelas como o cloroplasto e a mitocôndria (Wungrampha et al., 2018). Dessa forma, um dos processos fisiológicos mais afetados em plantas expostas ao estresse salino é a fotossíntese. Em estudo realizado por Zhang et al. (2020), o excesso de Na^+ provoca o fechamento estomático e a redução da taxa de carboxilação em plantas de tomateiro. A salinidade em plantas de feijão provocou o aumento dos níveis de ABA, levando ao fechamento estomático (Geilfus et al., 2015).

O tomate (*Solanum lycopersicum*) é uma cultura agrícola consumida de várias formas e de ampla distribuição, tendo grande relevância econômica e social, além de ser utilizada como planta modelo para pesquisas de melhoramento genético relacionado a tolerância a estresses (Bergougnoux 2014). Adicionalmente, é o quarto vegetal mais consumido no mundo, depois de batata, alface e cebola (Tanveer et al., 2020). Quanto a salinidade o tomateiro apresenta moderada tolerância sob uma condutividade elétrica de 2,3 dS m^{-3} (Gheyi et al., 2016) e sob concentrações de 50 e 100 mM de NaCl foi observado redução na altura e no número de frutos (Babu et al., 2012). É importante destacar que ao longo do processo de domesticação, o tomateiro reduziu a capacidade de tolerar a salinidade. Estudos de genômica de tomateiro domesticado e ancestrais constataram diferença na expressão dos genes HAK/ KUP/ KT, os quais estão relacionados a absorção de K^+ (Wang et al., 2020).

O silício tem sido utilizado como uma ferramenta potencial nos estímulos de múltiplas respostas de defesas contra estresse ambientais em plantas. Todavia, a absorção de silício difere entre as culturas agrícolas. Plantas de arroz apresentam alta acúmulo de Si, por sua vez, o pepino e o tomate são plantas de moderada e baixo acúmulo de Si, respectivamente (Sun et al., 2020). O Si foi relatado por reduzir os efeitos danosos da salinidade, promovendo a redução da relação K^+/Na^+ em plantas de tomate (Farhangi-Abriz et al., 2018), manutenção da atividade fotossintética no arroz (Detmann et al., 2012) e aumento nos níveis de clorofila em plantas de cevadas (Nikolic et al., 2019). Esses efeitos têm sido relacionados com a regulação positiva do Si à genes envolvidos em respostas antioxidantes tais como, peroxidases, peroxidase do ascorbato, dismutase do superóxido e catalase (Khan et al., 2019), bem como o efeito do Si na estabilização de estruturas dos cloroplastos, integridade do FSII e concentração de pigmentos (Tripathi et al., 2015; Sun et al., 2016; Maghsoudi et al., 2016). A aplicação de silício regulou de maneira positiva a expressão dos genes relacionado a fotossíntese, PsbY, PsaH, PetC, PetH (Os03g57120) em plantas de arroz sob toxidez por Zn (Song et al., 2014), o que pode resultar em incremento na produtividade e após a aplicação de

Si também foi observado em tomateiro, espécie não acumuladora de Si, sob estresse salino (Costan et al., 2019).

Apesar da abundante disponibilidade de dados na literatura sobre o funcionando do Si em respostas de defesa contra estresse ambientais em plantas, o uso de nanopartículas de silício (SiNPs) modulando as mudanças fisiológicas e na nutrição das plantas de tomate ainda são escassas. O uso de nanopartículas na agricultura vem aumentando nos últimos anos, por serem substâncias de dimensões entre 1 a 100 nm (Whitesides, 2005), além disso, quando aplicadas em baixos teores ou concentrações e faixas especificas de absorção, incrementam o crescimento e produtividade de plantas (Juárez-Maldonado et al., 2019). Estudos recentes demonstram o aumento da tolerância a partir do uso de nanoparticulas no processo de germinação sob salinidade ou estresse hídrico (Farhangi-Abriz et al., 2018). Logo, em plantas de arroz, por exemplo, as nanopartículas de silício promoveram a atenuação do estresse salino através do acúmulo de osmólitos e o aumento da expressão das enzimas antioxidante (Abdel-Haliem et al., 2017). Em plantas de soja em condições de salinidade, as SiNPs reduziram a concentração de EROs o que resultou em uma menor toxicidade dos íons de Na^+ nas células citoplasma (Farhangi-Abriz et al., 2018). Todavia, os estudos relacionados aos mecanismos pelo qual as nanopartículas atuam em plantas sob salinidade são escassos, existindo várias lacunas. Neste estudo, foi testada a hipótese que as SiNPs aumentam a tolerância de plantas de tomate, uma espécie não acumuladora de Si, através da estabilidade fisiológica das plantas quando expostas ao estresse salino. Desta forma, neste experimento teve-se como objetivo avaliar o efeito de nanopartículas de silício nos processos fotossintéticos e de nutrição de plantas de tomate sob estresse salino.

3.2 Material e Métodos

3.2.1 Material vegetal, delineamento experimental e condições experimentais

O experimento foi conduzido em casa de vegetação do Laboratório de Estudo de Plantas Sob Estresse da Universidade de São Paulo, Campus ESALQ, Piracicaba, Brasil. Plantas de tomateiro da variedade IPA 06, de crescimento determinado, adaptadas a condições hídricas da região, com cultivo predominante no Nordeste (IPA 2020). Foram semeadas 5 sementes por vasos de polietileno contendo 5 kg de substrato constituído de vermiculita e argila laminada, na relação 1:1. Aos 10 dias após a semeadura foi realizado o debaste, deixando a planta com maior vigor. A cada dois dias realizou-se a aplicação de solução

nutritiva de Hoagland & Arnon (1950), com as respectivas concentrações de nutrientes detalhadas na tabela (1). A irrigação foi realizada diariamente em quantidade suficiente para promover a percolação em 10 % da capacidade e para manter os vasos na capacidade de campo. A quantidade de água foi determinada através da capacidade de vaso (capacidade de campo) de acordo com a metodologia de Casaroli & Lier. (2018). O composto utilizado como fonte de silício foi a nanopartícula de silício (SiNPs: SiO2, de peso molecular; 60,08 g/mol, MKNANO®, Mississauga, Canadá), solúvel em água, que consiste no pó branco de propriedade hidrofílica, com granulometria de 20 a 30 nm, apresentando 99,8 % de pureza.

O delineamento do experimento foi em blocos cazualizados (DBC) em esquema fatorial 3 x 2, correspondente a três concentrações de NaCl (0, 25 e 40 mM), que equivale a condutividade elétrica 0; 2,5 e 4,0 dS m^{-1} sem e com aplicação de nanopartículas de silício (0 e 500 mg/L) com seis repetições. A aplicação de nanopartículas de silício foi realizada 15 dias após a semeadura, sendo aplicado um volume de 200 mL a uma concentração de 500 mg/L, já a irrigação com água salina foi realizada a partir dos 30 dias após semeadura, sendo suspensa aos 50 dias após a semeadura. O preparo das soluções em diferentes concentrações foi a partir da diluição de NaCl PA em água deionizada, com base na metodologia de Richards (1954).

Tabela 1. Fonte de nutrientes e composição química do fertilizante Miracle-Gro®, empregado na formulação adaptada da solução nutritiva de Hoagland & Arnon (1950).

Fonte	**Quantidade g L^{-1}**
Fertilizante Miracle-Gro®	0,46
Cloreto de potássio (KCl)	0,1
Cloreto de cálcio ($CaCl_2$)	0,26
Cloreto de Magnésio ($MgCl_2$)	0,1
Ferro-EDTA	1,0 Ml
Composição química do produto Miracle-Gro®	
Nutriente	**Quantidade (%)**
Nitrogênio total	24
Fósforo (P)	8
Potássio (K)	16
Boro (B)	0,02
Cobre (Cu)	0,07
Ferro (Fe)	0,15
Manganês (Mn)	0,05
Molibdênio (Mo)	0,0005
Zinco (Zn)	0,06

Aos 15, 25, 35, 45 e 55 dias após semeadura foram realizadas medidas de crescimento das plantas e aos 45 dias as avaliações fisiológicas e a coleta de material vegetal para análise da concentração foliar de nutrientes, sódio e silício.

3.2.2 Detalhamento das avaliações

3.2.2.1 Potencial hídrico

O potencial hídrico foliar (Ψ_w, MPa) foi medido na câmara de pressão do tipo Scholander (modelo 600, West Coast, Albany, Estados Unidos) de acordo com a metodologia descrita por Scholander et al. (1965). As leituras foram realizadas às 4 (pré dawn) e 11 horas da manhã.

3.2.2.2 Trocas gasosas e fluorescência da clorofila a

Foi utilizado o medidor de gases por infravermelho portátil (IRGA), da LI-COR modelo LI-6400 XT (Li-cor ®, Nebraska, EUA), com a radiação fotossintéticamente ativa

constante (RAF) (1000 µmol $m^{-2}s^{-1}$), concentração de CO_2 (400 µmol m^{-1}), temperatura (29º C) e umidade relativa (~60%). As medidas foram realizadas nos horários das 8 às 12 horas da manhã, no primeiro folíolo da terceira folha a partir do ápice da planta (Tatagiba et al., 2014). As variáveis mensuradas foram a taxa fotossintética (A, µmol CO_2 m^{-2} s^{-1}), taxa de transpiração (E, mmol H_2O m^{-2} s^{1-}) condutância estomática (gs, mol H_2O m^{-2} s^{-1}) e a concentração intercelular de CO_2 (Ci, µmol m^{-2} s^{-1}). A eficiência no uso da água (EUA, µmol CO_2 m^{-2} s^{-1}) foi calculada através da razão A/E e a eficiência instantânea de caborxilação (mol H_2O m^{-2} s^{-1}) através da razão de A e Ci.

As avaliações de fluorescência da clorofila foram realizadas nas mesmas folhas utilizadas para as avalições das trocas gasosas. As medições no escuro foram realizadas a partir das 4 horas da manhã (pre dawn), com adaptação da folha ao escuro 8 horas antes da realização da medição. As variáveis analisadas foram: fluorescência máxima (Fm) e fluorescência mínima (F0). A partir desses valores foi calculado razão fluorescência variável sobre fluorescência máxima (Fv/Fm) (Genty et al., 1989), permitindo calcular a eficiência quântica efetiva do fotossistema II (F'/Fm') e o rendimento quântico de dissipação regulada [NPQ = (Fm – Fm') /Fm')] (Genty et al., 1989). O Fv'/Fm' foi utilizado ainda para estimar a taxa aparente de transporte de elétrons (ETR = Fv'/Fm'x PAR x LeafABS x 0,5) (Bilger et al., 1995), onde PAR é o fluxo de fótons (µmol m^{-2} s^{-1}) incidente sobre a folha; LeafABS correspondente à fração de luz incidente absorvida pelas folhas e 0,5 à fração de energia de excitação distribuída para o FSII (Laisk e Loreto, 1996). O coeficiente de extinção fotoquímica [qP = (Fm' – F)/Fm'-F0')] foi calculado de acordo com Kooten & Snel (1990).

3.2.2.3 Concentração foliar de nutrientes, sódio e silício

Para a determinação da concentração de potássio, cálcio, magnésio, sódio e silício nas folhas, foi coletada a quinta ou a sexta folha a partir do ápice do tomateiro, aproximadamente entre 5 a 6 g de material foliar seco em estufa de circulação de ar forçada a 65 º por 75 horas. Posteriormente o material foi moído em em moinho do tipo IKA modelo A11 Basic e realizado a preparação dos extratos para posterior análise do tecido vegetal. Os teores de potássio, cálcio, magnésio e sódio foram analisados de acordo com a metodologia proposta por Miyazama et al. (2009). O teor de silício foi obtido a partir da extração de acordo com a metodologia descrita por KrasKa e Breitenbeck (2010), já as leituras foram realizadas através de espectrometria, sob onda de 410 nm, conforme descrito por Kondorfer et al (2004).

3.2.2.4 Variáveis de crescimento e biomassa

Aos 55 dias após a semeadura as plantas foram mensuradas para a determinação da altura (**AL, cm**), diâmetro do caule (**DL, mm**), número de folha (**NF**). Aos 50 e 70 dias foi realizado a contagem do número de flores (**NFL**) e as medidas de área foliar (**AF**) utilizando o medidor de área foliar da LI-COR® modelo Li3000A, respectivamente. Posteriormente, a planta foi coletada e mensurado a biomassa fresca (**MFPA, g)**, em seguida colocada em estufa de circulação forçada de ar (65ºC) até peso constante, para obtenção da massa da matéria seca da parte aérea (**MMSPA, g**).

3.2.3 Análise estatística

Os dados foram submetidos a testes de normalidade e homoscedasticidade e realizado a análise de variância. As doses de silício e as concentrações de NaCl foram comparadas pelo teste de Tukey a 5 % probabilidade . Os teores de nutrientes também foram submetidos a análise de correlação. Para realização das análises foi utilizado o software R, versão 3.5.1 (2019).

3.3 Resultados

3.3.1 Potencial hídrico

A aplicação de SiNPs não promoveram diferenças significativas no potencial hídrico das plantas de tomateiro (Tabela 3), bem como o estresse salino (Figura 1).

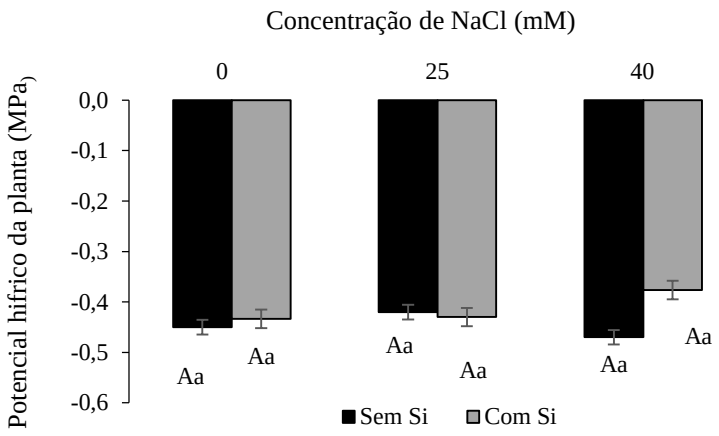

Figura 1. Potencial hídrico foliar (Ψw) de plantas de tomateiro controle e tratadas com nanopartículas de silício, submetidas a diferentes doses de NaCl, por um período de 45 dias. Médias seguidas de, pelo menos, uma letra maiúscula entre dose de SiNPs e minúscula dentro da concentração de NaCl, não diferem entre si pelo teste de Tukey a nível $p<0,05$, n= 6.

3.3.2 Trocas gasosas e fluorescência da clorofila *a*

Foi observado efeito significativo na taxa fotossintética (A) (Fig. 2A) em função do aumento da salinidade. Além disso as SiNPs influenciaram a condutância estomática (gs) (Fig. 2B), taxa de transpiração (E) (Fig. 2C) e na eficiência instantânea no uso da água (EUA) (Fig. 2D). O aumento da concentração de NaCl promoveu redução nas variáveis avaliadas das plantas de tomateiro sem exposição ao SiNPs, já as plantas tratadas com SiNPs não apresentaram diferença significativa, em função da concentração de NaCl, quando comparado ao controle. Por outro lado, os tratamentos com NaCl, na concentração de 25 mM, associado à aplicação de Si, permitiu a manutenção na gs e na E. Nesse sentido, maiores valores de EUA foram registrados nas plantas de tomateiro tratadas com 40 mM de NaCl (Fig. 2D).

As variáveis de fluorescência da clorofila a F0, Fm, F0’, Fm’, Fv/Fm e NPQ não diferiram significativamente (tabela 2), por outro lado, a taxa aparente de transporte de elétrons (ETR) (Fig. 2E) e o coeficiente de extinção fotoquímica (qP) (Fig. 2F) apresentaram interação significativa entre a aplicação de SiNPs e as condições de cultivo. Valores de ETR e qP se mantiveram diante as concentrações de NaCl e aplicação de SiNPs semelhantes aos respectivos controles, porém foram reduzidas diante a combinação de 40 mM de NaCl e SiNPs.

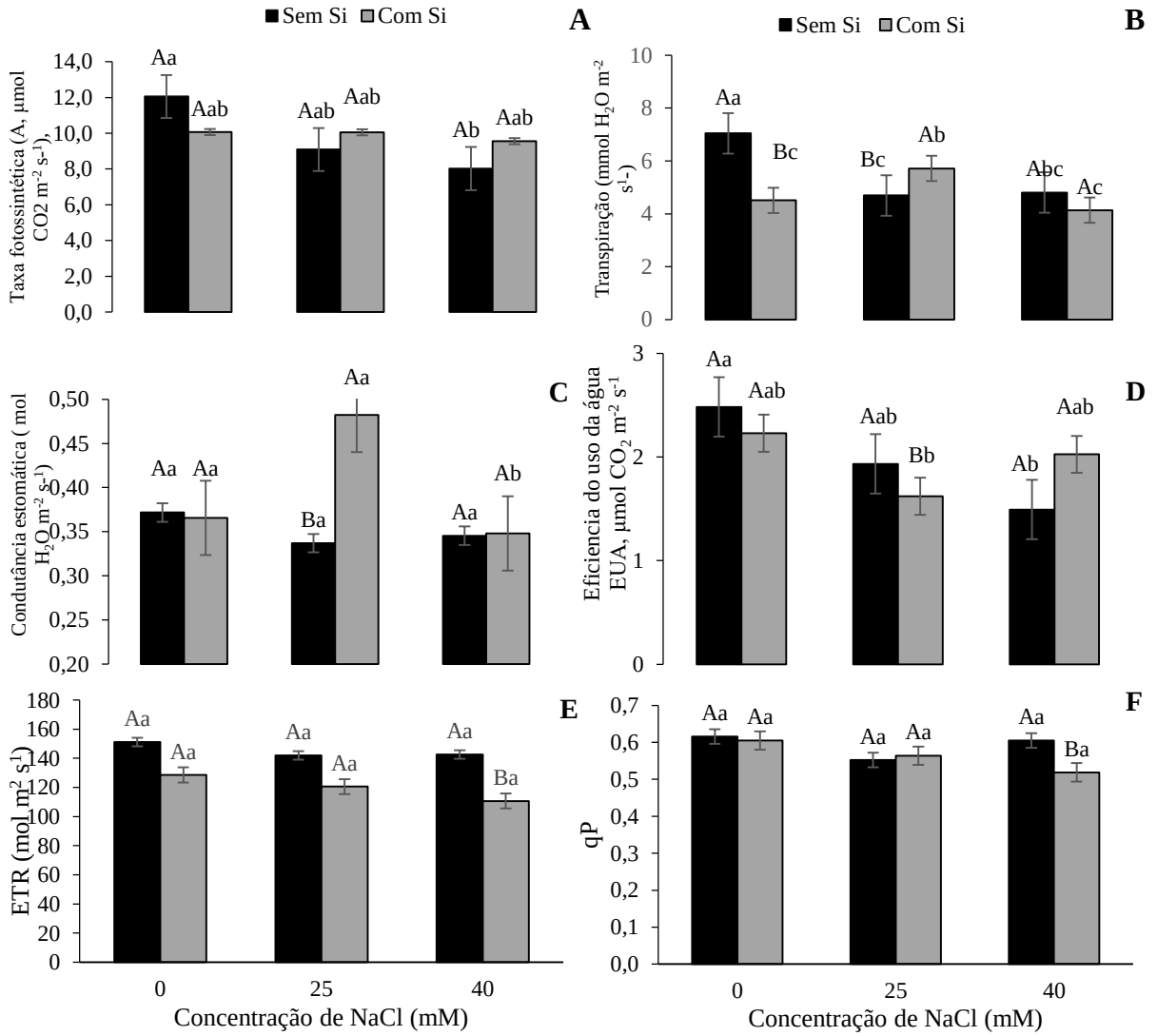

Figura 2. Taxa fotossintética (**A**), taxa de transpiração (**B**), condutância estomática (**C**), eficiência do uso da água (**D**), taxa aparente de transporte de elétrons (ETR) (**E**), e coeficiente de extinção fotoquímica da fluorescência (qP) de plantas de tomateiro submetido ao estresse salino, com aplicação de nanopartículas de silício. Médias seguidas de pelo menos uma letra maiúscula entre dose de SiNPs e minúscula dentro concentração de NaCl, não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de probabilidade ($p<0,05$), n= 6.

3.3.3 Concentração de nutrientes, sódio, silício e o balanço nutricional em plantas de tomateiro

Os teores de potássio (K^+), silício (Si), cálcio (Ca^{+2}), sódio (Na^+), magnésio (Mg^{+2}) e as razões sódio/potássio (Na^+/K^+), sódio/cálcio (Na^+/Ca^{+2}) e sódio/magnésio (Na^+/Mg+2) apresentaram interações significativas diante a aplicação de SiNPs e as concentrações de NaCl (Anexo I, tabela 3). O teor de K^+ foi menor nas plantas de tomate expostas a 40 mM e com aplicação de SiNPs (Fig. 4A). Por outro lado, com a aplicação de SiNPs nas plantas de tomate tratadas com 40 mM de NaCl aumentaram os teores de Ca^{+2} (Fig. 4B), Si (Fig. 4 C) e

Mg^{+2} (Fig. 4D). Assim, em relação ao teor de Na^{+}, a aplicação de SiNPs nas plantas tratadas com NaCl promoveram valores semelhante ao respectivo controle (Fig. 4 E), ao contrário do que se observou nas plantas sem aplicação de SiNPs a aplicação do estresse salino induziu o aumento da relação ($Na^{+/}K^{+}$) no tecido foliar (Fig. 3 F) quando comparado as plantas irrigadas com NaCl e com aplicação de SiNPs. Por outro lado, a SiNPs promoveu a redução das relações Na^{+}/Ca^{+2} e Na^{+}/Mg^{2+} em função do aumento na concentração de NaCl.

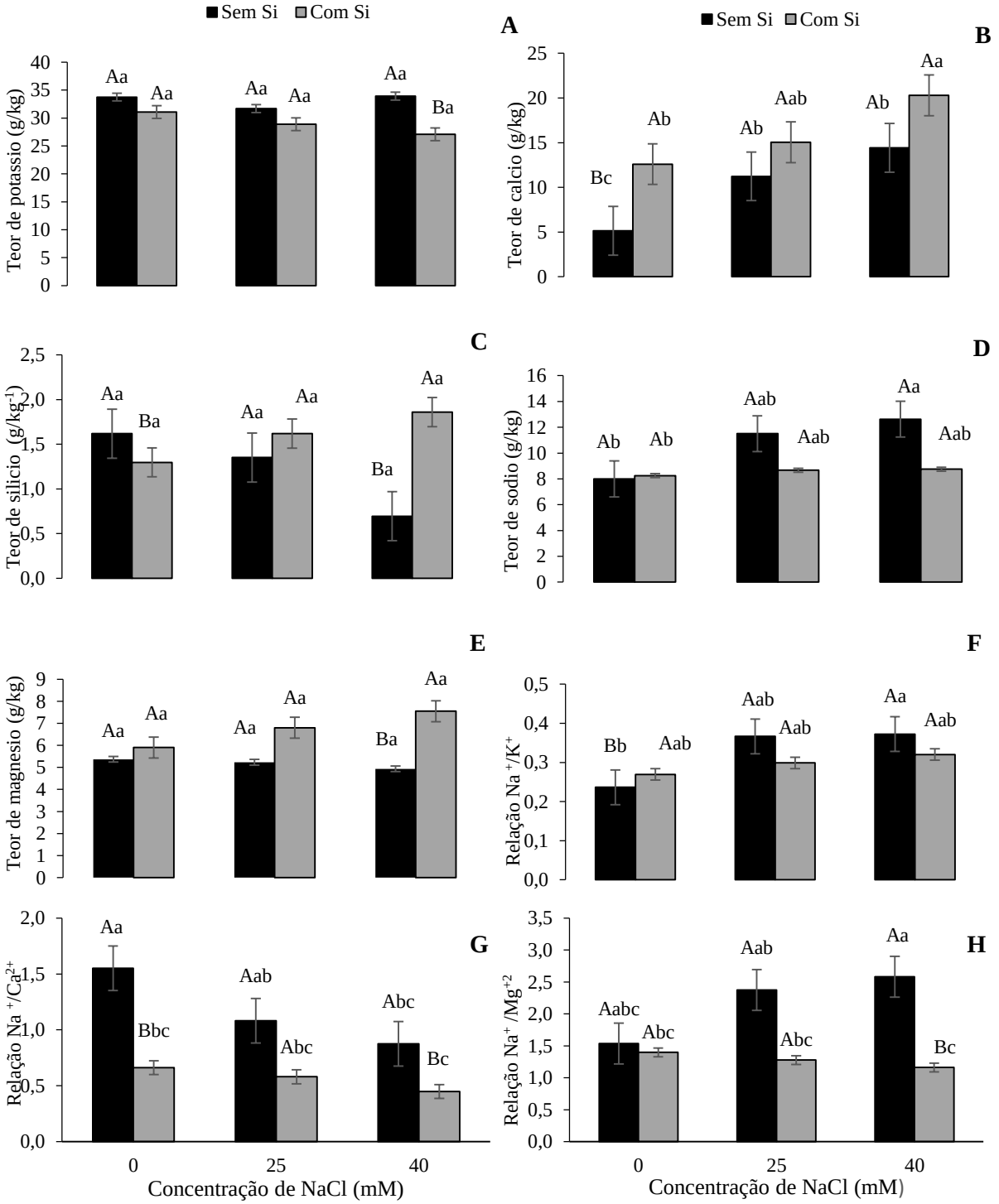

Figura 3. Teores de de elemento minerais de plantas de tomateiro com uso de nanoparticulas de silício sob condição de estresse salino: Teor de potássio (**A**), teor de cálcio (**B**), teor de silício (**C**), teor de sódio (**D**), teor de magnésio (**E**), relação na^{+}/K^{+} (**F**), relação na^{+}/Ca^{+2} (**G**) e relação na^{+}/Mg^{+2}. Médias seguidas de pelo menos uma letra maiúscula entre dose de SiNPs e minúscula dentro da concentração de NaCl, não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 0,05 de probabilidade (*p<0,05*), n= 6.

É possível observar correlação positiva da concentração de Na^{+} e a relação iônica Na^{+} /K^{+}, indicando que o aumento do sódio nas folhas influenciou também no aumento da relação Na^{+} /K^{+}, o que evidencia o desequilíbrio iônico entre a concentração de Na^{+} e K^{+}. No

entanto, um efeito contrário foi observado a partir da correlação negativa entre Ca^{+} e a relação Na^{+} /Ca^{+}, na qual, possivelmente demonstra que o aumento na concentração de Ca^{+} nas folhas possibilitou um decréscimo da relação Na^{+}/Ca^{+}. Outro fator preponderante é a correlação negativa entre a concentração do Si e Na^{+} nas folhas, podendo indicar que o aumento na concentração de silício influencia na redução da concentração de sódio.

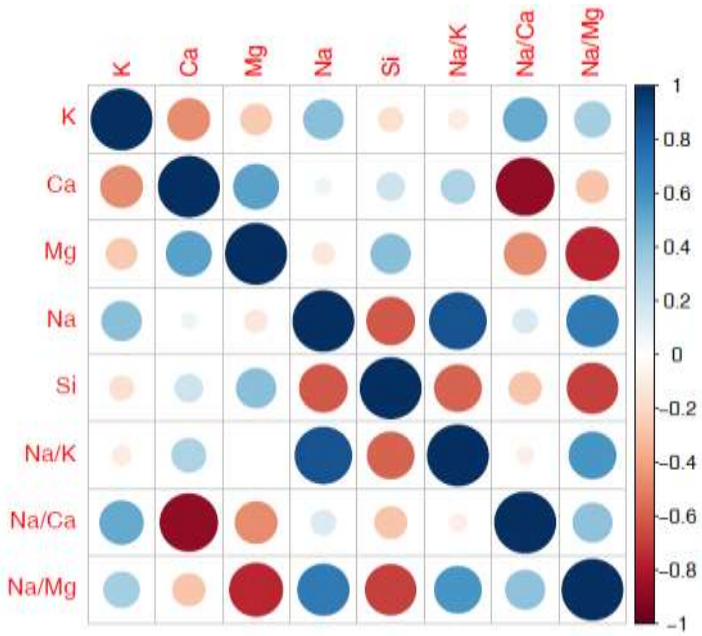

Figura 4. Matriz de correlação entre a concentração de K^{+}, Ca^{+2}, Mg^{+2}, Na^{+}, Si e a relação iônica entre Na^{+} /K^{+}, Na^{+} /Ca^{2+} e Na^{+} /Mg^{2+} de plantas de tomateiro controle e tratadas com nanopartículas de silício, submetidas a diferentes doses de NaCl, por um período de 45 dias. O tamanho, cor (vermelho ou azul) e intensidade de cor representam o quão as variáveis são correlacionadas (r^2 de Pearson).

3.3.4 Análises biométricas

A altura da planta, diâmetro do caule, massa fresca e seca do caule não diferiram em plantas de tomateiro tratadas com diferentes doses de NaCl e submetidas as SiNPs (Anexo I, Tabela 4). Já o número de folhas, número de flores, área foliar, massa fresca e seca da folha foram reduzidos sob estresse salino, entretanto, as SiNPs permitiram a manutenção destas variáveis de forma similar ao controle (Figura 5 e 6). Para o número de folhas, a salinidade reduziu cerca de 62% em comparação com plantas controle sem silício, já com o uso de SiNPs houve uma atenuação do efeito da salinidade, resultando no aumento em 63,60 % em comparação com as plantas sem silício, sob a concentração de 25 (mM) de NaCl, esse mesmo efeito foi observado na concentração máxima de NaCl.

O aumento na concentração e NaCl promoveu a redução no número de flores (Figura 5 D) em torno de 83,4 % em comparação com o controle sem de silício. No entanto, o uso de SiNPs houve uma redução de 38,22 % nas plantas expostas a concentração máxima de NaCl. A salinidade também afetou a área foliar das plantas de tomateiro sem o uso de SiNPs (Figura 5 E), foi observado uma redução de 73,88 % e entre as concentrações de 0 e 25 mM de NaCl. Todavia, plantas tratadas com SiNPs, o efeito da salinidade foi atenuado em destaque sob a concentração de 25 (mM) de NaCl, com um incremento médio 77,44 % em comparação com a planta de tomateiro sem silício. Além disso, em condições de estresse salino, o uso de SiNPs promoveu diferença de 683,9 e 436,8 cm^2, correspondente aos níveis de 25 e 40 mM de NaCl em comparação a planta sem aplicação da substância.

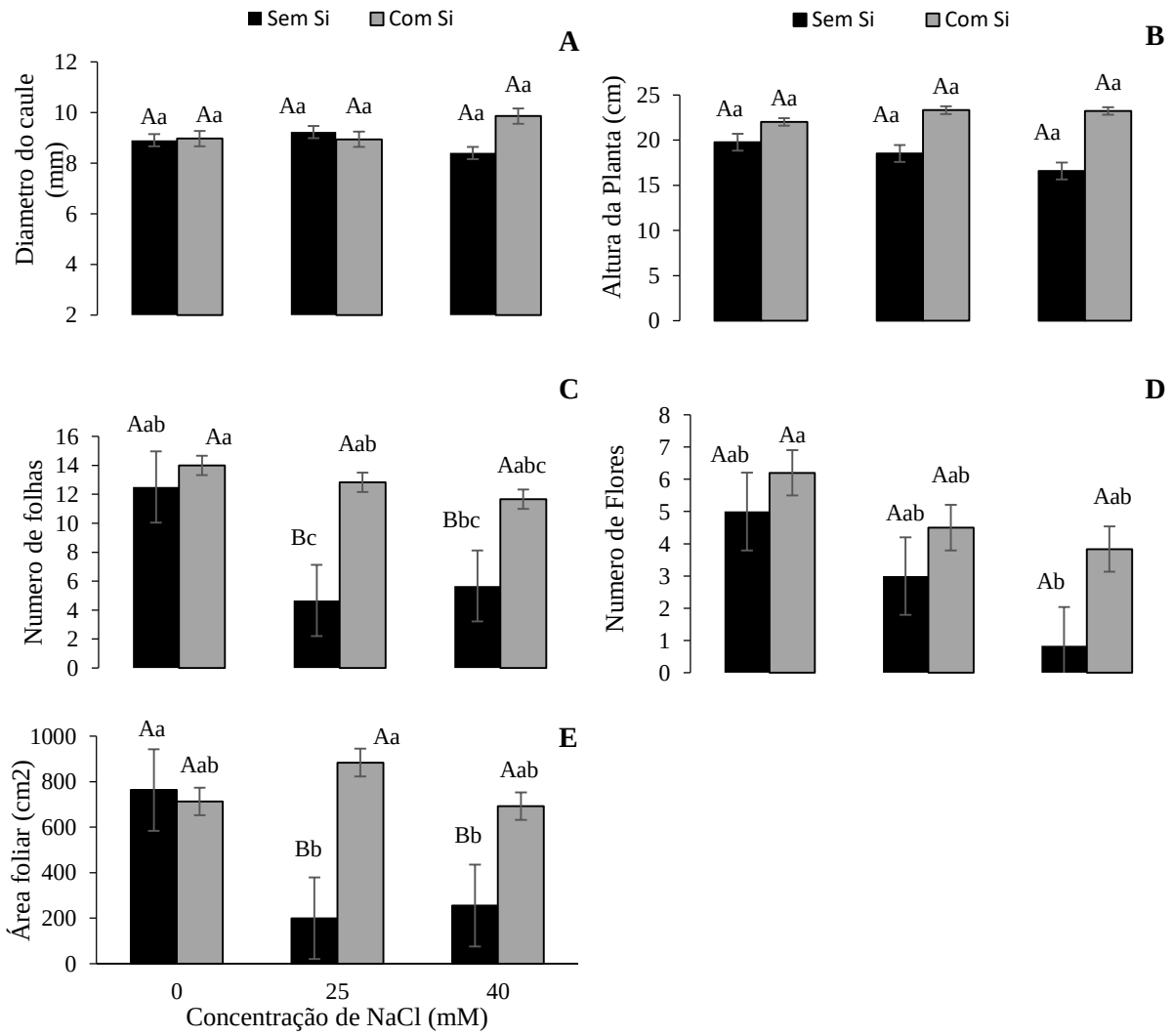

Figura 5. Diâmetro do caule (**A**), Altura de planta (**B**), número de folhas (**C**), número de flores (**D**), Área foliar (**E**) de plantas de tomateiro com aplicação de nanopartículas de silício sob condição de estresse salino. Médias seguidas de pelo menos uma letra maiúscula entre dose de Nano-Si pelo teste t Student, e minúscula entre entre concentração de NaCl , não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 0,05 de probabilidade ($p<0,05$), n= 6.

De acordo com a Figura 6 (A), o uso de SiNPs promoveu o incremento de massa fresca da folha sendo respectivamente de 46,08 e 42,04 sob irrigação com 25 e 40 mM de NaCl, o que corresponde ao aumento em 59, 35 e 60,99 % em comparação com os valores médio da planta sem silício. O aumento da salinidade promoveu uma redução de 56,91 % entre os níveis de 0 a 40 Mm de NaCl, nas plantas ausente de SiNPs. O aumento da salinidade provocou uma redução de 56,89 % da massa seca da folha entre os níveis de 0 a 40 Mm de NaCl (Figura 6 C), entretanto as plantas com nanopartículas de silício, obtiveram um incremento médio 54,29 e 60,14 % respectivamente sob os níveis de 25 e 40 Mm NaCl, em comparação com as plantas sem uso de silício. Na figura 6 (D) a matéria seca do caule não teve efeito significativo quanto ao uso de nanopartículas em função da concentração de NaCl na água de irrigação.

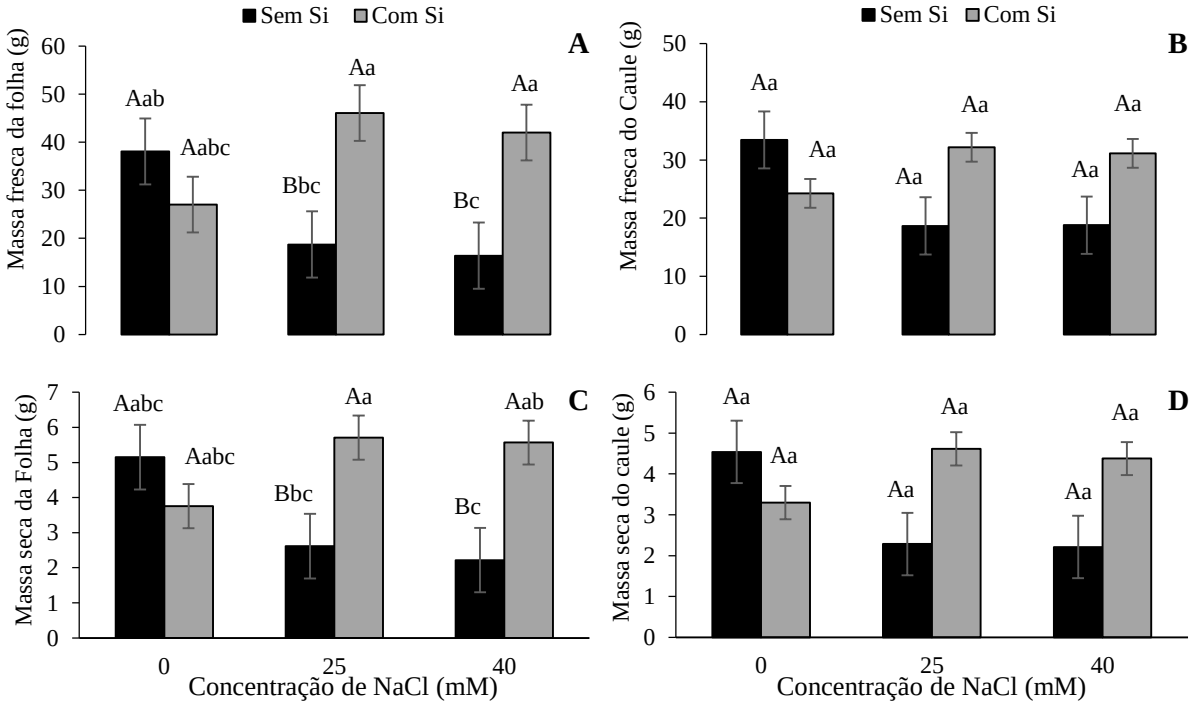

Figura 6. Biomassa de plantas de tomateiro com aplicação de nanoparticulas de silício sob condição de estresse salino; Massa fresca da folha (**A**), Massa fresca do caule (**B**), Massa seca da Folha (**C**) e Massa seca do caule (**D**). Médias seguidas de pelo menos uma letra maiúscula entre dose de SiNPs pelo teste e minúscula entre concentração de NaCl , não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 0,05 de probabilidade ($p<0,05$), n= 6.

3.4 Discussão

A indução de tolerância a estresses abióticos após a aplicação de SiNPs tem sido reportada em diversas plantas cultivadas (Farhangi-Abriz et al., 2018; Detmann et al., 2012; Nikolic et al., 2019). No entanto, resultados que demonstram o efeito protetor dessa

substância em plantas de tomate, uma espécie não acumuladora de Si e de importância comercial, sobretudo quando expostas a salinidade, ainda são incipientes. Neste estudo, observamos que o ajustamento no Ψw é uma estratégia de tolerância ao estresse salino da espécie estudada. Isso pode ter ocorrido em virtude do ajustamento osmótico que pode utilizar o K^+ (Munns et al., 2020) e/ou compostos orgânicos oriundos da fotossíntese para aumentar a turgidez das células das raízes e folhas e manter o crescimento das plantas e captação de água (Van Zelm et al., 2020). O ajustamento osmótico foi demonstrado em acessos de arroz submetidos a salinidade, destacando-se o acumulo de prolina nas plantas estressadas (Nounjan et al., 2018). Além disso o sequestro dos íons de Na^+ e Cl^-, tem efeito adicional a redução do potencial hídrico (Thorne et al., 2020).

Sob estresse salino, é esperado mudanças nas taxas de assimilação de CO_2 devido a reduções na abertura estomática (conforme observado na gs de plantas de tomate tratadas com 25 mM de NaCl) ou pelo aumento progressivo de sais nos tecidos do mesofilo, afetando os processos de fotossíntese nos cloroplastos (Munns et al., 2005). Stepein & Johnsom (2009), por exemplo, observaram que genótipos de *Arabidopsis* apresentou redução na fotossíntese após exposição a 150 mM de NaCl. A redução na gs também ocasionou menores valores de taxas transpiratórias nas plantas sob estresse salino. Esse mesmo efeito foi observado por Amjad et al (2015), na qual duas cultivares de tomate reduziram a transpiração em função Na^+ mesmo tratadas com potássio. Nessa situação, as plantas tendem a diminuir a E, gs e a área foliar para reduzir a perda de água (Verslues et al 2006), corroborado pela redução da eficiência no uso da água observada em nossos resultados. Apesar das mudanças nas trocas gasosas, o estresse salino não afetou a ETR e qP das plantas de tomate. A manutenção do FSII deve ser vista como uma estratégia importante para manter o crescimento e desenvolvimento de plantas sob condições de estresse. Lu et al., (2003) também não observaram efeitos da salinidade nas reações fotoquímicas do FSII de plantas de Sueda salsa.

Já a aplicação de SiNPs no tomateiro remediou o estresse salino e manteve a A similar as plantas controle, efeito similar foi observado em plantas de morango irrigadas com 35 e 70 mg L^{-1} de Si (Muneer et al., 2017). Esses autores associaram essa melhora a regulação positiva nos níveis de expressão de duas proteínas fotossintéticas componentes do FSI e FSII, a PsaA e PsbA. Adicionalmente, o Si pode induzir a estabilização das estruturas do cloroplasto, integridade do FSII e o aumento na concentração de pigmentos (Tripathi et al., 2015; Maghsoudi et al., 2016). Melhorias nas taxas de gs e E também foram observadas nas plantas com aplicação de SiNPs, sobretudo na dose de 25 mM de NaCl, o que pode ter ocorrido em resposta a diminuição nos níveis de ABA, como observado em plantas de soja

com Si e sob estresse salino (Lee et al.,2010). A eficiência no uso da água (Figura 2D) no tomateiro sem silício reduziu entre os níveis 0 a 40 mM de NaCl, podendo está associado indiretamente a redução da assimilação e da taxa de transpiração (Figura 2AB). As plantas com SiNPs não apresentaram diferenças na EUA em função da salinidade, podendo estar associado indiretamente com a constância na absorção da água proporcionado pelo SiNPs. A adição de 2,5 mM de silício em plantas de tomateiro sob 80 mM de NaCl, aumentou em 40 % o teor de água nas folhas em comparação com as plantas sem silício (Romero-Aranda, 2006).

O uso SiNPs também promoveu mudanças na dinâmica nutricional do tomateiro sobsalinidade. O aumento no teor de cálcio pode ter contribuído, pelo menos em parte, na redução nos danos, que seria ocasionado pelo estresse salino. Isso porque além do cálcio contribuir na redução dos níveis de sódio na célula, também influencia na geração e transdução de sinais em respostas ao estresse salino (Manishankar et al., 2018; Ji et al., 2013). Mahmoud et al., (2017), por exemplo, observaram que a aplicação de Si em plantas de arroz, expostos a uma concentração de 100 NaCl, induziu incremento nos níveis de Ca^{+2} e reduções nos níveis de K^{+}. O aumento nos níveis de cálcio promoveu o aumento da área foliar do tomateiro sob salinidade (Tanveer et al., 2020). Adicionalmente, o Si possibilita o ajustamento iônico pelo sinergismo com outros nutrientes. O sinergismo do Si com Ca^{+2} e K^{+}, por exemplo, facilita o balanço da permeabilidade e seletividade da membrana plasmática durante o estresse (Liu et al., 2019). Isso possivelmente ocorre através da interação do Si e Ca^{+2} pelas proteínas kinases (MAPKs). É conhecido que o Si regula algumas MAPKs, através do fator de transcrição WRKY e histidinas ligantes, na qual o mecanismo de sinalização da MAPKs é mediada por íons de Ca^{2+} (Luyckx et al., 2017). A superexpressão de WRKY25 e WRKY33 aumentou a tolerância ao sal na parte aérea de Arabidopsis (Jiang et al., 2009). Dessa forma o Si contribui de maneira positiva nas vias MAPKs, facilitando a sinalização por cálcio.

O teor de silício foliar aumentou em função da aplicação SiNPs no tomateiro sob salinidade, da qual corrobora para mitigação da salinidade. Estudos recentes demonstram a presença de um fluxo unidirecional bastante complexo quanto absorção de distribuição de Si em plantas. De forma geral, a absorção do Si é realizada pelos transportadores de influxo Lsi1 e o de efluxo Lsi2, todavia é observado no tomate uma baixa atividade do Lsi2 podendo contribuir para baixo acúmulo de Si no tomateiro (Sun et al., 2020). Todavia, nossos resultados demonstram o mesmo efeito do silício em plantas acumuladoras. Assim, em estudo realizado por Khan et al (2019), também foi demostrado que as SiNPs regulam positivamente os genes peroxidase, ascorbato peroxidase, superóxido dismutase e catalase no tomateiro.

Neste estudo, também observamos que o SiNPs promoveu reduções no teor de Na^+ nas folhas em comparação com a plantas de tomateiro sem silício sob mesma concentração de NaCl. Farhangi-Abriz and Torabian (2018) também observaram redução no teor de Na^+ e aumento no teor de K^+ em plantas de soja tratadas com nano-SiO_2 e sob salinidade. O estudo realizado por Bosnic et al. (2018) demostrou o efeito do Si na redução da expressão dos genes SOS1 e do canal iônico transportador de alta afinidade (HKT1) em plantas de milho. Outro fator é atividade da SOS1 é elevada pela fosforilação da quinase SOS2, que por sua vez, pode afetar a atividade dos canais transportadores HKTs e NHXs que estão envolvidos com a captação e compartimentalização do Na^+ (Isayenkov & Maathuis, 2019; Thorne et al., 2020), contribuindo para um ajustamento iônico, quanto a concentração de Na^+ e K^+ na planta. Em contrapartida, o aumento na concentração de NaCl, promoveu maiores teores de sódio nas folhas do tomateiro, similar ao observado por Abdeldym et al (2020), que constatou o aumento nos níveis de Na^+ e Cl^- e redução nos níveis de N, P, K^+, Ca^{+2}, Mg^{+2}, Fe^+ e Zn^+ em acessos de tomateiro.

Esses resultados corroboram com o observado na relação iônica Na^+/K^+ que aumentou em função da concentração de NaCl, entretanto, a aplicação de SiNPs induziu uma menor relação iônico, indicando um efeito mitigador do estresse salino. Farhangi-Abriz & Torabian (2018), observou efeito semelhante da aplicação de SiNPs com a diminuição de Na^+ e aumento de K^+, que resultou em uma menor relação Na^+/K^+. A proximidade molecular entre Na^+ e K^+, promove a substituição do K^+ pelo Na^+, em função da infinidade de canais transportadores antiportes (Van Zelm et al., 2020). Nisto, assim como consta na literatura, nosso estudo demostra a capacidade de o silício promover um efeito mitigador do estresse, através da redução da concentração de Na^+ e aumento de íons como Ca^{2+}, Mg^{2+} e K^+. A redução de Na^+ no citoplasma coincide com o aumento do K^+ no citoplasma, através da exclusão do Na^+ ou retenção do K^+ é um fator chave para tolerância a salinidade (Pavlovic et al. 2019; Kumar et al. 2009).

O aumento do sódio nas folhas, influencia diretamente o balanço da concentração de íons de K^+ na célula, através da correlação positiva entre o aumento de Na^+ e aumento da relação Na^+/K^+. Todavia, baixas razões citosilicas Na^+/K^+ é considerado ponto chave para a tolerância das culturas, na qual em altas concentrações externas, o sódio inibe a absorção de potássio na forma competitiva, nisso diversos processos fisiológicos são afetados em função da baixa concentração de potássio (Assaha et al., 2017; Shabala & Potossin, 2014). Entretanto, a aplicação de SiNPs promoveu correlação negativa entre o Si e a concentração de sódio. Esse efeito corrobora com os demais resultados no papel do Si na mitigação dos efeitos

deletérios do estresse salino e, em destaque, as SiNPs. A partir de vários estudos nutricionais envolvendo o silício, Ali et al. (2020) relatam que esse elemento desempenha um papel modulador quanto na absorção e na translocação dos macronutrientes.

Apesar de uma baixa redução altura e diâmetro da planta, a salinidade reduziu 62% o número médio de folha (Figura 5 C). Essa redução pode estar envolvida na partição do gasto energético da planta, durante fase de adaptação e tolerância. Sob estresse salino, as plantas promovem mudanças quanto arquitetura das raízes, maior atividade iônica na membrana plasmática e no tonoplasto pois o controle dos canais iônicos demanda grande custo energético (Munns et al., 2020). Porem, a partir do uso de nanopartículas de silício as plantas sob irrigação com 40 mM de NaCl obteve um aumento em 63,0 % quanto ao número de folhas das plantas sem silício. Neste caso, as plantas com silício possivelmente, demandam menor gasto energético sob salinidade, contribuindo em diferentes processos, todavia quanto a manutenção do status de água, advém da polimerização do ácido silícico no apoplasto (Exley, 2015).

Além da redução no número e folhas, a salinidade também provocou a redução no número de flores (Figura 5 D) sob a irrigação com 40 mM de NaCl. Esse efeito negativo também foi observado por Johannes et al (2016) e Ghanem et al., 2009. Podendo estar relacionado com a redução na disponibilidade de nutriente (Figura 3) em virtude da alta concentração de íons de levam ao efeito toxico. Entretanto, o uso das nanopartículas de silício promoveu atenuação do efeito dos íons de Na^+ (Figura 3D), que resultou em uma menor redução do número de flores. Esse efeito, quanto a diminuição da concentração de íons, também é relatado em outras culturas sob estresse salino como: Cana de açúcar, sorgo e arroz (Asharf et al., 2010; Yin et al., 2013; Gong et al 2006), tais culturas são plantas acumuladoras de silício. Todavia esse mesmo efeito foi observado em planta não acumuladora, como em mudas de tomate (Li et al., 2015) e Costan et al. (2019) avaliando o efeito de silício em plantas de tomate sob salinidade em cultivo hidropônico.

De acordo com a figura 5 (E), o aumento na concentração de NaCl na água de irrigação foi inversamente proporcional a redução da área foliar, assim como foi observado no número de folhas e número de flores. Esse mesmo efeito foi observado Babu et al. (2012), avaliando o efeito da salinidade sobre o tomateiro. Essa redução pode ser em virtude do desbalanceamento nutricional provocado pela salinidade. Também observado por Bacha et al (2017), no tomateiro submetido a regimes de estresse salino diferente. Ghanem et al (2009), avaliando o acúmulo de Na^+ nas flores, também demostra uma redução do número de folha e da área foliar em função da salinidade, em virtude do aumento da concentração de Na^+ e Cl^-

na raiz e a redução de íons como K^+, Ca^{2+} e Mg^{2+} (Li et al 2015). Conquanto as plantas tratadas com nanopartículas de silício, apresentaram valores superiores as plantas sem silício, sob mesma condição de estresse, podendo ser oriundo do efeito regulador do silício, quanto ao desbalanceamento nutricional. A adição de silício pode diminuir a permeabilidade do íon de sódio, através do aumento da fluidez da membrana plasmática, mediante o aumento da H^+-ATPase (Wang et al., 2015; Liang et al 2006). Todavia, é importante ressaltar que esse mecanismo ainda não é completamente conhecido.

A salinidade provocou a redução da matéria fresca da folha (Figura 6 A) em função do aumento da salinidade e plantas de tomateiro e esse mesmo efeito foi observado por Maggio et al. (2007). Logo, a redução pode ocorrer em virtude das mudanças fisiológicas e morfológicos provocada pelo estresse. Assim, como foi observado por Gao et al. (2015), após um período de irrigação com água de 50 mM de NaCl, ocorreu diminuição da molécula de clorofila e rompimento dos envelopes de cloroplasto. Nisto, o uso de nanopartículas de silício foi eficaz no ganho de biomassa fresca de planta sob salinidade, efeito semelhante ao encontrado por Liu et al (2014), em plantas de sorgo tratadas com silicio. A aplicação de silício promoveu o aumento da expressão dos genes LHA1, LHA2 importante membros da H^+-ATPase da membrana plasmática que, por sua vez, importante regulação de prótons em condição salina (Khan et al 2019; Fuglsang et al., 2009). Além disso, o silício possui uma regulação positiva das aquaporinas sob a salinidade, conforme foi observado por Liu et al (2015), o aumento da expressão de genes da aquaporina em plantas de sorgo sobre estresse salino.

O conteúdo de massa seca das folhas (Figura 6 C) das plantas de tomateiro sem uso de nanopartículas de silício reduziu em função do aumento da salinidade, entretanto com o uso SiNPs ocorreu efeito contrario. Esse mesmo efeito, acerca da redução em função da salinidade, também foi observado por Abdeldym et al. (2020), no qual avaliou diferente acessos de tomateiro em função da salinidade. Dessa forma, ocorre porque a salinidade induz a interrupção momentânea do crescimento, como forma de adaptação ao estresse, conforme o observado por Geng et al (2013) no intervalo de 8 a 13 h após aplicação de NaCl. Por sua vez aplicação de nanopartículas de silício repercute positivamente quanto ao ganho de biomassa seca em condição ou não de estresse salino. Em um estudo de protreômica, observou-se a regulação negativa do grupo de 40 proteínas, todavia a implementação de silício repercutiu de forma positiva na regulação desse mesmo grupo de proteínas (Ma et al., 2014). Essa capacidade de regulação possibilita ao silício atuar em vários processos, quanto de percepção, escape ou tolerância ao estresse salino.

3.5 Conclusão

A salinidade influenciou negativamente sobre as variáveis de trocas gasosas; taxa fotossintética, transpiração e eficiência no uso da água. Além disso, verificou-se redução da concentração do íon de cálcio e aumento da relação K^+/Na^+, redução no número de folhas, flores e área foliar além do decréscimo da matéria fresca e seca das folhas. A aplicação de nanopartículas de silício, atenuou os efeitos da salinidade no de número de folhas, número de flores e área foliar, com aumento de massa fresca e seca das folhas.

Referências

Abdeldym, E. A., El-Mogy, M. M., Abdellateaf, H. R. L., & Atia, M. A. M. (2020). Genetic Characterization, Agro-Morphological and Physiological Evaluation of Grafted Tomato under Salinity Stress Conditions. Agronomy, 10(12), 1948. https://doi.org/doi:10.3390/agronomy1012194.

Al Murad, M., Khan, A. L., & Muneer, S. (2020). Silicon in Horticultural Crops: Cross-talk, Signaling, and Tolerance Mechanism under Salinity Stress. Plants, 9(4), 460. doi:10.3390/plants9040460.

Ali, N., Réthoré, E., Yvin, J.-C., & Hosseini, S. A. (2020). The Regulatory Role of Silicon in Mitigating Plant Nutritional Stresses. Plants, 9(12), 1779. https://doi.org/doi:10.3390/plants9121779.

Amjad, M., Akhtar, J., Murtaza, B., Abbas, G., & Jawad, H. (2016). Differential accumulation of potassium results in varied salt-tolerance response in tomato (Solanum lycopersicum L.) cultivars. Horticulture, Environment, and Biotechnology, 57, 248-258. https://doi.org/10.1007/s13580-016-0035-7.

Assaha, D., Ueda, A., Saneoka, H., Al-Yahyai, R., & Yaish, M. W. (2017). The Role of Na+ and K+ Transporters in Salt Stress Adaptation in Glycophytes. Frontiers in physiology, 8, 509. https://doi.org/10.3389/fphys.2017.00509.

Babu, M. A., Singh, D., Gothandam, K. M. (2012). The effect of salinity on growth, hormones and mineral elements in leaf and fruit of tomato cultivar pkm. The Journal of Animal & Plant Sciences, 22(1), 159-164.

Babu, M.A., Singh, D., & Gothandam, K. (2012). The effect of salinity on growth, hormones and mineral elements in leaf and fruit of tomato cultivar PKM1. Journal of Animal and Plant Sciences, 22, 159-164.

Bacha, H., Tekaya, M., Drine, S., Guasmi, F., Touil, L., Enneb, H., Triki, T., Chéour, F., & Ferchichi, A. (2017). Impact of salt stress on morpho-physiological and biochemical parameters of Solanum lycopersicum cv. Microtom leaves. South African Journal of Botany, 108, 364-369. https://doi: 10.1016/j.sajb.2016.08.018.

Bergougnoux V. (2014). The history of tomato: from domestication to biopharming. Biotechnology advances, 32(1), 170–189. https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2013.11.003

Bilger, W., Schreiber, U., & Bock, M. (1995). Determination of the quantum efficiency of photosystem II and of non-photochemical quenching of chlorophyll fluorescence in the field. Oecologia, 102(4), 425–432. https://doi.org/10.1007/BF00341354.

Bose, J., Munns, R., Shabala, S., Gilliham, M., Pogson, B., & Tyerman, S. D. (2017). Chloroplast function and ion regulation in plants growing on saline soils: lessons from halophytes. Journal of experimental botany, 68(12), 3129–3143. https://doi.org/10.1093/jxb/erx142.

Bosnic P., Bosnic D., Jasnic J., Nikolic M. (2018). Silicon mediates sodium transport and partitioning in maize under moderate salt stress. Environ. Exp. Bot. 155 681–687. https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2018.08.018.

Casaroli, D., DE Jonvan Lier, Q. (2008). Critérios para determinação da capacidade de vaso. Revista Brasileira de Ciência do Solo, 32(1), 59–66. https://doi.org/10.1590/S0100-06832008000100007.

Casaroli, D., DE Jonvan Lier, Q. (2008). Critérios para determinação da capacidade de vaso. Revista Brasileira de Ciência do Solo, 32(1), 59–66. https://doi.org/10.1590/S0100-06832008000100007.

Costan, A., Stamatakis, A., Chrysargyris, A., Petropoulos, S.A. and Tzortzakis, N. (2020), Interactive effects of salinity and silicon application on Solanum lycopersicum growth, physiology and shelf-life of fruit produced hydroponically. J Sci Food Agric, 100: 732-743. https://doi.org/10.1002/jsfa.10076.

Costan, A., Stamatakis, A., Chrysargyris, A., Petropoulos, S.A. and Tzortzakis, N. (2020), Interactive effects of salinity and silicon application on Solanum lycopersicum growth, physiology and shelf-life of fruit produced hydroponically. J Sci Food Agric, 100: 732-743. https://doi.org/10.1002/jsfa.10076.

De la Torre-González, A., Montesinos-Pereira, D., Blasco, B., & Ruiz, J. M. (2018). Influence of the proline metabolism and glycine betaine on tolerance to salt stress in tomato (Solanum lycopersicum L.) commercial genotypes. Journal of plant physiology, 231, 329–336. https://doi.org/10.1016/j.jplph.2018.10.013.

Detmann, K. C., Araújo, W. L., Martins, S., Sanglard, L., Reis, J. V., Detmann, E., Rodrigues, F. Á., Nunes-Nesi, A., Fernie, A. R., & DaMatta, F. M. (2012). Silicon nutrition increases grain yield, which, in turn, exerts a feed-forward stimulation of photosynthetic rates via enhanced mesophyll conductance and alters primary metabolism in rice. The New phytologist, 196(3), 752–762. https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2012.04299.x.

Duan, L., Sebastian, J., & Dinneny, J. R. (2015). Salt-stress regulation of root system growth and architecture in Arabidopsis seedlings. Methods in molecular biology (Clifton, N.J.), 1242, 105–122. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-1902-4_10.

Exley, C. (2015). A possible mechanism of biological silicification in plants. Front. Plant Sci. 6, 853. https://doi: 10.3389/fpls.2015.00853.

Faiyue, B., Al-Azzawi, M. J., & Flowers, T. J. (2012). A new screening technique for salinity resistance in rice (Oryza sativa L.) seedlings using bypass flow. Plant, cell & environment, 35(6), 1099–1108. https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2011.02475.x.

Farhangi-Abriz, S., & Torabian, S. (2018). Nano-silicon alters antioxidant activities of soybean seedlings under salt toxicity. Protoplasma, 255(3), 953–962. https://doi.org/10.1007/s00709-017-1202-0.

Farhangi-Abriz, S., & Torabian, S. (2018). Nano-silicon alters antioxidant activities of soybean seedlings under salt toxicity. Protoplasma, 255(3), 953–962. https://doi.org/10.1007/s00709-017-1202-0.

Fitriani HP, Haryanti. (2016). Effect of the use of nanosilica fertilizer on the growth of tomato plant (Solanum lycopersicum). Bul Anat dan Fisiol 24(1):34–41. https://doi.org/10.14710/baf.v24i1.11691.

Food and Agriculture Organization of the United Nations (Fao). (2015). Status of the World’s Soil Resources. FAO, Rome.

Food and Agriculture Organization of the United Nations (Fao). (2005). Agriculture and water quality interactions: a global overview. FAO, Rome.

Fuglsang, A. T., Guo, Y., Cuin, T. A., Qiu, Q., Song, C., Kristiansen, K. A., Bych, K., Schulz, A., Shabala, S., Schumaker, K. S., Palmgren, M. G., & Zhu, J. K. (2007). Arabidopsis protein kinase PKS5 inhibits the plasma membrane H+ -ATPase by preventing interaction with 14-3-3 protein. The Plant cell, 19(5), 1617–1634. https://doi.org/10.1105/tpc.105.035626.

Gao, H. J., Yang, H. Y., Bai, J. P., Liang, X. Y., Lou, Y., Zhang, J. L., Wang, D., Zhang, J. L., Niu, S. Q., & Chen, Y. L. (2015). Ultrastructural and physiological responses of potato (Solanum tuberosum L.) plantlets to gradient saline stress. Frontiers in plant science, 5, 787. https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00787.

Geilfus, C. M., Ludwig-Müller, J., Bárdos, G., & Zörb, C. (2018). Early response to salt ions in maize (Zea mays L.). Journal of plant physiology, 220, 173–180. https://doi.org/10.1016/j.jplph.2017.11.010.

Geilfus, C. M., Niehaus, K., Gödde, V., Hasler, M., Zörb, C., Gorzolka, K., Jezek, M., Senbayram, M., Ludwig-Müller, J., & Mühling, K. H. (2015). Fast responses of metabolites in Vicia faba L. to moderate NaCl stress. Plant physiology and biochemistry : PPB, 92, 19–29. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2015.04.008.

Geng, Y., Wu, R., Wee, C. W., Xie, F., Wei, X., Chan, P. M., Tham, C., Duan, L., & Dinneny, J. R. (2013). A spatio-temporal understanding of growth regulation during the salt stress response in Arabidopsis. The Plant cell, 25(6), 2132–2154. https://doi.org/10.1105/tpc.113.112896.

Genty, B., Briantais, J., & Baker, N. (1989). The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. Biochimica et Biophysica Acta, 990, 87-92. https://doi.org/10.1016/S0304-4165(89)80016-9.

Ghanem, M. E., van Elteren, J., Albacete, A., Quinet, M., Martínez-Andújar, C., Kinet, J. M., Pérez-Alfocea, F., & Lutts, S. (2009). Impact of salinity on early reproductive physiology of tomato (Solanum lycopersicum) in relation to a heterogeneous distribution of toxic ions in flower organs. Functional plant biology: FPB, 36(2), 125–136. https://doi.org/10.1071/FP08256.

Gheyi, H., Dias, N. da S,. Larcerda, C. F., Filho, E. G. (2016) Manejo da salinidade na agricultura: estudos básicos e aplicados (2ª ed). Fortaleza: INCTSal.

Gheyi, H., Dias, N. da S,. Larcerda, C. F., Filho, E. G. (2016) Manejo da salinidade na agricultura: estudos básicos e aplicados (2ª ed). Fortaleza: INCTSal.

Gong, H. J., Randall, D. P., & Flowers, T. J. (2006). Silicon deposition in the root reduces sodium uptake in rice (Oryza sativa L.) seedlings by reducing bypass flow. Plant, cell & environment, 29(10), 1970–1979. https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2006.01572.x

Gong, H.J., RANDALL, D.P. and FLOWERS, T.J. (2006), Silicon deposition in the root reduces sodium uptake in rice (Oryza sativa L.) seedlings by reducing bypass flow. Plant, Cell & Environment, 29: 1970-1979. https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2006.01572.x.

Guntzer, F., Keller, C. & Meunier, JD. (2012). Benefits of plant silicon for crops: a review. Agron. Sustain. Dev. 32, 201–213. https://doi.org/10.1007/s13593-011-0039-8.

Hashem, A., Abd Allah, E. F., Alqarawi, A. A., Al-Huqail, A. A., & Shah, M. A. (2016). Induction of Osmoregulation and Modulation of Salt Stress in Acacia gerrardii Benth. by Arbuscular Mycorrhizal Fungi and Bacillus subtilis (BERA 71). BioMed research international, 6294098. https://doi.org/10.1155/2016/6294098.

Hoagland, D. R., Arnon,. D. I. (1950). The waterculture method for growing plants without soil. Berkeley, CA: Agric. Exp. Stn., Univ. of California. (Circ. 347).

Hoffmann, J., Berni, R., Hausman, J. F., & Guerriero, G. (2020). A Review on the Beneficial Role of Silicon against Salinity in Non-Accumulator Crops: Tomato as a Model. Biomolecules, 10(9), 1284. https://doi.org/10.3390/biom10091284.

Isayenkov, S. V., and Maathuis, F. J. M. (2019). Plant Salinity Stress; Many Unanswered Questions Remain. Front. Plant Sci. 10, 80. doi: 10.3389/fpls.2019.00080.

Jammes, F., Song, C., Shin, D., Munemasa, S., Takeda, K., Gu, D., Cho, D., Lee, S., Giordo, R., Sritubtim, S., Leonhardt, N., Ellis, B. E., Murata, Y., & Kwak, J. M. (2009). MAP kinases MPK9 and MPK12 are preferentially expressed in guard cells and positively regulate ROS-mediated ABA signaling. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 106(48), 20520–20525. https://doi.org/10.1073/pnas.0907205106.

Ji, H., Pardo, J. M., Batelli, G., Van Oosten, M. J., Bressan, R. A., & Li, X. (2013). The Salt Overly Sensitive (SOS) pathway: established and emerging roles. Molecular plant, 6(2), 275–286. https://doi.org/10.1093/mp/sst017.

Jiang, Y., Deyholos, M.K. Functional characterization of Arabidopsis NaCl-inducible WRKY25 and WRKY33 transcription factors in abiotic stresses. Plant Mol Biol 69, 91–105 (2009). https://doi.org/10.1007/s11103-008-9408-3.

Johannes, F. and Schmitz, R.J. (2019), Spontaneous epimutations in plants. New Phytol, 221: 1253-1259. https://doi.org/10.1111/nph.15434.

Juárez-Maldonado A., Ortega-Ortiz H., González-Morales S., Morelos-Moreno Á., Cabrera-de la Fuente M., Sandoval-Rangel A., Cadenas-Pliego G., Benavides-Mendoza A. (2019). Nanoparticles and nanomaterials as plant biostimulants. Int. J. Mol. Sci, 20, 162. https://doi: 10.3390/ijms20010162.

Ketehouli, T., Idrice Carther, K. F., Noman, M., Wang, F.-W., Li, X.-W., & Li, H.-Y. (2019). Adaptation of Plants to Salt Stress: Characterization of Na+ and K+ Transporters and Role of CBL Gene Family in Regulating Salt Stress Response. Agronomy, 9(11), 687. doi:10.3390/agronomy9110687.

Khan, A., Kamran, M., Imran, M., Ahmed, A., Ahmed, A., Al-Amri, I., Lee, I., Khan, A. L. (2019). Silicon and salicylic acid confer high-pH stress tolerance in tomato seedlings. Sci Rep 9, 19788 . https://doi.org/10.1038/s41598-019-55651-4.

Khan, A., Kamran, M., Imran, M., Al-Harrasi, A., Al-Rawahi, A., Al-Amri, I., Lee, I. J., & Khan, A. L. (2019). Silicon and salicylic acid confer high-pH stress tolerance in tomato seedlings. Scientific reports, 9(1), 19788. https://doi.org/10.1038/s41598-019-55651-4.

Khan, W., Aziz, T., Maqsood, M., Farooq, M., Abdullah, Y., Ramzani, P., et al. (2018). Silicon nutrition mitigates salinity stress in maize by modulating ion accumulation, photosynthesis, and antioxidants. Photosynthetica 56, 1047– 1057. doi: 10.1007/s11099-018-0812-x.

Kinza Tanveer, Sobia Gilani, Zawar Hussain, Rozina Ishaq, Muhammad Adeel & Noshin Ilyas (2020) Effect of salt stress on tomato plant and the role of calcium, Journal of Plant Nutrition, 43:1, 28-35, DOI: 10.1080/01904167.2019.1659324.

Korndörfer, G.H., Pereira, H.S., Nola, A. (2004). Análise de silício: solo, planta e fertilizante. Uberlândia: GPSi-ICIAG-UFU, 2004. 34p. (Boletim técnico, 2).

Kraska, J. E., Breitenbeck, G. A., (2010) Simple, Robust Method for Quantifying Silicon in Plant Tissue, Communications in Soil Science and Plant Analysis, 41:17, 2075-2085, https://doi.org/10.1080/00103624.2010.498537.

Kumar, G., Purty, R. S., Sharma, M. P., Singla-Pareek, S. L., & Pareek, A. (2009). Physiological responses among Brassica species under salinity stress show strong correlation with transcript abundance for SOS pathway-related genes. Journal of plant physiology, 166(5), 507–520. https://doi.org/10.1016/j.jplph.2008.08.001.

Laisk, A., & Loreto, F. (1996). Determining Photosynthetic Parameters from Leaf CO2 Exchange and Chlorophyll Fluorescence (Ribulose-1,5-Bisphosphate Carboxylase/Oxygenase Specificity Factor, Dark Respiration in the Light, Excitation Distribution between Photosystems, Alternative Electron Transport Rate, and Mesophyll Diffusion Resistance. Plant physiology, 110(3), 903–912. https://doi.org/10.1104/pp.110.3.903.

Lee, S., Sohn, E., Hamayun, M., Yoon, J., Lee, I. (2010). Effect of silicon on growth and salinity stress of soybean plant grown under hydroponic system. Agroforestry Syst. 80, 333–340. doi: 10.1007/s10457-010-9299-6.

Li, H., Zhu, Y., Hu, Y. et al. (2015). Beneficial effects of silicon in alleviating salinity stress of tomato seedlings grown under sand culture. Acta Physiol Plant 37, 71. https://doi.org/10.1007/s11738-015-1818-7.

Liang,Y., Zhang, W., Chen, Q., Liu,Y., Ding, R. (2006). Effect of exogenous silicon (Si) on H+-ATPase activity, phospholipids and fluidity of plasma membrane in leaves of salt-stressed barley (Hordeum vulgare L.) Environ Exp Bot 57(3), 212–219. https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2005.05.012.

Liu, P., Yin, L., Deng, X., Wang, S., Tanaka, K., & Zhang, S. (2014). Aquaporin-mediated increase in root hydraulic conductance is involved in silicon-induced improved root water uptake under osmotic stress in Sorghum bicolor L. Journal of experimental botany, 65(17), 4747–4756. https://doi.org/10.1093/jxb/eru220.

Liu, P., Yin, L., Wang, S., Zhang, M., Deng, X., Zhang, S., et al. (2015). Enhanced root hydraulic conductance by aquaporin regulation accounts for silicon alleviated salt-induced osmotic stress in Sorghum bicolor L. Environ. Exp. Bot. 111, 42–51. https://doi: 10.1016/j.envexpbot.2014.10.006.

Liu, T., Zhuang, L. & Huang, B. (2019). Metabolic adjustment and gene expression for root sodium transport and calcium signaling contribute to salt tolerance in Agrostis grass species. Plant Soil 443, 219–232. https://doi.org/10.1007/s11104-019-04140-8.

Loudari, A., Benadis, C., Naciri, R., Soulaimani, A., Zeroual, Y., Gharous, M. El, Kalaji, H. M, & Oukarroum, A. (2020). Salt stress affects mineral nutrition in shoots and roots and chlorophyll a fluorescence of tomato plants grown in hydroponic culture. Journal of plant interactions, 15, 398-405. doi: 10.1080/17429145.2020.1841842.

Lu, C., Qiu, N., Wang, B., & Zhang, J. (2003). Salinity treatment shows no effects on photosystem II photochemistry, but increases the resistance of photosystem II to heat stress in halophyte Suaeda salsa. Journal of experimental botany, 54(383), 851–860. https://doi.org/10.1093/jxb/erg080.

Luyckx, M., Hausman, JF, Lutts, S., & Guerriero, G. (2017). Silício e Plantas: Conhecimento Atual e Perspectivas Tecnológicas. Frontiers in plant science, v. 8, 411. https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00411.

Ma, H., Song, L., Huang, Z., Yang, Y., Wang, S., Wang, Z., Tong, J., Gu, W., Ma, H., Xiao, L. (2014). Comparative proteomic analysis reveals molecular mechanism of seedling roots of different salt tolerant soybean genotypes. Eupa open proteomics. 4, 40–57. https://doi.org/10.1016/j.euprot.2014.05.005.

Maggio, A., Raimondi, G., Martino, A., & De Pascale, S. (2007). Salt stress response in tomato beyond the salinity tolerance threshold. Environmental and Experimental Botany, 59(3), 276–282. https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2006.02.002.

Mahmoud, E.F., Abdel-Haliem, H. S., Hegazy, N. S., Hassan, D. M. (2017). Effect of silica ions and nano silica on rice plants under salinity stress. Ecological Engineering, 99, 282-289. https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2016.11.060.

Mahmoud, L. M, Dutt, M., Shalan, A. M, El-Kady, M. E, El-Boray, M. S, Shabana, Y. M, & Grosser, J. W. (2020). Silicon nanoparticles mitigate oxidative stress of in vitro-derived banana (Musa acuminata ‘Grand Nain’) under simulated water deficit or salinity stress. South African journal of botany, 132, 155-163. doi: 10.1016/j.sajb.2020.04.027.

Mahmoud, L., Dutt, M., Vincent, C., & Grosser, J. (2020). Salinity-Induced Physiological Responses of Three Putative Salt Tolerant Citrus Rootstocks. Horticulturae, 6(4), 90. https://doi:10.3390/horticulturae6040090.

Manishankar, P., Wang, N., Köster, P., Alatar, A. A., & Kudla, J. (2018). Calcium Signaling during Salt Stress and in the Regulation of Ion Homeostasis. Journal of experimental botany, 10.1093/jxb/ery201. Advance online publication. https://doi.org/10.1093/jxb/ery201.

Manishankar, P., Wang, N., Köster, P., Alatar, A. A., & Kudla, J. (2018). Calcium Signaling during Salt Stress and in the Regulation of Ion Homeostasis. Journal of experimental botany, 10.1093/jxb/ery201. Advance online publication. https://doi.org/10.1093/jxb/ery201.

Miyazawa, M., Pavan, M. A., Muraoka, T., Carmo, C. A. F. S., Melo, W. J. (2009). Análise química de tecido vegetal. In: Silva, F. C. (ed.). Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes. 2.ed. Brasília: Embrapa informação tecnológica, 2009. Cap.1, p.193-233.

Mori, I. C., Murata, Y., Yang, Y., Munemasa, S., Wang, Y. F., Andreoli, S., Tiriac, H., Alonso, J. M., Harper, J. F., Ecker, J. R., Kwak, J. M., & Schroeder, J. I. (2006). CDPKs CPK6 and CPK3 function in ABA regulation of guard cell S-type anion and Ca2+permeable channels and stomatal closure. PLoS biology, 4(10), e327. https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0040327.

Muneer, S., Wei, H., Park, Y. G., Jeong, H. K., & Jeong, B. R. (2017). Proteomic Analysis Reveals the Dynamic Role of Silicon in Alleviation of Hyperhydricity in Carnation Grown In Vitro. International journal of molecular sciences, 19(1), 50. https://doi.org/10.3390/ijms19010050.

Munns, R. (2005), Genes and salt tolerance: bringing them together. New Phytologist, 167: 645-663. https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2005.01487.x.

Munns, R., & Tester, M. (2008). Mechanisms of salinity tolerance. Annual review of plant biology, 59, 651–681. https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.59.032607.092911.

Munns, R., Day, D. A., Fricke, W., Watt, M., Arsova, B., Barkla, B. J., Bose, J., Byrt, C. S., Chen, Z. H., Foster, K. J., Gilliham, M., Henderson, S. W., Jenkins, C., Kronzucker, H. J., Miklavcic, S. J., Plett, D., Roy, S. J., Shabala, S., Shelden, M. C., Soole, K. L., Tyerman, S. D. (2020). Energy costs of salt tolerance in crop plants. The New phytologist, 225(3), 1072–1090. https://doi.org/10.1111/nph.15864.

Nikolic, D. B., Nesic, S., Bosnic, D., Kostic, L., Nikolic, M., & Samardzic, J. T. (2019). Silicon Alleviates Iron Deficiency in Barley by Enhancing Expression of Strategy II Genes and Metal Redistribution. Frontiers in plant science, 10, 416. https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00416.

Pavlović, I., Mlinarić, S., Tarkowská, D., Oklestkova, J., Novák, O., Lepeduš, H., Bok, V. V., Brkanac, S. R., Strnad, M., & Salopek-Sondi, B. (2019). Early Brassica Crops Responses to Salinity Stress: A Comparative Analysis Between Chinese Cabbage, White Cabbage, and Kale. Frontiers in plant science, 10, 450. https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00450.

Rahmatullah, A.R., Bhatti, A.S., Afzal, M., Sarwar. A., Maqsood, M.A., Kanwal, S. (2010). Amelioration of salt stress in sugarcane (Saccharum officinarum L.) by supplying potassiumand silicon in hydroponics. Pedosphere 20:153–162. https://doi.org/10.1016/S1002-0160(10)60003-3.

Richards, L. A. (1954). Diagnosis and improvement of saline and alkali soils. Washington: US Departmentof Agriculture.

Romero-Aranda, M. R., Jurado, O., & Cuartero, J. (2006). Silicon alleviates the deleterious salt effect on tomato plant growth by improving plant water status. Journal of plant physiology, 163(8), 847–855. https://doi.org/10.1016/j.jplph.2005.05.010.

Rozengurt E. (2007). Mitogenic signaling pathways induced by G protein-coupled receptors. Journal of cellular physiology, 213 (3), 589–602. https://doi.org/10.1002/jcp.21246.

Scholander, P. F., Bradstreet, E. D., Hemmingsen, E. A., & Hammel, H. T. (1965). Sap Pressure in Vascular Plants: Negative hydrostatic pressure can be measured in plants. Science (New York, N.Y.), 148(3668), 339–346. https://doi.org/10.1126/science.148.3668.339.

Shabala, S. and Cuin, T.A. (2008), Potassium transport and plant salt tolerance. Physiologia Plantarum, 133, 651-669. https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2007.01008.x.

Shabala, S., and Pottosin, I. (2014). Regulation of potassium transport in plants under hostile conditions: implications for abiotic and biotic stress tolerance. Physiol. Plant. 151, 257–279. https://doi: 10.1111/ppl.12165.

Skirycz, A., Inzé, D. (2010). More from less: Plant growth under limited water. Curr. Opin. Biotechnol. 21, 197–203. https://doi: 10.1016/j.copbio.2010.03.002

Song, A., Li, P., Fan, F., Li, Z., & Liang, Y. (2014). The effect of Silicon on photosynthesis and expression of its relevant genes in rice (Oryza sativa L.) under high-zinc stress. PloS one, 9(11), e113782. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0113782.

Steinhorst, L., & Kudla, J. (2019). How plants perceive salt. Nature, 572(7769), 318–320. https://doi.org/10.1038/d41586-019-02289-x.

Stepien, P., & Johnson, G. (2008). Contrasting Responses of Photosynthesis to Salt Stress in the Glycophyte Arabidopsis and the Halophyte Thellungiella: Role of the Plastid Terminal Oxidase as an Alternative Electron Sink1[C][OA]. Plant Physiology, 149, 1154 - 1165. https://doi.org/10.1104/pp.108.132407.

Sun, H., Duan, Y., Mitani-Ueno, N., Che, J., Jia, J., Liu, J., Guo, J., Ma, J. F., & Gong, H. (2020). Tomato roots have a functional silicon influx transporter but not a functional silicon efflux transporter. Plant, cell & environment, 43(3), 732–744. https://doi.org/10.1111/pce.13679.

Sun, H., Duan, Y., Mitani-Ueno, N., Che, J., Jia, J., Liu, J., Guo, J., Ma, J. F., & Gong, H. (2020). Tomato roots have a functional silicon influx transporter but not a functional silicon efflux transporter. Plant, cell & environment, 43(3), 732–744. https://doi.org/10.1111/pce.13679.

Sun, J., Dai, S., Wang, R., Chen, S., Li, N., Zhou, X., Lu, C., Shen, X., Zheng, X., Hu, Z., Zhang, Z., Song, J., & Xu, Y. (2009). Calcium mediates root K+/Na+ homeostasis in poplar species differing in salt tolerance. Tree physiology, 29(9), 1175–1186. https://doi.org/10.1093/treephys/tpp048..

Tanveer, K., Gilani, S., Hussain, Z., Ishaq, R., Adeel, M., Ilyas, N. (2020). Effect of salt stress on tomato plant and the role of calcium. Journal of Plant Nutrition, 43 (1), 28-35. https://doi.org/10.1080/01904167.2019.1659324.

Tatagiba, S. D., Moraes, G. A. B. K., Nascimento, K. J. T., & Peloso, A. F. (2014). Limitações fotossintéticas em folhas de plantas de tomateiro submetidas a crescentes concentrações salinas. Revista Engenharia Na Agricultura - Reveng, 22(2), 138-149. https://doi.org/10.13083/reveng.v22i2.488.

Thorne, S. J., Hartley, S. E., & Maathuis, F. (2020). Is Silicon a Panacea for Alleviating Drought and Salt Stress in Crops?. Frontiers in plant science, 11, 1221. https://doi.org/10.3389/fpls.2020.01221.

Tripathi, D. K., Singh, V. P., Prasad, S. M., Chauhan, D. K., Kishore Dubey, N., & Rai, A. K. (2015). Silicon-mediated alleviation of Cr(VI) toxicity in wheat seedlings as evidenced by chlorophyll florescence, laser induced breakdown spectroscopy and anatomical changes. Ecotoxicology and environmental safety, 113, 133–144. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2014.09.029.

Van Kooten, O., Snel, J.F.H. (1990). The use of chlorophyll fluorescence nomenclature in plant stress physiology. Photosynth Res 25, 147–150 (1990). https://doi.org/10.1007/BF00033156.

Van Zelm, E., Zhang, Y., & Testerink, C. (2020). Salt Tolerance Mechanisms of Plants. Annual review of plant biology, 71, 403–433. https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-050718-100005.

Verslues, P. E., Agarwal, M., Katiyar-Agarwal, S., Zhu, J., & Zhu, J. K. (2006). Methods and concepts in quantifying resistance to drought, salt and freezing, abiotic stresses that affect plant water status. The Plant journal : for cell and molecular biology, 45(4), 523–539. https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2005.02593.x.

Wang, S., Liu, P., Chen, D., Yin, L., Li, H., & Deng, X. (2015). Silicon enhanced salt tolerance by improving the root water uptake and decreasing the ion toxicity in cucumber. Frontiers in plant science, 6, 759. https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00759.

Wang, Z., Hong, Y., Zhu, G., Li, Y., Niu, Q., Yao, J., Hua, K., Bai, J., Zhu, Y., Shi, H., Huang, S., & Zhu, J. K. (2020). Loss of salt tolerance during tomato domestication conferred by variation in a Na+ /K+ transporter. The EMBO journal, 39(10), e103256. https://doi.org/10.15252/embj.2019103256.

Whitesides, G. (2005), Nanoscience, Nanotechnology, and Chemistry. Small, 1: 172-179. https://doi.org/10.1002/smll.200400130.

Win, K. T., Tanaka, F., Okazaki, K., & Ohwaki, Y. (2018). The ACC deaminase expressing endophyte Pseudomonas spp. Enhances NaCl stress tolerance by reducing stress-related ethylene production, resulting in improved growth, photosynthetic performance, and ionic balance in tomato plants. Plant physiology and biochemistry, 127, 599–607. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2018.04.038.

Wungrampha, S., Joshi, R., Singla-Pareek, S.L. (2018). Photosynthesis and salinity: are these mutually exclusive? Photosynthetica 56, 366–381. https://doi.org/10.1007/s11099-017-0763-7.

Wurzinger, B., Mair, A., Pfister, B., & Teige, M. (2011). Cross-talk of calcium-dependent protein kinase and MAP kinase signaling. Plant signaling & behavior, 6(1), 8–12. https://doi.org/10.4161/psb.6.1.14012.

Yin, L., Wang, S., Li, J., Tanaka, K., Oka, M. (2013). Application of silicone improves salt tolerance through ameliorating osmotic and ionic stresses in the seedling of Sorghum bicolor. Acta Physiol Plant, 35 (11), 3099–3107. https://doi.org/10.1007/s11738-013-1343-5.

Zhang, Y., Yao, Q., Shi, Y., Li, X., Hou, L., Xing, G., & Ahammed, G. Jalal. (2020). Elevated CO2 improves antioxidant capacity, ion homeostasis, and polyamine metabolism in tomato seedlings under Ca(NO3)2-induced salt stress. Scientia horticulturae, 273, . doi: 10.1016/j.scienta.2020.109644.

Zhang, Yi; SHI, Yu; Gong, Hai-jun; ZHAO, Hai-liang; LI, Huan-li; HU, Yan-hong; WANG, Yi-chao (2018). Beneficial effects of silicon on photosynthesis of tomato seedlings under water stress. Journal of Integrative Agriculture, 17(10), 2151–2159. doi:10.1016/S2095-3119(18)62038-6.

Zhao, F., Song, C. P., He, J., & Zhu, H. (2007). Polyamines improve K+/Na+ homeostasis in barley seedlings by regulating root ion channel activities. Plant physiology, 145(3), 1061–1072. https://doi.org/10.1104/pp.107.105882.

4 CARACTERIZAÇÃO E DINÂMICA DA SINALIZAÇÃO ELÉTRICA EM PLANTAS GLICÓFITA (*Solanum lycopersicum*) E HALÓFITA (*Chenopodium quinoa*) SOB ESTRESSE SALINO

Resumo

O excesso de sais acarreta em danos e redução da produtividade para maioria das culturas agrícolas, todavia algumas espécies possuem maior tolerância a salinidade. As espécies halófitas são altamente eficientes no controle da absorção de íons de Na^+ em comparação com as glicófitas. Dessa forma objetivou-se realizar a caraterização elétrica e mudança do potencial de membrana de plantas halófitas e glicófitas. O experimento foi realizado em casa de vegetação no delineamento em blocos causalizados, no fatorial 2x2 referente a duas concentrações de NaCl (0 e 100 mM) e duas espécies, tomateiro e quinoa. Foram avaliados a condutividade elétrica do substrato, o potencial hídrico da folha, potencial de superfície e geração de sinais elétricos. Sob a concentração de 100 mM de NaCl, foi observado maior redução do potencial hídrico, em destaque no tomateiro. A condutividade elétrica do substrato aumentou em função da salinidade: 85,8 e 74, 65% respetivamente nas plantas de quinoa e tomate submetidas a 100 mM de NaCl. Foi observado a redução nos valores de potencial hídrico de plantas de tomate sob a concentração de 100 mM de NaCl. Por outro lado, a condutividade elétrica do substrato aumentou em plantas de quinoa (85,8 %) e tomate (74,65%) sob 100 mM de NaCl. Potenciais de ação e de variação foram propagados na direção basípeta no tomateiro e acrópeta na quinoa. Além disso, também foram observadas diferenças quanto ao eletrodo de origem dos PAs e PVs entre as espécies, bem como na dinâmica do potencial de membrana. Plantas de tomateiro e quinoa apresentam diferença quanto ao comportamento do potencial de superfície em função das concentrações de NaCl.

Palavras-chaves: Salinidade, Potencial de membrana, Íons, Sódio

Abstract

The excess of salts causes damage and reduced productivity for most agricultural crops, however some species have greater tolerance to salinity. Halophyte species are highly efficient in controlling the absorption of Na+ ions compared to glycophytes. Thus, the objective was to perform the electrical characterization and change the membrane potential of halophyte and glycophyte plants. The experiment was carried out in a greenhouse in a causal block design, in a 2x2 factorial, referring to two NaCl concentrations (0 and 100 mM) and two species, tomato and quinoa. The electrical conductivity of the substrate, the leaf water potential, surface potential and generation of electrical signals were evaluated. Under the concentration of 100 mM NaCl, a greater reduction in water potential was observed, especially in tomato. The electrical conductivity of the substrate increased as a function of salinity: 85.8 and 74, 65% respectively in quinoa and tomato plants subjected to 100 mM NaCl. A reduction in water potential values of tomato plants was observed under the concentration of 100 mM NaCl. On the other hand, the electrical conductivity of the substrate increased in quinoa (85.8%) and tomato (74.65%) plants under 100 mM NaCl. Action and variation potentials were propagated in the basipetal direction in tomato and acropetic direction in quinoa. Furthermore, differences were also observed regarding the electrode of origin of the PAs and PVs between species, as well as in the dynamics of the membrane

potential. Tomato and quinoa plants show differences in surface potential behavior as a function of NaCl concentrations.

Keywords: Salinity, Membrane potential, Íons, Sodium

4.1 Introdução

Os problemas com salinidade na produção agrícola vêm sendo bastante recorrentes na atualidade. Estima-se que, 33 % dos solos aráveis do mundo são afetados pela salinidade, além disso 97,5 % de toda água do mundo é salina (Adolfo et al., 2013; Gaurino et al., 2020). Dessa forma, grande parte das espécies agrícolas são sensíveis ao excesso de sais (Gheyi et al., 2016). Disto, a salinidade provoca mudanças diretas e indiretas, causando distúrbios em processos fisiológicos de crescimento e de desenvolvimento nas plantas. O excesso de sais dificulta a absorção de água e nutrientes, devido ao efeito osmótico (Gheyi et al., 2016; Devkar et al., 2020) e isso provoca o aumento das espécies reativas de oxigênio, levando a um estresse oxidativo de macromoléculas (Munns & Tester 2008; Ahanger et al., 2020;), como por exemplo, a integridade da membrana plasmática e, assim, causando também desbalanceamento da concentração de íons de K^+ e a toxicidade por íons de Na^+ (Shabala & Potossin 2014).

As similaridades iônicas entre potássio e sódio possibilitam mudanças oriundas da concentração celular dos íons. De maneira que, o sódio compete com o potássio por zonas alostéricos de enzimas e mudanças de corrente externa retificadoras de canais de potássio (Volkov & Amtmann, 2006). Desse modo, isso provoca a despolarização da membrana através da ativação do canal iônico KOR e efluxo de K^+ por meio dos canais NCCSs (Jayakannam et al., 2013; Bose et al., 2015). Além disso, grande parte desses canais transportadores são dependentes da voltagem da membrana.

Dessa forma, o transporte de íons através de influxo ou efluxo na membrana, consiste em um fator chave para a tolerância a salinidade (Volkov, 2015), como exemplo, aplicação de NaCl na raiz promove o rápido aumento do Ca^{+2} transiente e propagação de ondas de cálcio ao longo da planta (Choi et al., 2014). Esse aumento do Ca^{+2} leva a despolarização da membrana plasmática e, dependendo da intensidade, origina sinais elétricos como potencial de ação (PA), potencial de variação (PV) e potencial sistêmico, que envolve a fase de despolarização do PA inclui o influxo de Ca^{+2}, e na repolarização que efluxo de Cl^- e efluxo

de K^+, assim como o VP, todavia, com maior participação da H^+-ATPase (Vodeneev et al., 2016; Vodeneev et al., 2015).

Esses sinais elétricos podem causar mudanças de processos fisiológicos na planta em função do estímulo. Em estudo realizado por Sukhova et al. (2018), foi demostrado a influência do PV diminui o fluxo de energia de luz no PSII e aumento do NPQ. Logo, em planta de girassol, ocorreu a redução na taxa de assimilação de CO_2, de ETR e Qp em função do potencial de variação (PV) (Capelin, 2016), quanto ao PA, induziu a redução do pH, provocando a inibição da fotossíntese e acréscimo do NPQ, Fv/Fm e evolução do O_2 (Bulychev & Komarova, 2017). Em casos de excesso de Na^+ ou Cl^-, essas mudanças elétricas podem induzir a ativação de mecanismo de tolerância ao sal como o controle do carregamento de íons no xilema (Zarei et al 2020).

Todavia, alguns grupos de espécies diferenciam-se dos outros em resposta à salinidade. Plantas halófitas acumulam menos Na^+ em comparação a plantas glicófitas, tanto a curto quanto a longo prazo (Wang et al., 2006). Nesse aspecto, o tomateiro demonstra maiores mudança em função do excesso de sais, como por exemplo, a redução da expressão dos genes SIPIP, envolvido na atividade da aquoporinas (Jia et al., 2020). Por sua vez, plantas halófitas como quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.), possuem eficiente mecanismo de sequestro de íons Na^+, ajustamento osmótico, iônico, aumento no teor de clorofila, retenção de ions K^+ (Cai & Gao, 2020; Klani-Pouya et al., 2020; Potossin et al., 2018; Adolf et al., 2013). A dinâmica eletrofisiológica e, consequentemente, a cinética iônica dessas espécies contribui para uma compreensão dos processos que regulam a resposta ao excesso de sal, pois, cerca de 50 % das plantas halófitas não utilizam do mecanismo de exclusão de sais, o que ressalta a possibilidade de um controle da permeabilidade da membrana mais efetivo do que outras espécies. Plantas halófitas absorvem menor íons de Na^+ possibilitando o ajustamento osmótico e plantas glicófitas apresentam uma maior absorção de Na^+, elevando a concentração de EROs (Zarei et al., 2020).

A dinâmica do potencial de membrana e os eventos de sinais elétricos podem ser indicador importante de tolerância a salinidade em função do transporte de íons, uma vez que a permeabilidade da membrana é um fator sensível a alterações de lipídios e de proteína da membrana, pois plantas sensíveis demonstram mais danos a salinidade (Mansour, 2013). Nesses termos, objetivou-se no presente experimento investigar a dinâmica iônica através das oscilações do potencial de membrana e diferenças quanto aos sinais elétricos de espécies glicófita e halófita sob estresse salino.

4.2 Material e métodos

4.2.1 Condições do experimento e material vegetal

O experimento foi conduzido na casa de vegetação do Laboratório de Estudos de Plantas sob Estresse da Universidade de São Paulo, Campus ESALQ no município de Piracicaba-SP. Sementes de tomate da variedade IPA 06 (espécie sensível aos estresse salino desenvolvida pelo Instituto Agronômico de Pernambuco) esementes de quinoa vermelha (oriundas do Peru, espécie tolerante ao estresse salino) foram semeadas em vasos com volume de 350 $dm^{-3,}$ com substrato comercial Basaplant© e vermiculita expandida na relação 1:1. No preparo do substrato, foi realizado adubação na dosagem de 1 g L^{-1} de NPK na proporção 10:10:10 e 4 g L^{-1} de calcário dolomítico ($MgCO_3$ + $CaCO_3$). A cada sete dias foi realizada a aplicação de solução nutritiva de Hoagland & Arnon (1950), com os respectivos valores de nutrientes estabelecidos na tabela (1). O delineamento experimental foi em blocos inteiramente causalizado, com fatorial 2 x 2, sendo duas espécies (Tomate e Quinoa) e dois níveis de concentração de NaCl (0 e 100 mM), que equivale a 0 e 10 dS m^{-1}, com 8 repetições, totalizando 36 unidades experimentais.

Tabela 1. Fonte de nutrientes e composição química do fertilizante Miracle-Gro®, empregado na formulação adaptada da solução nutritiva de Hoagland & Arnon (1950).

Fonte	**Quantidade (g L^{-1})**
Fertilizante Miracle-Gro®	0,46
Cloreto de potássio (KCl)	0,1
Cloreto de cálcio ($CaCl_2$)	0,26
Cloreto de Magnésio ($MgCl_2$)	0,1
Ferro-EDTA	1,0
Composição química do produto Miracle-Gro®	
Nutriente	**Quantidade (%)**
Nitrogênio Total	24
Fósforo (P)	8
Potássio (K)	16
Boro (B)	0,02
Cobre (Cu)	0,07
Ferro (Fe)	0,15
Manganês (Mn)	0,05
Molibdênio (Mo)	0,0005
Zinco (Zn)	0,06

Após o cultivo foi realizado em casa de vegetação as plantas foram transferida para o ambiente controlado, com o fotoperíodo 12/12 horas (dia/noite), sob intensidade de luz 300 a 350 µmol m^{-2} s^{-1} com temperatura de 25 a 28 °C e umidade relativa de 40 a 60 %. Cada bloco foi cultivado com intervalo de 7 dias, para diminuir a diferença de idade durante as análises eletrofisiológicas. A irrigação foi realizada diariamente e em quantidade suficiente para promover a percolação e manter os vasos na capacidade de campo. A quantidade de água aplicada foi determinada através da capacidade de vaso (capacidade de campo), de acordo com a metodologia de Casaroli & Lier (2018). Aos 30 dias após a semeadura as plantas, foi realizada a irrigação com NaCl (0 e 100 mM) diariamente 30 minutos depois do início as medições eletrofisiológicas das plantas. As soluções com diferentes concentrações de NaCl foram formuladas a partir do uso do cloreto de sódio com água deionizada de acordo com USDA-ARS-US Salinity Laboratory (Richards, 1954).

4.2.2 Avaliações

4.2.2.1 Condutividade elétrica do substrato

Após a realização das medidas elétricas de caraterização foi realizado a determinação da condutividade elétrica do substrato com auxílio do medidor de condutividade e temperatura do solo Hanna modelo HI98331. Para as medidas de condutividade elétrica do extrato de saturação, foi coletado o volume de 150 mL do extrato de saturação dos vasos. Posteriormente as amostras foram encaminhadas para o Cena/USP, e analisadas com auxílio do medidor de condutividade elétrica.

4.2.2.2 Potencial hídrico

As medições do potencial hídrico foram realizadas pelo método da câmara de pressão de acordo com a metodologia de Scholander et al. (1965). As leituras foram realizadas 12 horas após as medidas elétricas, sendo realizada no terço médio da planta na sexta folha, com contagem a partir do ápice da planta, os valores foram expressos em MPa.

4.2.2.3 Obtenção das medidas eletrofisiológica das plantas

Os registros das medidas eletrofisiológicas foram realizados de acordo com Paszewski e Zawadzki (1973), adaptado por Macedo (2015) para condições locais. Aos 27 dias, após a semeadura, as plantas foram aclimatadas no Laboratório de Estudo de Plantas sob Estresse (LEPSE) dentro das gaiolas de Faraday com dimensões A x L x C (110 x 85 x 120 cm), com blindagem de 1 cm^2 para assegurar o isolamento eletromagnético no intervalo de 65 horas antes do início da avaliação. Elas foram mantidas sob intensidade de luz de 300 µmol m^{-2} s^{-1} através de luzes de LED, com condições de umidade, temperatura e CO_2 semelhante às condições da casa de vegetação.

Dessa forma, 12 horas antes do início das leituras elétricas foram inseridos eletrodos de registro do tipo Ag/AgCl, com uso do fio de prata, com diâmetro variando 0,50 mm para plantas de tomateiro (*Solanum lycopersicum*) e 0,25mm para plantas de quinoa (*Chenopodium quinoa*). Antes de serem inseridos nas plantas, os eletrodos foram clorados com solução 3M KCl e, posteriormente, foram inseridos na planta de acordo com a disposição da figura 1. Cada elétrodo foi conectado ao LAB TRAX-4/24T (World Precision Instruments®) com quatro canais e amplificador, com resistência de entrada de cada canal de 100 GΩ e conectado a um computador através do software Labscribe.

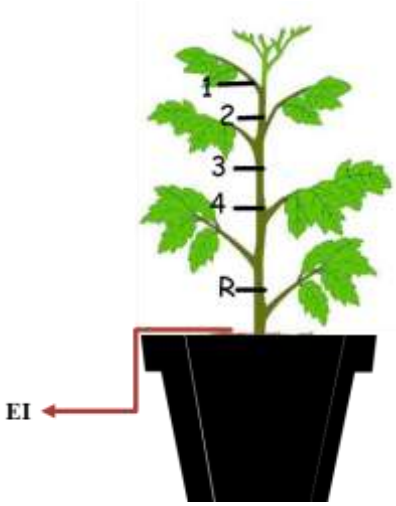

Figura 1. Disposição dos eletrodos na planta de tomateiro e quinoa sob as concentrações de 0 e 100 mM de NaCl. Eletrodo de referência (R); eletrodo de aterramento (EI).

As variáveis eletrofisiológicas avaliadas foram a amplitude do sinal (mV), duração de pico e velocidades para os potencias de ação e potencias de variação. Nos cálculos de velocidade, foram levados em consideração a distância entre, pelo menos, dois eletrodos de

medidas (E1,2,3,4) dividido pelo tempo necessário para o sinal atravessar os eletrodos no segmento do caule e foliar (Macedo et al., 2015; Zawadzki et al., 1991). As medidas foram realizadas durante 64 horas (Macedo, 2015; Zawadzki et al., 2008).

Tabela 2. Distribuição e distanciamento dos eletrodos ao longo das plantas de tomate e quinoa submetidas a 0 e 100 mM de NaCl.

Eletrodos	**Tomate** (*Solanum lycopersicum*)	**Quinoa** (*Chenopodium quinoa*)
E1-E2 (cm)	1,5	1,5
E2-E3 (cm)	1,5	1,5
E3-E4 (cm)	1,5	1,5
E4-ER (cm)	3	3
ER-Substrato (cm)	6	10,75
Média da altura da planta (cm)	16,66	21,37
Folha	2ª a 3ª	2ª a 4ª

E1-E4: distância entre eletrodos de medidas. ER: eletrodo de referência.

4.2.3 Análise estatística

Os resultados foram submetidos a análise de variância após uma análise de normalidade dos dados. As médias foram submetidas ao teste de Tukey a 5 % probabilidade. Foram utilizados os softwares R®, versão 3.5.1 2019 e Agroestat®.

4.3 Resultados

4.3.1 Potencial hídrico

A salinidade diminuiu do potencial hídrico foliar (Figura 2), em destaque nas plantas de tomateiro sob 100 mM de NaCl, que reduziu 64,06 % em comparação a 0 mM de NaCl. Por sua vez, as plantas de quinoa sob a concentração máxima apresentaram uma redução cerca de 31,62 % em comparação as plantas de quinoa sob 0 mM de NaCl. Essa baixa redução da quinoa indica maior habilidade para suportar o estresse através de mecanismos fisiológicos.

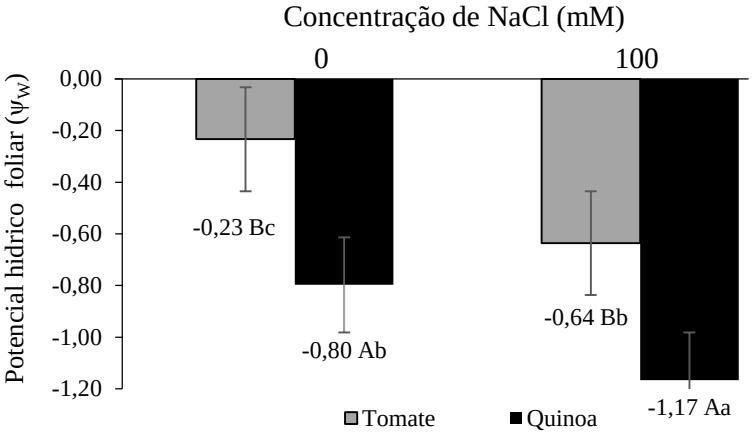

Figura 2. Potencial hídrico foliar (Ψw) de plantas de tomateiro controle e quinoa, submetidas a diferentes doses de NaCl, após 64 horas da imposição do estresse. Médias seguidas de pelo menos uma letra, minúscula entre a concentração de NaCl, maiúscula entre espécies não diferem entre si pelo teste de Tukey a $p<0,05$. n= 8

4.3.2 Condutividade elétrica do substrato

Nas duas espécies, a condutividade elétrica do substrato (Figura 3) aumentou em função da salinidade, em 85,8 e 74, 65% respetivamente nas plantas de quinoa e tomate submetidas a 100 mM de NaCl. Sob a concentração minima, a condutividade elétrica do substrato das plantas de quinoa diferiu em 6% do substrato das plantas de tomate. Esse resultado sugere que plantas de tomateiro (glicófita) tendem a absorver maior quantidade de sais em comparação com a quinoa (halófita).

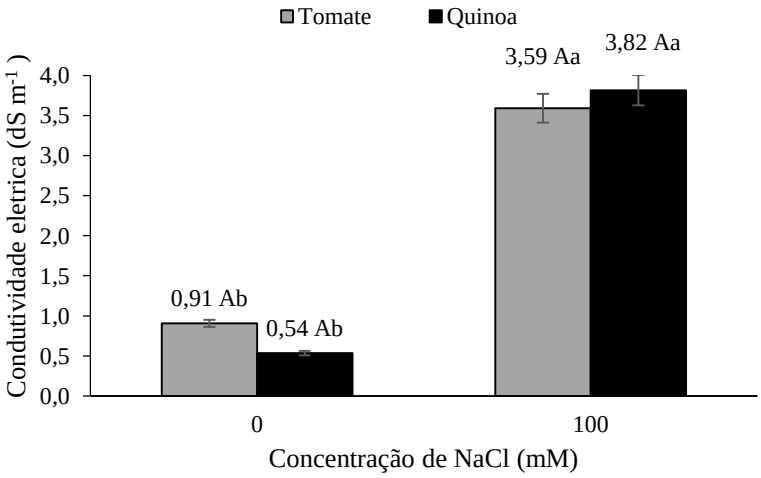

Figura 3. Condutividade elétrica (dS m^{-1}) do substrato de plantas de tomateiro controle e tratadas com nanopartículas de silício, submetidas a diferentes doses de NaCl, após 24 horas da imposição do estresse. Médias seguidas de pelo menos uma letra, minúscula entre a concentração de NaCl, maiúscula entre espécie não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de probabilidade ($p<0,05$), n= 8.

4.3.3 Potencial de variação em plantas tomate e quinoa.

As plantas de tomate exibiram maior resposta a salinidade em função do número total de PV, com um aumento em 69 % que equivale a diferença de 9 PVs entre o tomateiro e a quinoa, ambas as espécies sob 100 mM de NaCl. Todavia, não foi uma diferença significativa das espécies sob a concentração de 0 mM de NaCl e esse mesmo efeito sob a concentração de 100 mM de NaCl foi observado no número de PV diurno do tomateiro, com a diferença de 64,2 % em comparação com a quinoa. No período noturno, o tomateiro sob 100 mM de NaCl, apresentou maior número PVs, que diferiu em 73 % das plantas de quinoa, ambos irrigados com 100 mM de NaCl.

As plantas de tomateiro irrigadas com 100 mM de NaCl, apresentaram valores de amplitude superiores a 40 % das plantas de quinoa, com uma diferença de 14,51 mV (tabela 3). Esse mesmo efeito foi observado na duração do PV com uma diferença 9,02 min, que corresponde o aumento em 23,6 % do PV no tomateiro em comparação com a quinoa, ambos sobre a concentração de 100 mM. Os valores de amplitude e duração dos PVs em função do nível de NaCl (0 e 100 mM), não diferiram de maneira significativa.

Tabela 3. Número total de PV (NPVs), número de PV diurno, número de PV noturno, amplitude (mV), duração do PV (min), dos potencias de variação em plantas de tomateiro (glicófita) e quinoa (halófita) sob diferentes concentrações de NaCl (0 e 100 mM), durante 72 horas de medidas continuas da atividade elétrica.

Tratamento	NPVs	PVs diurno	PVs noturno	AMP (mV)	Duração (min)
Tomate -NaCl	6,4 aA	2,8 aA	3,6 abA	35,40 Aa	34,48 aA
Quinoa -NaCl	6,6 aA	4,0 aA	2,6 bA	32,12 aA	38,56 aA
Tomate +NaCl	13 aA	5,6 aA	7,4 aA	36,12 aA	38,20 aA
Quinoa +NaCl	4 aB	2,0 aB	2,0 bB	21,61 aB	29,18 aB
Média	7,5	3,6	3,9	31,31	35,11

Médias seguidas de mesma letra minúscula entre concentração de NaCl e maiúsculas entre espécie não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de probabilidade ($p<0,05$), n= 8.

De acordo com a figura 4, é observado uma dinâmica do potencial de membrana diferente entre as espécies glicófita (tomate) e halófita (quinoa), sendo observado também propagação do potencial de variação na forma basípeta no tomateiro com e sem estresse salino (Figura 4 A e C), que difere das plantas de quinoa apresentaram propagação acrópeta (Figura 4B). Ademais, em condição de 100 mM de NaCl não ocorreu propagação do potencial de variação em plantas de quinoa. Já, para o tomateiro com 0 e 100 mM de NaCl e quinoa sob 0 mM de NaCl foi observado que 25 % do número total de plantas propagaram PV e para as plantas de quinoa sob 100 mM de NaCl não propagaram PVs. Além disso, outro fator

importante, trata-se que na escala gráfica 10 mV/300 segundos (Figura 4 A e B) as plantas de quinoa apresenta uma maior amplitude de despolarização seguida de uma fase lenta de repolarização, o que diferiu do tomateiro em mesma condição.

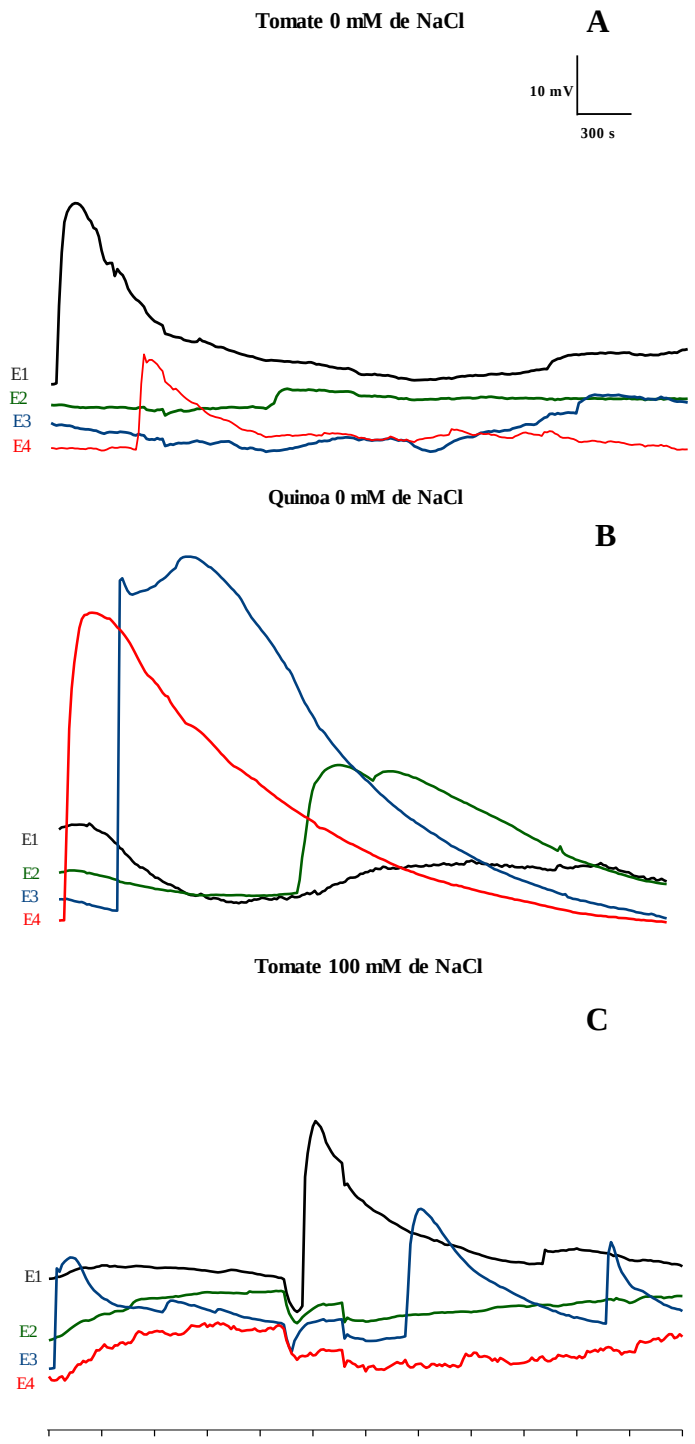

Figura 4. Potencial de variação propagado em plantas de quinoa e tomateiro após a irrigação com NaCl, durante 64 horas de medida. Eletrodos (E1, E2, E3 e E4).

Na figura 5 (A, C), o potencial de variação não propagado no tomateiro sob a concentrações de 0 e 100 mM de NaCl, originou no eletrodo 1, inserido na folha. Diferentemente na quinoa, os PVs originaram no eletrodo 2 inserido no caule (Figura 5 B, D). Planta de tomateiro sob salinidade (Figura 5) apresentou cinética do potencial de membrana semelhante ao tomateiro sem estresse, esse mesmo comportamento não foi observado nas plantas de quinoa com ou sem estresse salino.

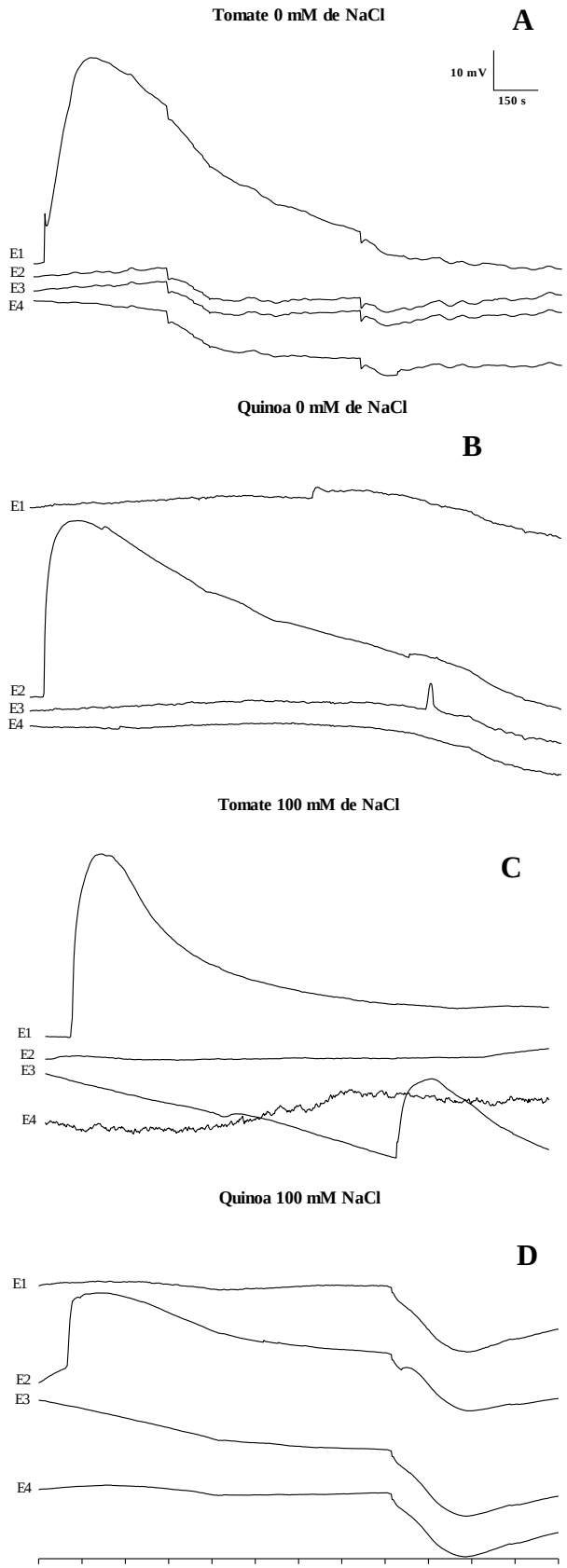

Figura 5. Imagem representativa do potencial de variação (PV) não propagado em plantas de Quinoa e tomateiro após a irrigação com NaCl, durante 64 horas de medida. Eletrodos (E1, E2, E3 e E4).

4.3.4 Potencial de ação em plantas de tomate e quinoa.

As plantas de tomateiro sob e 100 mM de NaCl apresentaram maior número de PAs, valor esse superior em 58 % das plantas de quinoa, sob mesma concentração de NaCl (tabela 3). Esse mesmo efeito foi observado na concentração de 0 mM de NaCl, com uma diferença de 64%. Nesse caso, os valores de PAs diurno e noturno não diferiram de maneira significativa entre as concentrações de NaCl, todavia, houve diferença entre as espécies de tomate e quinoa, respectivamente, de 66,6 % no período diurno e no período 64,2 % noturno.

As amplitudes dos PAs foram maiores em plantas de tomate sob 0 mM de NaCl, não diferindo significativamente dos PAs da quinoa sob mesmo nível de NaCl (tabela 3). Já sob o nível de 100 mM de NaCl, as plantas de tomateiro apresentam os PAs com maior amplitude com uma diferença de 12,02 mV em comparação com as plantas de quinoa e, por sua vez, a duração dos PAs foram mais longas nas plantas de quinoa sobre 0 mM de NaCl .

Com relação a duração do PAs, as plantas de tomateiro sob 0 mM de NaCl apresentaram menor tempo de duração em comparação com a quinoa, com uma diferença de 51,7 s, todavia, não foi observado diferença significativa entre o tomateiro e a quinoa sob a concentração de 100 mM de NaCl.

Tabela 4. Número total de PA (NPAs), número de PA diurno, número de PA noturno, amplitude (AMP), duração ($t_{1/2}$ s) dos potencias de ação em plantas de tomateiro (glicófita) e quinoa (halófita) sob diferentes concentrações de NaCl (0 e 100 mM), durante 64 horas de medidas continuas da atividade elétrica.

Tratamento	NPAs	PAs diurno	PAs noturno	AMP (mV)	$t_{1/2}$ (s)
Tomate -NaCl	5,6 abA	3,0 aA	2,6 aA	34,42 aA	15,77 bB
Quinoa -NaCl	2,0 cB	1,0 aB	1,2 aA	27,91 aA	67,56 aA
Tomate + NaCl	6,2 aA	3,4 aA	2,8 aA	24,37 abA	27,21 abA
Quinoa + NaCl	2,6 bcB	1,8 aA	1,0 aB	12,35 bB	24,12 abA
Média	4,1	2,3	1,9	24,76	33,67

Médias seguidas de mesma letra minúscula entre concentração de NaCl e maiúsculas entre espécie não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de probabilidade ($p<0,05$), n= 8.

De acordo com a figura 6 (A) o potencial de ação foi propagado de maneira basípeta, originário na folha de tomateiro sob 0 mM de NaCl, ocorreu propagação de PA em 75 % das plantas avaliadas. Comportamento semelhante foi observado na figura 6 (C), entretanto, a propagação ocorreu a partir do eletrodo 2 no caule que, por sua vez, a proporção desse sinal foi 62,5 % nas plantas avaliadas. Diferentemente do tomateiro, a planta de quinoa (Figura 6 B) apresentou uma propagação acrópeta a partir do eletrodo 4, na qual foi observado que 25

% das plantas propagaram. Na quinoa sob 100 mM de NaCl não foi observado propagação de PAs.

Na figura 6 (A, B) a amplitude do potencial de ação no tomateiro foi superior em comparação com a planta de quinoa. O tomateiro (Figura 6 C) sob 100 mM de NaCl apresentou propagação do PA que, por sua vez, as plantas de quinoa sob mesma concentração não foi observado propagação do PA.

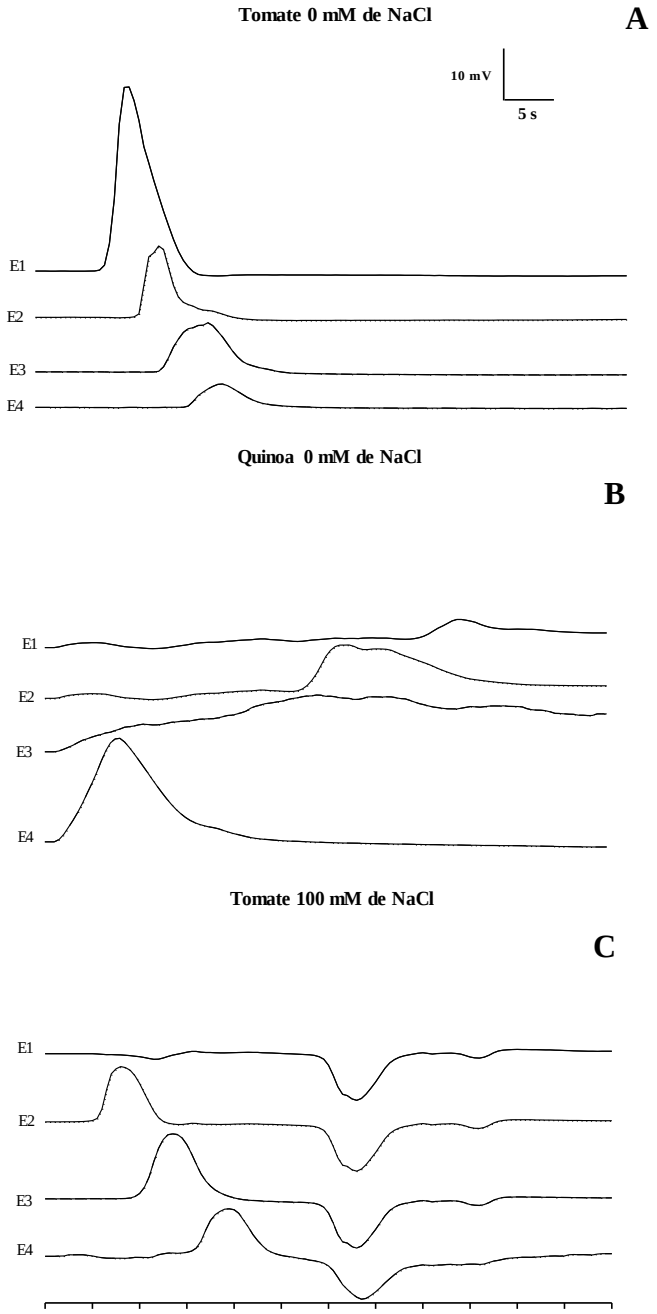

Figura 6. Imagem representativa do potencial de ação propagado em plantas de quinoa e tomateiro submetido após a irrigação com NaCl, durante 64 horas de medida. Eletrodos (E1, E2, E3 e E4).

Na Figura 7, os potencias de ação não propagados apresentaram diferença de variação do potencial de membrana entre as espécies de tomate e quinoa, apresentando fase rápida de despolarização e repolarização no tomateiro (Figura 7 A, C). Assim, na planta de quinoa foi observado despolarização mais longa do PA (Figura 7 B, D). Dessa forma, sob uma concentração de 100 mM de NaCl (Figura 7 D), a planta de quinoa apresentou maior amplitude do PA em comparação a quinoa sob 0 Mm de NaCl. Esse comportamento do potencial de membrana foi diferente nas plantas de tomateiro sem e com estresse (Figura7 AC).

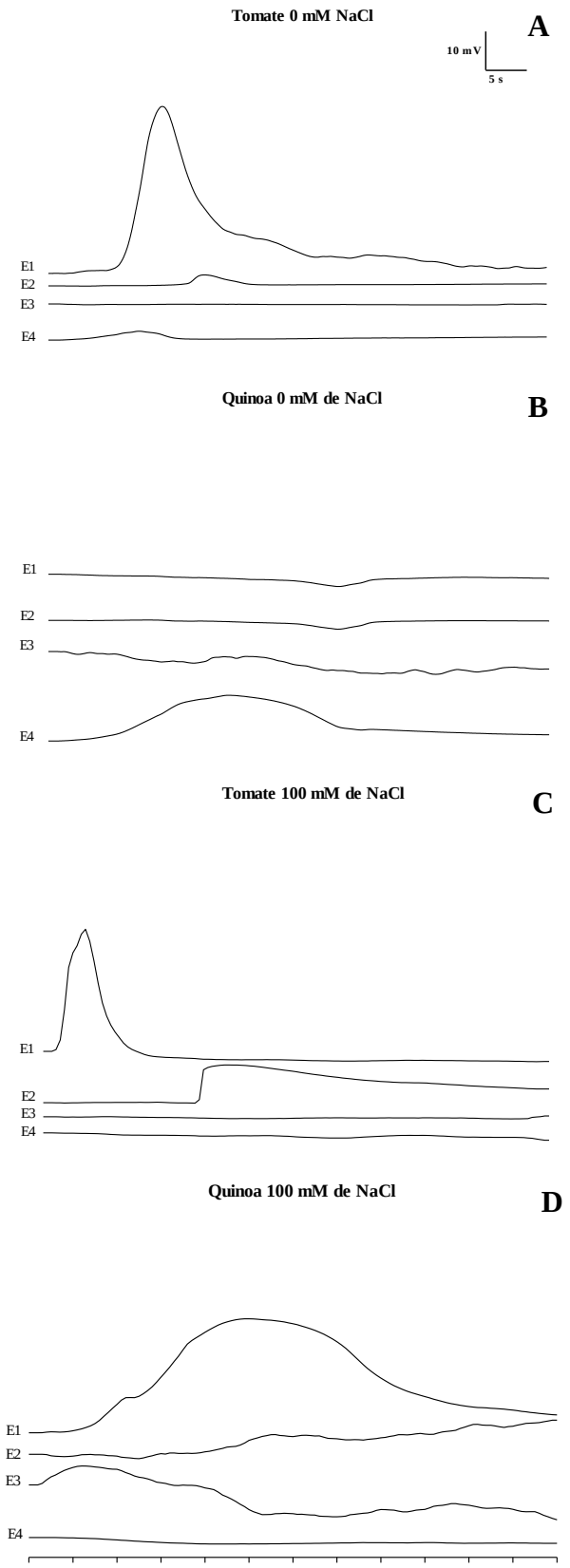

Figura 7. Imagem representativa do potencial de ação não propagado em plantas de quinoa e tomateiro submetido após a irrigação com NaCl, durante 64 horas de medida. Eletrodos (E1, E2, E3 e E4).

Na figura 8 (A), os PAs em plantas de quinoa com ou sem estresse, apresentaram diferença quanto aos eletrodos de origem do sinal, sob 0 mM de NaCl a maioria dos sinais foram originário no intervalo de 2 ao 4 eletrodo, diferentemente sob 100 mM de NaCl foram do 1 ao 3, respectivamente. As plantas de tomateiro apresentaram comportamento semelhante com PAs originário entre os 1 ao 3 eletrodo.

Nos casos dos PVs (figura 8 B), as plantas de quinoa apresentaram diferença em relação ao tomateiro, de maneira que as plantas de quinoa, os PVs foram originários dentro do intervalo de 2 a 4 eletrodo, sob os níveis 0 e 100 Mm de NaCl. Já as plantas de tomateiro a maiorias do PVs foram observadas no intervalo do 1 ao 3 eletrodo.

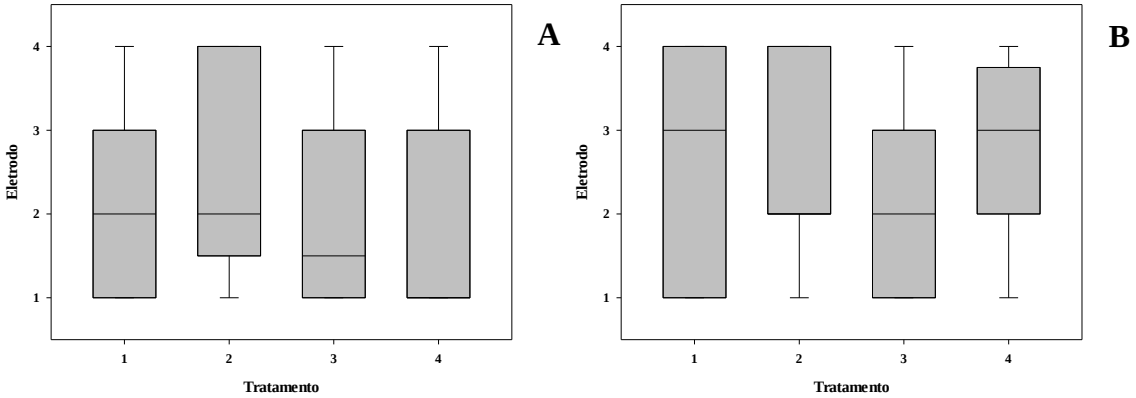

Figura 8. Box plot da distribuição dos sinais elétricos (PAs e PVs) ao longo dos eletrodos de medidas em plantas de tomateiro e quinoa sob estresse salino, durante o período de medida de 64 hotas. T1; Tomate sob 0 mM de NaCl, T2: Quinoa sob 0 nM de NaCl, T3: Tomate 100 mM de NaCl, T4: Quinoa sob 100 nM NaCl.

4.3.5 Potencial de superfície do tomate e quinoa sob salinidade

De acordo com a figura 9, as plantas de tomate e quinoa apresentaram comportamento semelhante durante as 64 horas do período de medida sob uma condição de não salinidade (0 mM de NaCl). Todavia, plantas de tomateiro irrigadas com 100 mM de NaCl, demostraram variação do potencial de membrana mais intensa, com maior excitabilidade ao longo dos 4 eletrodos de medida, comportamento esse que diferiu da planta de quinoa sob mesma condição de salinidade, na qual apresentou um dinâmica do potencial de membrana similar a quinoa sem salinidade.

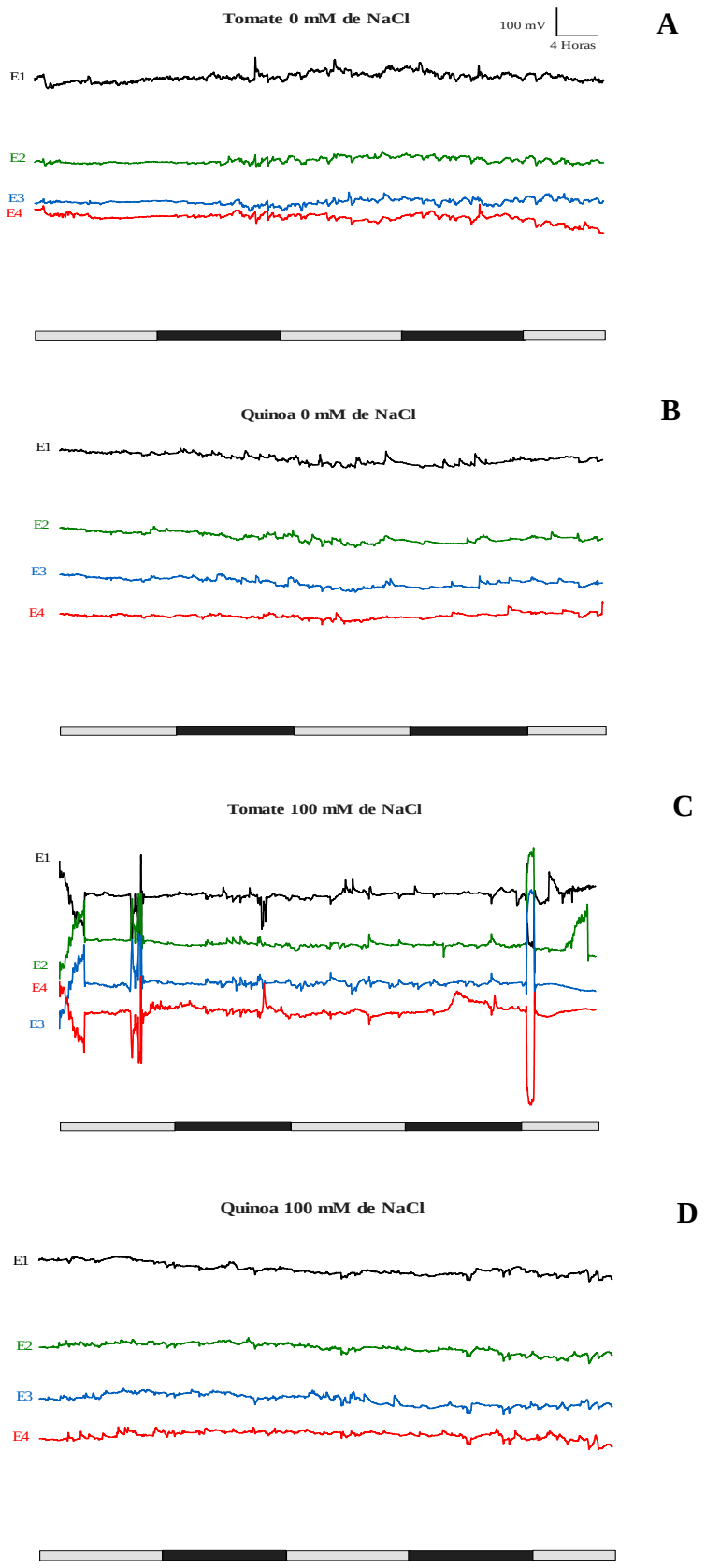

Figura 9. Potencial elétrico da membrana de plantas de tomateiro e quinoa sob diferentes concentrações (0 e 100 Mm de NaCl) mensurados durante o período diurno (barra cinza) e noturno (barra preta) durante 64 horas. Eletrodos (E1,2,3,4).

4.4 Discussão

A salinidade afeta diretamente a concentração de nutriente no solo, através da adição de sais, resultando na redução da disponibilidade hídrica. Nossos dados demonstram uma redução em 64 % no potencial hídrico de plantas de tomateiro (Figura 2), sendo superior a redução na quinoa entre os níveis de 0 e 100 mM de NaCl, o que pode estar relacionado com a diferença de influxo de íons de Na^+ entre as espécies tomate e quinoa. Espécies essas, que englobam o mesmo nível de tolerância a salinidade do feijão (sensível) e da atriplex (tolerante) (Gheyi et al., 2016), na qual no trabalho realizado por Zarei et al (2020), foi demostrado que acúmulo de Na^+ foi constante na atriplex (halófita) ao contrário do feijoeiro (glicófita), que variou de acordo com a concentração de NaCl.

A diferença da condutividade elétrica do substrato (Figura 3) entre as plantas de quinoa e tomateiro também corrobora com a hipótese de que as plantas glicófitas (tomate) apresentam maior absorção de sódio no início do estresse. As halófitas tendem a ser mais eficientes quanto aos mecanismos de tolerância a salinidade. Dentre esses mecanismos, o controle de íons na seiva do xilema realizado através de canais iônicos é importante para equilíbrio iônico da planta (Bose et al., 2013; Zarei et al., 2020). Esses canais iônicos estão relacionados com potencial de membrana. Parte desses transportadores são canais de ativação lenta ou ativação rápida, sendo ambos controlados por voltagem de cátions divalentes e polivalentes (Bonales-Alatorre et al., 2013), resultando em mudanças na diminuição do potencial de membrana, mudança de equilíbrio iônico via despolarização e deslocamento de íons para células subjacentes (Pyatygin et al., 2008), levando através das ondas de cálcio a sinalização sistêmica do estresse salino (Choi et al., 2014).

Nossos resultados demonstram diferenças quanto a cinética do potencial de membrana (Figura 4 a 7) em sinais elétricos como PAs e PVs, bem como características de amplitude e duração (Tabela 3 e 4) que corroboram com a hipótese que as plantas halofitas são mais eficientes no controle da absorção de íons e destaque o de sódio. Em plantas de atriplex, o conteúdo de Na^+ na folha não diferiu após 2 semanas sob salinidade, efeito contrário ao observado no feijão (Zarei et al., 2020), sendo que os sinais elétricos são originários de alteração de fluxo iônico, como exemplo, PA é oriundo de mudanças do fluxo passivo de íons de Ca^{+2}, K^+ e Cl^-, associado também a inativação da ATPase (Vodeneev et al., 2015) que, por sua vez, o aumento da atividade da H^+-ATPase da membrana plasmática esta ligado a tolerancia das espécies halófitas (Shabala et al., 2016).

A diferença quanto a geração e propagação do potencial de variação entre tomate e quinoa no controle (Figura 4 AB) pode estar relacionado com aspectos fisiológicos das espécies, uma vez que o sódio está ligado a mais funções na quinoa. O potencial de membrana em raiz de quinoa foi em torno -141 mV mais negativo que em Arabidopsis sendo -121 mV, que resulta numa força motriz maior para absorção de Na^+ para espécies halófitas em comparação com as glicófitas (Bose et al., 2013), podendo também ter influenciando nos valores médios do potencial hídrico da quinoa (Figura 1) no controle.

Os PVs observados no tomateiro sob a concentração 100 mM de NaCl (Figura 4C), podem ser oriundos da mudança de pH em função da concentração de sódio. Essas mudanças de pH extracelular e intracelular, induzem a inativação transiente da H^+-ATPase induzindo a geração de PVs (Sukhov et al., 2013; Vodeneev et al., 2015). Quanto ao mecanismo de propagação do PV, este não é completamente compreendido, mas um fator chave refere-se à regulação bioquímica da H^+-ATPase, modulada por múltiplos fatores e interações (Choi et al., 2016). Em plantas de *Cucurbita pepo* L. a propragação do PV foi associado a alcalinização do apoplasto e acidificação do citoplasma, provocando mudanças fotossintéticas (Sherstneva et al., 2015).

Fato importante a ressaltar é que parte dos PVs propagados e não propagados originaram nos eletrodos inseridos na folha (eletrodo 1) ou no caule (eletrodo 2), próximo da folha do tomateiro (Figura 4, 5 e 8B). Esses PVs podem causar a inativação de reações bioquímica da fotossíntese, como mecanismo de resposta inicial (Sukhov et al., 2016). Em contrapartida, as plantas de quinoa sob 100 mM de NaCl foi observado maioria dos PVs não foram originários do eletrodo inserido na folha (Figura 8B), esse dado corrobora com a hipótese que, plantas halófitas compartimentalizam de forma mais eficiente Na^+ no vacúolo de células da raiz e células companheiras dos vasos xilemáticos (Shabala, 2013). Através do canal iônico HKT ocorre o carregamento e descarregamento do Na^+ no xilema (Wu et al., 2018; Shabala et al., 2014). Segundo trabalho de Lan et al. (2010), demostrou que um grupo desse canal, denominado HKT2 atua como um canal não seletivo permeável ao Ca^{2+}, o que pode contribuir na hipótese que a partir dos PAs ou PVs, ocorre uma mudança transiente de íons em destaque o Ca^+, levando ativação de canais como HKT uniporte que realizam o descarregamento do Na^+ ao longo dos vasos xilemáticos.

O PV no tomateiro sob 100 mM (Figura 4, 5), exibiu uma dinâmica do potencial de membrana semelhante ao tomateiro e a quinoa sem estresse, evidenciado pelos valores de amplitude e duração do PV (tabela 3). Comportamento semelhante dos PVs em plantas de trigos com e sem estímulo por queima (Katicheva et al., 2015). Todavia, esse mesmo

comportamento não foi observado nas plantas de quinoa, na qual em condição de salinidade essa diferença pode ser vital quanto a eficiência de resposta ao estresse, pois na fase de repolarização do PV, além do efluxo de íons de K^+, também ocorre a reativação da H^+-ATPase, esse processo ocorre através do bombeamento dos prótons com gasto de ATP (Sondergaard et al., 2004; Katicheva et al., 2015).

Por sua vez, quanto mais longa a fase despolarização do PV, maior atividade da bomba de prótons e maior gasto de ATP. Em virtude dos transportadores eletrogeneticos, que englobam a ATPase e os canais iônicos sinporte e antiporte (Sukhova et al., 2017), de forma que, aplicação de ortovanadato reduziu atividade da H^+-ATPase não existindo a fase de repolarização (Katicheva et al., 2014). Nossos dados demonstram que plantas de tomateiro diferenciam da quinoa quanto ao número de PV, amplitude e duração (Tabela 3), na qual os PVs em plantas de quinoa foram de menor amplitude, e não ocorreu propagação entre os eletrodos (Figura 4 e 5). Esse fato pode ser explicado pelo fato das plantas de quinoa possuirem mecanismos de ajustamento iônico, osmótico e transporte por vesículas, que demandam gasto energético. Segundo estudo realizado por Hariadi et al. (2011), as folhas jovens demonstram de 80-85 % do ajustamento osmótico sob o intervalo de 0 -500 mM de NaCl. Plantas de quinoa sob 300 mM NaCl promoveram o aumento do conteúdo de prolina (Ruiz-Carrasco et al., 2011). O acúmulo de Na^+ do citosol é direcionado para o tonoplasto e o vacúolo através do canal NHX (Shabala et al., 2011).

Além da emissão de PV, a espécie de tomateiro demonstrou alta excitabilidade através da emissão de PAs, com maior taxa de propagação, tanto em condição de 0 e 100 mM de NaCl, que contrapõem as baixas taxas de propagação da quinoa (Figura 6). Esses PAs são resposta bioelétrica, oriunda de mudanças de potencial de membrana, deslocamentos de íons após uma despolarização, através de alteração no fluxo ou desbalanceamento iônico causado por despolarização (Pyatygin et al., 2008; Pyatygin et al., 2006), transmitindo de maneira rápida em longa ou curta distância, provocando mudanças fisiológicas ao longo da rota de propragação (Opritov et al., 1991). Dessa forma, os PAs originários no tomateiro, pode ser em resposta a alterações de concentração ou fluxo Na^+. Em plantas de Arabidopsis (Glicófita), a imposição de 100 Mm de NaCl, provocou maior despolarização do potencial de membrana em comparação com erva sal e quinoa (Halófitas) (Bose et al., 2014).

Na figura 7 o potencial de ação do tomateiro apresentou diferença para a quinoa sob 0 e 100 mM de NaCl. Em geral, com uma fase de despolarização mais acentuada e uma fase de repolarização rápida, evidenciado pela diferença da duração do PA (tabela 4), podendo está relacionada com a concentração de íons de K^+ e Na^+ diferente entre o tomate e a quinoa. Na

qual, plantas de atriplex (halófita) apresentaram uma concentração de K^+ 7 vezes maior em comparação ao feijão (glicófita) (Zarei et al., 2020). Outro ponto importante, trata-se que o tomateiro sob salinidade, apresentou PAs com caraterística da repolarização oriundo de um possível efluxo de K^+, o que não foi observado na quinoa, estando relacionado a diferença quanto relação iônica entre K^+ e Na^+. Em um estudo realizado por Bose et al. (2014), demostraram um efluxo de íons de K^+ em raízes de Arabidopsis, oriundo da despolarização da membrana ocasionado pelo Na^+, não observado em plantas halófitas.

Essa diferença de resposta a salinidade foi evidenciada pelos nossos resultados do potencial de ação (PA), que demonstram uma maior resposta por parte da espécie glicófita (tomate), apresentando um maior número de PAs, com maior amplitude do sinal (mV) e duração ($t_{1/2}$ s) (Tabela 4), que evidencia uma maior e rápida sensibilidade à salinidade por parte do tomateiro em comparação com a quinoa, em função do fluxo de Na^+ e efluxo de K^+. Em plantas de arabidopsis, o efluxo de K^+ foi duas vezes maior do que da erva sal e quinoa (Bose et al., 2014), já em planta de atriplex mantiveram a concentração constante de Na^+ nas folhas, diferentemente do feijoeiro, que aumentou em função da concentração de NaCl (Zarei et al., 2020). Ambos os processos (influxo ou efluxo) estão relacionados com a sinalização elétrica. Na fase de despolarização do PA, envolve os processos de influxo do Ca^{2+}, efluxo de Cl^- e efluxo de K^+ na fase de repolarização (Pyatygin et al., 2008; Vodeneev et al., 2016). Esse efluxo do K^+ durante o PA, pode representar menor tolerância salinidade, conforme as funções do K sobre atividade enzimática e osmorregulador, mantendo um equilíbrio entre absorção e translocação de íons de Na^+ e K^+ (Shabala et al., 2016). Dessa forma, plantas tolerantes, tendem a ter menos eventos de depolarização em função do estimulo da salinidade, assim como nossos dados de PAs e PVs nas plantas de quinoa (Tabela 3 e 4), pois durante a depolarização os canais GORK, realizam o efluxo de K^+ (Assaha et al., 2017). Disto, as células evitam a despolarização, para manutenção de um potencial de membrana mais negativo, impedindo o efluxo de K^+ (Falhof et al., 2016), podendo conferir um mecanismo de controle iônico que resulta na tolerância da planta.

Fato esse também observado na dinâmica da potência de membrana ao longo do período de mensuração (Figura 9), na qual a imposição do estresse salino provocou maior variação do potencial de membrana no tomateiro, resultando em menor estabilidade elétrica em comparação com o tomateiro sem salinidade. Essa mudança, em função da salinidade, não foi observada no potencial de membrana da quinoa, com dinâmica similar a quinoa sem salinidade. Dssa forma, esse controle do potencial de membrana pode estar diretamente relacionado com a tolerância das plantas hálofitas ao estresse salino, visto que o conteúdo de

lipídios totais de plantas *Crithmum maritimum* (Halófita) foi alterado somente após 5 semanas de exposição a 200 mM de NaCl (Bem Hamed et al., 2005). Já as plantas de Triticum aestivum apresentaram alteração na concentração de lipídios em 1 semana sob 50 mM de NaCl (Magdy et al., 1994), na qual essas mudanças lipídicas influenciam na resposta da planta quanto a regulação da fluidez e permeabilidade da membrana (Tsydendambaev et al., 2013), corroborando com os nossos resultados referentes ao potencial de membrana. Assim, isto sugere, então, repostas diferentes das espécies glicófitas e halófias indiretamente ao fluxo de íons, demonstrando menor efeito da salinidade na espécie tolerante.

4.5 Conclusão

Nossos resultados relacionados a sinalização elétrica (PAs e PVs) denotam que, as diferenças de respostas elétricas entre as espécies são importantes para sobrevivência da planta, durante o estresse salino, em função de um possível controle do potencial de membrana mais eficiente pelas plantas halófitas (quinoa). Assim, é evidenciado pela diferença do potencial de membrana entre tomate e quinoa longo do período 64 horas de medida sob concentração de 0 e 100 mM de NaCl. Grande parte dos sinais elétricos gerados (PAs e PVs) no tomateiro partiram dos eletrodos próximos ao ápice da planta, todavia, em plantas de quinoa foi observado a partir de eletrodos próximo ao colo da planta. A quinoa possue uma dinâmica bioelétrica diferente dos tomateiros.

Referências

Adolf, V. I., Jacobsen, S-E., & Shabala, S. (2013). Salt tolerance mechanisms in quinoa (Chenopodium quinoa Willd.). Environmental and Experimental Botany, 92, 43-54. https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2012.07.004.

Ahanger, M. A., Aziz, U., Alsahli, A. A., Alyemeni, M. N., & Ahmad, P. (2019). Influence of Exogenous Salicylic Acid and Nitric Oxide on Growth, Photosynthesis, and Ascorbate-Glutathione Cycle in Salt Stressed Vigna angularis. Biomolecules, 10(1), 42. https://doi.org/10.3390/biom10010042.

Assaha, D., Ueda, A., Saneoka, H., Al-Yahyai, R., & Yaish, M. W. (2017). The Role of Na+ and K+ Transporters in Salt Stress Adaptation in Glycophytes. Frontiers in physiology, 8, 509. https://doi.org/10.3389/fphys.2017.00509.

Bonales-Alatorre, E., Pottosin, I., Shabala, L., Chen, Z. H., Zeng, F., Jacobsen, S. E., & Shabala, S. (2013). Differential activity of plasma and vacuolar membrane transporters contributes to genotypic differences in salinity tolerance in a Halophyte Species, Chenopodium quinoa. International journal of molecular sciences, 14(5), 9267–9285. https://doi.org/10.3390/ijms14059267.

Bose, J., Rodrigo-Moreno, A., Lai, D., Xie, Y., Shen, W., & Shabala, S. (2015). Rapid regulation of the plasma membrane H^+-ATPase activity is essential to salinity tolerance in two halophyte species, Atriplex lentiformis and Chenopodium quinoa. Annals of botany, 115(3), 481–494. https://doi.org/10.1093/aob/mcu219.

Bose, J., Xie, Y., Shen, W., & Shabala, S. (2013). Haem oxygenase modifies salinity tolerance in Arabidopsis by controlling K^+ retention via regulation of the plasma membrane H^+-ATPase and by altering SOS1 transcript levels in roots. Journal of experimental botany, 64(2), 471–481. https://doi.org/10.1093/jxb/ers343.

Bulychev, A. A., & Komarova, A. V. (2017). Implication of long-distance cytoplasmic transport into dynamics of local pH on the surface of microinjured Chara cells. Protoplasma, 254(1), 557–567. https://doi.org/10.1007/s00709-016-0975-x.

Cai, Z. Q., & Gao, Q. (2020). Comparative physiological and biochemical mechanisms of salt tolerance in five contrasting highland quinoa cultivars. BMC plant biology, 20(1), 70. https://doi.org/10.1186/s12870-020-2279-8.

Capelin, D. (2016). Caracterização eletrofisiológica em girassol: cinética, rotas de propagação, trocas gasosas e fluorescência da clorofila. Tese de Doutorado, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba. doi:10.11606/T.11.2017.tde-06012017-114716.

Casaroli, D., DE Jonvan Lier, Q. (2008). Critérios para determinação da capacidade de vaso. Revista Brasileira de Ciência do Solo, 32(1), 59–66. https://doi.org/10.1590/S0100-06832008000100007.

Choi, W. G., Hilleary, R., Swanson, S. J., Kim, S. H., & Gilroy, S. (2016). Rapid, Long-Distance Electrical and Calcium Signaling in Plants. Annual review of plant biology, 67, 287–307. https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-043015-112130.

Choi, W. G., Toyota, M., Kim, S. H., Hilleary, R., & Gilroy, S. (2014). Salt stress-induced Ca2+ waves are associated with rapid, long-distance root-to-shoot signaling in plants. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 111(17), 6497–6502. https://doi.org/10.1073/pnas.1319955111.

Devkar, V., Thirumalaikumar, V.P., Xue, G.-P., Vallarino, J.G., Turečková, V., Strnad, M., Fernie, A.R., Hoefgen, R., Mueller-Roeber, B. and Balazadeh, S. (2020), Multifaceted regulatory function of tomato SlTAF1 in the response to salinity stress. New Phytol, 225: 1681-1698. https://doi.org/10.1111/nph.16247.

Falhof, J., Pedersen, J. T., Fuglsang, A. T., and Palmgren, M. (2016). Plasma membrane H+-ATPase regulation in the center of plant physiology. Mol. Plant 9, 323–337. https://doi: 10.1016/j.molp.2015.11.00.

Gheyi, H., Dias, N. da S,. Larcerda, C. F., Filho, E. G. (2016) Manejo da salinidade na agricultura: estudos básicos e aplicados (2ª ed). Fortaleza: INCTSal.

Guarino, F., Ruiz, K. B., Castiglione, S., Cicatelli, A., & Biondi, S. (2020). The combined effect of Cr(III) and NaCl determines changes in metal uptake, nutrient content, and gene expression in quinoa (Chenopodium quinoa Willd.). Ecotoxicology and environmental safety, 193, 110345. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.110345.

Hamed, K., Ben Youssef, N., Ranieri, A., Zarrouk, M., & Abdelly, C. (2005). Changes in content and fatty acid profiles of total lipids and sulfolipids in the halophyte Crithmum maritimum under salt stress. Journal of plant physiology, 162(5), 599–602. https://doi.org/10.1016/j.jplph.2004.11.010.

Hariadi, Y., Marandon, K., Tian, Y., Jacobsen, S. E., & Shabala, S. (2011). Ionic and osmotic relations in quinoa (Chenopodium quinoa Willd.) plants grown at various salinity levels. Journal of experimental botany, 62(1), 185–193. https://doi.org/10.1093/jxb/erq257.

Hoagland, D. R., Arnon. D. I. (1950). The waterculture method for growing plants without soil. Berkeley, CA: Agric. Exp. Stn., Univ. of California. (Circ. 347).

Honghong, Wu. (2018). Plant salt tolerance and Na^+ sensing and transport, The Crop Journal, 6 (3), 215-225. https://doi.org/10.1016/j.cj.2018.01.003.

Jayakannan, M., Bose, J., Babourina, O., Rengel, Z., & Shabala, S. (2013). Salicylic acid improves salinity tolerance in Arabidopsis by restoring membrane potential and preventing salt-induced K+ loss via a GORK channel. Journal of experimental botany, 64(8), 2255–2268. https://doi.org/10.1093/jxb/ert085.

Jia, Jianhua, Liang, Yufei, Gou, Tianyun, Hu, Yanhong, Zhu, Yongxing, Huo, Heqiang, Guo, Jia, Gong, Haijun. (2020). The expression response of plasma membrane aquaporins to salt stress in tomato plants. Environmental and Experimental Botany, 178(1), 104190–. doi:10.1016/j.envexpbot.2020.104190.

Katicheva, L., Sukhov, V., Bushueva, Bushueva, A., & Vodeneev, V. (2015). Evaluation of the open time of calcium channels at variation potential generation in wheat leaf cells. Plant signaling & behavior, 10(3), e993231. https://doi.org/10.4161/15592324.2014.993231.

Katicheva, L., Sukhov, V., Akinchits, E., Vodeneev, V. (2014). Ionic Nature of Burn-Induced Variation Potential in Wheat Leaves, Plant and Cell Physiology, 55(8), August 2014, 1511–1519, https://doi.org/10.1093/pcp/pcu082.

Kiani-Pouya, A., Rasouli, F., Shabala, L., Tahir, A. T., Zhou, M., & Shabala, S. (2020). Understanding the role of root-related traits in salinity tolerance of quinoa accessions with contrasting epidermal bladder cell patterning. Planta, 251(5), 103. https://doi.org/10.1007/s00425-020-03395-1.

Lan, W. Z., Wang, W., Wang, S. M., Li, L. G., Buchanan, B. B., Lin, H. X., Gao, J. P., & Luan, S. (2010). A rice high-affinity potassium transporter (HKT) conceals a calcium-permeable cation channel. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 107(15), 7089–7094. https://doi.org/10.1073/pnas.1000698107.

Macedo, F. C. O. (2015). Electrical signaling, gas exchange and turgor pressure in ABA-deficient tomato (cv. Micro-Tom) under drought. Tese de Doutorado, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba. doi:10.11606/T.11.2016.tde-07012016-171609.

Magdy M., Mansour F., Hasselt P.R., Kuiper P.J. (1994). Plasma membrane lipid alterations induced by NaCl in winter wheat roots. Physiol. Plant, 92, 473–478. https://doi: 10.1111/j.1399-3054.1994.tb08838.x.

Mansour, M.M.F. (2013). Plasma membrane permeability as an indicator of salt tolerance in plants. Biol Plant, 57, 1–10. https://doi.org/10.1007/s10535-012-0144-9.

Munns, R., & Tester, M. (2008). Mechanisms of salinity tolerance. Annual review of plant biology, 59, 651–681. https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.59.032607.092911.

Opritov, V.A., Pyatygin, S.S., and Retivin, V.G. (1991). Bioelektrogenez u vysshikh rastenii (Bioelectrogenesis in Higher Plants), Moscow: Nauka, 1991.

Paszewski, A., Zawadzki, T. (1973). Action potentials in Lupinus anguslifolius L. shoots. Journal of Experimental Botany 24, 804-9.

Pottosin, I., Zepeda-Jazo, I., Bose, J., & Shabala, S. (2018). An Anion Conductance, the Essential Component of the Hydroxyl-Radical-Induced Ion Current in Plant Roots. International journal of molecular sciences, 19(3), 897. https://doi.org/10.3390/ijms19030897.

Pyatygin, S.S., Opritov, V.A. & Vodeneev, V.A. (2008). Signaling role of action potential in higher plants. Russian Journal of Plant Physiology, 55, 285–291. https://doi.org/10.1134/S1021443708020179.

Pyatygin, S.S., Vodeneev, V.A., and Opritov, V.A. (2006). Depolarization of the Plasma Membrane as a Universal Primary Bioelectric Response of Plant Cells to Various Factors, Usp. Sovrem. Biol, 126, 493–502.

Pyatygin, S.S., Vodeneev, V.A., and Opritov, V.A., (2005). Coupling of Action Potential Generation and Metabolism in Plant Cells: Current View on the Problem. Sovrem. Biol, 125, 520–528.

Richards, L. A. (1954). Diagnosis and improvement of saline and alkali soils. Washington: US Departmentof Agriculture.

Ruiz-Carrasco, K., Antognoni, F., Coulibaly, A. K., Lizardi, S., Covarrubias, A., Martínez, E. A., Molina-Montenegro, M. A., Biondi, S., & Zurita-Silva, A. (2011). Variation in salinity tolerance of four lowland genotypes of quinoa (Chenopodium quinoa Willd.) as assessed by growth, physiological traits, and sodium transporter gene expression. Plant physiology and biochemistry, 49(11), 1333–1341. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2011.08.005.

Scholander, P. F., Bradstreet, E. D., Hemmingsen, E. A., & Hammel, H. T. (1965). Sap Pressure in Vascular Plants: Negative hydrostatic pressure can be measured in plants. Science (New York, N.Y.), 148(3668), 339–346. https://doi.org/10.1126/science.148.3668.339.

Shabala, L., Mackay, A., Tian, Y., Jacobsen, S. E., Zhou, D., & Shabala, S. (2012). Oxidative stress protection and stomatal patterning as components of salinity tolerance mechanism in quinoa (Chenopodium quinoa). Physiologia plantarum, 146(1), 26–38. https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2012.01599.x.

Shabala, S. (2013). Learning from halophytes: physiological basis and strategies to improve abiotic stress tolerance in crops, Annals of Botany, 112(7), 1209–1221, https://doi.org/10.1093/aob/mct205.

Shabala, S., & Pottosin, I. (2014). Regulation of potassium transport in plants under hostile conditions: implications for abiotic and biotic stress tolerance. Physiologia plantarum, 151(3), 257–279. https://doi.org/10.1111/ppl.12165.

Shabala, S., Bose, J., & Hedrich, R. (2014). Salt bladders: do they matter?. Trends in plant science, 19(11), 687–691. https://doi.org/10.1016/j.tplants.2014.09.001.

Shabala, S., Bose, J., Fuglsang, A. T., & Pottosin, I. (2016). On a quest for stress tolerance genes: membrane transporters in sensing and adapting to hostile soils. Journal of experimental botany, 67(4), 1015–1031. https://doi.org/10.1093/jxb/erv465.

Sherstneva, O. N., Vodeneev, V. A., Katicheva, L. A., Surova, L. M., & Sukhov, V. S. (2015). Participation of intracellular and extracellular pH changes in photosynthetic response development induced by variation potential in pumpkin seedlings. Biochemistry. Biokhimiia, 80(6), 776–784. https://doi.org/10.1134/S0006297915060139.

Sondergaard, T. E., Schulz, A., & Palmgren, M. G. (2004). Energization of transport processes in plants roles of the plasma membrane H+-ATPase. Plant physiology, 136(1), 2475–2482. https://doi.org/10.1104/pp.104.048231.

Sukhov V. (2016). Electrical signals as mechanism of photosynthesis regulation in plants. Photosynthesis research, 130(1-3), 373–387. https://doi.org/10.1007/s11120-016-0270-x.

Sukhov, V., Akinchits, E., Katicheva, L., & Vodeneev, V. (2013). Simulation of variation potential in higher plant cells. The Journal of membrane biology, 246(4), 287–296. https://doi.org/10.1007/s00232-013-9529-8.

Sukhova, E., Akinchits, E., & Sukhov, V. (2017). Mathematical Models of Electrical Activity in Plants. The Journal of membrane biology, 250(5), 407–423. https://doi.org/10.1007/s00232-017-9969-7.

Sukhova, E., Mudrilov, M., Vodeneev, V., & Sukhov, V. (2018). Influence of the variation potential on photosynthetic flows of light energy and electrons in pea. Photosynthesis research, 136(2), 215–228. https://doi.org/10.1007/s11120-017-0460-1.

Tsydendambaev V.D., Ivanova T.V., Khalilova L.A., Kurkova E.B., Myasoedov N.A., Balnokin Y.V. (2013). Fatty acid composition of lipids in vegetative organs of the halophyte Suaeda altissima under different levels of salinity. Russ. J. Plant Physiol. 60, 661–671. https://doi: 10.1134/S1021443713050142.

Vodeneev, V., Akinchits, E., & Sukhov, V. (2015). Variation potential in higher plants: Mechanisms of generation and propagation. Plant signaling & behavior, 10(9), e1057365. https://doi.org/10.1080/15592324.2015.1057365.

Vodeneev, V., Katicheva, L., & Sukhov, V. (2016). Electrical signals in higher plants: Mechanisms of generation and propagation. Biophysics, 61, 505-512. https://doi.org/10.1134/S0006350916030209.

Volkov V. (2015). Salinity tolerance in plants. Quantitative approach to ion transport starting from halophytes and stepping to genetic and protein engineering for manipulating ion fluxes. Frontiers in plant science, 6, 873. https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00873.

Volkov, V., & Amtmann, A. (2006). Thellungiella halophila, a salt-tolerant relative of Arabidopsis thaliana, has specific root ion-channel features supporting K+/Na+ homeostasis under salinity stress. The Plant journal: for cell and molecular biology, 48(3), 342–353. https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2006.02876.x.

Wang, B., Davenport, R. J., Volkov, V., & Amtmann, A. (2006). Low unidirectional sodium influx into root cells restricts net sodium accumulation in Thellungiella halophila, a salt-tolerant relative of Arabidopsis thaliana. Journal of experimental botany, 57(5), 1161–1170. https://doi.org/10.1093/jxb/erj116.

Wu, Honghong (2018). Plant salt tolerance and Na + sensing and transport. The Crop Journal, 6 (3), S2214514118300187. https:// doi:10.1016/j.cj.2018.01.003.

Zarei, M., Shabala, S., Zeng, F., Chen, X., Zhang, S., Azizi, M., Rahemi, M., Davarpanah, S., Yu, M., & Shabala, L. (2020). Comparing Kinetics of Xylem Ion Loading and Its Regulation in Halophytes and Glycophytes. Plant & cell physiology, 61(2), 403–415. https://doi.org/10.1093/pcp/pcz205.

Zawadzki, T., Dziubińska, H. and Davies, E. (1995), Characteristics of action potentials generated spontaneously in Helianthus annuus. Physiologia Plantarum, 93: 291-297. https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1995.tb02231.x

5 EFEITO DAS NANOPARTÍCULAS DE SILÍCIO SOBRE ATIVIDADE ELÉTRICA EM PLANTAS NÃO ACUMULADORA, SOB ESTRESSE SALINO

Resumo

As plantas são responsivas ao estímulo do seu habitat através de uma rede complexa de mecanismos não totalmente conhecido. Logo, um desses estímulos é a salinidade, por ser capaz de provocar danos a maioria das culturas agrícolas. Dessa forma, objetivou-se analisar o papel das nanoparticulas de silício sobre o potencial de membrana e fotossíntese de plantas sob salinidade. Nestes trabalhos, as plantas de tomate foram submetidas por dois tempos de exposição 0 e 7 dias de irrigação com NaCl, com uso de SiNPs. Assim, foram realizadas as medidas eletrofisiológicas, simultaneamente, com trocas gasosas durante 7 horas. A priori, também foram realizadas medidas de potencial hídrico e diagnose nutricional. A salinidade influenciou negativamente o potencial hídrico tomateiro e em destaque sob 75 mM de NaCl aos 7 dias de irrigação, entretanto, o uso da SiNPs atenuou os efeitos no potencial hídrico. O tomateiro sem silício apresentou maior proporção do número total de sinais tanto ao 0 e 7 dias de irrigação que, por sua vez, as plantas tratadas com SiNPs foram menos responsivas a salinidade, mesmo o tomateiro sendo uma planta não acumuladora de silício. As SiNPs promoveram menor acumulo Na^+ no tomateiro, ao mesmo momento que contribui tambem para redução das relações Na^+/K^+, Na^+/Ca^{+2} e Na^+/Mg^{2+}. O excesso de sais aumentou a dissipação de energia para vias não fotoquímicas. O silício mitigou os efeitos da salinidade com uma menor excitabilidade elétricas das plantas, na concentração de nutriente e atividade fotossintética.

Palavra-chave: Eletrofisiológia, Trocas gasosas, Nanotecnologia, Salinidade

Abstract

Plants are responsive to the stimulus of their habitat through a complex network of mechanisms not fully understood. Therefore, one of these stimuli is salinity, as it is capable of causing damage to most agricultural crops. Thus, the objective was to analyze the role of silicon nanoparticles on the membrane potential and photosynthesis of plants under salinity. In these works, tomato plants were subjected to two exposure times 0 and 7 days of irrigation with NaCl, using SiNPs. Thus, they were performed as electrophysiological measurements, simultaneously, with gas exchange for 7 hours. A priori, measurements of water potential and nutritional diagnosis were also carried out. Salinity negatively affects the tomato water potential, especially under 75 mM NaCl at 7 days of irrigation, however, the use of SiNPs attenuated the effects on water potential. The silicon-free tomato plant showed a higher proportion of the total number of signs both at 0 and 7 days of irrigation, which, in turn, the plants treated with SiNPs were less responsive to salinity, even though the tomato plant is a non- silicon accumulating plant. The SiNPs promoted to lower Na^+ accumulation in tomato, at the same time that it also contributed to a reduction in the Na^+ / K^+, Na^+ / Ca^{+2} and Na^+ / Mg^{2+} ratios. Excess salts induced an increase in energy dissipation to non-photochemical pathways. Silicon mitigated the effects of salinity with lower excitability of plants, nutrient concentration and photosynthetic activity.

Keyword: Electrophysiology, Gas exchange, Nanotechnology, Salinity

5.1 Introdução

As plantas, apesar de seres vivos com característica séssil, são altamente responsivas a fatores externos do ambiente, através de estímulos e mediante complexa rede de reguladores químicos que, juntos, coordenam todos os processos fisiológicos e bioquímicos de células, órgão ou a planta como um todo (Choi et al., 2014). Dessa forma, mudanças na concentração de íons, açúcares, espécie reativas de oxigênio ou hormônios, desencadeiam reações como forma de sinalização, oriundos de princípios químicos, hidráulico ou elétrico. Sendo assim, o cálcio é um importante regulador de processos fisiológicos, mediante canais iônicos permeáveis (Demidchik et al., 2018), que geram respostas essenciais para sobrevivência das plantas aos constantes estímulos (luz, déficit hídrico, sais, temperatura, herbívora e patógenos) por meio de um padrão de fluxo de corrente elétrica entre células e órgão. Disto, as plantas detectam de forma seletiva as variações do ambiente, permitindo assim uma rápida adaptação (Szechyńska-Hebda et al., 2017).

Nesse contexto, essas mudanças na corrente elétrica influenciam no potencial de membrana, originando os sinais elétricos, na qual, são consideradas alterações transitórias no gradiente do potencial elétrico mediante a membrana plasmática (Sukhova et al., 2017; Vodeneev et al., 2015) e que diferem quanto ao padrão espacial e temporal, em função desses estímulos externos (Szechyńska-Hebda et al., 2017), podendo ser considerado como potencial sistêmico (SP), potencial de ação (PA) e potencial de variação (VP) (Vodeneev et al., 2016) e provocando mudanças em processos fisiológicos, como inibição da fotossíntese, aumento da respiração (Pyatygin, 2003), mudanças de pH intra e extracelular (Sherstneva et al., 2016) e diminuição dos rendimentos quânticos do fotossistema I e II (Sukhov et al., 2019).

O excesso de sais promove diversos efeitos danosos nas plantas, que podem resultar em estímulos elétricos. Logo, esses efeitos podem provocar desbalanceamento nutricional, estresse osmótico e estresse oxidativo, através do excesso de Na^+ (Bose et al., 2014; Gheyi et al., 2016), que afetam, de maneira geral, a disponibilidade, absorção e transporte de água e nutriente pela planta, fixação de CO_2 pelas folhas e biossíntese de carboidratos (Perri et al., 2019). Em resposta ao acúmulo de Na^+, as plantas apresentam mecanismos de controle, exclusão ou translocação com a participação de canais iônicos e bomba ATPases.

Dessa forma para translocação do Na^+ para os vacúolos através dos canais NHX precisam ser energizados pela H^{+-}ATPase e H^+-PPase (Shabala et al., 2019). Atividade essa da H^+-ATPase ligadas também geração de sinais elétricos, de maneira que a geração de potencial de ação (PA) está ligada com a inativação reversível da H^+-ATPase, já o potencial de variação

(PV) é associado a mudança transitória da H^+-ATPase (Pyatygin et al., 2008; Vodeneev et al., 2016).

Algumas espécies como *Glaux marítima, Atriplex barclayana, Suaeda esteroa, Salicornia bigelovii e Chenopodium quinoa*, tolerantes a salinidade e são denominadas de espécie halófitas, todavia, grande parte das espécies agrícolas são afetadas pela salinidade, sendo considerada espécies glicófitas (Gheyi et al., 2016). Dentre elas o tomateiro, com grande parte de variedades sensíveis a salinidade, mas também com espécies ancestrais tolerantes a salinidade, tais como, *S. chilense, S. pimpinellifolium, S. peruvianum, S. hirsutum, e S. pennellii* (Kashyap et al., 2020; Ghabi et al., 2017 b; Gharbi et al., 2017a). Nesse aspecto, a sua utilização como planta modelo, advém de fatores como a presença de raças locais, variedades selvagens e importância econômica (Pailles et al., 2020; Berni et al., 2018).

O silício é o segundo elemento mais presente na biosfera, na qual plantas privadas desse elemento apresentam maior susceptibilidade ao estresse biótico e abiótico (Epstein, 1999), em virtude dos efeitos atenuadores frente aos estresses por déficit hídrico (Thorne et al., 2020; Parveen et al., 2019; Ali et al., 2018), temperatura (Khan et al., 2021), salinidade (Khan et al., 2019; Mahmound et al., 2017; Carey et al., 2014) e, como por exemplo, uma menor redução dos teores de clorofila e carotenoides, aumento da eficiência fotossintética do PSII e do transporte de elétrons no tomateiro sob déficit hídrico (Zang et al., 2018). Logo, sob condição de salinidade, a aplicação de silício resultou na diminuição dos níveis de Na^+ e Cl^-, além do aumento da transpiração e condutância estomática de plantas de tomateiro (Li et al., 2015).

Porém, o uso de nanopartículas de silício é pouco investigado, em destaque na cultura não acumuladora. Todavia, sua utilização é vantajosa em função do tamanho, além de uma alta solubilidade e reatividade, sendo hábil diferentes formas de absorção pelas raízes e folhas (Usman et al., 2020; Jitao et al., 2019). Entretanto, o mecanismo pelo qual o silício promove a redução dos íons de Na^+ e Cl^- não é totalmente compreendido. Dessa forma, o presente trabalho tem como objetivo investigar o papel das SiNPs indiretamente nos canais iônico, através potencial de membrana, também avaliando a atividade fotossintética do tomateiro sob curto e longo período de estresse salino.

5.2 Material e Métodos

5.2.1 Condições do experimento e material vegetal

Os experimentos foram conduzidos em casa de vegetação do Laboratório de hormônio vegetal da universidade de São Paulo, Campus ESALQ, no município de Piracicaba-São Paulo. O delineamento experimental utilizado foi em blocos causalizados, no esquema fatorial 2x 2 x 3, referente a dois tempos de avaliação eletrofisiológica a partir da imposição do estresse salino sendo aos 0 e 7 dias, dois níveis de aplicação de nanopartículas de silício (0 e 500 mg/l) e três concentrações de NaCl (0, 10 e 75 mM), que equivale a 0: 10 e 75 dS m^{-1}, com seis repetições. As sementes foram semeadas em vasos com volume de 350 dm^{-3}, com substrato comercial Basaplant© e vermiculita expandida na relação 1;1. No preparo do substrato, foi realizado adubação na dose de 1 g L^{-1} de NPK na proporção 10:10:10 e 4 g L^{-1} de calcário domolítico ($MgCO_3$ + $CaCO_3$). O cultivo foi realizado em casa de vegetação e em ambiente controlado, com fotoperíodo 12/12 horas com intensidade de luz 300 a 350 µmol m^{-2} s^{-1}, temperatura de 25 a 28 °C e umidade relativa de 40 a 60%. ....

A irrigação foi realizada diariamente, com valores de lâmina e obtidos a partir da determinação da capacidade de vaso de acordo com Casaroli & Lier. (2018). Cada bloco era cultivado com intervalo de 7 dias e com vistas a diminuir a diferença de idade durante a análise eletrofisiológicas. A irrigação foi realizada diariamente e em quantidade suficiente para promover a percolação e manter os vasos na capacidade de campo. A cada sete dias foi realizada a aplicação de solução nutritiva de Hoagland & Arnon (1950), com os respectivos valores de nutrientes estabelecidos na tabela 1.

As soluções com diferentes concentrações de NaCl, foi formulada a partir do uso do cloreto de sódio com água deionizada, de acordo com USDA-ARS-US Salinity Laboratory. As plantas com irrigação 7 dias, a irrigação com água salina foi realizada aos 23 dias, após a semeadura da planta.

Tabela 1. Fonte de nutrientes e composição química do fertilizante Miracle-Gro®, empregado na formulação adaptada da solução nutritiva de Hoagland & Arnon (1950).

Fonte	**Quantidade (g L^{-1})**
Fertilizante Miracle-Gro®	0,46
Cloreto de potássio (KCl)	0,1
Cloreto de cálcio ($CaCl_2$)	0,26
Cloreto de Magnésio ($MgCl_2$)	0,1
Ferro-EDTA	1,0
Composição química do produto Miracle-Gro®	
Nutriente	**Quantidade (%)**
Nitrogênio Total	24
Fósforo (P)	8
Potássio (K)	16
Boro (B)	0,02
Cobre (Cu)	0,07
Ferro (Fe)	0,15
Manganês (Mn)	0,05
Molibdênio (Mo)	0,0005
Zinco (Zn)	0,06

5.2.2 Detalhamento das avaliações

5.2.2.1 Condutividade elétrica do substrato e do extrato de saturação

Após a realização das medidas elétricas de caraterização, foi realizado a determinação da condutividade elétrica do substrato com auxílio do medidor, condutividade e temperatura do solo Hanna modelo HI98331, já as medidas condutividade elétrica do extrato de saturação foi-se coletado o volume de 150 mL do extrato de saturação dos vasos. Assim, posteriormente as amostras foram encaminhadas e analisadas para o Cena/USP, com auxílio do medidor de condutividade elétrica.

5.2.2.2 Potencial hídrico

As medições do potencial hídrico, foram realizadas pelo método da câmara de pressão, de acordo com a metodologia de Scholander et al. (1965). As leituras foram realizadas 12 horas após as medidas elétricas, sendo realizada no terço médio da planta na sexta folha, com contagem a partir do ápice da planta e os valores foram expressos em MPa.

5.2.2.3 Obtenção das medidas eletrofisiológica das plantas

Os registros das medidas eletrofisiológicas foram realizados de acordo com o protocolo de medida do Laboratório de Biofísica da Universidade Maria Curie-Sklodowska da Polônia, proposto por Paszewski e Zawadzki (1973), sendo adaptado por Macedo (2015) para condições locais. Aos 27 dias, após a semeadura, as plantas foram aclimatadas no Laboratório de Estudo de Plantas sob Estresse (LEPSE), acondicionadas em gaiolas de Faraday com dimensões A x L x C (110 a 85 por 120 cm), com blindagem de 1 cm^2 para assegurar o isolamento eletromagnético no intervalo de 12 horas antes do início da avaliação e sendo mantidas sob uma intensidade de luz de 300 µmol m^{-2} s^{-1}, através de luzes de LED, com condições de umidade, temperatura e CO_2 semelhante a condição de casa de vegetação.

Dessa forma, 12 horas antes do início das leituras elétricas, foram inseridos eletrodos de registro do tipo Ag/AgCl, com uso do fio de prata e com diâmetro variando 0,50 mm para plantas de tomateiro (*Solanum lycopersicum*). Antes de serem inseridos nas plantas, os eletrodos foram clorados com solução 3M KCl, posteriormente foram inseridos na planta de acordo com a disposição da figura 1. Sendo assim, cada eletrodo foi conectado ao LAB TRAX-4/24T (World Precision Instruments®), com 4 canais e amplificador, com resistência de entrada de cada canal de 100 GΩ e ele foi conectado a uma unidade de processamento através do software Labscribe.

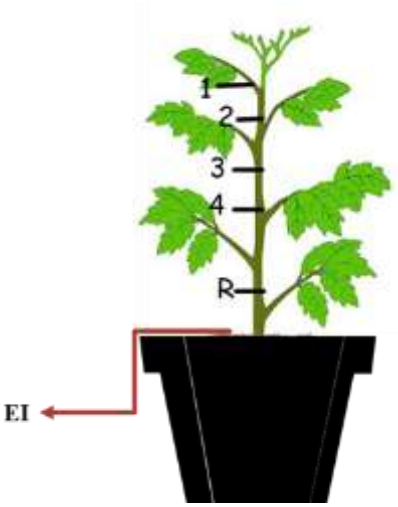

Figura 1. Disposição dos eletrodos na planta de tomateiro sob as concentrações de 0, 10 e 75 mM de NaCl. Eletrodo de referência (R); eletrodo de aterramento.

Entre os parâmetros eletrofisiológicos avaliados estão a amplitude do sinal (mV), duração de pico e velocidades para os potencias de ação e potencias de variação. Nos

cálculos, foram levados em consideração à distância entre dois eletrodos de medidas (E1,2,3,4) e o tempo necessário para o sinal atravessar os eletrodos no segmento do caule e foliar. As medidas foram realizadas pelo monitoramento por 8 horas (Macedo, 2015; Zawadzki et al., 2008).

Tabela 2. Distribuição e distanciamento dos eletrodos ao longo das plantas de tomate com aplicação de nanoparticulas de silício sob os níveis de concentração de NaCl de 0, 10 e 75 Mm.

	0 dias		**7 dias**	
Eletrodos	**Tomate sem Si**	**Tomate com Si**	**Tomate sem Si**	**Tomate com Si**
E1-E2 (cm)	2	2	2	2
E2-E3 (cm)	2	2	2	2
E3-E4 (cm)	2	2	2	2
E4-ER (cm)	3	3	3	3
ER-Substrato (cm)	7,84	7,94	5,1	4,5
Média da altura (cm)	21,06	19,99	14,96	16,68
Folha	2ª	2ª	2ª	2ª

5.2.2.4 Avaliação de trocas gasosas

As medidas de trocas gasosas foram realizadas de forma simultânea com as medições eletrofisiológica. Foi utilizado o medidor de gases por infravermelho portátil (IRGA), da LI-COR modelo LI-6400 XT (Li-cor ®, Nebraska, EUA), com a razão fotossintéticamente ativa constante (1000 µmol $m^{-2}s^{-1}$), concentração de CO_2 (400 µmol m^{-1}), temperatura (29º C) e umidade relativa (~60%). As medidas foram realizadas nos horários das 8 às 1 horas da manhã, no primeiro folíolo da terceira folha, a partir do ápice da planta (Tatagiba et al., 2014). Os parâmetros mensurados foram a taxa fotossintética (A, µmol CO_2 m^{-2} s^{-1}), taxa de transpiração (E, mmol H_2O m^{-2} s^{1}-) condutância estomática (gs, mol H_2O m^{-2} s^{-1}) e a concentração intercelular de CO_2 (Ci, µmol m^{-2} s^{-1}). Disto, a eficiência no uso da água (EUA, µmol CO_2 m^{-2} s^{-1}) foi calculada através da razão A/E e a eficiência instantânea de caborxilação (mol H_2O m^{-2} s^{-1}) através da razão de A e Ci.

5.2.2.5 Concentração foliar de potássio, cálcio, magnésio, sódio e silício

Após 12 horas da medida elétrica, foi realizada a amostragem composta para diagnose nutricional. Para a determinação da concentração de nutrientes, sódio e silício nas folhas, foi coletada a 5 ou a 6 folhas a partir do ápice do tomateiro, aproximadamente entre 5

a 6 g de material foliar seco em estufa de circulação de ar forçada a 65 º por 75 horas. Posteriormente, o material foi moído em moinho do tipo IKA, modelo A11 basic e realizado a preparação dos extratos para posterior análise do tecido vegetal. Os teores de potássio, cálcio, magnésio e sódio foram analisados de acordo com a metodologia proposta por Miyazama et al. (2009) e o teor de silício foi obtido a partir da extração, conforme a metodologia descrita por Kraska e Breitenbeck (2010). Já as leituras foram realizadas através de espectrometria, sob onda de 410 nm, conforme descrito por Kondorfer et al (2004).

5.2.2.6 Medidas de fluorescência da clorofila por imagem

Para as medidas de fluorescência da clorofila ao longo do tempo, as plantas foram cultivadas sob mesmas condições das plantas utilizadas para medições elétricas, sendo acondicionadas a condições do laboratório com 3 dias antes. As imagens foram obtidas durante os dias 0 e 7 de imposição do estresse, com início a partir dos 30 dias após a semeadura. As medições de florescência foram obtidas através do fluorômetro imaging-Pam (Walz, Effeltrich, Alemanha), as medições foram realizadas em folhas totalmente expandida de plantas saudáveis. Foi utilizado AOI, do tipo círculo, para avaliar a heterogeneidade espacial a partir dos três pontos demarcado nas folhas.

Antes do início das medidas, todas as plantas foram colocadas no escuro por 20 minutos, para determinação dos parâmetros de fluorescência F_v/F_m e Fm no escuro, através do pulso de saturação azul. Esse pulso foi 8.000 μmol fótons m^{-2} s^{-1} por 1 s. Também foi utilizado um pulso de luz de baixa frequência (0,5 μmol fótons $m^{-2} \cdot s^{-1}$) para determinar a fluorescência inicial F_0. Assim, os demais parâmetros Φ PSII, Fv, F_m' NPQ, qN, qP e Φ NO (Y No) foram obtidos através da iluminação actinica (336 μmol fótons $m^{-2} \cdot s^{-1}$) e todos os parâmetros de fluorescência da clorofila foram calculados pelo software Imaging Win v2.32.

5.2.3 Análises estatísticas

Os dados foram submetidos a análise de variância pelo teste F a nível de 1 e 5 % de probabilidade, após uma análise de normalidade dos dados (Ver teste). As médias referentes ao tratamento foram submetidos ao teste de média de Tukey a nível de 5 % probabilidade. Os teores de nutrientes também foram submetidos a análise de correlação. Foi utilizado o

software R®, versão 3.5.1 2019 e software Agrostat ®. Os gráficos e tabelas foram realizados no software SiglmaPlot ® versão 12 e software Excel® 2016.

5.3 Resultados

5.3.1 Condutividade elétrica e potencial hídrico

A condutividade elétrica do extrato de saturação aumentou em função dos níveis de NaCl aos 0 dias de irrigação (Figura 2A), elevando em 66,6 % entre os níveis 0 e 75 mM. Esse aumento também foi observado nas plantas irrigadas, durante 7 dias, com as concentrações de NaCl (0;10 e 75 mM) respectivamente de 64,0 % entre os níveis 0 e 75 mM. Os tratamentos com SiNPs não apresentaram diferença significativa, sendo apenas no nível de 75 mM aos 0 dias de irrigação apresentou uma diferença 12,5 %.

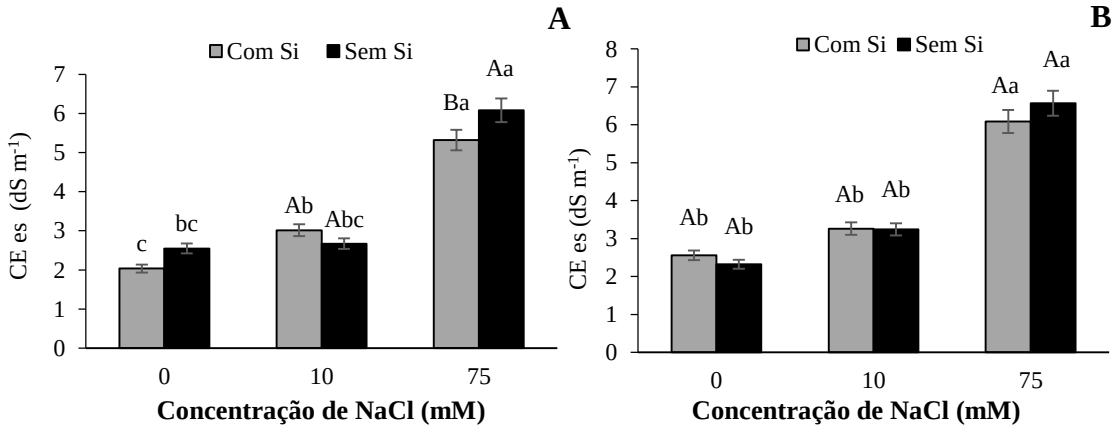

Figura 2. Condutividade eletrica do extrato de saturação e do substrato de vasos cultivado com plantas de tomateiro submetida a diferentes níveis de concentração de NaCl (0; 10 e 75 mM) e aplicação de nanopartículas de silício. **A**: plantas irrigadas 0 dias com NaCl, **B**: plantas irrigadas 7 dias com NaCl. Médias seguidas de pelo menos uma letra, minúscula entre a concentração de NaCl, maiúscula entre doses de SiNPs não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de probabilidade ($p<0,05$), n= 6.

O aumento da concentração de NaCl, também promoveu elevação da condutividade elétrica do substrato (Figura 3 A), com o incremento médio de 69,37%, entre os níveis 0 e 75 mM, nas plantas irrigada ao 0 dia com NaCl. Esse aumento também foi observado na CE do substrado após 7 dias de irrigação com NaCl, com o aumento em 89% entre os níveis 0 a 75 mM de NaCl. A aplicação de nanopartículas de silício não causaram mudanças significativa da CE do substrato em função das concentrações em dias de irrigação.

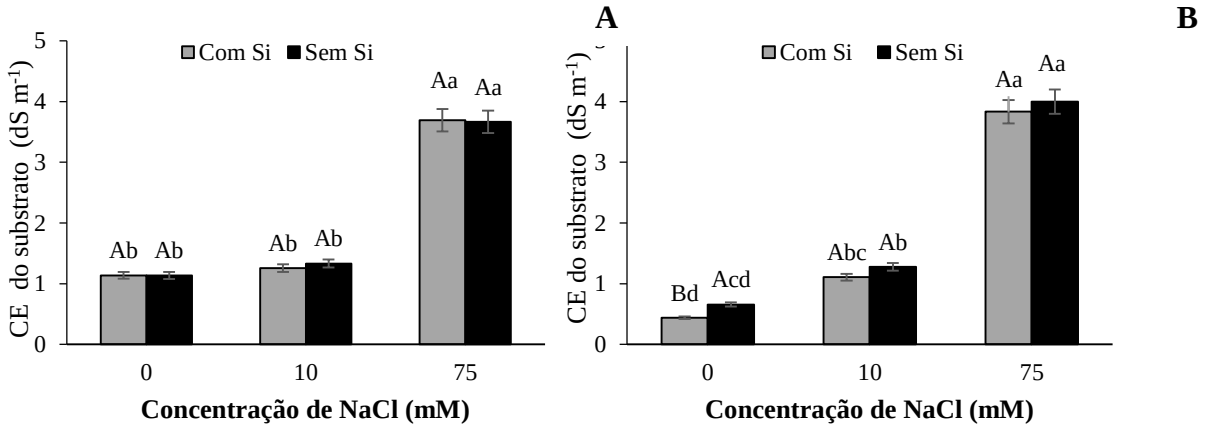

Figura 3. Condutividade elétrica do substrato de vasos cultivado com plantas de tomateiro, submetida a diferentes níveis de concentração de NaCl (0; 10 e 75 mM) e aplicação de nanoparticulas de silício. **A**: plantas irrigadas 0 dias com NaCl, **B**: plantas irrigadas 7 dias com NaCl. Médias seguidas de pelo menos uma letra, minúscula entre a concentração de NaCl, maiúscula entre doses de SiNPs não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de probabilidade ($p<0,05$), n= 6.

De acordo com a figura 4 (A), o aumento da concentração de NaCl foi inversamente proporcional ao potencial hídrico mais negativo, com redução de 52,1% nas plantas ausentes de SiNPs e de 45% nas plantas com SiNPs entre os níveis 0 e 75 mM de NaCl. Após 7 dias de irrigação com NaCl (Figura 4B), foi observado uma redução em 52,6 % entre os níveis 0 e 75 mM, na qual foi superior as plantas com SiNPs, redução de 49 %.

A aplicação de SiNPs nas plantas de tomateiro irrigada por 7 dias com NaCl (Figura 4B) influenciou de maneira significativa o potencial hídrico, sendo menores em 36,3 %; 21,8 % e 43% em comparação com as plantas se aplicação de SiNPs, sobre os níveis de 0, 10 e 75 mM de NaCl. Esse mesmo efeito foi observado no período de 0 dias de estresse, todavia, não foi de maneira significativa.

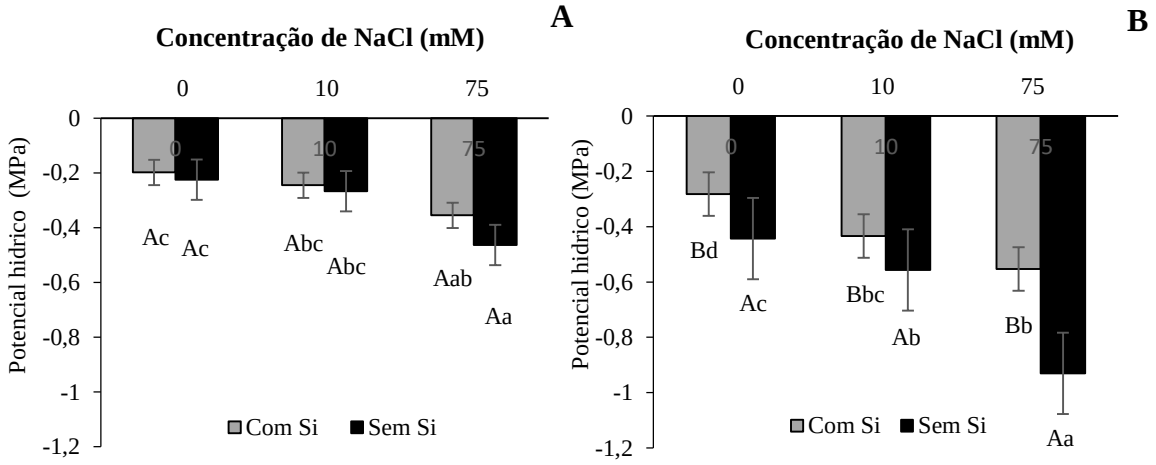

Figura 4. Potencia hídrico foliar de plantas de tomateiro submetida a diferentes níveis de concentração de NaCl (0; 10 e 75 mM) e aplicação de nanopartículas de silício. **A**: plantas irrigadas 0 dias com NaCl, **B**: plantas irrigadas 7 dias com NaCl. Médias seguidas de pelo menos uma letra, minúscula entre a concentração de NaCl, maiúscula entre doses de SiNPs não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de probabilidade ($p<0,05$), n= 6.

5.3.2 Potencial de ação em curto e longo estresse salino

A cinética de variação do potencial de membrana, classificada como um potencial de variação, não foi observada nas plantas avaliadas durante as condições de 0 e 7 dias de irrigação, com diferentes níveis de concentração de NaCl. Entretanto, 50% das plantas avaliadas responderam a irrigação com NaCl (0, 10 e 75 mM) sob o estresse curto (0 dias de irrigação), sendo que os tratamentos sem silício sob 10 e 75 mM de NaCl, apresentaram maior percentagem de 15,38 % (Tabela 3). Na condição de 7 dias de irrigação com NaCl, as plantas de tomateiro, ausente de SiNPs e sob a concentração de 75 mM de NaCl, apresentaram maior percentagem do número total de sinal, correspondente a 26,32 %, enquanto as plantas com SiNPs, sob mesma concentração, corresponderam por 21,05 %.

Tabela 3. Percentagem no total de sinais (PAs e PVs) por tratamento, referente ao tempo de irrigação e com diferentes concentrações de NaCl, 0 e 7 dias em plantas de tomateiro e com aplicação de nanopartículas de silício (SiNPs).

	0 dias	**7 dias**
Tratamento	**% nº total de sinal**	**% nº total de sinal**
0 mM de NaCl/com Si	11,54	21,05
0 mM de NaCl /Sem Si	3,85	10,53
10 mM de NaCl/ com Si	11,54	10,52
10 mM de NaCl/ Sem Si	15,38	10,52
75 mM de NaCl/ Com Si	11,54	21,05
75 mM de NaCl/ Sem Si	15,38	26,32

Além dessa diferença quanto a percentagem do número total de sinal, também foi observado diferença dos PAs, quanto ao comportamento do potencial de membrana das plantas tratadas com SiNPs e ausentes (Figura 5), de maneira que as plantas ausentes de SiNPs, irrigadas com 10 e 75 mM de NaCl, obtiveram um padrão semelhante dos PAs, todavia, esse comportamento diferiu das plantas com SiNPs, em destaque sob a concentração de 75 mM de NaCl, diferenciando quanto a duração da fase repolarização e amplitude do PAs associado com propagação basipéta do sinal entre os eletrodos 3 e 2.

Sob a concentração de 0 mM de NaCl, as plantas tanto com nanopartículas de silício e ausentes (Figura 5), demonstraram uma excitabilidade do potencial de membrana, com rápidas fases de repolarização, originando PAs na proporção de 11,54 e15,38%, respectivamente, com e sem silício (Quadro 2).

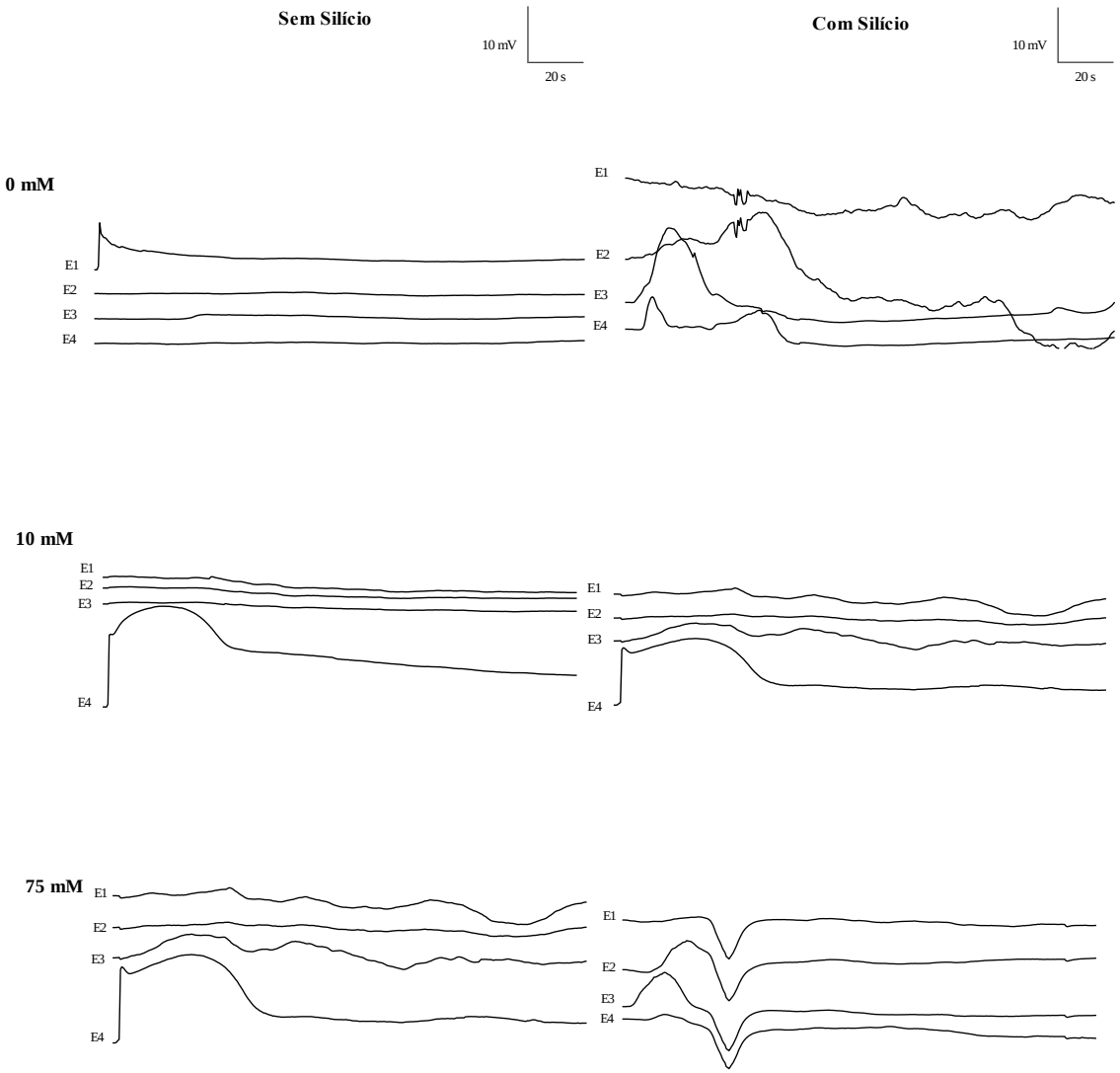

Figura 5. Potencial de ação (PAs) de plantas de tomateiro submetido a diferentes níveis de concentração de NaCl (0; 10 e 75 mM) com aplicação de nanopartículas de silício sob irrigação inicial (0 dias).

As plantas de tomateiros ausentes da aplicação de SiNPs, apresentaram maior excitabilidade a irrigação com NaCl pelo período de 7 dias, também evidenciado pela proporção de 26,32% do número total de PAs observados (Quadro 2). Esses PAs diferiram nas plantas com SiNPs, caraterizado por apresentar menor amplitude associado com uma repolarização rápida do potencial de membrana sob a concentração de 10 e 75 mM de NaCl. Na planta ausente de silício, o PA caracterizou por apresenta uma maior amplitude, bem como uma fase de repolarização mais lenta em comparação as plantas com SiNPs (Figura 6 C D).

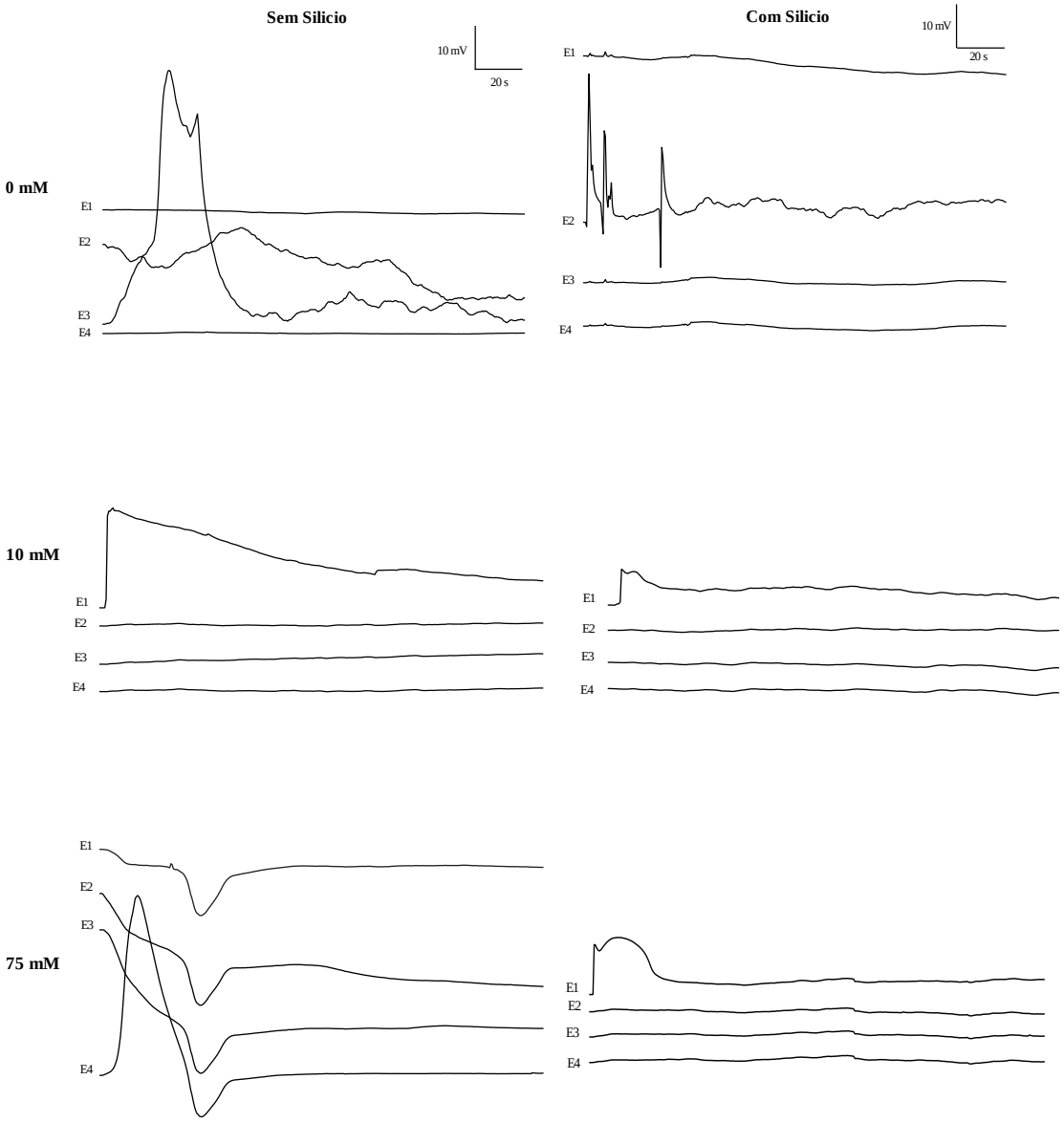

Figura 6. Potencial de ação (PAs) de plantas de tomateiro submetido a diferentes níveis de concentração de NaCl (0; 10 e 75 mM), com aplicação de nanoparticulas de silício sob irrigação inicial (7 dias).

Sob o período de estresse curto (Tabela 3), a salinidade promoveu o aumento em 72, 6% no número de PAs entre os níveis 0 e 75 mM de NaCl, sendo respcetivamente, 1,0 e 3,6

PAs em plantas de tomateiro ausente de SiNPs. Todavia, com aplicação de SiNPs, esse aumento foi de 23 % sendo, respectivamente, 1 e 1,3 PAs entres os níveis 0 e 75 mM de NaCl. Fato esse, também observado nas plantas de tomateiro sob 75 mM de NaCl, com uma diferença de 63, 6% das plantas sem e com SiNPs. A salinidade também induziu o aumento na amplitude do PAs, em destaque nas plantas sob 75 mM de NaCl ausentes de silício, com amplitude média de 28,38 mV, da qual representa um aumento de 58 % entre os níveis 0 e 75 mM de NaCl. Por sua vez, o tomateiro com SiNPs 0,91 mV, que corresponde ao aumento de 7,1 % entre os níveis 0 e 75 mM de NaCl.

A interação entre salinidade e tempo de exposição, promoveu uma maior execitabilidade das plantas de tomateiro ausente de SiNPs (tabela 3), observado atraves do aumento do numero de PAs de 54,5 % entre os níveis 0 e 75 mM de NaCl durante 7 dias de irrigação. Contudo as plantas tratadas com SiNPs apresentaram menor numero de PAs em comparação com o tomateiro sem SiNPa, diferença essa de 45,5 % sob a concentração de 75 mM de NaCl. Os PAs de maiores amplitudes, foram observados sob o nivel de 10 mM de NaCl em plantas com e sem SiNPs. O tomateiro ausente de SiNPs, apresentaram PAs de maiores durações de 77, 5 e 43,3 s sob os nives de 10 e 75 mM de NaCl, da qual diferiu em 43,5 e 25,6 s respectivamente das plantas SiNPs.

Tabela 3. Numero total de PA (NPAs), amplitude (AMP), duração (t1/2 s) dos potencias de ação em plantas de tomateiro sob diferentes concentrações de NaCl (0 e 100 mM), com aplicação de nanoparticulas de silicio durante 8 horas de medidas continuas da atividade elétrica.

Estresse Curto (0 dias)			
Tratamento	**NPAs**	**AMP(mV)**	**t1/2 (s)**
Tomate (+Si/0 mM NaCl)	1,0 bA	10,76 bA	84,60 aA
Tomate (-Si/0 mM NaCl)	1,0 bA	11,80 bA	44,61 abA
Tomate(+ Si /10 mM NaCl)	1,33 bA	8,15 bA	41,23 abA
Tomate(- Si /10 mM NaCl)	1,33 bA	16,16 abA	44,61 abA
Tomate(+ Si /75 mM NaCl)	1,33 bB	12,71 bB	49,23 abA
Tomate(- Si /75 mM NaCl)	3,66 aA	28,38 aA	15,08 bB
Média	1,61	14,66	47,26
Estresse Longo (7 dias)			
Tratamento	**NPAs**	**AMP(mV)**	**t1/2 (s)**
Tomate (+Si/0 mM NaCl)	1,5 bA	8,40 bA	31,60 bA
Tomate (-Si/0 mM NaCl)	2,5 bA	9,43 bA	29,90 bA
Tomate(+ Si /10 mM NaCl)	1,5 bA	20,45 aA	34,0 bB
Tomate(- Si /10 mM NaCl)	1,5 bA	15,91 abA	77,5 aA
Tomate(+ Si /75 mM NaCl)	3,0 bB	8,48 bB	17,72 bB
Tomate(- Si /75 mM NaCl)	5,5 aA	13,31abA	43,32 bA
Média	2,5	12,66	39,007

Médias seguidas de mesma minúscula entre concentração de NaCl e maiúsculas entre doses de silicio não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de probabilidade ($p<0,05$).

Na figura 7 A, a aplicação de SiNPs, promoveu diferença quanto aos eletrodos de origem do PA. De maneira que, sob a concentração 10 mM de NaCl, a maioria do PAs foram oriundos do eletrodo 4, entretanto os PAs das plantas com SiNPs, foram originários entre os eletrodos 2,3 e 4. Já na concentração de 75 mM de NaCl com SiNPs, os PAs foram originários dos eletrodos 2 e 3, na qual diferiu das plantas ausentes de silício, com PAs oriundos dos eletrodos 1,2 e 3.

Em uma condição de irrigação por 7 dias com NaCl (Figura 7B), as plantas sob a concentração de 10 e 75 mM de NaCl com uso de SiNPs, apresentaram a maioria do PAs entres os eletrodos 1 a 3, mesmo comportamento das plantas sem silício sobre 10 mM de NaCl. As plantas ausentes da aplicação de SiNPs irrigadas com 75 mM de NaCl, originou PAs ao longo de todos os eletrodos (1,2, 3, e 4).

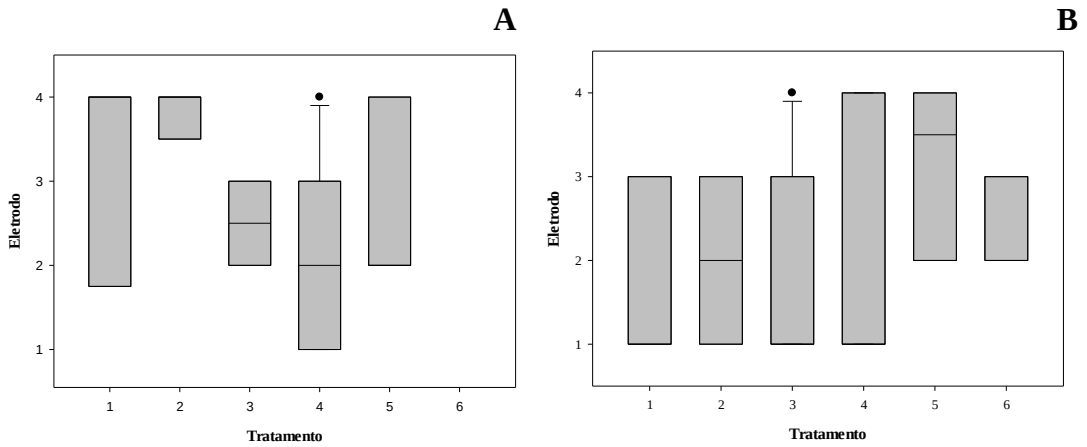

Figura 7. Box plot da distribuição dos potencias de ação (PAs) ao longo dos eletrodos de medidas em plantas de tomateiro submetido a diferentes níveis de concentração de NaCl, no intervalo de curto estresse (**A**) e de longo estresse (**B**), com aplicação de nanopartículas de silício. Tratamento **T1**; 10 Mm de NaCl com Si, **T2**; 10 Mm de NaCl sem Si, **T3**; 75 Mm de NaCl com Si, **T4**; 75 Mm de NaCl sem Si, **T5**; 0 Mm de NaCl com Si, **T6**; 0 Mm de NaCl sem Si, n = 6.

5.3.3 Concentração foliar de potássio, cálcio, magnésio, sódio e silício

A salinidade influenciou no balanceamento nutricional do tomateiro sob condição de rápido estresse (Figura 8). O teor de potássio aumentou 31 e 20,5% no tomateiro com e sem SiNPs, em função da concentração de NaCl. Por outro lado, o teor de sódio também aumentou em função da salinidade sendo 28%, logo, valor esse superior ao tomateiro com SiNPs, que foi de 18,6%, respectivamente. O tomateiro com aplicação SiNPs, apresentou teor de silício superior as plantas sem aplicação, sendo 45, 16 e 32%, respectivamente, em função da salinidade (0, 10 e 75 mM de NaCl).

O silício diminuiu em 11 % da relação Na^+/K^+ sob os níveis de 0 a 75 mM de NaCl (Figura 8). Assim, se tornando efeito contrário ao tomateiro ausente de silício, na qual foi constatado um aumento de 20% em função do aumento da concentração de NaCl, além disso, o aumento da salinidade também aumentou as relações Na^+/Ca^{2+} e Na^+/Mg^{2+}, sendo de 28 e 8% respectivamente no tomateiro sem SiNPs.

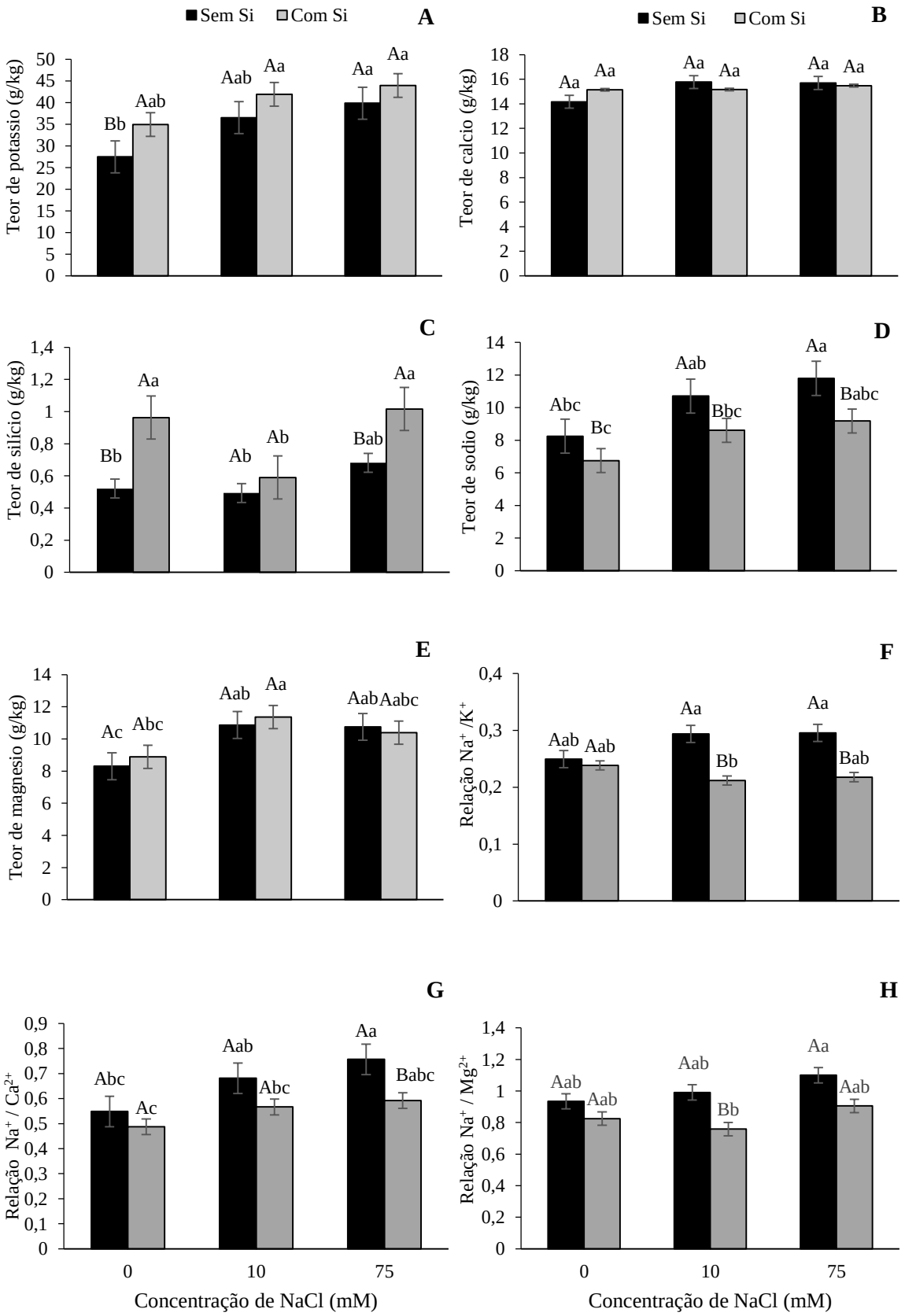

Figura 8. Teores de de elemento minerais de plantas de tomateiro com uso de nanopartículas de silício sob condição de estresse salino: Teor de potássio (A), teor de cálcio (B), teor de silício (C), teor de sódio (D), teor de magnésio (E), relação Na^+/K^+ (F), relação Na^+/Ca^{+2} (G) e relação Na^+/Mg^{+2}. Médias seguidas de pelo menos uma letra maiúscula entre dose de SiNPs, e minúscula dentro da concentração de NaCl, não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 0,05 de probabilidade ($p<0,05$), n= 6.

A imposição do estresse salino por longo período (Figura 9), promoveu o aumento das mudanças nas concentrações de nutrientes no tomateiro sem aplicação de SiNPs, ao ponto que, a concentração de cálcio reduziu 27% no tomateiro sem SiNPs entres os níveis 0 e 75 mM de NaCl, todavia, as plantas com silício não apresentaram mudanças na concentração de Ca^{2+} sob os mesmos níveis de salinidade. A concentração de sódio aumentou 60 e 64%, respectivamente, no tomateiro com e sem SiNPs, entre os níveis 0 e 75 mM de NaCl. Alem disso, sob o nível de 75 mM de NaCl, o silício promoveu uma redução de 30% da concentração de sódio em comparação com o tomateiro sem SiNPs.

A concentração de Mg^{2+} reduziu em função ds níveis de salinidade (Figura 9), na qual as plantas ausentes de Si, apresentaram uma maior redução de 36 % entre os níveis 0 e 75 Mm de NaCl. Todavia, as plantas com SiNPs apresentaram uma menor redução dos níveis de Ca^{2+} de 24 % sob os mesmos níveis de NaCl. Logo, foi observado diferença na relação Na^{+}/ K^{+}, da qual as plantas sem SiNPs foram superiores em 54, 14 e 30%, sob os níveis de 0, 10 e 75 mM de NaCl em comparação com as plantas com Si. Esse mesmo efeito da salinidade também foi observado nas relações Na^{+}/ Ca^{2+} e Na^{+}/ Mg^{2+}, da qual as plantas com Si aprentaram um inferiodidade de 47 % da relação $Na^{+/}$ Ca^{2+} e de relação 31 % Na^{+}/ Mg^{2+}, em comparação com as plantas sem Si, ambas sob o nível de 75 mM de NaCl.

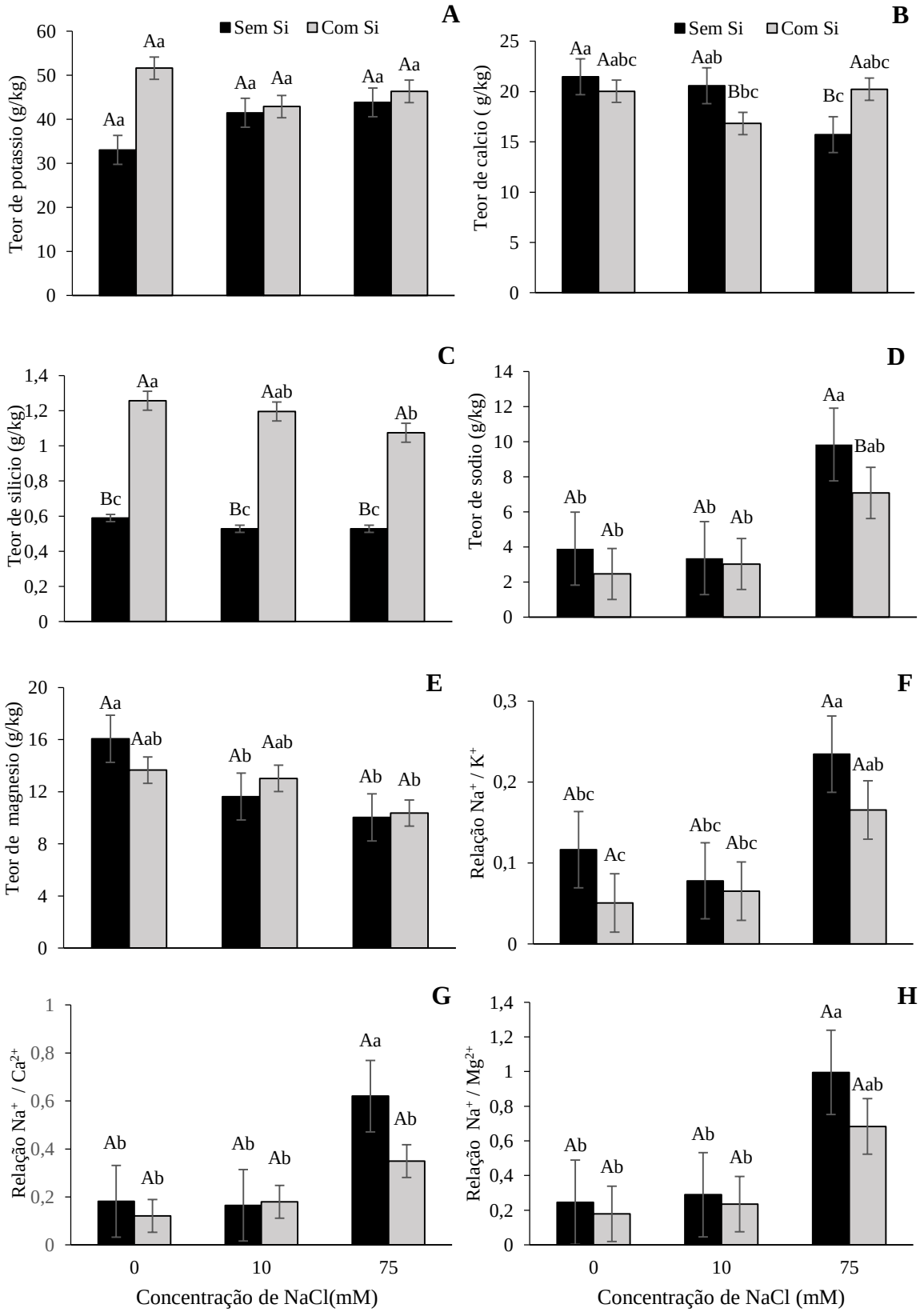

Figura 9. Teores de elemento minerais de plantas de tomateiro com uso de nanopartículas de silício sob condição de estresse salino por 7 dias: Teor de potássio (A), teor de cálcio (B), teor de silício (C), teor de sódio (D), teor de magnésio (E), relação Na^+/K^+ (F), relação Na^+/Ca^{+2} (G) e relação Na^+/Mg^{+2}. Médias seguidas de, pelo menos, uma letra maiúscula entre dose de SiNPs e minúscula dentro da concentração de NaCl, não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 0,05 de probabilidade ($p<0,05$), n= 6.

Os dados dispostos na matriz de correlação (Figura 10A), evidenciam o desbalanceamento nutricional no tomateiro em função da salinidade a curto prazo, a partir de correlações positivas do Na^+ e as relações iônicas de Na^+/ K^+, fato esse também observado nas relações Na^+/Ca^{2+} e relação Na^+ demonstra que o aumento do teor Na^+ promove maior particação, diminuindo absorção dos ions K^+, Ca^{2+} e Mg^{2+} nas respectivas relações iônicas. A correlação negativa entres os níveis de K^+ e Na^+ demonstra um efeito antagônico, sendo o aumento de Na^+ inversamente proporcional aos teores de K^+. Todavia, o teor de silício foi inversamente proporcional a relação Na^+/ K^+, ou seja, à medida que a concentração de sílicio aumentou, ocorreu a diminuição da partição do ions Na^+ sobre o K^+. Assim, também foi observado correlação negativa entre o teor de K^+ e a relação Na^+/ K^+, sendo de maneira inversamente propocional, à medida que íon de K^+ aumenta a relação Na^+/K^+ diminui.

O prolongamento da salinidade (Figura 10B), intensifica o desbalanceamento nutricional atraves da relação antagônica provocada pelo sódio. Observado atraves das correlações positivas entre Na^+ e as relações Na^+/K^+, Na^+/Ca^{2+} e Na^+/Mg^{2+}, que resulta em uma maior concentração de Na^+ em comparaçao aos demais nutrientes. Todavia a aplicação de SiNPs provoca uma correçação negativa com Na^+, da qual quanto maior a concentração de Si menor a concentração de Na^+. Alem disso tambem foi observado uma correlação positiva entre os Si e K^+, que tambem contribui para um menor desbalanceamento iônico durante o estresse salino. Tanto o Ca^{2+} como o Mg^{2+} apresentaram correlações negativas com as relações Na^+/K^+, Na^+/Ca^{2+} e Na^+/Mg^2, na qual a medida que aumenta a concentração Ca^{2+} e Mg^{2+} ocorre o descrescimo das respectivas relações iônicas.

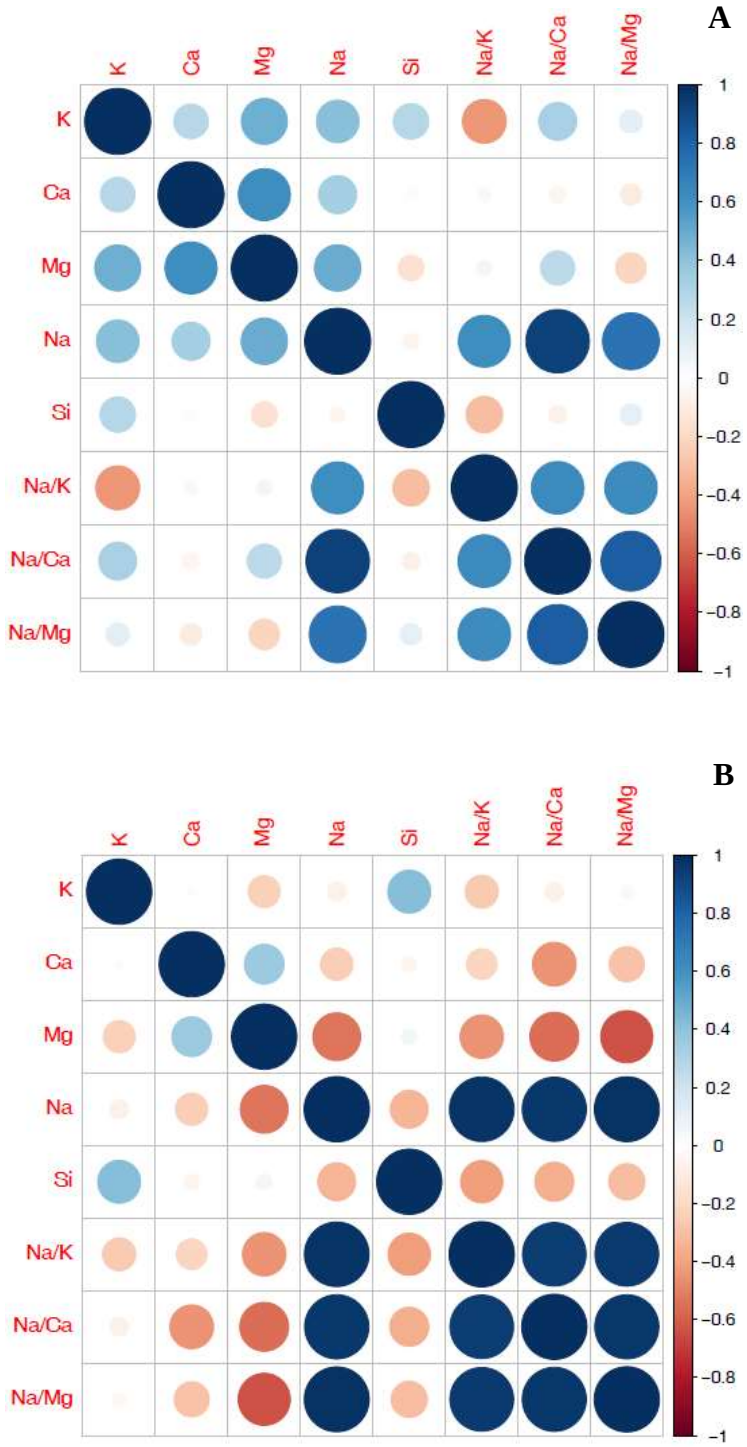

Figura 10. Matriz de correlação entre a concentração de K^+, Ca^{+2}, Mg^{+2}, Na^+, Si e a relação iônica entre Na^+ /K^+, Na^+ /Ca^{2+} e Na^+ /Mg^{2+} de plantas de tomateiro controle e tratadas com nanopartículas de silício, submetidas a diferentes doses de NaCl, na condição de estresse salino curto (**A**) e estresse longo (**B**). O tamanho, cor (vermelho ou azul) e intensidade de cor representam o quão as variáveis são correlacionadas (r^2 de Pearson).

5.3.4 Silício atenuar os efeitos da salinidade na fotossíntese

A salinidade imposta de maneira rápida afetou diratemente as variáveis das trocas gasosas (Figura 11). De maneira que, as plantas de tomateiro ausentes de SNPs irrigadas com as concentrações de 10 e 75 mM de NaCl, apresentaram maior redução da assimilação de CO_2 em comparação com as plantas com aplicação de SNPs sob mesma concentração (Figura 11A). Sob a concentração de 75 mM de NaCl, as plantas de tomateiro com SiNPs apresentaram uma maior condutância estomática ao longo do tempo, em comparação com as plantas ausente de SiNPs (Figura 11 B).

A salinidade tambem promoveu a redução na taxa de transpiração ao longo do período de medida (Figura 11 D). Na qual sob a concentração alta de sais (75 mM de NaCl) foi observado a redução da taxa de transpiração, com maior redução em plantas ausentes de SiNPs ao longo do período de medida.

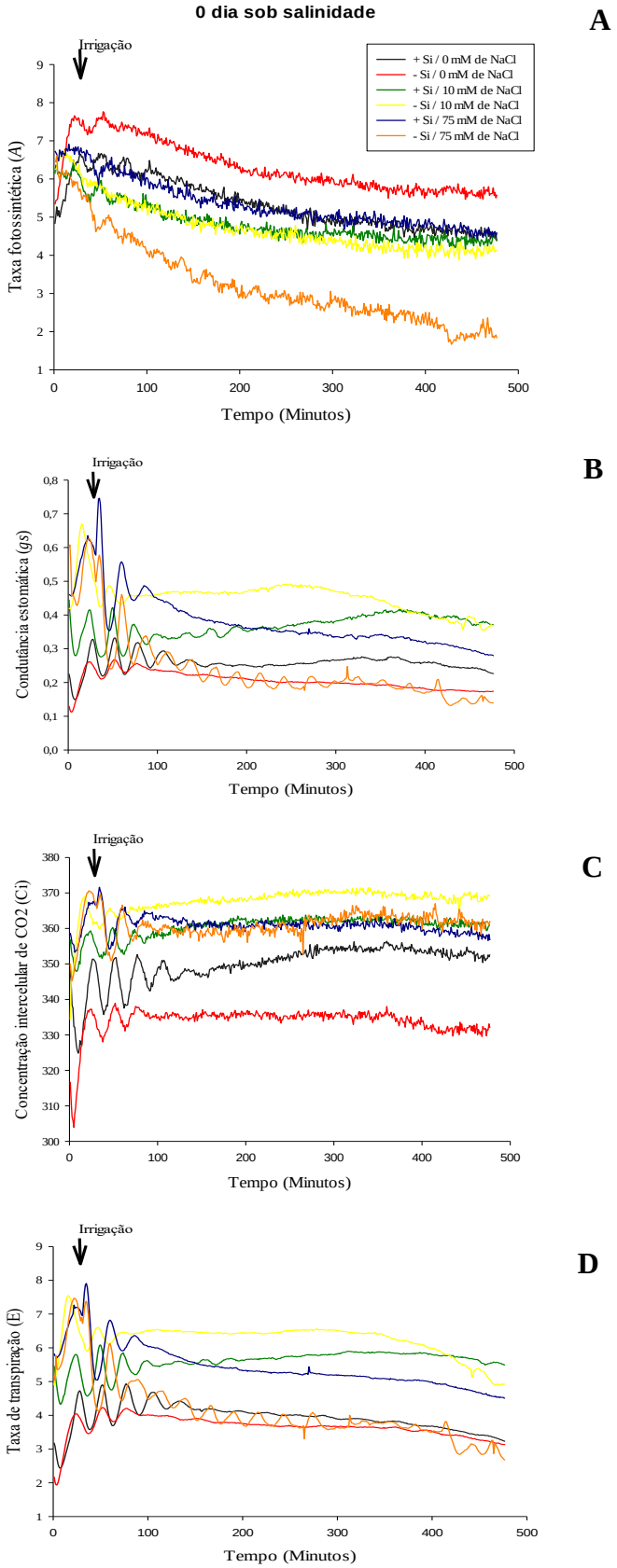

Figura 11. **A**; Taxa fotossintética (A, µmol CO_2 m^{-2} s^{-1}), **B**; Condutância estomática (gs, mol H_2O m^{-2} s^{-1}), **C**; Concentração intercelular de CO_2 (Ci, µmol m^{-2} s^{-1}) e **D**; Taxa de transpiração (E, mmol H_2O m^{-2} s^{1-}) de plantas de tomateiro sob diferentes concentrações de NaCl, imposta por curto tempo (0 dias), com uso de nanoparticulas de silicio (SNPs), n = 6.

O maior tempo de imposição da salinidade promoveu mudança negativa na atividade fotossintética (Figura 12). Da qual as plantas de tomateiro ausentes de SiNPs, apresentaram redução e os menores valores da taxa fotossintética (Figura 12 A) sob os níveis de concentrações de 10 e 75 mM de NaCl. Por sua vez os tratamentos com SiNPs apresentaram os maiores valores de taxa fotossintética (Figura 12 B), com uma baixa redução ao longo do período de medida. A salinidade tambem promoveu a redução da condutância estomática, em destaque no tomateiro ausente de Si sob a concentração de 75 mM de NaCl. Entretanto a aplicação de SiNPs promoveu uma menor redução da condutância estomática ao longo do período medida sob os níveis de 10 e 75 mM de NaCl.

A concentração interna de CO_2 alterou em função da salinidade (Figura 12 C). Sendo constatado o aumento do CO_2, em destaque nas plantas com e sem SiNPs sob os níveis de concentração de 10 e 75 mM de NaCl. O excesso de sais em função do tempo provocou a redução da taxa de transpiração (Figura 12 D), nas plantas ausentes de SiNPs sob o nivel de concentração de de 75 mM de NaCl. Todavia as plantas de tomateiro tratadas com silicio, apresentaram valores de taxa de transpiração superiores as não tratadas sob a concentração de 75 mM de NaCl.

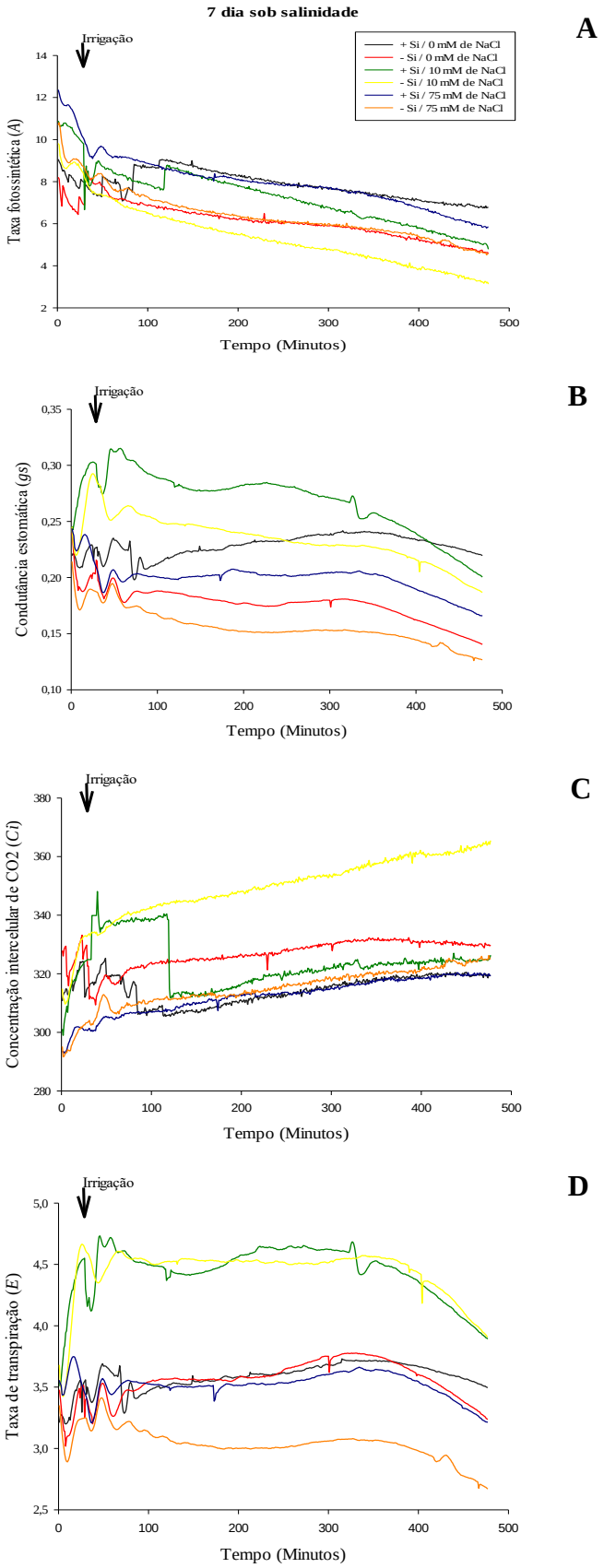

Figura 12. **A**; Taxa fotossintética (A, µmol CO_2 m^{-2} s^{-1}), **B**; Condutância estomática (gs, mol H_2O m^{-2} s^{-1}), **C**; Concentração intercelular de CO_2 (Ci, µmol m^{-2} s^{-1}) e **D**; Taxa de transpiração (E, mmol H_2O m^{-2} s^{1-}) de plantas de tomateiro sob diferentes concentrações de NaCl, imposta por longo tempo (7 dias), com uso de nanoparticulas de silicio (SNPs), n = 6.

O aumento da salinidade provocou mudanças nos parâmetros de fluorescência da clorofila (Figura 13), ao ponto que a fluorescência inicial (Fo) no tomateiro sem SiNPs aumentou em 37,5 % entre os dias 1 a 7 de estresse, que também diferiu em 28,6 % superior as plantas com SiNPs aos 7 dias de estresse e que, por sua vez, plantas tratadas com SiNPs não apresentaram diferença significativa entre intervalo de 1 a 7 dia de estresse. A fluorescência máxima (Fm) foi superior nas plantas com Si aos 7 dias de estresse (Tabela 4), diferindo 13,2% das plantas ausentes de Si sob mesma condição.

Também foi observado mudança visual da razão Fv/Fm, das plantas de tomateiro ausente de Si em função do tempo (Figura 13), com uma redução 21,5% sobre os dias 1 e 7 de imposição do estresse. Assim, o efeito contrário ao tomateiro com SiNPs, que não diferiu significativamente F_v/F_m em função tempo de imposição do estresse (Tabela 4). Dessa forma, sob a salinidade por 7 dias, o silício promoveu manutenção da razão F_v/F_m, sendo 20,1% superior ao F_v/F_m das plantas ausentes de Si (Tabela 4), parâmetro esse importante para identificar o grau de desordem (entropia). Nesse contexto, valores na faixa de superiores o dentro do intervalo de 0,75 a 0,83 de F_v/F_m são indicativos da não ocorrência de fotoinibição (Capelin, 2016; Bjorkman, 1987).

O excesso de Na^+ também afetou diretamente o rendimento quântico PSII efetivo (Y II) em destaque do tomateiro sem Si aos 7 dias de imposição da salinidade. Todavia, as plantas tratadas com Si apresentaram mudança menos drásticas (Figura 13 e 14), pela qual não foi observado diferença significativa e comparação com o tomateiro no 1 dia de estresse, valor esse superior em 0,182 entres plantas com e sem Si, representando uma diferença de 56%. Logo, o mesmo efeito observado para o quenching fotoquímico (qP), diferença essa de 42,6% entres as plantas com Si e sem Si (Tabela 4).

A salinidade induziu o aumento da dissipação de energia para vias não fotoquímica, demostrado através das mudanças quanto a extinção não fotoquímica (NPQ), o coeficiente de extinção não fotoquímica (qN) (Figura 13), sendo que as plantas de tomateiro ausentes de Si, apresentaram os maiores valores tanto no NPQ como no qN, com uma diferença de 28, 8% (NPQ) e 40,1 (Qn) em comparação com plantas de tomateiro com silício após 7 dias de imposição da salinidade.

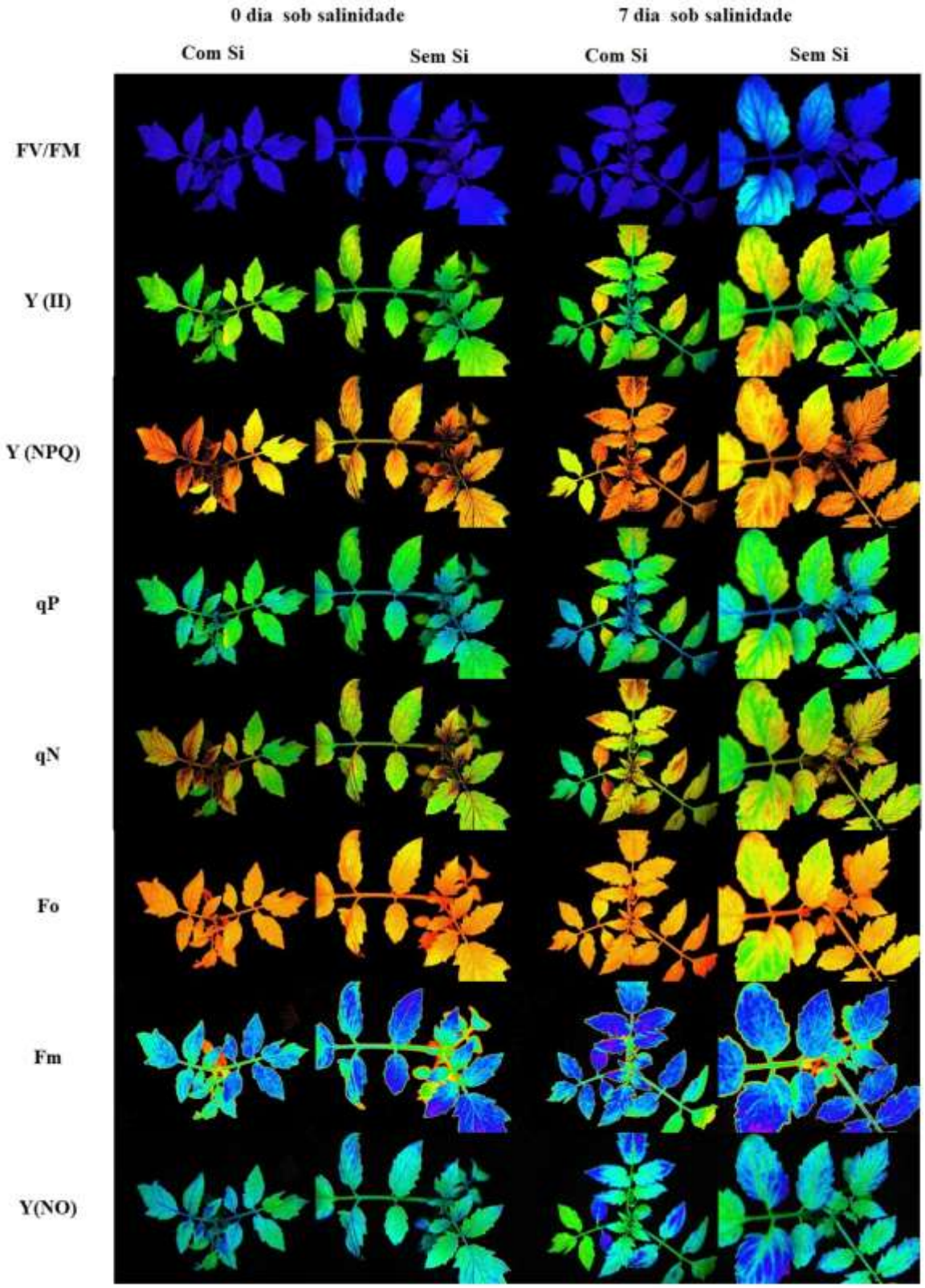

Figura 13. Imagens de fluorescência da clorofila; Fluorescência inicial (Fo), fluorescência máxima (Fm), fluorescência variável sob fluorescência máxima (F_v/F_m), rendimento quântico PSII efetivo (Y (II)), extinção não fotoquímica (NPQ), o coeficiente de extinção não fotoquímica (qN), coeficiente de extinção fotoquímica (qP) de folhas de tomateiro submetidas ao estresse salino no intervalo de 7 dias, com aplicação de nanopartíbculas de silício.

Tabela 4. Parâmetro fluorescência da clorofila; fluorescencia inicial (Fo), fluorescencia variável sobre fluorescencia máxima (Fv/Fm), fluorescencia variável (Fv), fluorescencia máxima (Fm), o rendimento quântico PSII efetivo (Y (II)), extinção não fotoquímica (NPQ), o coeficiente de extinção não fotoquímica (qN), coeficiente de extinção fotoquímica (qP) de plantas de tomateiro sob estresse salino, com aplicação de nanopartículas de silício (SiNPs).

	0 dia		7 dia		
Fluorescência	**+Si/ NaCl**	**-Si/ NaCl**	**+Si/ NaCl**	**-Si/ NaCl**	**Média**
Fo	0,140 bA	0,142 bA	0,162 bB	0,227 aA	0,168
FV/FM	0,782 aA	0,776 aA	0,769 aA	0,614 bB	0,735
FV	0,305 bA	0,368 bA	0,465 aB	0,519 aA	0,414
FM	0,640 abA	0,634 abA	0,704 aA	0,611 bA	0,647
YII	0,317 aA	0,286 aA	0,325 aA	0,143 bB	0,268
NPQ	0,085 cB	0,152 aA	0,124 bB	0,174 aA	0,134
Y NO	0,577 bA	0,552 bA	0,551 bB	0,837 aA	0,629
qN	0,158 bA	0,272 bA	0,248 bB	0,414 aA	0,273
qP	0,486 aA	0,401 bA	0,431 abA	0,247 cB	0,391

Médias seguidas de mesma minúscula entre tempo de imposição do estresse e maiúsculas entre com ou sem aplicação de silício não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de probabilidade ($p<0,05$), n= 5.

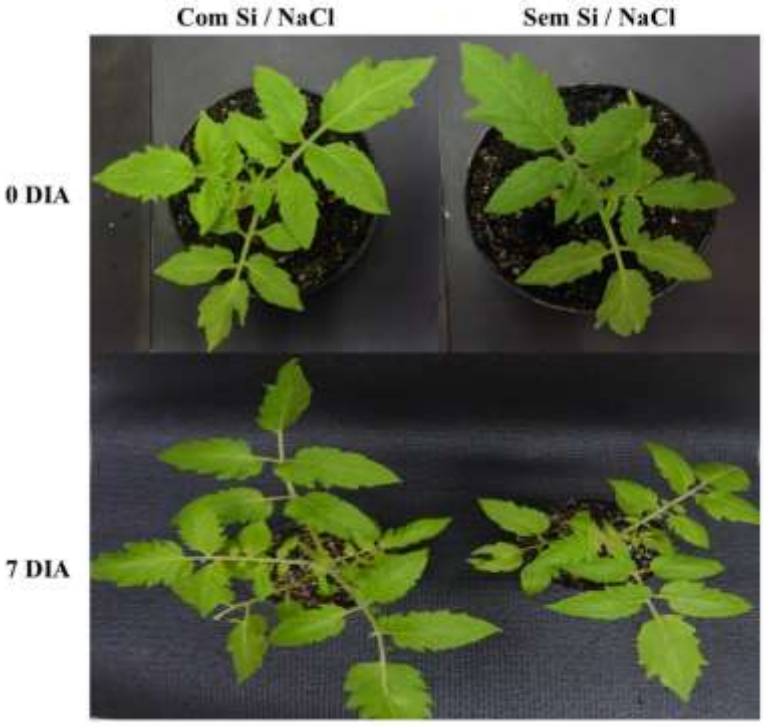

Figura 14. Efeito da salinidade no crescimento de planta de tomateiro submetido ao estresse salino durante sete dias, com aplicação de nanoparticulas de silicio.

5.4 Discussão

O aumento da condutividade elétrica (CE) do extrato de saturação (Figura 2) em função da concentração de NaCl, evidencia que aplicação de nanopartículas não influenciou nos fatores químico e físico do solo, não apresentando efeito significativo na concentração dos nutrientes no solo e pH, durante o cultivo de milho (Sirisuntornlak et al., 2021), também corroborado pelo o aumento da condutividade elétrica do substrato (Figura 3) com aplicação de SiNPs e ausência. Todavia, o pH do solo pode afetar a disponibilidade de silício, com maior solubilidade em pH baixos (Hanyes, 2014).

A aplicação de SiNPs promoveu os maiores potenciais hídricos em comparação as plantas ausentes de silício, tanto aos 0 como aos 7 dias de irrigação com NaCl (Figura 4), com diferença significativa do potencial hídrico sob a concentração 0, 10 e 75 mM de NaCl aos 7 dias (Figura 4B), evidenciando o efeito atenuador do silício na salinidade. Esse mesmo efeito foi observado por Romero-Aranda et al. (2006), na qual o potencial de tugor das folhas foi maior em plantas tratadas com Si sob NaCl. Assim, a elevação de sais promove redução do potencial hídrico da folha, causando a redução do tugor e originando o estresse osmótico (Navada et al., 2020), tendo o estresse osmótico potencial de afetar de forma imediata e a longo prazo o crescimento da planta (Sheldon et al., 2017), demonstrado pela redução na altura das plantas ao longo de 7 dias com NaCl (Tabela 2).

Mesmo o tomateiro não sendo uma planta acumuladora de silício e nem tolerante a salinidade, o silício quando aplicado no tomateiro, atenuou a redução do Ψw através da regulação das aquoporinas, pois plantas de tomateiro possuem a proteína homologa da aquoporina Lsi1 que, quando superexpressado no tomateiro, coincide com maior acúmulo de silício nas raízes (Hoffmam et al., 2020; Su et al., 2020), provocando também o aumento da atividade das aquoporinas e manutenção da relação hídrica durante o estresse. Dessa forma, a aplicação de silício promoveu maior teor de água na folha de tomateiro sob salinidade (Romero-Aranda et al., 2006). O silício provocou o aumento da absorção de água, volume das raízes de plantas de tomateiro submetido a salinidade (Haghighi & Pessarakli et al., 2013). Esse efeito da SiNPs pode favorecer ao ajustamento osmótico e iônico da planta durante o estresse salino.

A atividade das aquoporinas, da bomba H^+-ATPase e Ca^{2+}-ATPase regulam a disponibilidade de nutrientes e água nas raízes (Cabañero et al., 2006) e podem resultar em mudanças eletroquímicas nas células, desencadeando potencial de ação (PA). A geração desse

PA está ligada a fase inicial da ação do estímulo, alusivo ao princípio do tudo ou nada, desencadeando resposta funcionais na planta (Pyatygin et al., 1992; Pyatygin et al., 2008).

Nossos resultados demonstram, que os PAs oriundos dos tratamentos com silício, se comportaram de forma diferente das plantas ausentes de silício (Figura 5 e 6), constatado também pela baixa proporção de PAs emitidos nas plantas com SiNPs (Tabela 2). Essa diferença pode ocorrer a partir de mudanças do potencial de membrana, através da concentração de Ca^{2+} ou da H^{+}- ATPases, pois, os potencias de ação (PAs) estão associados a geração de sinal de Ca^{2+} cyt, levando rápido aumento transitório dos íons de Ca^{2+}, em função, por exemplo, do Na^{+} ou Cl^{-} (Choi et al., 2014; Edel et al., 2017).

Os PAs são propagados através do córtex, tecidos endodérmicos da raiz ao caule, como reposta sistêmica ao estresse salino (Choi et al., 2014). Além disso, as plantas, para eliminar íons de Na^{+} ou Cl^{-}, necessitam de uma baixa atividade da H^{+}-ATPase, porém, para que ocorra o ajustamento osmótico, é necessária alta atividade da H^{+}-ATPase (Martinéz-Ballesta et al., 2003).

As plantas sem silício, apresentaram maior estímulo sob rápida exposição a salinidade (Figura 5), com maior número de PAs e de maiores amplitudes (Tabela 3), podendo estar relacionado com o aumento nos níveis de Na^{+} e Cl^{-} nas células, fato esse corroborado pela redução do potencial hídrico (Figura 4A), condutividade elétrica do extrato de saturação (Figura 2A) e do substrato (Figura 3A). Dessa forma, esse efeito também foi observado por Gharbi et al. (2017), com tomate *Solanum lycopersicum e* com a concentração foliar de Na^{+}, duas vezes superior ao tomateiro selvagem *Solanum chilense* sob salinidade.

Esse padrão de modulação do PAs não foi observado nas plantas com NanoSi (Figura 5), isso sugere influência das nanoparticulas de silício sobre o potencial de membrana das plantas. Sendo um regulador positivo da atividade da H^{+}-ATPase e H^{+}-PPase (Liang et al., 2005). Assim, como demostrado por Ghassemi-Golezani et al.(2020), o excesso de Na^{+} afetou negativamente atividades das bombas de H^{+}-ATPase e H^{+}-PPase na raiz e na folhas da planta ausente de nanopartículas de ferro, efeito esse importante para fase de repolarização do PA, como demostrado nas plantas com silício sob 75 mM (Figura 5). Essa fase de repolarização é caraterizada pela ativação da H^{+}-ATPase, levando a remoção do Ca^{2+}cyt e o influxo do K^{+} (Vodeneev et al., 2016). Logo, o rápido reestabelecimento do potencial de membrana é necessário para baixo fluxo de íons de Na^{+}, como adaptação ao estresse. Durante a despolarização do PA, canais dependentes de voltagem de Na^{+} pode ser ativado, amplificando o sinal e aumentando o influxo de Na^{+} (Hedrich et al., 2016). Dessa forma, o silício induz PAs de menor duração (Tabela 3) através, possivelmente, do aumento da H^{+}-ATPase,

reestabelecendo a potência de membrana e diminuindo o influxo de sódio. O estudo de Bose et al (2015), demostrou que o tempo de absorção do Na^+ em arabidopsis foi superior 4 vezes e comparação com absorção da quinoa.

As SiNPs também foram efetivas sobre a excitabilidade e modulação do PA em função do estresse prolongado (Figura 6 e tabela 3). Assim, nossos resultados demonstram que as plantas de tomateiro ausente de silício, apresentam maior proporção de sinais totais observados sob 75 mM de NaCl (Tabela 2), e PAs com amplitude diferentes das plantas com silício sob os níveis de 10 e 75 mM de NaCl (Tabela 3 e figura 6). Esse efeito pode estar relacionado com o aumento nos níveis de Na^+, nas células das plantas ausente de Si, causando a emissão de PAs como forma de resposta ao Na^+, pois tanto o gradiente de concentração como a voltagem do potencial de membrana contribuem para entrada passiva de ions de Na^+ no citoplasma (Cheeseman, 1982). Os PAs são resposta bioletrica, carreando informações aos tecidos e órgãos em repouso (Pyatygin et al., 2008). Choi et al. (2014) demostrou que aplicação de NaCl, ocasionou no aumento rápido dos níveis de Ca^{2+}. Sendo o fluxo de Ca^{2+}, Cl^-, K^+ e o fluxo de H^+-ATPase), responsável pela geração dos PAs (Opritov et al., 1991; Pyatygin et al., 2005).

Demostra que a presença do silício contribui para menor acúmulo de Na^+, possivelmente, pelo aumento da H^+- ATPase, pois a aplicação de silício induziu o aumento da atividade das bombas de H^+-ATPase e H^+-PPase, contribuindo para efluxo de Na^+ em plantas de cevadas (Liang et al., 2005). Esse aumento energiza o transporte ativo do efluxo de Na^+/H^+ via antiporter SOS1(Gaxiola, 2007). Dessa forma, a importância do reestabelecimento e manutenção do potencial de membrana induzido pelo silício, ocorrendo porque a estabilidade do potencial de membrana através da H^+-ATPase, diminui o influxo de Na+ no canais NSCCs via despolarização efluxo de K^+ via KORS e NSCCs (Sun, 2009).

A salinidade também induziu mudança na distribuição de ocorrência do sinal elétrico nos eletrodos de medida, com uma ampla distribuição de ocorrência do PAs na planta ausentes de silício após 7 dias de irrigação com 75 mM de NaCl (Figura 7). Mudanças na concentração de íons de potássio, sódio e cloro em função do estresse, modificam a excitabilidade do potencial de membrana em plantas de girassol (Storlaz & Dziubinska, 2017), estando relacionado como mecanismo de reposta a salinidade via sinalização elétrica, considerando o PA um sinal bioletrico, carreando informações ao longo do floema que induz distúrbios funcionais transitórios, envolvendo fatores como RNAs, hormônios, metabólicos (Pyatygin et al., 2008; Kehr, 2013). Logo, em função da salinidade, os PAs podem promover redução transitória da atividade fotossintética como forma de pré-adaptação ou estímulo

danoso em função do excesso de sais, sendo uma reposta local ou sistêmica, causando mudanças no processo de assimilação, taxa de transpiração, diminuição fluxo pelo floema (Hebda et al., 2017). Dessa forma as plantas de tomateiro com SiNPs, responderam de forma menor ao estimulo da salinidade, consequentemente o silício pode ter promovido, menor absorção dos íons de Na^+.

Dessa forma, nossos resultados dos teores nutricionais corroboram para o papel do silício na atenuação do estresse. Sob as condições de estresse salino curto (Figura 8) e longo (Figura 9), as SiNPs promoveram o acúmulo de silício no tomateiro independentemente do nível de salinidade ou intensidade do estresse. Assim, associando esse efeito, as plantas com SiNPs apresentaram menor acúmulo de sódio em comparação com o tomateiro sem Si sob os níveis de concentração de NaCl, tanto na condição de estresse curto e longo (Figura 8 e 9). Da qual tambem foi envidenciado atraves das correlações negativas (Figura 10). A aplicação de silício promoveu a redução do nivel de sódio em pepino sob salinidade (Wang et al.,2015). O silício também promoveu a redução da concentração de Na^+ em plantas de arroz sob 50 mM NaCl (Gong et al., 2006).

Em uma condição de estresse curto (Figura 8), o teor de cálcio não apresentou diferença, todavia, a salinidade prolongada (Figura 9) promoveu a redução do teor de Ca^{2+}. Contudo, as SiNPs atenuaram a redução do Ca^{2+} em função da salinidade, sendo esse um importante nutriente para tolerancia das plantas a salinidade, devido a sua participação na exclusão do Na^+, através da relação antiporte Na^+ / H^+ SOS1, que são ativados pela quinase SOS2/CIPK24 que, por sua vez, são regulados por proteínas sensoras de Ca^{2+} SOS3/CBL4 (Manishankar et al., 2018). Além disso, a salinidade leva a oscilações no potencial de membrana e níveis de Ca^{2+}, resultando em mudanças no equilíbrio iônico, hormonal e alteração na pressão osmotica (Seifikalhor et al., 2019).

A salinidade elevou a relação Na^+/K^+ nas plantas de tomateiro ausente de SiNPs, entretanto a adição de silicio influenciou na redução da relação Na^+/K^+, em comparação com o tomateiro sem Si em ambos os períodos de estresse (Figura 8 e 9), de tal forma que quanto maior a relação, maiores os níveis de Na^+ na planta (Figura 10). Todavia tambem observamos relação antagônicas entre K^+ e Na^+, evidenciada pela correlação negativa (Figura 10). Em contrapartida, o aumento nos níveis de K^+ limita a absorção de Na^+, levando a redução da relação Na^+/K^+ que garante o equilíbrio iônico (Zhang et al., 2018).

A atividade fotossintética da planta foi afetada diretamente pela salinidade tanto a curto prazo (Figura 11) e a longo prazo (Figura 12). A imposição da salinidade a nivel de 75 Mm de NaCl, causou a redução da taxa fotossintética, condutância estomática e transpiração

nas plantas sem SiNPs em comparação com os demais tratamentos, tanto na condição de curto e longo prazo. Todavia a aplicação de nanoparticulas de silicio promoveu a mitigação dos efeitos da salinidade, tanto na condição de curto estresse como longo estresse salino.

Os dados fluorescência da clorofila corroboram para ideia de que o silício propicia o controle do fluxo de Na^+ ao longo da planta, na qual foi evidente o efeito atenuador do silício sobre a fotossíntese durante o estresse salino (Figura 13), demonstrado pelo aumento da fluorescência inicial em plantas ausente de silício, superior ao F0 das plantas com silício sob mesmo estresse salino. Logo, sugere uma mitigação da salinidade nas plantas com aplicação de SiNPs, favorece o aumento da tolerância a partir da manutenção da atividade fotossintético, visto que os mecanismos de tolerância a salinidade demandam energia para realização da homeostase iônica, exclusão e compartimentalização do Na^+ no vacúolo (Tyerman et al., 2018). Dessa forma, o silício pode controlar o fluxo de Na^+ a partir da H^+-ATPase ou como efeito indireto da retenção de K^+, elemento esse necessário para que as H^+-PPase acidifique o vacúolo sem gasto de ATP, fazendo uso dos transportadores de troca iônica Na^+/ H^+ e Cl^-/H^+ para o sequestro de Na^+ e Cl^- (Nguyen et al., 2016; Shabala et al., 2014).

Visto parâmetros como Φ PSII (Y II) e Fv/Fm são importantes indicadores sensíveis a mudanças fisiológicas (Wang et al., 2018). Nossos resultados demonstram uma redução significativa do F_v/F_m de plantas ausentes de Si ao 7 dia de imposição da salinidade (Figura 13), com valor de 0,614 inferior a 0,769 das plantas com Si, indicando um possível efeito de fotoinibição (Tabela 4), pois, dado que valores na faixa de superiores o dentro do intervalo de 0,75 a 0,83 de F_v/F_m são indicativos da não ocorrência de fotoinibição (Capelin, 2016; Bjorkman, 1987), efeito esse também observado por Shin et al. (2020) em plantas de alface submetida ao estresse salino e podendo está associado com maior excitabilidade referente maior manifestação de PAs de maiores amplitudes (Tabela 4 e Figura 6), efeito esse contrário as plantas com silício, com uma diferença de 0,007 (F_v/F_m) entre o 0 ao 7 dia de estresse.

A salinidade também provocou a redução significativa na Φ PSII (Y II) ao longo do período de estresse (Figura 13), podendo está associado a diminuição da taxa de transporte de elétrons entre os fotossistema, como observado em plantas de arroz sob estresse salino (Acosta-Motos et al., 2017). Sob mesma condição o tomateiro com Si, não apresentou diferença ao longo do tempo de estresse, denotando uma menor tensão fisiológica em função da salinidade.

De maneira geral a salinidade provocou a redução do fluxo energético luminoso para reações fotoquímicas, observadas através diminuição do Fv/Fm, Φ PSII (Y II) e qP. Bem

como o aumento da dissipação de energia por vias não fotoquímicas, conforme demostrado pelo aumento NPQ, Y (NO) e qN, da qual parâmetros esses que indicam um efeito prejudicial da salinidade ao longo do tempo de exposição. Efeito semelhante, observado por Yao et al. (2018), no estudo de fenotipagem de plantas de arabidopsis sob estresse hídrico, sendo observado redução do Fv/Fm, NPQ e redução Φ PSII (Y II). Entretanto, a aplicação de nanopartículas de silício mitigou os efeitos da salinidade ao ponto de não diferirem visualmente (Figura 14) e estatisticamente (Tabela 4) das plantas aos 0 dias de imposição da salinidade.

5.5 Conclusão

A excitabilidade das plantas de tomateiro, em função do estímulo da salinidade, procedeu de maneira diferente a partir do uso de SiNPs, caracterizando por apresentar PAs com fase de despolarização mais rápida e amplitude diferente, corroborando com a possibilidade de o silício regular a absorção de Na^+, através do potencial de membrana. Além disso, as SiNPs foram efetivas na atenuação da salinidade sobre o potencial hídrico, que também foi evidenciado pelo efeito atenuador do silício sobre fotossíntese de plantas sob salinidade, refletido através dos parâmetros de fluorescência da clorofila. Assim, a partir do controle indireto do fluxo iônico, o silício desecandeia melhorias em outros processos fisiológico da planta, tais como: crescimento, fotossíntese, absorção hídrica, entre outros.

Referências

Acosta-Motos, J., Ortuño, M., Bernal-Vicente, A., Diaz-Vivancos, P., Sanchez-Blanco, M., & Hernandez, J. (2017). Plant Responses to Salt Stress: Adaptive Mechanisms. Agronomy, 7(1), 18. https://doi:10.3390/agronomy7010018.

Ali, N., Schwarzenberg, A., Yvin, J. C., & Hosseini, S. A. (2018). Regulatory Role of Silicon in Mediating Differential Stress Tolerance Responses in Two Contrasting Tomato Genotypes Under Osmotic Stress. Frontiers in plant science, 9, 1475. https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01475.

Berni, R., Romi, M., Parrotta, L., Cai, G., & Cantini, C. (2018). Ancient Tomato (Solanum lycopersicum L.) Varieties of Tuscany Have High Contents of Bioactive Compounds. Horticulturae, 4(4), 51. https://doi:10.3390/horticulturae4040051.

Björkman, O., Demmig, B. (1987). Photon yield of O2 evolution and chlorophyll fluorescence characteristics at 77 K among vascular plants of diverse origins. Planta 170, 489–504. https://doi.org/10.1007/BF00402983

Bose, J., Rodrigo-Moreno, A., Lai, D., Xie, Y., Shen, W., & Shabala, S. (2015). Rapid regulation of the plasma membrane H^+-ATPase activity is essential to salinity tolerance in two halophyte species, Atriplex lentiformis and Chenopodium quinoa. Annals of botany, 115(3), 481–494.

Bose, J., Shabala, L., Pottosin, I., Zeng, F., Velarde-Buendía, A. M., Massart, A., Poschenrieder, C., Hariadi, Y., & Shabala, S. (2014). Kinetics of xylem loading, membrane potential maintenance, and sensitivity of K(+) -permeable channels to reactive oxygen species: physiological traits that differentiate salinity tolerance between pea and barley. Plant, cell & environment, 37(3), 589–600. https://doi.org/10.1111/pce.12180.

Cabañero, F. J., Martínez-Ballesta, M. C., Teruel, J. A., & Carvajal, M. (2006). New evidence about the relationship between water channel activity and calcium in salinity-stressed pepper plants. Plant & cell physiology, 47(2), 224–233. https://doi.org/10.1093/pcp/pci239.

Carey, J. C., & Fulweiler, R. W. (2014). Silica uptake by Spartina-evidence of multiple modes of accumulation from salt marshes around the world. Frontiers in plant science, 5, 186. https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00186.

Casaroli, D., DE Jonvan Lier, Q. (2008). Critérios para determinação da capacidade de vaso. Revista Brasileira de Ciência do Solo, 32(1), 59–66. https://doi.org/10.1590/S0100-06832008000100007.

Casaroli, D., DE Jonvan Lier, Q. (2008). Critérios para determinação da capacidade de vaso. Revista Brasileira de Ciência do Solo, 32(1), 59–66. https://doi.org/10.1590/S0100-06832008000100007.

Cheeseman J.M. (1982) Pump-leak sodium fluxes in low salt corn roots. Journal of Membrane Biology 70, 157–164. https://doi.org/10.1007/BF01870225.

Choi, W. G., Toyota, M., Kim, S. H., Hilleary, R., & Gilroy, S. (2014). Salt stress-induced Ca2+ waves are associated with rapid, long-distance root-to-shoot signaling in plants. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 111(17), 6497–6502. https://doi.org/10.1073/pnas.1319955111.

Demidchik, V., Shabala, S., Isayenkov, S., Cuin, T., & Pottosin, I. (2018). Calcium transport across plant membranes: mechanisms and functions. The New phytologist, 220 1, 49-69. https://doi.org/10.1111/nph.15266.

Edel, K. H., Marchadier, E., Brownlee, C., Kudla, J., & Hetherington, A. M. (2017). The Evolution of Calcium-Based Signalling in Plants. Current biology : CB, 27(13), R667–R679. https://doi.org/10.1016/j.cub.2017.05.020.

Epstein E. (1999). SILICON. Annual review of plant physiology and plant molecular biology, 50, 641–664. https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.50.1.641.

Gaxiola, R. A., Palmgren, M. G., & Schumacher, K. (2007). Plant proton pumps. FEBS letters, 581(12), 2204–2214. https://doi.org/10.1016/j.febslet.2007.03.050.

Gharbi, E., Martínez, J. P., Benahmed, H., Hichri, I., Dobrev, P. I., Motyka, V., Quinet, M., & Lutts, S. (2017). Phytohormone profiling in relation to osmotic adjustment in NaCl-treated plants of the halophyte tomato wild relative species Solanum chilense comparatively to the cultivated glycophyte Solanum lycopersicum. Plant science: an international journal of experimental plant biology, 258, 77–89. https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2017.02.006 a.

Gharbi, E., Martínez, J. P., Benahmed, H., Lepoint, G., Vanpee, B., Quinet, M., & Lutts, S. (2017). Inhibition of ethylene synthesis reduces salt-tolerance in tomato wild relative species Solanum chilense. Journal of plant physiology, 210, 24–37. https://doi.org/10.1016/j.jplph.2016.12.001 b.

Ghassemi-Golezani, K., Abdoli, S. (2021). Improving ATPase and PPase activities, nutrient uptake and growth of salt stressed ajowan plants by salicylic acid and iron-oxide nanoparticles. Plant Cell Rep 40, 559–573 (2021). https://doi.org/10.1007/s00299-020-02652-7.

Gheyi, H., Dias, N. da S,. Larcerda, C. F., Filho, E. G. (2016) Manejo da salinidade na agricultura: estudos básicos e aplicados (2ª ed). Fortaleza: INCTSal.

Gong, H. J., Randall, D. P., & Flowers, T. J. (2006). Silicon deposition in the root reduces sodium uptake in rice (Oryza sativa L.) seedlings by reducing bypass flow. Plant, cell & environment, 29(10), 1970–1979. https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2006.01572.x.

Haghighi M., Pessarakli M. (2013). Influence of silicon and nano-silicon on salinity tolerance of cherry tomatoes (Solanum lycopersicum L.) at early growth stage. Sci. Hortic, 161, 111–117. https://doi: 10.1016/j.scienta.2013.06.034.

Haynes, R.J. (2014), A contemporary overview of silicon availability in agricultural soils. J. Plant Nutr. Soil Sci., 177: 831-844. https://doi.org/10.1002/jpln.201400202.

Hedrich R, Salvador-Recatalà V, Dreyer I. Electrical Wiring and Long-Distance Plant Communication. Trends Plant Sci, 21(5) 3,76-387. https://doi: 10.1016/j.tplants.2016.01.016.

Hedrich, R., & Shabala, S. (2018). Stomata in a saline world. Current opinion in plant biology, 46, 87–95. https://doi.org/10.1016/j.pbi.2018.07.015.

Hoagland, D. R., Arnon,. D. I. (1950). The waterculture method for growing plants without soil. Berkeley, CA: Agric. Exp. Stn., Univ. of California. (Circ. 347).

Hoagland, D. R., Arnon,. D. I. (1950). The waterculture method for growing plants without soil. Berkeley, CA: Agric. Exp. Stn., Univ. of California. (Circ. 347).

Hoffmann, J., Berni, R., Hausman, J. F., & Guerriero, G. (2020). A Review on the Beneficial Role of Silicon against Salinity in Non-Accumulator Crops: Tomato as a Model. Biomolecules, 10(9), 1284. https://doi.org/10.3390/biom10091284.

Kashyap, S. P., Prasanna, H. C., Kumari, N., Mishra, P., & Singh, B. (2020). Understanding salt tolerance mechanism using transcriptome profiling and de novo assembly of wild tomato Solanum chilense. Scientific reports, 10(1), 15835. https://doi.org/10.1038/s41598-020-72474-w.

Kehr J. (2013). Systemic regulation of mineral homeostasis by micro RNAs. Frontiers in plant science, 4, 145. https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00145.

Khan, A., Khan, A. L., Imran, M., Asaf, S., Kim, Y. H., Bilal, S., Numan, M., Al-Harrasi, A., Al-Rawahi, A., & Lee, I. J. (2019). Silicon-induced thermotolerance in Solanum lycopersicum L. via activation of antioxidant system, heat shock proteins, and endogenous phytohormones. BMC plant biology, 20(1), 248. https://doi.org/10.1186/s12870-020-02456-7.

Korndörfer, G.H., Pereira, H.S., Nola, A. (2004). Análise de silício: solo, planta e fertilizante. Uberlândia: GPSi-ICIAG-UFU, 2004. 34p. (Boletim técnico, 2).

Kraska, J. E., Breitenbeck, G. A., (2010) Simple, Robust Method for Quantifying Silicon in Plant Tissue, Communications in Soil Science and Plant Analysis, 41:17, 2075-2085, https://doi.org/10.1080/00103624.2010.498537.

Li, H., Zhu, Y., Hu, Y., Han, W., Gong, H. (2015). Beneficial effects of silicon in alleviating salinity stress of tomato seedlings grown under sand culture. Acta Physiol Plant 37, 71. https://doi.org/10.1007/s11738-015-1818-7.

Liang, Y., Zhang, W., Chen, Q., Ding, R. (2005). Effects of silicon on H + -ATPase and H + -PPase activity, fatty acid composition and fluidity of tonoplast vesicles from roots of salt-stressed barley (Hordeum vulgare L.). Environmental and Experimental Botany, 53 (1), 29-37. https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2004.02.010.

Macedo, F. C. O. (2015). Electrical signaling, gas exchange and turgor pressure in ABA-deficient tomato (cv. Micro-Tom) under drought. Tese de Doutorado, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba. doi:10.11606/T.11.2016.tde-07012016-171609.

Mahmoud, E.F., Abdel-Haliem, H. S., Hegazy, N. S., Hassan, D. M. (2017). Effect of silica ions and nano silica on rice plants under salinity stress, Ecological Engineering, 99, 282-289. https://doi.org 10.1016/j.ecoleng.2016.11.060.

Manishankar, P., Wang, N., Köster, P., Alatar, A. A., & Kudla, J. (2018). Calcium Signaling during Salt Stress and in the Regulation of Ion Homeostasis. Journal of experimental botany, 10.1093/jxb/ery201. Advance online publication. https://doi.org/10.1093/jxb/ery201.

Martínez-Ballesta, M. C., Martínez, V., & Carvajal, M. (2003). Aquaporin functionality in relation to H+-ATPase activity in root cells of Capsicum annuum grown under salinity. Physiologia plantarum, 117(3), 413–420. https://doi.org/10.1034/j.1399-3054.2003.00044.x.

Miyazawa, M., Pavan, M. A., Muraoka, T., Carmo, C. A. F. S., Melo, W. J. (2009). Análise química de tecido vegetal. In: Silva, F. C. (ed.). Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes. 2.ed. Brasília: Embrapa informação tecnológica, 2009. Cap.1, p.193-233.

Navada, S., Vadstein, O., Gaumet, F., Tveten, A. K., Spanu, C., Mikkelsen, Ø., & Kolarevic, J. (2020). Biofilms remember: Osmotic stress priming as a microbial management strategy for improving salinity acclimation in nitrifying biofilms. Water research, 176, 115732. https://doi.org/10.1016/j.watres.2020.115732.

Nguyen, C. T., Agorio, A., Jossier, M., Depré, S., Thomine, S., & Filleur, S. (2016). Characterization of the Chloride Channel-Like, AtCLCg, Involved in Chloride Tolerance in Arabidopsis thaliana. Plant & cell physiology, 57(4), 764–775. https://doi.org/10.1093/pcp/pcv169.

Opritov, V.A., Pyatygin, S.S., and Retivin, V.G. (1991). Bioelektrogenez u vysshikh rastenii (Bioelectrogenesis in Higher Plants), Moscow: Nauka .

Pailles, Y., Awlia, M., Julkowska, M., Passone, L., Zemmouri, K., Negrão, S., Schmöckel, S. M., & Tester, M. (2020). Diverse Traits Contribute to Salinity Tolerance of Wild Tomato Seedlings from the Galapagos Islands. Plant physiology, 182(1), 534–546. https://doi.org/10.1104/pp.19.00700.

Parveen, A., Liu, W., Hussain, S., Asghar, J., Perveen, S., & Xiong, Y. (2019). Silicon Priming Regulates Morpho-Physiological Growth and Oxidative Metabolism in Maize under Drought Stress. Plants, 8(10), 431. https://doi.org/10.3390/plants8100431.

Paszewski, A., Zawadzki, T. (1973). Action potentials in Lupinus anguslifolius L. shoots. Journal of Experimental Botany 24, 804-9.

Perri, S., Katul, G.G. and Molini, A. (2019), Xylem–phloem hydraulic coupling explains multiple osmoregulatory responses to salt stress. New Phytol, 224: 644-662. https://doi.org/10.1111/nph.16072.

Pyatygin, S.S. (2003). Electrogenesis of Plant Cells under Stress Conditions, Usp. Sovrem. Biol. 123, 552–562.

Pyatygin, S.S., Opritov, V.A., and Khudyakov, V.A. (1992). Subthreshold Changes in Excitable Membranes of Cucurbita pepo L.: Stem Cells during Cooling-Induced Action Potential Generation, Planta,186,161–165.

Pyatygin, S.S., Opritov, V.A., Vodeneev,V. A. (2008). Signaling role of action potential in higher plants. Russ J Plant Physiol, 55, 285-91; http://dx.doi.org/10.1134/ S1021443708020179.

Pyatygin, S.S., Vodeneev, V.A., and Opritov, V.A., (2005). Coupling of Action Potential Generation and Metabolism in Plant Cells: Current View on the Problem, Usp. Sovrem. Biol, 125, 520–528.

Seifikalhor, M., Aliniaeifard, S., Shomali, A., Azad, N., Hassani, B., Lastochkina, O., & Li, T. (2019). Calcium signaling and salt tolerance are diversely entwined in plants. Plant signaling & behavior, 14(11), 1665455. https://doi.org/10.1080/15592324.2019.1665455.

Shabala, S., Chen, G., Chen, Z. H., & Pottosin, I. (2019). The energy cost of the tonoplast futile sodium leak. The New phytologist, 225(3), 1105–1110. https://doi.org/10.1111/nph.15758.

Shabala, S., Shabala, L., Barcelo, J., & Poschenrieder, C. (2014). Membrane transporters mediating root signalling and adaptive responses to oxygen deprivation and soil flooding. Plant, cell & environment, 37(10), 2216–2233. https://doi.org/10.1111/pce.12339.

Sheldon, A.R., Dalal, R.C., Kirchhof, G., Kopitte, P. M., Menzies, N. W. (2017) The effect of salinity on plant-available water. Plant Soil 418, 477–491. https://doi.org/10.1007/s11104-017-3309-7.

Sherstneva, O.N., Surova, L.M., Vodeneev, V.A., YU, I. P., Busheva, A. V., Sukhov, V. S. (2016). The role of the intra- and extracellular protons in the photosynthetic response induced by the variation potential in pea seedlings. Biochem. 10, 60–67 (2016). https://doi.org/10.1134/S1990747815050116.

Shin, Y. K., Bhandari, S. R., Jo, J. S., Song, J. W., Cho, M. C., Yang, E. Y., & Lee, J. G. (2020). Response to Salt Stress in Lettuce: Changes in Chlorophyll Fluorescence Parameters, Phytochemical Contents, and Antioxidant Activities. Agronomy, 10(11), 1627. doi:10.3390/agronomy10111627.

Sirisuntornlak, N., Ullah, H., Sonjaroon, W., Anusontpornperm, S., Arirob, W., & Datta, A. (2020). Interactive Effects of Silicon and Soil pH on Growth, Yield and Nutrient Uptake of Maize. Silicon, 1-11. https://doi.org/10.1007/s12633-020-00427-z.

Stolarz, M., & Dziubinska, H. (2017). Osmotic and Salt Stresses Modulate Spontaneous and Glutamate-Induced Action Potentials and Distinguish between Growth and Circumnutation in Helianthus annuus Seedlings. Frontiers in plant science, 8, 1766. https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01766.

Sukhov, V., Sukhova, E., & Vodeneev, V. (2019). Long-distance electrical signals as a link between the local action of stressors and the systemic physiological responses in higher plants. Progress in biophysics and molecular biology, 146, 63–84. https://doi.org/10.1016/j.pbiomolbio.2018.11.009.

Sukhova, E., Akinchits, E., & Sukhov, V. (2017). Mathematical Models of Electrical Activity in Plants. The Journal of membrane biology, 250(5), 407–423. https://doi.org/10.1007/s00232-017-9969-7.

Sun, H., Duan, Y., Mitani-Ueno, N., Che, J., Jia, J., Liu, J., Guo, J., Ma, J. F., & Gong, H. (2020). Tomato roots have a functional silicon influx transporter but not a functional silicon efflux transporter. Plant, cell & environment, 43(3), 732–744. https://doi.org/10.1111/pce.13679.

Sun, J., Dai, S., Wang, R., Chen, S., Li, N., Zhou, X., Lu, C., Shen, X., Zheng, X., Hu, Z., Zhang, Z., Song, J., & Xu, Y. (2009). Calcium mediates root K+/Na+ homeostasis in poplar species differing in salt tolerance. Tree physiology, 29(9), 1175–1186. https://doi.org/10.1093/treephys/tpp04.

Szechyńska-Hebda, M., Lewandowska, M., & Karpiński, S. (2017). Electrical Signaling, Photosynthesis and Systemic Acquired Acclimation. Frontiers in physiology, 8, 684. https://doi.org/10.3389/fphys.2017.00684

Tatagiba, S. D., Moraes, G. A. B. K., Nascimento, K. J. T., & Peloso, A. F. (2014). Limitações fotossintéticas em folhas de plantas de tomateiro submetidas a crescentes concentrações salinas. Revista Engenharia Na Agricultura - Reveng, 22(2), 138-149. https://doi.org/10.13083/reveng.v22i2.488.

Thorne, S. J., Hartley, S. E., & Maathuis, F. (2020). Is Silicon a Panacea for Alleviating Drought and Salt Stress in Crops? Frontiers in plant science, 11, 1221. https://doi.org/10.3389/fpls.2020.01221.

Tyerman, S. D., Munns, R., Fricke, W., Arsova, B., Barkla, B. J., Bose, J., Bramley, H., Byrt, C., Chen, Z., Colmer, T. D., Cuin, T., Day, D. A., Foster, K. J., Gilliham, M., Henderson, S. W., Horie, T., Jenkins, C., Kaiser, B. N., Katsuhara, M., Plett, D., … Wen, Z. (2019). Energy costs of salinity tolerance in crop plants. The New phytologist, 221(1), 25–29. https://doi.org/10.1111/nph.15555.

Usman, M., Farooq, M., Wakeel, A., Nawaz, A., Cheema, S. A., Rehman, H. U., Ashraf, I., & Sanaullah, M. (2020). Nanotechnology in agriculture: Current status, challenges and future opportunities. The Science of the total environment, 721, 137778. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.137778.

Vodeneev, V., Akinchits, E., & Sukhov, V. (2015). Variation potential in higher plants: Mechanisms of generation and propagation. Plant signaling & behavior, 10 (9), e1057365. https://doi.org/10.1080/15592324.2015.1057365.

Vodeneev, V.A., Katicheva, L.A. & Sukhov, V.S. (2016). Electrical signals in higher plants: Mechanisms of generation and propagation. BIOPHYSICS 61, 505–512. https://doi.org/10.1134/S0006350916030209.

Wang, H., Qian, X., Zhang, L., Xu, S., Li, H., Xia, X., Dai, L., Xu, L., Yu, J., & Liu, X. (2018). A Method of High Throughput Monitoring Crop Physiology Using Chlorophyll Fluorescence and Multispectral Imaging. Frontiers in plant science, 9, 407. https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00407.

Wang, S., Liu, P., Chen, D., Yin, L., Li, H., & Deng, X. (2015). Silicon enhanced salt tolerance by improving the root water uptake and decreasing the ion toxicity in cucumber. Frontiers in plant science, 6, 759. https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00759.

Yao, J., Sun, D., Cen, H., Xu, H., Weng, H., Yuan, F., & He, Y. (2018). Phenotyping of Arabidopsis Drought Stress Response Using Kinetic Chlorophyll Fluorescence and Multicolor Fluorescence Imaging. Frontiers in plant science, 9, 603. https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00603.

Zawadzki, T., Dziubiśka, H. and Davies, E. (1995), Characteristics of action potentials generated spontaneously in Helianthus annuus. Physiologia Plantarum, 93: 291-297. https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1995.tb02231.x

Zawadzki, T., Dziubiśka, H. and Davies, E. (1995), Characteristics of action potentials generated spontaneously in Helianthus annuus. Physiologia Plantarum, 93: 291-297. https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1995.tb02231.x

Zhang, Y.; Shi, Y.; Gong, H.; Zhao, H.; Li, H.; Hu, Y.; Wang, Y. (2018). Beneficial e ects of silicon on photosynthesis of tomato seedlings under water stress. J. Integr. Agric, 17, 2151–2159. https://doi.org/10.1016/S2095-3119(18)62038-6.

6 CONCLUSÃO GERAL

No presente trabalho, objetivamos investigar a influência das nanopartículas de silício na dinâmica elétrica, bem como o efeito indireto na fotosíntesse. Dessa forma, nossos resultados demonstram uma efetivididade das SiNPs na mitigação da salinidade em espécie não acumuladora de Si e de caracter glicofita quanto a tolerância da salinidade. Assim, em um primeiro momento, observamos uma menor redução do crescimento do tomateiro, a partir do numero de folhas, flores, área foliar e ganho na biomassa e em função da baixa concentração de Na^+ e aumento da concentração de Ca^{2+}, também constatado nos nossos resultados. Logo, esses resultados indicaram possíveis mudanças no fluxo iônico no tomateiro sob salinidade.

A caracterização elétrica das espécies glicófita e halófita, evidenciou a sensibilidade do tomateiro sem silício aos efeitos iônicos da salinadade, pois constatamos diferença do potencial de membrana entre tomate e quinoa ao longo do período medida, com concentração sob 100 mM de NaCl, bem como maior número de potencial de ação e potencial de variação emitidos, dos quais diferiram dos sinais observado na quinoa, em destaque a amplitude (mV) e duração do sinal. Nossos resultados demonstram comportamento elétrico diferente entre as espécies, sendo esse um mecanismo chave para sobrevivência em ambiente salino.

As nanopartículas de silício provocaram um comportamento elétrico semelhante ao observado na quinoa, sendo essa uma espécie tolerante a salinidade, com menor número de PAs de baixas amplitudes em comparação ao tomateiro sem NanoSi sob 75 mM de NaCl, tanto sob a condição de estresse curto (0 dias) como no estresse longo (7 dias). Dessa forma, pode está envolvido com as menores redução do Fv/Fm, Φ PSII (Y II) e Qp, indicando um efeito indireto na fotossíntese, a partir do efeito do silício sobre o potencial de membrana de tomateiro. Dessa forma, demonstramos que o silício possibilita menores mudanças no potencial de membrana sob estresse salino, causando menor acúmulo de Na^+, como consequência manutenção do balanço iônico que, juntos, resultam no aumento da tolerância a salinidade, mesmo em espécie glicófita e não acumuladora de silício.

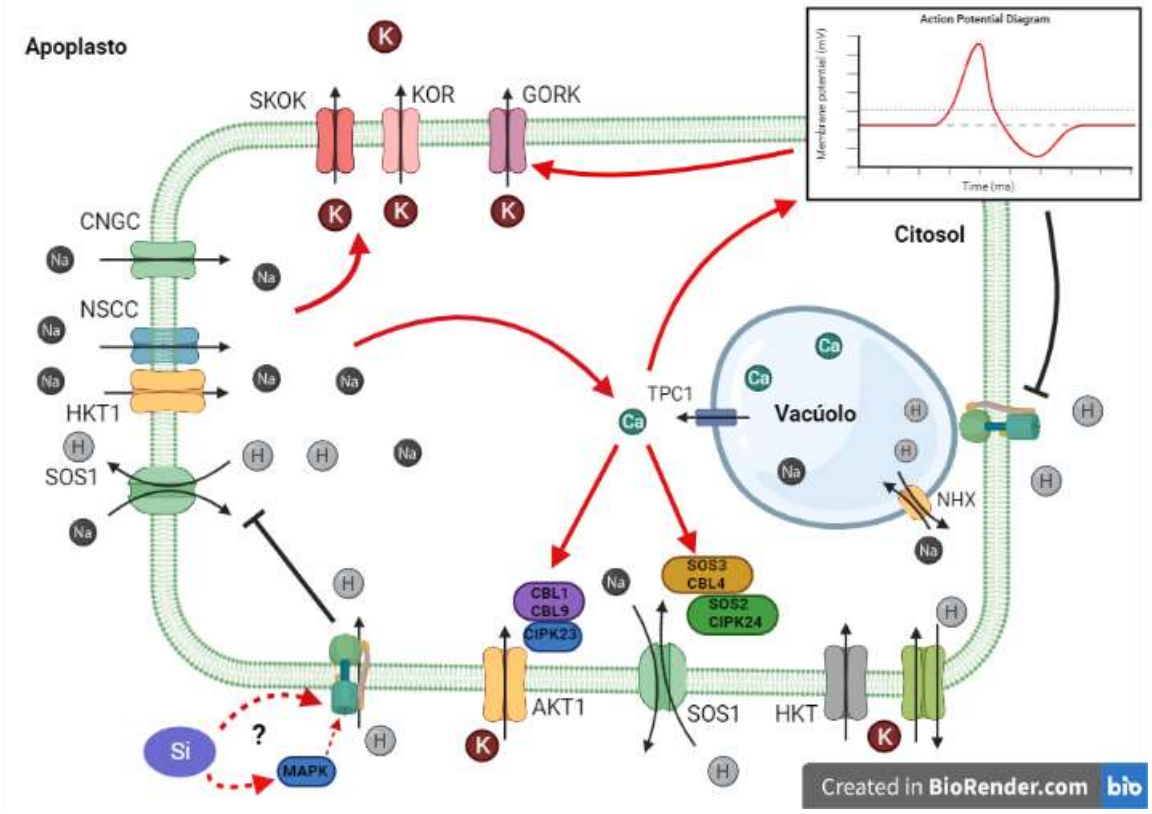

Figura 1. Modelo esquemático do mecanismo de atenuação do silício em plantas de tomateiro sobre condição de estesse salino. O influxo de Na^+ para o citosol é mediado atráves dos canais CNGC, NSCC, SOS1, HKT1 resultando em várias mudanças na célula, como ativação dos canais SKOK e KOR de efluxo de K^+. Esse aumento da concentração de Na^+ também provoca, de forma transitória, no aumento do Ca^{2+} no citoplasma, oriundos do vacúolo e apoplasto. Dessa forma, ocorre a despolarização da membrana, podendo originar o PAs ou PVs, ao mesmo tempo que provoca o aumento o efluxo de K^+ e bloquei da H^+-ATPase, posteriormente, esse bloqueio o silício promove o aumento da atividade H^+-ATPase durante o reestabelecimento do potencial de membrana (repolarização), atráves de interação direta ou indireta, por meio da MAPK com a bomba de H^+-ATPase. Isso permite um aumento dos prótons no citosol, bloqueando assim o influxo Na^+ por meio dos canais SOS1 e a diminuição do influxo de Na^+, atráves canais catiônicos não seletivos (NSCC), regulado mediante a voltagem da membrana. Alem disso, a sinalização de Ca^{2+} em cascata, confere o influxo de ions de K^+ atráves do canal AKT1 e efluxo do Na+, por meio do canal SOS1. Todo esse mecanismo confere menor acúmulo de Na^+ no citosol, atráves do exlusão ou sequestro do Na^+ para o vaculo. Sentido do transporte de ions (seta preta), efeito indutivo (seta vermelha) efeito inibitório (linha preta).