



**RONIEL GERALDO AVILA**

**INDUÇÃO DE TOLERÂNCIA À SECA EM SORGO  
CULTIVADO SOB DÉFICIT HÍDRICO E SUPLEMENTADO  
COM SILÍCIO E NITRATO DE POTÁSSIO NO PRÉ-  
FLORESCIMENTO**

**LAVRAS- MG  
2018**

**RONIEL GERALDO AVILA**

**INDUÇÃO DE TOLERÂNCIA À SECA EM SORGO CULTIVADO SOB DÉFICIT  
HÍDRICO E SUPLEMENTADA COM SILÍCIO E NITRATO DE POTÁSSIO NO  
PRÉ-FLORESCIMENTO**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fisiologia Vegetal, área de concentração em Fisiologia Vegetal, para a obtenção do título de Doutor.

Amauri Alves de Alvarenga  
Orientador

Prof. Dr. Paulo César Magalhães  
Coorientador

**LAVRAS- MG  
2018**

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca Universitária da UFLA,  
com dados informados pelo (a) próprio(a) autor(a).

Avila, Roniel Geraldo.

Indução de tolerância à seca em sorgo cultivado sob déficit hídrico e suplementada com silício e nitrato de potássio no pré-florescimento / Roniel Geraldo Avila. – 2018.

123 p. : il.

Orientador: Amauri Alves de Alvarenga.

Coorientador: Paulo César Magalhães.

Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Lavras, 2018.

Bibliografia.

1. Seca. 2. Fotossíntese. 3. Sorgo. 4. Nutrição. 5. Silício. 6. Nitrato de potássio. I. Alvarenga, Amauri Alves de. II. Magalhães, Paulo César. III. Título.

**RONIEL GERALDO AVILA**

**INDUÇÃO DE TOLERÂNCIA À SECA EM SORGO CULTIVADO SOB DÉFICIT  
HÍDRICO E SUPLEMENTADA COM SILÍCIO E NITRATO DE POTÁSSIO NO  
PRÉ-FLORESCIMENTO**

**INDUCTION OF DROUGHT TOLERANCE IN SORGHUM CULTIVATED UNDER  
WATER DEFICIT AND SUPPLEMENTED WITH SILICON AND POTASSIUM  
NITRATE IN PRE-FLOWERING**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fisiologia Vegetal, área de concentração em Fisiologia Vegetal, para a obtenção do título de Doutor.

APROVADA em 28 de setembro de 2018.

Prof. Dra. Kamila Rezene Dázio de Souza

Pesquisadora Dra. Débora de Oliveira Prudente      Centro de Tecnologia Canavieira

Prof. Dr. Paulo Eduardo Ribeiro Marchiori      UFLA

Prof. Dr. Amauri Alves de Alvarenga  
Orientador

Dr. Paulo César Magalhães  
Coorientador

**LAVRAS- MG  
2018**

*Às grandes e amadas mulheres de minha vida, “vó” Maria da Glória Silva (in memoriam), e mãe, Maria Aparecida Gomes Avila que me ensinaram o verdadeiro amor.*

**Ofereço!**

*Às crianças carentes do Brasil que sonham em serem grandes profissionais no futuro, porém enfrentam diariamente dificuldades para estudar, se alimentar e ter acesso à saúde e saneamento básico.*

**À vocês, dedico!**

## AGRADECIMENTOS

À Deus pela dádiva da vida e por estar sempre comigo.

Aos meus pais e familiares pelo apoio em todos os momentos da minha vida.

À minha namorada Cleide Campos, por ser essencial nessa conquista, segurando minha mão nos momentos de sucesso e de dificuldades.

Ao meu co-orientador e mentor Dr. Paulo César Magalhães, não apenas por me orientar durante minha pesquisa, mas também por ser um grande amigo e um exemplo de profissional e homem que levarei por toda minha vida.

Ao meu orientador Amauri Alves de Alvarenga, por me ensinar, orientar, acreditar no meu trabalho e me apoiar durante toda minha pós-graduação.

Aos meus professores do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fisiologia Vegetal da Universidade Federal de Lavras que nem enxergaram barreiras para propagar o conhecimento.

Aos meus Amigos de Lavras, Sete Lagoas e Guapé em especial a Vânia Aline Cunha, Jaqueline Amorim, Diogo Dutra, Jonas Vicente, Jacqueline Oliveira, Juliene dos Reis Moreira, Jessica Batista, Ana Lívia Scarpa, José Willer Prado (Zéca), Alex dos Santos Macedo, Gustavo Simão, Rafaela Ribeiro de Souza, Rafael dos Anjos, Victor Hugo, Rhenan Duarte, Dayane Meireles, Márcio Espinoza e Hugo Bentzen.

Aos meus amigos do grupo de trabalho Eder Marcos da Silva, Caroline Reis, Carlos Junior, Daniele Marques, José Eduardo, Gilberto Ribeiro Rodrigues, Raphael Reis e Joyce Alvarenga, vocês foram essenciais para a realização desse trabalho.

A minha amiga e mentora Kamila Dázio, obrigado pela amizade e ensinamento.

Aos meus irmãos da Casa dos Mitos e agregados Túlio Guimarães, Flavio Marques, Lucas Dezidério, Eder Marcos, Bruna Santos, Breno Henrique, Pedro Crouse e Júlio Marques. Agradeço a Deus pela amizade sincera de vocês e desejo que vocês continuem assim, uns verdadeiros mitos.

Ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fisiologia Vegetal e Universidade Federal de Lavras pela oportunidade de desenvolver meu doutorado.

A Embrapa Milho e Sorgo por possibilitar toda estrutura necessária para realização dos meus trabalhos.

Aos funcionários da UFLA e da Embrapa Milho e Sorgo.

A todos que de alguma forma foram importantes para a conquista do meu título de doutor.

O presente trabalho foi realizado com apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais (FAPEMIG).

**Agradeço!**

*“Pouco conhecimento faz com que as pessoas se sintam orgulhosas. Muito conhecimento, que se sintam humildes. É assim que as espigas sem grãos erguem desdenhosamente a cabeça para o Céu, enquanto que as cheias as baixam para a terra, sua mãe.”*

Leonardo da Vinci

## RESUMO GERAL

A seca como agente ambiental estressante pode comprometer severamente o crescimento e produção de diversas culturas agrícola, inclusive do sorgo. No entanto, os efeitos da seca podem ser mitigados com o uso de indutores de tolerância à seca, destacando o silício (Si) e o nitrato de potássio ( $\text{KNO}_3$ ). Assim sendo, objetivou-se com esse trabalho avaliar a capacidade da suplementação com  $\text{KNO}_3$  e Si em modular positivamente processos morfofisiológicos de modo a aumentar a tolerância à seca de plantas de sorgo cultivadas sobre déficit hídrico no pré-florescimento. Os ensaios para avaliar a capacidade do  $\text{KNO}_3$  e Si em induzir tolerância à seca foram conduzidos individualmente em casa de vegetação. Para tanto, o delineamento utilizado para ambos os ensaios foram inteiramente casualizados e constituídos por 4 tratamentos. Para  $\text{KNO}_3$  os tratamentos foram: capacidade de campo (CC), déficit hídrico (DH), capacidade de campo +  $\text{KNO}_3$  (CC +  $\text{KNO}_3$ ) e déficit hídrico +  $\text{KNO}_3$  (DH), com seis repetições. Foram feitas duas aplicação foliares do  $\text{KNO}_3$  a 3% (m/v), sendo a primeira no dia zero do estresse e a segunda no quinto dia. O material vegetal utilizado foi a cultivar sensível à seca P898012. Os tratamentos com Si foram capacidade de campo CC, DH, CC + Si e DH + Si com seis repetições. O fornecimento de silício se deu por fertirrigação a uma concentração de 2 mM aplicado via solo em um volume de 250 ml por dia, durante 17 dias. O genótipo utilizado foi o BRS 331 sensível a seca. Em ambos os experimentos o estresse foi imposto no pré-florescimento e teve duração de doze dias. Na condição de seca, as plantas tratadas com  $\text{KNO}_3$  apresentaram maiores níveis de clorofilas, maior taxa fotossintética, condutância estomática, transpiração, eficiência de carboxilação e maiores teores de P, K, Mg, S, Cu e Fe quando comparado àquelas não tratadas com  $\text{KNO}_3$ . Ademais, plantas tratadas com  $\text{KNO}_3$  nessa condição, apresentaram maior crescimento e tiveram o rendimento de grãos 32,2% maior que aquelas que não receberam  $\text{KNO}_3$ . Através dessas variáveis, é possível afirmar que o  $\text{KNO}_3$  induziu tolerância à seca em plantas de sorgo submetidas ao estresse hídrico severo no pré-florescimento. O tratamento com silício mitigou os efeitos da seca sobre o potencial foliar, fotossíntese, e morfometria do sistema radicular. Além disso, atuou positivamente sobre o sistema antioxidante e conteúdo de açúcares. Esses efeitos positivos contribuíram para um maior rendimento de grãos e, portanto, para uma maior tolerância à seca. O tratamento com silício não aumentou a expressão relativa das aquaporinas *TIP 4 PIP1;6* e *PIP1;3/1;4*. No entanto, constatou-se nesse estudo, que a aquaporina *TIP 4* é mais responsiva à seca em plantas de sorgo do que as aquaporinas *PIP1;6* e *PIP1;3/1;4*.

**Palavras-chave:** Seca. *Sorghum*. *Stay green*. Fotossíntese. Raiz.

## GENERAL ABSTRACT

Drought as a stressful environmental agent can severely compromise the growth and production of various agricultural crops, including sorghum. However, the use of drought tolerance inducers can mitigate the effects of drought, especially silicon (Si) and potassium nitrate (KNO<sub>3</sub>). Thus, the objective of this work was to evaluate the ability of KNO<sub>3</sub> and Si supplementation to positively modulate morphophysiological processes in order to increase the tolerance to drought of sorghum plants grown on pre-flowering water deficit. The assays to evaluate the ability of KNO<sub>3</sub> and Si to induce drought tolerance were conducted individually under greenhouse conditions. For this, the design used for both trials was completely randomized and consisted of four treatments. To KNO<sub>3</sub> the treatments were: field capacity (CC), water deficit (DH), field capacity + KNO<sub>3</sub> (CC + KNO<sub>3</sub>) and water deficit + KNO<sub>3</sub> (DH + KNO<sub>3</sub>), with six replications. Two foliar applications of KNO<sub>3</sub> at 3% (m / v) were made, the first at day zero of stress and the second at day five. The plant material used was the cultivar P898012 sensitive to drought. The Si treatments were field capacity CC, DH, CC + Si and DH + Si with six replicates. The fertigation at a concentration of 2 mM gave the silicon feed and was applied via soil in a volume of 250 ml per day for 17 days. The genotype used was BRS 331 sensitive to drought. In both experiments, the stress was imposed on pre-flowering and lasted for twelve days. In the dry condition, the plants treated with KNO<sub>3</sub> presented higher levels of chlorophylls, higher photosynthetic rate, stomatal conductance, transpiration, carboxylation efficiency and higher levels of P, K, Mg, S, Cu and Fe when compared to those not treated with KNO<sub>3</sub>. In addition, plants treated with KNO<sub>3</sub> in this condition showed higher growth and had grain yield 32.2% higher than those that did not receive KNO<sub>3</sub>. Through these variables, it is possible to affirm that KNO<sub>3</sub> induced drought tolerance in sorghum plants submitted to severe water stress in pre-flowering. The treatment with silicon mitigated the effects of drought on leaf potential, photosynthesis, and morphometry of the root system. Besides, it performed positively on the antioxidant system and sugar content. These positive effects contributed to a higher yield of grains and, therefore, to a greater tolerance to drought. The silicon treatment did not increase the relative expression of the TIP 4 aquaporins PIP1; 6 and PIP1; 3/1; 4. However, it was found in this study that aquaporin TIP 4 is more responsive to drought in sorghum plants than the aquaporins PIP1; 6 and PIP1; 3/1; 4. Therefore, it is concluded that both Si and KNO<sub>3</sub> were effective in inducing tolerance to sorghum drought.

**Keywords:** Drought. *Sorghum*. *Stay green*. Photosynthesis. Root.

## LISTA DE FIGURAS

### CAPÍTULO 1

- Figura 1 - Mapa de produção do sorgo no Brasil. .... 19
- Figura 2 - Representação esquemática das vias de eliminação de EROs em cloroplastos.....23
- Figura 3 - Representação esquemática do metabolismo vegetal em respostas à seca. Traços com seta indicam aumento na atividade e/ou acúmulo de moléculas. Traços bloqueados indicam que reduz a produção e acúmulo. ROS: reactive oxygen species. ....28
- Figura 4 - Esquema ilustrativo de plantas de sorgo em dois ambientes hídricos, irrigado e sequeiro, demonstrando o comprimento e a distribuição de raízes em diferentes profundidades no perfil do solo. ....29

### CAPÍTULO 2

- Figura 1 - Potencial hídrico foliar mínimo de folhas de plantas de sorgo submetidas ao estresse hídrico e tratadas com  $\text{KNO}_3$  no pré-florescimento (CC - capacidade de campo; DH - déficit hídrico; CC +  $\text{KNO}_3$  - capacidade de campo +  $\text{KNO}_3$ ; DH +  $\text{KNO}_3$  - Déficit hídrico +  $\text{KNO}_3$ ). .... 50
- Figura 2 - Índice de SPAD – A; Relação  $F_v/F_m$  – B, em de plantas de sorgo submetidas ao estresse hídrico e tratadas com  $\text{KNO}_3$  no pré-florescimento (CC - capacidade de campo; DH - déficit hídrico; CC +  $\text{KNO}_3$  - capacidade de campo +  $\text{KNO}_3$ ; DH +  $\text{KNO}_3$  - Déficit hídrico +  $\text{KNO}_3$ ). .... 51
- Figura 3 - A = taxa fotossintética ( $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) - A;  $g_s$  = condutância estomática ( $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) - B; E = Taxa transpiratória ( $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) - C;  $C_i$  = Carbono interno ( $\mu\text{mol mol}^{-1}$ ) - D;  $A/g_s$  = eficiência intrínseca no uso da água ( $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mmol H}_2\text{O}$ ) – E e  $A/C_i$  = eficiência de carboxilação – F em de plantas de sorgo submetidas ao estresse hídrico e tratadas com  $\text{KNO}_3$  no pré-florescimento florescimento (CC – capacidade de campo; DH – déficit hídrico; CC +  $\text{KNO}_3$  – capacidade de campo +  $\text{KNO}_3$ ; DH +  $\text{KNO}_3$  – déficit hídrico +  $\text{KNO}_3$ ). .... 52
- Figura 4 - Relação entre condutância estomática ( $g_s$ ) e fotossíntese (A) -A e entre eficiência de carboxilação ( $A/C_i$ ) e eficiência do fotossistema II ( $F_v/F_m$ ) – B, em plantas de sorgo submetidas ao estresse hídrico e tratadas com  $\text{KNO}_3$  no pré-florescimento. Correlação linear, significativa a 1% de probabilidade..... 53

Figura 5 - Morfometria de raízes de plantas de sorgo submetidas ao estresse hídrico e tratados com KNO<sub>3</sub> no pré-florescimento. ASRMF: Área superficial de raízes muito finas.; ASRF: Área superficial de raízes finas.; ASRG: Área superficial de raízes grossas – **A**. VRMF: Volume de raízes muito finas.; VRF: Volume de raízes finas; VRG: Volume de raízes grossas- **B** (CC – capacidade de campo; DH – déficit hídrico; CC + KNO<sub>3</sub> – capacidade de campo + KNO<sub>3</sub>; DH + KNO<sub>3</sub> – déficit hídrico + KNO<sub>3</sub>). .....55

### CAPÍTULO 3

Figura 1 - Potencial hídrico foliar ao meio dia em plantas de sorgo submetidas a diferentes regimes de água, tratadas ou não-tratadas com Si (CC – capacidade de campo; DH – déficit hídrico; CC + Si – tratadas com Si e sob capacidade de campo; DH + Si – tratadas com Si e sob déficit hídrico). .....75

Figura 2 -  $A$  = taxa fotossintética ( $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) -  $A$ ;  $g_s$  = condutância estomática ( $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) -  $B$ ;  $E$  = taxa transpiratória ( $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) -  $C$ ;  $C_i$  = carbono interno -  $D$ ;  $A/C_i$  = eficiência de carboxilação estantânea -  $E$ ; EUA = eficiência no uso da água ( $\text{mol CO}_2 \text{ mmol}^{-1} \text{ H}_2\text{O}$ ) -  $F$ , em plantas de sorgo submetidas ao estresse hídrico e fertilizadas com silício no pré-florescimento. (CC – capacidade de campo; DH – déficit hídrico; CC + Si – tratadas com Si em capacidade de campo; DH + Si – tratadas com Si e sob déficit hídrico). .....77

Figura 3 - Expressão relativa dos genes de aquaporinas: TIP 4;2 –  $A$ ; PIP 1;6 -  $B$  e PIP 1;3/1;4 -  $C$  em raízes de plantas de sorgo submetidas ao déficit hídrico e fertilizadas com silício no pré-florescimento. (CC – capacidade de campo; DH – déficit hídrico; CC + Si – tratadas com Si e sob capacidade de campo; DH + Si – tratadas com Si e sob déficit hídrico). .....79

Figura 4 - Área superficial de raízes muito finas (ASRMF)  $\text{cm}^2$  -  $A$ , área superficial de raízes finas (ASRF)  $\text{cm}^2$  -  $B$ , área superficial de raízes grossas (ASRG)  $\text{cm}^2$  -  $C$ , volume de raízes muito finas (VRMF)  $\text{cm}^3$  -  $D$ , volume de raízes finas (VRF)  $\text{cm}^3$  -  $E$ , volume de raízes grossas (VRG)  $\text{cm}^3$  -  $F$ , e comprimento de raiz (m) -  $G$  de plantas de sorgo submetidas ao estresse hídrico e fertilizadas com silício no pré-florescimento. (CC – capacidade de campo; DH – déficit hídrico; CC + Si – tratadas com Si e sob capacidade de campo; DH + Si – tratadas com Si e sob déficit hídrico). .....81

Figura 5 - Índice de tolerância seca de plantas de sorgo submetidas ao estresse hídrico e fertilizadas com silício no pré-florescimento. ....	83
-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----

#### CAPÍTULO 4

Figura 1 - Potencial hídrico foliar ao meio dia em plantas de sorgo submetidas a diferentes regimes de água, tratadas ou não tratadas com Si (CC – capacidade de campo; DH – déficit hídrico; CC + Si – tratadas com Si e sob capacidade de campo; DH + Si – tratadas com Si e sob déficit hídrico).....	105
Figura 2 - Atividade das enzimas do sistema antioxidante enzimático (dismutase do superóxido (SOD) - A; peroxidase do ascorbato (APX) - B; catalase (CAT) - C; redutase do dehidroascorbato (DHAR) - D; redutase do monodehidroascorbato (MDHAR) - E; peroxidase do guaiacol (POD) - F) em folhas de plantas de sorgo submetidas a diferentes regimes de água, tratadas ou não tratadas com Si (CC – capacidade de campo; DH – déficit hídrico; CC + Si – tratadas com Si e sob capacidade de campo; DH + Si – tratadas com Si e sob déficit hídrico). ....	108
Figura 3 - Atividade das enzimas do sistema antioxidante enzimático (dismutase do superóxido (SOD) - A; peroxidase do ascorbato (APX) - B; catalase (CAT) - C; redutase do dehidroascorbato (DHAR) - D; redutase do monodehidroascorbato (MDHAR) - E; peroxidase do guaiacol (POD) - F) em raízes de plantas de sorgo submetidas a diferentes regimes de água, tratadas ou não tratadas com Si (CC – capacidade de campo; DH – déficit hídrico; CC + Si – tratadas com Si e sob capacidade de campo; DH + Si – tratadas com Si e sob déficit hídrico). ....	110
Figura 4 - Níveis de ascorbato em folhas (A) e raízes (B) de plantas de sorgo submetidas a diferentes regimes de água, tratadas ou não tratadas com Si (CC – capacidade de campo; DH – déficit hídrico; CC + Si – tratadas com Si e sob capacidade de campo; DH + Si – tratadas com Si e sob déficit hídrico). ..	111
Figura 5 - Níveis de Malondialdeído - MDA (A-folhas, B-raízes) e peróxido de hidrogênio - H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (C folha, D-Raízes) de plantas de sorgo submetidas a diferentes regimes de água, tratadas ou não tratadas com Si (CC – capacidade de campo; DH – déficit hídrico; CC + Si – tratadas com Si e sob capacidade de campo; DH + Si – tratadas com Si e sob déficit hídrico). ....	112

## LISTA DE TABELAS

### CAPÍTULO 1

Tabela 1 - Histórico das condições hídricas gerais e possíveis impactos nas diferentes fases* na cultura do sorgo nas diferentes regiões produtoras do país. ....	20
-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----

### CAPÍTULO 2

Tabela 1 - Macro e micronutrientes em folhas de plantas de sorgo submetidas ao estresse hídrico e tratadas com KNO <sub>3</sub> no pre-florescimento. ....	54
Tabela 2 - Altura de planta (AP), diâmetro de planta (DP), área foliar (AF), biomassa seca de grão (BSG) de plantas de sorgo submetidas ao estresse hídrico e tratadas com KNO <sub>3</sub> no pré-florescimento. ....	56

### CAPÍTULO 3

Tabela 1 - Conteúdo de clorofila a ( $\mu\text{g g}^{-1}$ MF), clorofila b ( $\mu\text{g g}^{-1}$ MF), clorofila total ( $\mu\text{g g}^{-1}$ MF) e carotenoides ( $\mu\text{g g}^{-1}$ MF) em folhas de plantas de sorgo submetidas ao estresse hídrico e fertilizadas com silício no pré-florescimento. ....	76
Tabela 2 - Macro e micronutrientes em folhas de plantas de sorgo submetidas ao déficit hídrico e fertilizadas com silício no pré-florescimento. ....	78
Tabela 3 - Altura de planta (AP), massa seca vegetativa (MSV), área foliar (AF), comprimento de panícula (CP), massa seca panícula (MSP), massa seca de grãos (MSG) e índice de colheita (IC) de plantas de sorgo submetidas ao estresse hídrico e fertilizadas com silício no pré-florescimento. ....	82

### CAPÍTULO 4

Tabela 1 - Macro e micromoléculas em folhas e raízes de plantas de sorgo submetidas ao déficit hídrico e tratadas com Si no pré-florescimento. ....	106
-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-----

## SUMÁRIO

<b>CAPÍTULO 1 INTRODUÇÃO GERAL</b> .....	17
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	17
<b>2 REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	19
<b>3 CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	35
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	36
<b>CAPÍTULO 2 A SUPLEMENTAÇÃO FOLIAR COM NITRATO DE POTÁSSIO INDUZ TOLERÂNCIA À SECA EM PLANTAS DE SORGO SUBMETIDAS AO ESTRESSE HÍDRICO NO PRÉ-FLORESCIMENTO</b> .....	42
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	44
<b>2 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	47
<b>2.1 Condições de cultivo, material vegetal e desenho experimental</b> .....	47
<b>2.2 Análises fisiológicas e morfológicas</b> .....	48
<b>2.3 Análises agronômicas</b> .....	48
<b>2.4 Análises estatísticas</b> .....	49
<b>3 RESULTADOS</b> .....	50
<b>4 DISCUSSÃO</b> .....	57
<b>5 CONCLUSÕES</b> .....	62
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	63
<b>ANEXO A – ANÁLISE DO SOLO E FERTILIZAÇÃO DAS PLANTAS</b> .....	66
<b>CAPÍTULO 3 A SUPLEMENTAÇÃO COM SILÍCIO INDUZ À TOLERÂNCIA À SECA EM PLANTAS DE SORGO AUMENTANDO O CRESCIMENTO DO SISTEMA RADICULAR E MELHORANDO A TAXA FOTOSSINTÉTICA</b> .....	67
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	69
<b>2 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	72
<b>2.1 Condições de cultivo, material vegetal e desenho experimental</b> .....	72
<b>2.2 Análises fisiológicas e morfológicas</b> .....	73
<b>2.3 Análises agronômicas e índice de tolerância</b> .....	74
<b>2.4 Análises estatísticas</b> .....	74
<b>3 RESULTADOS</b> .....	75
<b>3.1 Potencial hídrico foliar</b> .....	75
<b>3.2 Pigmentos fotossintéticos</b> .....	75
<b>3.3 Trocas gasosas</b> .....	76
<b>3.4 Macro e micro nutrientes</b> .....	77
<b>3.5 Aquaporinas</b> .....	78
<b>3.6 Morfometria de raízes</b> .....	80
<b>3.7 Crescimento e rendimento</b> .....	82
<b>4 DISCUSSÃO</b> .....	84
<b>5 CONCLUSÕES</b> .....	90
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	91
<b>CAPÍTULO 4 O SILÍCIO REGULA POSITIVAMENTE O METABOLISMO PRIMÁRIO, ANTIOXIDANTE E OSMORREGULADOR DE PLANTAS DE SORGO</b> .....	96
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	98
<b>2 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	101
<b>2.1 Condições de cultivo, tratamento, material vegetal e desenho experimental</b> .....	101
<b>2.2 Potencial hídrico foliar</b> .....	101
<b>2.3 Extração e atividade das enzimas do metabolismo antioxidante</b> .....	101

2.4	Extração e quantificação do teor de peróxido de hidrogênio (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ) e malondialdeído (MDA) .....	103
2.5	Extração e quantificação de ascorbato .....	103
2.6	Extração e quantificação das biomoléculas do metabolismo primário .....	103
2.7	Extração e quantificação de prolina .....	104
3	RESULTADOS .....	105
4	DISCUSSÃO .....	113
5	CONCLUSÕES.....	119
	REFERÊNCIAS .....	120

## CAPÍTULO 1 INTRODUÇÃO GERAL

### 1 INTRODUÇÃO

A seca como agente ambiental estressante pode comprometer severamente o crescimento e produção de diversas culturas agrícola. É dito “pode”, pois a redução nos parâmetros de crescimento e produção do vegetal é influenciada pelos fatores intensidade, duração, estágio fenológico, espécie e material genético (ARAUS; SERRET; EDMEADES, 2012; MAGALHÃES; DURÃES, 2008). Na cultura do sorgo por exemplo, quando ocorre em alta intensidade e no estágio reprodutivo, pode reduzir o rendimento de grãos em mais 55% (ASSEFA; STAGGENBORG; PRASAD, 2010).

O estresse provocado pela seca no vegetal é iniciado com a redução do potencial hídrico dos tecidos (LAVINSKY et al., 2015) gerando perturbações metabólicas, as quais influenciam negativamente seu crescimento e desenvolvimento. Dentre essas alterações destaca-se a redução na condutividade hidráulica (LIU et al., 2015) e taxa fotossintética (AVILA et al., 2016), aumento na produção de espécies reativas de oxigênio (EROs)( GILL; TUTEJA, 2010), redução na absorção de nutrientes (GARG, 2003), comprometimento no equilíbrio entre a síntese e degradação de pigmentos fotossintéticos, senescência acelerada das folhas, e conseqüentemente, redução da área foliar fotossinteticamente ativa, crescimento e produção de grãos (FAROOQ et al., 2009).

Na tentativa de mitigar os efeitos deletérios da seca, as plantas alteram sua morfofisiologia de modo a tolerar o período de estresse. Diante disso, é observada uma redução na condutância estomática e transpiração como resposta para aumentar o uso e eficiência da água (CHAVES et al., 2002). Aumento na atividade das enzimas do sistema antioxidante enzimático e intensificação na produção de antioxidante não enzimáticos como um mecanismo protetor em resposta a alta produção de EROs (GILL; TUTEJA, 2010; MILLER et al., 2010). Além disso, alterações são observadas ainda nos sistemas osmoprotetores e osmorreguladores, as quais contribuem com absorção de água e proteção das moléculas celulares durante a dessecação do tecido (MOHAMMADKHANI; HEIDARI, 2008; SHARMA; VILLAMOR; VERSLUES, 2011). Aliado a isso, ocorre ainda, um aumento no conteúdo de aquaporinas, um mecanismo essencial para manutenção da condutividade hidráulica durante a seca (SAKURAI et al., 2005). A nível morfológico é observado uma redução no número de folha e na relação parte aérea/raiz. De fato, esse ajuste entre o crescimento da parte aérea e sistema radicular possibilita um melhor gerenciamento hídrico

do vegetal durante o déficit hídrico, além disso, a raiz é um órgão que possui alta plasticidade em condições de estresse, e, portanto, contribui efetivamente para tolerância à seca do vegetal (LYNCH; CHIMUNGU; BROWN, 2014).

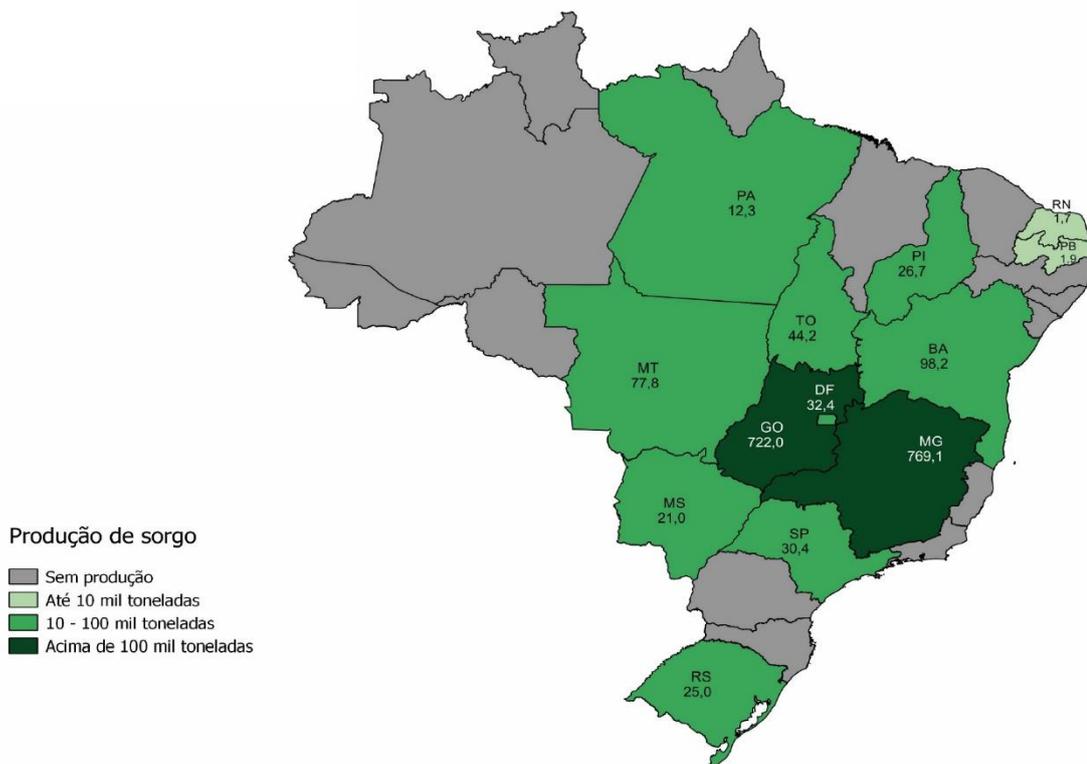
Conhecendo, portanto, os efeitos da seca sobre o metabolismo vegetal e as repostas das plantas a esse agente estressante, é possível desenvolver tecnologias para melhorar o desempenho das culturas frente à seca. Dentre essas tecnologias, destaca-se a suplementação mineral, uma técnica que pode ser incluída no manejo agrônomo estimulando a expressão máxima da genética do vegetal. Nesse contexto, chama-se a atenção para a suplementação mineral com silício (Si) (LIU et al., 2015) e nitrato de potássio (GIMENO et al., 2014), nutrientes que quando metabolizados atuam como componentes estruturais e agentes sinalizadores que estimulam positivamente o metabolismo celular e portanto, podem aumentar a tolerância de culturas agrícolas à seca (CHEN et al., 2018; FAYEZ; BAZAID, 2014). Diante disso, objetivou-se com esse trabalho avaliar a capacidade do Si e nitrato de potássio em modular positivamente processos fisiológicos de modo a aumentar a tolerância à seca de plantas de sorgo cultivadas sobre déficit hídrico no pré-florescimento.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

Originário da África tropical, o sorgo (*Sorghum bicolor* (Moench) L.) é um cereal com grande tolerância à seca, constituindo fonte de alimento para mais de 500 milhões de pessoas em 98 países (PENNISI, 2009). Devido às suas características de tolerância à seca, 80% de sua produção no mundo está situada em regiões áridas (ASSEFA; STAGGENBORG; PRASAD, 2010).

No Brasil, esse cereal é tradicionalmente utilizado como matéria-prima para compor a formulação de ração animal, (DUTRA et al., 2013). Segundo dados da Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB, 2018), diversos estados do país (FIGURA 1) têm optado pelo sorgo como uma cultura de segunda safra, visto que apresenta tolerância à seca superior em relação ao milho. Diante disso, na safra de 2017 foi produzida cerca de 1.862 mil toneladas desse cereal no Brasil, no entanto, esse valor é significativamente inferior à produção da safra de 2016, mesmo com aumento de 28,2 mil hectares plantados nesse ano. Diante disso, nota-se que houve uma redução no rendimento por hectare.

Figura 1 - Mapa de produção do sorgo no Brasil.



Fonte: Conab (2018).

Essa redução na produtividade se deve ao veranico que se estabeleceu em quase todos os estados produtores do Brasil, durante a floração e enchimento de grãos do sorgo (TABELA 1). Dentre as regiões afetadas pela estiagem, destaca-se o centro sul e vale do São-Francisco na Bahia, Goiás, e São Paulo, que tiveram sua produtividade reduzida em 45%, 10,4% e 16,9%, respectivamente, na safra de 2017 em relação a safra de 2016 (CONAB, 2018). Ainda assim, é importante ressaltar, que o sorgo é uma cultura tolerante à seca. No entanto, essa tolerância é altamente influenciada pelo material genético, estágio fenológico que a cultura se encontra, duração e intensidade da seca. Desse modo, inevitavelmente, períodos prolongados de estiagem irão reduzir o rendimento de diversas culturas, inclusive do sorgo.

Tabela 1 - Histórico das condições hídricas gerais e possíveis impactos nas diferentes fases\* na cultura do sorgo nas diferentes regiões produtoras do país.

UF	Mesorregiões	Sorgo											
		SET	OUT	NOV	DEZ	JAN	FEV	MAR	ABR	MAI	JUN	JUL	AGO
TO	Oriental do Tocantins					P	P/G/DV	DV/F	F/FR	FR/M	M/C	C	
PI	Sudoeste Piauiense					P	P/G/DV	DV/F	F/FR	FR/M	M/C	C	
BA	Extremo Oeste Baiano					P	P/G/DV	DV/F	F/FR	FR/M	M/C	C	
	Vale São-Franciscano da Bahia			P	P/G/DV	DV	DV/F	FR	M/C	C			
MS	Leste de Mato Grosso do Sul						P	P/G/DV	DV/F	F/FR	FR/M	M/C	C
	Nordeste Mato-grossense						P	P/G/DV	DV/F	F/FR	M/C	C	C
MT	Sudeste Mato-grossense						P	P/G/DV	DV/F	F/FR	M/C	C	C
	Norte Mato-grossense						P	P/G/DV	DV/F	F/FR	M/C	C	C
GO	Centro Goiano						P	P/G/DV	DV/F	F/FR	M/C	C	C
	Leste Goiano						P	P/G/DV	DV/F	F/FR	M/C	C	C
	Sul Goiano						P	P/G/DV	DV/F	F/FR	M/C	C	C
DF	Distrito Federal							P/G/DV	DV/F	F/FR	M/C	C	C
MG	Noroeste de Minas						P	P/G/DV	DV/F	F/FR	FR/M	M/C	C
	Triângulo Mineiro/Alto Paranaíba						P	P/G/DV	DV/F	F/FR	FR/M	M/C	C
SP	Ribeirão Preto						P	P/G/DV	DV/F	F/FR	FR/M	M/C	C

Legendas:

Baixa restrição - falta de chuvas
  Favorável
  Média restrição - falta de chuva
  Baixa restrição - excesso de chuva

Média restrição - Excesso de chuva

\* - (PP)=pré-plantio (P)=plantio; (G)=germinação; (DV)=desenvolvimento vegetativo; (F)=floração; (FR)=frutificação; (M)=maturação; (C)=colheita.

\*\* Total ou parcialmente irrigado. O que não elimina, no entanto, a possibilidade de estar havendo restrições por anomalias de temperatura ou indisponibilidade hídrica para a irrigação.

Fonte: Conab.

Fonte: Conab (2018).

Essa redução no rendimento provocada pela restrição hídrica está diretamente relacionada às alterações que esse fator ambiental provoca no metabolismo do vegetal. Durante o período de estiagem, o potencial hídrico do solo reduz e o déficit de pressão de vapor na atmosfera aumenta. Com isso, a planta passa a ter seu gerenciamento hídrico comprometido, passando a perder mais água do que consegue absorver do solo e inevitavelmente, reduz o potencial hídrico. Com a diminuição do potencial hídrico foliar, o vegetal tem como primeira resposta a redução do crescimento total e da área foliar, visto que, durante essas condições, ocorre um decréscimo no potencial de pressão celular e na atividade das expansinas, ambos necessários para a expansão da célula (LEBON et al., 2006;

LEMOINE et al., 2013). Esse mecanismo é altamente desejado em condição de déficit hídrico e utilizado em diversas espécies para tolerar a seca, visto que reduz a área de perda de água.

Paralelo e dinamicamente, a condutância estomática é reduzida, inicialmente devido à redução do turgor das células guarda, e posteriormente, por intermédio do ácido abscísico, que torna-se mais concentrado devido à redução do potencial hídrico das células estomáticas, e à sua síntese e transporte das raízes para parte aérea (SHARP; LENOBLE, 2002). A redução da condutância estomática é uma estratégia de evitar a desidratação do vegetal, visto que reduz a taxa transpiratória, garantindo um melhor gerenciamento hídrico (CHAVES et al., 2002).

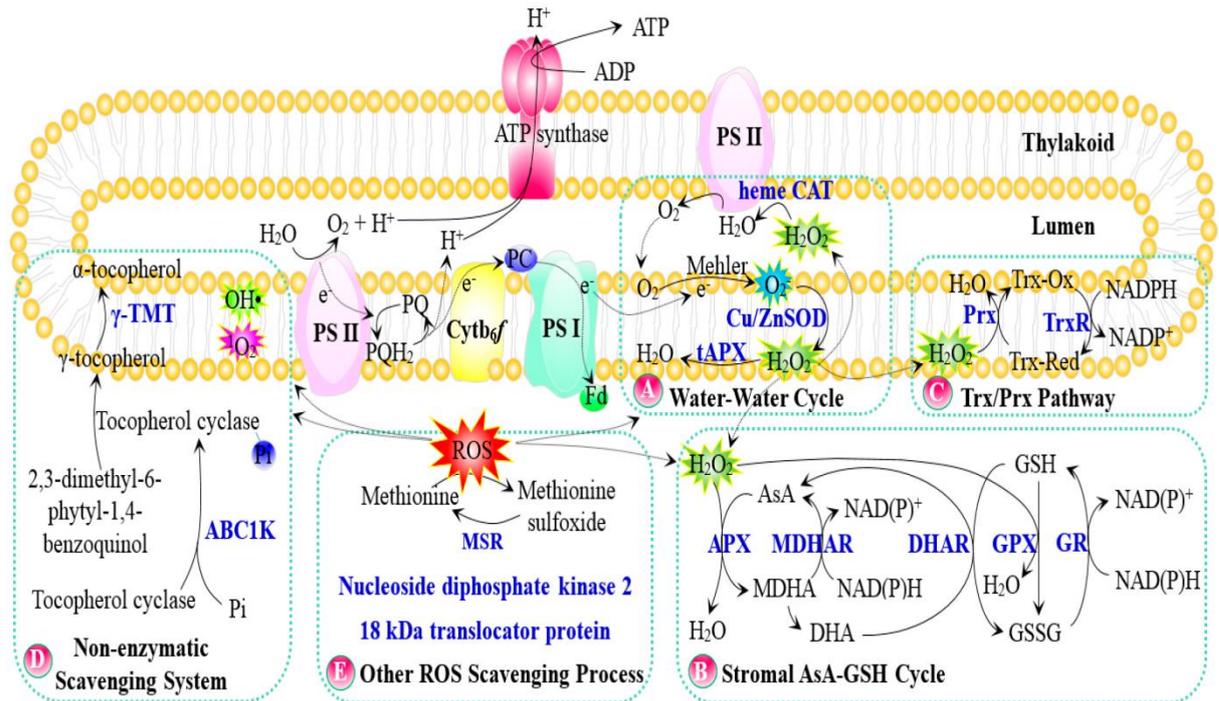
Apesar disso, esse mecanismo pode custar às plantas uma menor absorção de nutrientes, visto que absorção e transporte desses ocorrem por fluxo de massa. Além disso, ao reduzir a condutância estomática, é restringida também a entrada de CO<sub>2</sub> para o mesofilo, e consequentemente, sua concentração nesse tecido (AVILA et al., 2016). Diante disso, o CO<sub>2</sub> torna-se menos disponível para Anidrase carbônica converte-lo em carbamato e torna-lo disponível para fosfoenol piruvato carboxilase (PEPcase) fixa-lo em oxalacetado e posteriormente em malato pela malato desidrogenase. Isso acontece tanto pela baixa concentração de CO<sub>2</sub> quanto pela redução da condutância do mesofilo, que é menor em condições de baixos potenciais hídricos (LAVINSKY et al., 2015). Como o malato é o substrato de enzima málica dependente de NADP<sup>+</sup>, reduções nos seus níveis resulta em menor CO<sub>2</sub> descarboxilado nas células da bainha onde está presente a ribulose-1,5-bisfosfato carboxilase/oxigenase (Rubisco). Assim sendo, os níveis de carbono próximos aos sítios catalíticos da Rubisco são reduzidos, de modo que sua atividade passa a ter uma maior razão de oxigenação/carboxilação. Esse processo favorece a fotorrespiração e compromete a atividade do ciclo de Calvin, uma vez que reduz a reciclagem de ribulose-1,5-bisfosfato, importante molécula para a manutenção desse ciclo (GHANNOUM, 2008).

Diante da baixa atividade do ciclo de Calvin, é observado um aumento no pool de NADPH nos cloroplastos, tornando-o altamente reduzido e propenso a formar espécies reativas de oxigênio (EROs) como o ânion superóxido (O<sub>2</sub><sup>-</sup>), o peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), o oxigênio singlete (<sup>1</sup>O<sub>2</sub>) e o radical hidroxilo (OH•) em centros produtores de EROs como a clorofila no seu estado tripleto e o transporte de elétrons entre o fotossistema I e II. Além dos cloroplastos, as EROs podem ser formadas também nos peroxissomos durante a fotorrespiração ou hidrólise lipídica, e nas mitocôndrias durante a respiração e reações citosólicas com transferência de elétrons em folhas e raízes (EDREVA, 2005; GILL; TUTEJA, 2010). As EROs em baixas concentrações, são importantes moléculas

sinalizadoras. No entanto, sob estresse hídrico, sua alta produção perturba o metabolismo celular, provocando a oxidação de clorofilas, proteínas, ácido graxos e DNA. Podendo com isso, promover uma redução no conteúdo de pigmentos fotossintéticos, desnaturar proteínas e promover a peroxidação de lipídios, levando ao comprometimento da atividade de membranas e do processo fotossintético no geral (MILLER et al., 2010).

Diante disso, as plantas respondem às perturbações induzidas pela seca alterando suas vias metabólicas. Apesar do metabolismo celular ser dinâmico e as vias se interpolarem, os mecanismos de evitação e/ou remoção de EROs podem ser divididos didaticamente (FIGURA 2). Assim sendo, quando o pool de  $\text{NADP}^+$  torna-se ilimitado, umas das primeiras respostas é ativação da via de fotofosforilação cíclica. Nessa via, os elétrons que fluem ao longo da cadeia transportadora, ao chegar à ferredoxina reduzida são doados novamente ao . citocromo  $b_6$  e esse o transfere novamente em direção ao fotossistema I. Esse processo contribui com síntese de ATP, dissipação de energia na forma de calor, e ainda, cria um time que possibilita a reciclagem de  $\text{NADP}^+$  para que o sistema fotoquímico opere em harmonia e impedindo a fotoinibição (KATONA et al., 1992)

Figura 2 - Representação esquemática das vias de eliminação de EROs em cloroplastos.



Legenda: A) Ciclo água-água; B) Ciclo estromal AsA-GSH; C) Rota Trx/Prx; D) Sistema de eliminação não-enzimático; E) Outros processos de eliminação de EROs. A linha sólida indica uma reação de única etapa, e a linha pontilhada indica o movimento das moléculas. Substratos e produtos estão em fonte preta, proteínas estão em fonte negrito azul e P em um círculo azul indicando proteína fosforilada. Abreviações: ABC1K, atividade do complexo bc1 como quinase; APX/tAPX, peroxidase do ascorbato/peroxidase do ascorbato do tilacóide; AsA, ascorbato; Cu/Zn SOD, cobre/zinco dismutase do superóxido; Cytb<sub>6</sub>f, complexo citocromo b<sub>6</sub>f; DHA, dehidroascorbato; DHAR, redutase do dehidroascorbato; Fd, ferredoxina; GPX, peroxidase da glutationa; GR, redutase da glutationa; GSH, glutationa reduzida; GSSG, glutationa oxidada; H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, peróxido de hidrogênio; heme CAT, heme catalase; MDHA, monodehidroascorbato; MDHAR, redutase do monodehidroascorbato; MSR, redutase do sulfóxido; 1O<sub>2</sub>, oxigênio singleto; O<sub>2</sub>, oxigênio; O<sub>2</sub><sup>-</sup>, ânion superóxido; OH•, radical hidroxila; PC, plastocianina; Prx, peroxidase dependente de Trx; PS II, fotosistema II; ROS, espécies reativas de oxigênio; γ-TMT, metiltransferase do γ-tocopherol; Trx-Ox, tiorredoxina oxidada; Trx-Red, tiorredoxina reduzida; TrxR, redutase da tiorredoxina.

Fonte: Suo et al. (2017).

No entanto, quando essa via não é suficiente para diminuir o estado de redução do sistema, ocorre a ativação da via conhecida como pseudocíclica ou ciclo água-água (FIGURA 2-A). Nessa via, os elétrons que fluem na cadeia transportadora de elétrons, nas membranas dos cloroplastos, podem reagir com o oxigênio molecular e levar a formação do radical O<sub>2</sub><sup>-</sup> pela reação de Mehler. Concomitantemente, na superfície da membrana estromal a atividade da dismutase do superóxido cobre/zinco (Cu/Zn-SOD) dismuta o O<sub>2</sub><sup>-</sup> a H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e O<sub>2</sub>. Na sequência, o H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> gerado é catalisado pela peroxidase do ascorbato, ligada ao tilacóide (tAPX), ou pela peroxidase do guaiacol (POD), a oxigênio e água, e essa última, pode

novamente ser hidrolisada no centro de evolução do oxigênio, encerrando, assim, o ciclo água-água (EDREVA, 2005; SUO et al., 2017).

É importante ressaltar que embora a catalase (CAT) não participe diretamente desse ciclo, pois se acredita que não está presente no estroma do cloroplasto, ela é essencial quando as concentrações de  $H_2O_2$  excede a capacidade do ciclo água-água. Sob alta produção de  $H_2O_2$  ocorre seu vazamento do estroma para o lume. Assim sendo, uma heme CAT associada à membrana do PSII, promove sua eliminação protegendo dentre outras, a proteína D1 do PSII de oxidação (ASADA, 2006; SUO et al., 2017). Isso é válido, pois sob alto nível de  $H_2O_2$  a APX tem sua atividade inibida enquanto a CAT a atividade aumentada (GILL; TUTEJA, 2010). Isso indica, que a CAT é uma enzima de suma importância para o controle de estresses oxidativos e portanto, para tolerância à seca em plantas (SOFO et al., 2015).

Acoplado a esse ciclo, está o ciclo ascorbato-glutationa (FIGURA 2-B), uma importante via tanto para eliminação de EROs quanto para sua evitação. Nessa via, o  $H_2O_2$  é reduzido a água e oxigênio por uma APX do estroma, utilizando duas moléculas de ascorbato como co-fator doador de elétrons. O ascorbato oxidado pode ser reduzido novamente pela redutase do monodeidroascorbato (MDHAR) com consumo de NADPH, ou ser convertido espontaneamente em deidroascorbato (DHA). O DHA é reduzido novamente a ascorbato através da redutase do deidroascorbato com consumo de glutatona reduzida (GSH). A glutatona oxidada (GSSG), posteriormente entra no ciclo e é reduzida novamente pela Redutase da glutatona (GR) utilizando NADPH como doador de elétrons, fechando o ciclo ascorbato-glutationa. Essa via é dita de eliminação e prevenção de EROs, pois ao mesmo tempo que elimina o  $H_2O_2$ , consome NADPH contribuindo para o equilíbrio redox do metabolismo celular (MILLER et al., 2010; SUO et al., 2017).

A via Tiorredoxina/Perorredoxina (Trx/Prx) (FIGURA 2-C) também constitui um importante mecanismo de defesa antioxidante. Aqui, o  $H_2O_2$  produzido durante o estresse hídrico pelos cloroplastos é reduzido a água pela ação da redutase da peroxidase dependente de tiorredoxina (Prx). Durante sua atividade, a Prx retira elétrons da tiorredoxina tornando-a oxidada. Na sequência, a tiorredoxina oxidada é reduzida pela redutase da tiorredoxina consumindo NADPH e tornando o ciclo reduzido novamente. Diante disso, essa via também contribui significativamente para homeostase redox dos cloroplastos, uma vez que previne a formação e remove o peróxido formado, principalmente em condições de estresse hídrico (SEVILLA et al., 2015; SUO et al., 2017).

A limpeza de EROs, principalmente de  $H_2O_2$  e  $^1O_2$  são feitas ainda pelo sistema antioxidante não-enzimático como o ascorbato e tocoferol. O tocoferol (FIGURA 2-D) é um

antioxidante lipídico localizado na membrana dos tilacóides, que pode proteger as membranas fotossintéticas do dano oxidativo ao eliminar as ROS e prevenir a propagação da peroxidação lipídica sob condições de estresse. Sua biossíntese é regulada pela cinase ABC1K que fosforila a Ciclase do tocoferol e a torna ativa para realizar a catalise do 2,3-dimitel-6-fetil-1,4-benzoquinol a  $\gamma$ -tocoferol. Na sequência, a Metiltransferase do  $\gamma$ -tocoferol o converte em  $\alpha$ -tocoferol, a forma com mais bioatividade antioxidante.

Em contra partida, o ascorbato, é um antioxidante solúvel, presente em organelas e no citosol . Sua biossíntese ocorre nas mitocôndrias e seu transporte para outros compartimentos ocorre através de um gradiente eletroquímico de prótons ou por difusão facilitada. Sua concentração intracelular varia de 20 mM no citosol a 20-300 mM em cloroplastos. Normalmente, aproximadamente 90% de seu conteúdo encontra-se na forma reduzida, o que possibilita a redução e desativação de EROs com maior eficiência (AHMAD et al., 2010; HOREMANS; NELE; FOYER, 2000). Diante disso, o Ascorbato tem sido altamente relacionado como um importante antioxidante para melhorar a tolerância à seca em plantas de *Cucumis sativus* (NAZ; AKRAM; ASHRAF, 2016) e *Glycine max* (MOHAMED; AKLADIOUS, 2014).

Ademais, acredita-se que outras vias podem contribuir com o estado redox celular em condições de estresse como, por exemplo, o ciclo de oxidação e redução da metionina (FIGURA 2-E) (SUO et al., 2017). No entanto, sob estresse hídrico severo e duradouro no qual todas as vias acopladas não são suficientes para manter a homeostase celular redox, as EROs formadas promovem a oxidação de proteínas e membranas celulares. Dentre essas proteínas, destaca-se a proteína D1 do PSII que não apenas sofre oxidação, como também tem sua síntese de novo comprometida pelas EROs. O dano a essa proteína altera negativamente a funcionalidade PSII, pois acoplado a sua estrutura está o centro de evolução do oxigênio, responsável pela hidrólise da água, os dímeros de clorofilas alfa, a feofina e a quinona B, moléculas responsáveis pela transferência de elétrons do PSII à plastoquinona oxidada. Com essa interrupção no fluxo de elétrons ocorre um feedback negativo diretamente sobre os complexos coletores de luz, os quais ficam altamente excitados e aumentam a dissipação da energia solar absorvida pelas vias não fotoquímicas, tais como fluorescência e calor.

O desvio de energia da via fotoquímica para vias não fotoquímicas apesar de contribuir para uma menor formação de EROs, reduz drasticamente a produção de NADPH e ATP, necessários para a redução e fixação do carbono pelo ciclo de Calvin. Assim sendo, a planta reduz a assimilação de carbono não mais por limitações estomáticas, e sim, devido aos danos bioquímicos na maquinaria fotossintética. Essa observação pode ser feita avaliando a

atividade do PSII e os níveis de CO<sub>2</sub> interno, pois é verificado uma redução na atividade do PSII acompanhada de acúmulo de CO<sub>2</sub> interno.

A redução na assimilação de carbono reflete diretamente sobre o metabolismo de carboidratos. No entanto, a alteração no conteúdo de carboidratos durante a seca é complexa e parece ser modificada com a intensidade e duração do estresse, bem como com o tipo de espécie e estágio fenológico. Interessantemente, mesmo havendo redução na taxa fotossintética com a seca, à medida que os dias de estresse aumentam os níveis de açúcares redutores, solúveis e amido nas folhas e raízes tendem a aumentar. Isso pode estar ligado com a redução na atividade de enzimas sacarolíticas como Sintase da sacarose fosfato e Invertase ácida de parede que altera significativamente o padrão de particionamento de carbono entre fonte e dreno (RUAN et al., 2010).

Aliado à baixa atividade dessas enzimas destaca-se a taxa de transporte no floema. O transporte do floema é governado pelo carregamento de açúcares, principalmente sacarose na fonte e seu descarregamento no dreno. Assim sendo, quando ocorre o carregamento, o potencial osmótico do floema próximo à fonte reduz, esse processo faz com que a água saia do xilema e vá para o floema, aumentando seu potencial de pressão. Ao atingir o dreno, ocorre o descarregamento dos açúcares e o potencial osmótico do floema aumenta, resultando na perda de água para o xilema e diminuição da pressão em seus condutos. Essa diferença de pressão é a força motriz que governa o transporte no floema. No entanto, durante a seca, o baixo conteúdo de água na planta compromete a troca de água entre o xilema e floema e anula as forças entre fonte e dreno, resultando em uma menor ou até mesmo nula, taxa de transporte no floema (SEVANTO, 2014).

De fato, tem sido observado em milho que durante o estresse hídrico ocorre redução na eficiência de particionamento de carbono (LAVINSKY et al., 2015), sendo observado um acúmulo de carboidratos nas folhas (MOHAMMADKHANI; HEIDARI, 2008) e acentuada redução de açúcares redutores, açúcares solúveis totais e amido nos grãos (AVILA et al., 2017). Essa redução pode ser explicada pela menor atividade de Invertases no carpelo, visto que compromete o descarregamento de sacarose nos grãos (ANDERSEN et al., 2002; RUAN et al., 2010; ZINSELMEIER; JEONG; BOYER, 1999). Esse feedback negativo pode comprometer o enchimento de grãos e até mesmo causar abortamento dos órgãos florais resultando em menor produtividade (ANDERSEN et al., 2002; AVILA et al., 2017).

Apesar de reduzir a produtividade, o acúmulo de açúcares nos tecidos vegetativos pode contribuir para a tolerância à seca, atuando como agentes osmorreguladores compatíveis (MOHAMMADKHANI; HEIDARI, 2008). De fato, durante o estresse hídrico ocorre uma

drástica redução no potencial hídrico celular. Em resposta, a célula altera os níveis de solutos iônicos no vacúolo, como potássio, cloro e cálcio, como estratégia para manter a taxa de absorção de água. No entanto, para que ocorra um equilíbrio hídrico entre vacúolo e citosol há a necessidade de produzir e acumular compostos orgânicos compatíveis, como prolina e açúcares solúveis no citosol. O acúmulo de açúcares nas folhas pode ter ainda um efeito protetor contra EROs, principalmente  $^1\text{O}_2$  e  $\text{OH}^-$  formadas durante processos com transferência de elétrons nos tecidos de folhas e raízes, visto que essas EROs não são eliminadas enzimaticamente (SAMI et al., 2016). Diante disso, é notável, que em resposta ao estresse hídrico a planta se ajusta metabolicamente, alterando quantitativa e qualitativamente o conteúdo de compostos primários, como proteínas, aminoácidos e carboidratos, em folhas e raízes (BHARGAVA; SAWANT, 2013).

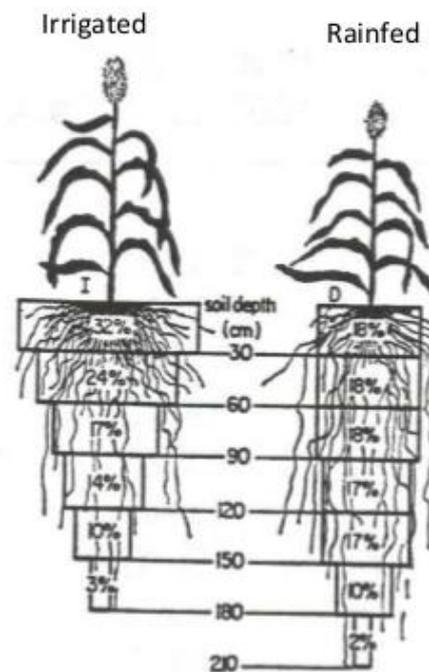
A prolina é um aminoácido multifuncional altamente responsiva ao estresse hídrico em folhas e raízes (SHARM; VILLAMOR; VERSLUES, 2011). Sua síntese ocorre principalmente a partir do glutamato, mas pode ocorrer também a partir da ornitina, como uma via alternativa em condições de estresse osmótico como seca. Em condições normais, sua síntese ocorre principalmente no citosol, porém em condições de estresse, ocorre também em larga escala nos cloroplastos (SZÉKELY et al., 2008). Por outro lado, sua degradação ocorre na mitocôndria, geralmente após a saída das plantas do estresse. Nesse momento, seus esqueletos de nitrogênio liberados são utilizados como fonte para síntese de novos aminoácidos. Do mesmo modo, sua degradação pelo processo oxidativo mitocondrial fornece energia na forma de  $\text{FADH}_2$  e  $\text{NADH}$  para ser utilizado em outras vias dependentes de energia (SHARMA; VILLAMOR; VERSLUES, 2011).

Por outro lado, a via biossintética da prolina é um processo redutor. Assim sendo, durante a seca sua biossíntese nos cloroplastos pode contribuir significativamente com o consumo de  $\text{NADPH}$  e dissipação de energia excedente, prevenindo a formação de EROs (RONDE et al., 2004; SHARMA; VILLAMOR; VERSLUES, 2011). A prolina pode atuar ainda como um antioxidante não enzimático na eliminação de EROs como o  $\text{H}_2\text{O}_2$  e o  $^1\text{O}_2$ . Isso ajuda a entender o porquê dos cloroplastos intensificarem sua síntese durante estresses que alteram a homeostase redox do sistema (KISHOR; SREENIVASULU, 2014). Ademais, tem sido demonstrado que o acúmulo de prolina pode ser importante para a estabilização de proteínas estruturais e catalíticas durante estresses que induzem a desnaturação proteica (SZABADOS; SAVOURE, 2010). É importante ressaltar ainda que, dentro da multifuncionalidade metabólica da prolina um dos seus papéis mais antigo (KEMBLE; MACPHERSON, 1954) está relacionado à sua capacidade osmorregulatória (YANG et al.,



radicular (FAROOQ et al., 2009). Com isso, as raízes desempenham papéis-chave na aquisição de água do solo sendo um componente significativo da adaptação das plantas a ambientes com limitação de água (LYNCH; CHIMUNGU; BROWN, 2014). No entanto, tem sido observado que a qualidade, isto é, a distribuição e estrutura, e não a quantidade de raízes é que determina a estratégia mais eficiente para extrair água em solos secos, visto que a disponibilidade de água nessa condição se torna maior em perfis mais profundos do solo (FIGURA 4) (FAROOQ et al., 2009). Além disso, Zhan, Schneider e Lynch (2015) avaliando o sistema radicular de milho em condições de estresse hídrico, em campo e casa de vegetação, constataram que plantas que investem no crescimento de raízes em profundidade possuem maior rendimento final de grãos do que aquelas que investem em crescimento de raízes superficiais.

Figura 4 - Esquema ilustrativo de plantas de sorgo em dois ambientes hídricos, irrigado e sequeiro, demonstrando o comprimento e a distribuição de raízes em diferentes profundidades no perfil do solo.



Fonte: Farooq et al. (2009).

Conhecendo, portanto, os efeitos da seca sobre o metabolismo vegetal e as repostas das plantas, é possível desenvolver tecnologias para melhorar o desempenho das culturas frente à seca. Assim sendo, pode-se desenvolver plantas melhoradas, através do melhoramento genético uma técnica eficiente, porém cara e geralmente de longo prazo, e/ou

utilizar técnicas de manejo, dentre elas a suplementação mineral com silício (LIU et al., 2015) e nitrato de potássio (GIMENO et al., 2014), nutrientes estruturais e sinalizadores que estimulam o metabolismo celular e podem aumentar a tolerância de culturas agrícolas à seca.

O silício é o segundo elemento mineral mais abundante da crosta terrestre após o oxigênio (EPSTEIN, 1999), sendo, portanto, um dos principais constituintes da maioria dos solos. Está presente como minerais de sílica na forma de silicatos primários, secundários e sílicas inorgânicas e biogênicas (CORNELIS et al., 2011). O Si solúvel encontrado no solo está na forma de ácido monossilícico, um ácido fraco, e em solo com pH entre 2 e 9, suas concentrações variam entre 0,1, e 0,6 mM (EPSTEIN, 1999). Normalmente, solos minerais geologicamente mais jovens e menos desgastados tendem a fornecer mais Si às plantas do que os solos tipicamente ácidos, desgastados, lixiviados e de baixa saturação por bases. Por exemplo, os Latossolos e Argissolos tendem a ser altamente intemperizados e possuem baixa disponibilidade de Si para as plantas (FOY, 1992). Ressalta-se ainda, que reações de sorção entre óxidos de ferro e alumínio, bem como a complexação do Si com metais pesados, pode reduzir sua disponibilidade na solução do solo. Assim, apesar da abundância de Si nos solos, a quantidade de Si solúvel disponível para a absorção pela planta pode ser limitada (PONTIGO et al., 2015).

A absorção de silício pelas plantas vasculares é um processo muito complexo caracterizado pela seletividade de transporte e acúmulo de Si em tecidos específicos. Diante disso, sua absorção pode diferir entre espécies e genótipos (PONTIGO et al., 2015). Em milho, uma espécie que apresenta um alto acúmulo de silício, a absorção do ácido monossilícico da solução externa pelas células epidérmicas e corticais ocorre através do transportador de influxo ZmLsi1 (MITANI; YAMAJI; MA, 2008). Posteriormente, o Si é transportado pela via simplástica para a endoderme e sucessivamente liberado no xilema pelo transportador de efluxo, ZmLsi2 (BOKOR et al., 2015). Ao atingir o xilema o silício é transportado por fluxo de massa através do processo transpiratório para parte aérea, onde pode ser polimerizado formando sílica amorfa. Nesse estado físico pode complexar as paredes celulares e cutículas tornando-as mais rígidas (MA; YAMAJI, 2006).

Essa capacidade do Si em aumentar a rigidez da cutícula e parede celular, está muito relacionada com a resistência a estresses bióticos, provocados, por exemplo, por patógenos, e com a tolerância a estresses abióticos, dentre eles a seca. No caso da resistência a patógenos, a parede com maior rigidez forma uma barreira física que dificulta o parasitismo (EPSTEIN, 2009). Por outro lado, a maior rigidez da cutícula aumenta a resistência a perda de água pelo vegetal melhorando seu gerenciamento hídrico. No entanto, é importante ressaltar, que apesar

de não se conhecer muito bem sua sinalização metabólica, o Si pode melhorar o desenvolvimento de espécies vegetais em condições normais de cultivo e sob tensões abióticas, através de alterações metabólicas (CHEN et al., 2018).

Nesse âmbito, Epstein (1999) ressaltava a importância do Si para plantas e questionava a sua exclusão como um elemento essencial. Epstein (1999) chamava a atenção para plantas em condições experimentais cultivadas em solução nutritiva, na qual o Si era excluído. Com isso, ele ressalva que essas plantas apresentam frequentemente estruturalmente mais fracas, sendo anormais no crescimento, desenvolvimento, viabilidade e reprodução. Além disso, são mais suscetíveis a estresses abióticos como toxicidade de metais, e presas mais fáceis de patógenos e herbívoros, que vão desde insetos fitófagos a mamíferos. Por fim Epstein (1999) conclui que tomadas em conjunto, as evidências são esmagadoras de que o Si deve ser incluído entre os elementos que têm grande impacto na vida das plantas.

Diante disso, diversos trabalhos têm sido realizados com Si buscando elucidar seus efeitos sobre o crescimento e desenvolvimento vegetal. Para a cultura do arroz, literariamente já é comprovada a essencialidade do Si para alta produtividade, tornando o Si um fertilizante economicamente viável (ALVAREZ; DATNOFF, 2001). Nesse contexto, Lavinsky et al. (2016) verificaram que o fornecimento de Si no estágio reprodutivo do arroz melhorou a taxa fotossintética, força do dreno, atividade de invertases, e propiciou a produção de panículas com maior número de grãos e peso de 1000 grãos. Essas melhorias foram desprovidas de aumento na área foliar e acúmulo de biomassa vegetativa.

Além disso, Xie et al. (2015) trabalhando com milho cultivado em solos alcalino-salinos, verificaram um aumento na taxa fotossintética e condutância estomática, porém uma redução na transpiração com o aumento da disponibilidade de Si no solo. Paralelamente, Liu et al. (2015) verificaram que a melhoria na taxa fotossintética de plantas de sorgo cultivadas sob estresse hídrico está relacionada com o aumento relativo de aquaporinas nas raízes, uma vez que contribui para uma maior absorção e transporte de água. Shi et al. (2016) confirmam o feedback positivo do Si sobre a condutividade hidráulica, conteúdo relativo de água nas folhas e fotossíntese. No entanto, os autores não verificaram efeitos do Si sobre o conteúdo de aquaporinas, portanto, não relacionam o efeito do Si sobre a condutividade hidráulica com aquaporinas. Por outro lado, Shi et al. (2016) constataram que a suplementação com Si reduz o dano oxidativo através da melhoria na atividade das enzimas do sistema antioxidante SOD e CAT, e do aumento na síntese dos antioxidantes não enzimáticos, ascorbato e glutatona. Assim sendo, o autor sugere que os efeitos melhorados na condutividade hidráulica e

conteúdo relativo de água podem ser atribuídos aos menores danos oxidativos nas raízes. Além disso, que o sistema antioxidante pode ter promovido proteção ao aparato fotossintético.

Diante disso, Chen et al. (2018) sugerem em sua revisão, que o mecanismo geral para o aumento da condutividade hidráulica da raiz sob condições de estresse, promovido pelo Si, requer um estudo mais aprofundado. Isso é válido, visto que a absorção de água pode ser modulada também pelo processo de osmorregulação e por modificações morfoanatômicas das raízes e caules (JAVOT; MAUREL, 2002). Corroborando com essa colocação, foi constatado que sob estresse hídrico o pré-tratamento com Si aumenta a relação raiz/parte aérea, contribuindo para uma maior capacidade de absorção de água pelo sorgo (HATTORI et al., 2005, 2009). Aliada a absorção de água, foi verificado que o silício pode melhorar a absorção de nutrientes (ENEJI et al., 2008), mesmo quando estão em deficiência, como exemplo o potássio (CHEN et al., 2016).

Nota-se com isso, que o Si é um mineral que exerce fortes efeitos fisiológicos positivos, principalmente em condições de estresse hídrico sobre diversas espécies, incluindo o sorgo. Além disso, para cultura do arroz já foi comprovada sua viabilidade econômica (ALVAREZ; DATNOFF, 2001). Assim sendo, a nutrição de plantas com Si não é apenas cientificamente intrigante, mas também importante em um mundo em mudanças climáticas, onde mais alimentos terão que ser produzidos a partir de uma área finita de terra (EPSTEIN, 2009). Portanto, entender seus efeitos fisiológicos no vegetal é altamente viável e necessário.

Estudos recentes têm chamado atenção para os efeitos benéficos do nitrato de potássio no crescimento, desenvolvimento e respostas a estresse osmótico. O nitrato atualmente é considerado como um nutriente essencial, bem como um sinal crucial para o crescimento, desenvolvimento e respostas das plantas ao estresse através da regulação positiva dos hormônios vegetais auxina, giberelina, citocinina, etileno e ácido abscísico (ABA) (GUAN, 2017). A exemplo da auxina, a sinalização por nitrato pode regular o controle do crescimento e arquitetura do sistema radicular (OVERVOORDE; FUKAKI; BEECKMAN, 2010). Por outro lado, na parte aérea o nitrato contribui com o processo de abertura e fechamento estomática mediado pelo ABA, melhorando as repostas fotossintéticas da planta frente ao déficit hídrico (GUO; YOUNG; CRAWFORD, 2003). Assim sendo, o nitrato pode atuar como um importante regulador do gerenciamento hídrico nas plantas, visto que o ganho de água é inerente às raízes, enquanto a perda regulada pelos estômatos nas folhas (MAUREL; CHRISPEELS, 2001). Contudo, estudos detalhados sobre o uso do nitrato como um indutor de tolerância à seca ainda são escassos na literatura.

Em contrapartida, estudos com potássio trazem mais detalhes sobre o seu papel na tolerância a seca em plantas (WANG et al., 2013). Para tanto, Umar (2006) verificou que a aplicação de potássio em sorgo alivia os efeitos negativos da seca sobre a produção de grãos. Além disso, Sangakkara, Frehner e Nösberger (2000) verificaram que plantas de feijão suplementadas no solo com potássio exibem melhor desempenho fotossintético e particionam uma maior quantidade de carbono para raízes. Corroborando com esses dados, Soleimanzadeh et al. (2010) verificaram que plantas de girassol fertilizadas com potássio exibem índice de colheita e rendimento de grãos sobre estresse hídrico maiores em relação às plantas que não receberam a suplementação com potássio. Em adicional, os autores observaram maior atividade das enzimas do sistema antioxidante e menores danos oxidativos expressos em níveis de MDA. Ademais, Aslam et al. (2013) relatam que a nutrição com potássio aumenta a tolerância a seca em milho, visto que tem efeitos positivos sobre o crescimento do sistema radicular, conteúdo relativo de água, ajustamento osmótico, fotossíntese e rendimento de grãos.

Além dos efeitos isolados, foi verificado que o fornecimento do nitrato e potássio na formulação nitrato de potássio via foliar, incrementou o crescimento da parte área, conteúdo de clorofila a, b e carotenoides, e ainda reduziu a peroxidação lipídica de plantas de cevada submetidas ao estresse hídrico (FAYEZ; BAZAID, 2014). Corroborando com esses resultados, Gimeno et al. (2014) verificaram que a aplicação foliar com 2% (m/v) de nitrato de potássio em mudas de citros mitiga os efeitos da seca sobre a área foliar, crescimento da parte área e razão parte área/raiz. Além disso, os autores verificaram que com 28 dias de restrição hídrica as plantas apresentavam maiores taxa fotossintética, condutância estomática e potencial hídrico foliar em relação às plantas que não receberam nitrato de potássio. Como não houve diferenças para o crescimento do sistema radicular e para o uso e eficiência da água, os autores sugeriram que o maior potencial hídrico observado nas plantas de citrus pode estar relacionado com o ajustamento osmótico, visto que exibiram maior conteúdo de prolina e potássio em suas folhas.

Diante dos seus efeitos positivos, a suplementação mineral com nitrato de potássio, pode ser uma alternativa viável e economicamente barata para reduzir os efeitos deletérios da seca sobre o crescimento e produção das culturas, dentre elas o sorgo. No entanto, mais estudos devem ser realizados para elucidar suas repostas, pois essas podem variar de acordo com a intensidade do estresse, espécie vegetal e material genético. Além disso, até o momento só existe disponível na literatura os trabalhos de Fayez e Bazaid (2014) com cevada e o de

GIMENO et al., (2014) com citrus, estudando a capacidade da aplicação foliar de nitrato de potássio em induzir tolerância a seca.

### 3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A seca reduz o potencial hídrico dos tecidos, a condutividade hidráulica e a taxa fotossintética do vegetal. Além disso, induz aumentos na produção de EROs, redução na absorção de nutrientes, compromete o equilíbrio entre a síntese e degradação de pigmentos fotossintéticos, induz a senescência acelerada das folhas, e conseqüentemente, reduz a área foliar fotossinteticamente ativa, o crescimento e a produção de grãos. Por outro lado, as plantas respondem reduzindo a condutância estomática e transpiração como mecanismo de atenuar a perda de água. Aumentam a atividade das enzimas do sistema antioxidante enzimático e intensificação na produção de antioxidantes não enzimáticos como um mecanismo protetor contra alta produção de EROs. Além disso, alteram o sistema osmorregulador e conteúdo de aquaporinas na tentativa de garantir a manutenção da absorção e transporte de água nos tecidos. A nível morfológico é observado uma redução no número de folhas e na relação parte aérea/raiz, um ajuste importante para o equilíbrio hídrico durante a seca.

Apesar dessas importantes respostas que as plantas adquiriram ao longo da evolução para tolerarem a seca, atualmente, mesmo genótipos de sorgo tolerantes à seca podem reduzir sua produção final de grãos em mais de 55% sob um déficit hídrico de moderado a severo. Diante disso, há necessidade de desenvolver tecnologias que contribuem para o aumento da tolerância à seca da cultura, visto que o mundo vem passando anos após anos por mudanças climáticas, as quais alteram significativamente o volume de chuvas em diversas áreas do globo e, portanto, pode gerar períodos de seca nessas áreas. Assim sendo, a suplementação mineral com Si e nitrato de potássio surge como uma importante tecnologia para somar no tocante a tolerância à seca do sorgo. Já que esses nutrientes quando metabolizados atuam como componentes estruturais e agentes sinalizadores que estimulam positivamente o metabolismo celular e portanto, podem aumentar a tolerância à seca das culturas agrícolas, incluindo o sorgo.

## REFERÊNCIAS

- AHMAD, P. et al. Roles of enzymatic and nonenzymatic antioxidants in plants during abiotic stress. **Critical Reviews in Biotechnology**, Boca Raton, v. 30, n. 3, p. 161-175, Sept. 2010.
- ALVAREZ, J.; DATNOFF, L. E. The economic potential of silicon for integrated management and sustainable rice production. **Crop Protection**, Guildford, v. 20, n. 1, p. 43-48, Feb. 2001.
- ANDERSEN, M. N. et al. Soluble invertase expression is an early target of drought stress during the critical, abortion-sensitive phase of young ovary development in maize. **Plant Physiology**, Lancaster, v. 130, n. 2, p. 591-604, Oct. 2002.
- ARAUS, J. L.; SERRET, M. D.; EDMEADES, G. O. Phenotyping maize for adaptation to drought. **Frontiers in Physiology**, Lausanne, v. 3, p. 305, Aug. 2012.
- ASADA, K. Production and scavenging of reactive oxygen species in chloroplasts and their functions. **Plant Physiology**, Lancaster, v. 141, n. 2, p. 391-396, June 2006.
- ASSEFA, Y.; STAGGENBORG, S. A.; PRASAD, V. P. V. Grain sorghum water requirement and responses to drought stress: a review. **Crop Management**, v. 9, n. 1, p. 1-11, Nov. 2010.
- ASLAM, M. et al. Drought stress, its effect on maize production and development of drought tolerance through potassium application. **Cercetări Agronomice în Moldova, Romania**, v. 46, n. 2, p. 99-114, 2013.
- AVILA, R. G. A. et al. Drought-tolerant maize genotypes invest in root system and maintain high harvest index during water stress. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 15, n. 3, p. 450-460, 2016.
- \_\_\_\_\_. Drought changes yield and organic and mineral composition of grains of four maize genotypes. **Journal of Agricultural Research**, Lahore, v. 5, n. 9, p. 243-250, Sept. 2017.
- BHARGAVA, S.; SAWANT, K. Drought stress adaptation: metabolic adjustment and regulation of gene expression. **Plant Breeding**, Berlin, v. 132, n. 1, p. 21-32, Feb. 2013.
- BOKOR, B. et al. Ionome and expression level of Si transporter genes (Lsi1, Lsi2, and Lsi6) affected by Zn and Si interaction in maize. **Environmental Science and Pollution Research**, Landsberg, v. 22, n. 9, p. 6800-6811, May 2015.
- CHAVES, M. M. et al. How plants cope with water stress in the field? Photosynthesis and growth. **Annals of Botany**, Oxford, v. 89, p. 907-916, June 2002.
- CHEN, D. et al. How does silicon mediate plant water uptake and loss under water deficiency? **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v. 9, p. 281, Mar. 2018.
- \_\_\_\_\_. Silicon moderated the K deficiency by improving the plant-water status in sorghum. **Scientific Reports**, London, v. 6, p. 22882, Mar. 2016.
- COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - CONAB. Acompanhamento safra brasileira de grãos: safra 2017/18: décimo levantamento. Brasília: CONAB, 2018. 145p.

- CORNELIS, J.-T. et al. Tracing the origin of dissolved silicon transferred from various soil-plant systems towards rivers: a review. **Biogeosciences**, Hoboken, v. 8, p. 89-112, Aug. 2011.
- DUTRA, E. D. et al. Ethanol production from the stem juice of different sweet sorghum cultivars in the state of Pernambuco, northeast of Brazil. **Sugar Tech**, New Delhi, v. 15, n. 3, p. 316-321, Sept. 2013.
- EDREVA, A. Generation and scavenging of reactive oxygen species in chloroplasts: a submolecular approach. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v. 106, n. 2/3, p. 119-133, Apr. 2005.
- ENEJI, A. E. et al. Growth and nutrient use in four grasses under drought stress as mediated by silicon fertilizers. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 31, n. 2, p. 355-365, Feb. 2008.
- EPSTEIN, E. Silicon. **Annual Review of Plant Biology**, Palo Alto, v. 50, p. 641-664, June 1999.
- \_\_\_\_\_. Silicon: its manifold roles in plants. **Annals of Applied Biology**, Warwick, v. 155, n. 2, p. 155-160, Oct. 2009.
- FAROOQ, M. et al. Plant drought stress: effects, mechanisms and management. In: LICHTFOUSE, E. et al. (Ed.). **Sustainable agriculture**. Dordrecht: Springer, 2009. p. 153-188.
- FAYEZ, K. A.; BAZAID, S. A. Improving drought and salinity tolerance in barley by application of salicylic acid and potassium nitrate. **Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences**, Amsterdam, v. 13, n. 1, p. 45-55, Jan. 2014.
- FOY, C. D. Physiological effects of hydrogen, aluminum, and manganese toxicities in acid soil 1. In: ADAMS, F. (Ed.). **Soil acidity and liming**. 2. ed. Madison: American Society of Agronomy, 1984. p. 57-97.
- \_\_\_\_\_. Soil chemical factors limiting plant root growth. In: BAKER, J. M. (Ed.). **Limitations to plant root growth**. New York: Springer, 1992. p. 97-149.
- GARG, B. K. Nutrient uptake and management under drought: nutrient-moisture interaction. **Current Agricultural**, New York, v. 27, n. 1/2, p. 1-8, Jan. 2003.
- GHANNOUM, O. C4 photosynthesis and water stress. **Annals of Botany**, Oxford, v. 103, n. 4, p. 635-644, Feb. 2008.
- GILL, S. S.; TUTEJA, N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, New Delhi, v. 48, n. 12, p. 909-930, Dec. 2010.
- GIMENO, V. et al. Foliar potassium nitrate application improves the tolerance of *Citrus macrophylla* L. seedlings to drought conditions. **Plant Physiology and Biochemistry**, New Delhi, v. 83, p. 308-315, Oct. 2014.
- GUAN, P. Dancing with hormones: a current perspective of nitrate signaling and regulation in arabidopsis. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v. 8, p. 1697, Sept. 2017.

GUO, F.-Q.; YOUNG, J.; CRAWFORD, N. M. The nitrate transporter AtNRT1. 1 (CHL1) functions in stomatal opening and contributes to drought susceptibility in Arabidopsis. **The Plant Cell**, Rockville, v. 15, n. 1, p. 107-117, Jan. 2003.

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

\_\_\_\_\_. Robust discrimination between self and non-self neurites requires thousands of Dscam1 isoforms. **Nature**, London, v. 461, n. 7264, p. 644-648, Oct. 2009.

HOREMANS, N.; FOYER, C. H.; ASARD, H. Transport and action of ascorbate at the plant plasma membrane. **Trends in Plant Science**, Kidlington, v. 5, n. 6, p. 263-267, June 2000.

JAVOT, H.; MAUREL, C. The role of aquaporins in root water uptake. **Annals of Botany**, Oxford, v. 90, n. 3, p. 301-313, Sept. 2002.

KATONA, E. et al. Photosystem I-dependent cyclic electron transport is important in controlling photosystem II activity in leaves under conditions of water stress. **Photosynthesis Research**, Hague, v. 34, n. 3, p. 449-464, Dec. 1992.

KEMBLE, A. R.; MACPHERSON, H. T. Liberation of amino acids in perennial rye grass during wilting. **Biochemical Journal**, London, v. 58, n. 1, p. 46-49, Sept. 1954.

KISHOR, P. B. K.; SREENIVASULU, N. Is proline accumulation per se correlated with stress tolerance or is proline homeostasis a more critical issue? **Plant, Cell & Environment**, Hoboken, v. 37, n. 2, p. 300-311, Feb. 2014.

LAVINSKY, A. O. et al. Analysis of maize photosynthesis parameters and whole plant oxidative damage under long-term drought. **Advances in Crop Science and Technology**, London, Suppl. 1, p. 1-6, May 2015.

\_\_\_\_\_. Silicon improves rice grain yield and photosynthesis specifically when supplied during the reproductive growth stage. **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, v. 206, p. 125-132, Nov. 2016.

LEBON, E. et al. Branch development controls leaf area dynamics in grapevine (*Vitis vinifera*) growing in drying soil. **Annals of Botany**, Oxford, v. 98, n. 1, p. 175-185, July 2006.

LEMOINE, R. et al. Source-to-sink transport of sugar and regulation by environmental factors. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v. 4, p. 272, July 2013.

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

LYNCH, J. P.; CHIMUNGU, J. G.; BROWN, K. M. Root anatomical phenes associated with water acquisition from drying soil: targets for crop improvement. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 65, n. 21, p. 6155-6166, Nov. 2014.

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

- MAGALHÃES, P. C.; DURÃES, F. O. M. Fisiologia da produo. In: CRUZ, J. C. et al. (Ed.). **A cultura do milho**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2008. p. 63-87.
- MAUREL, C.; CHRISPEELS, M. J. Aquaporins. A molecular entry into plant water relations. **Plant Physiology**, Lancaster, v. 125, n. 1, p. 135-138, Jan. 2001.
- MCELTRONE, A. J. et al. Mudanças mediadas por aquaporina na condutividade hidrlica de raízes profundas acessadas via cavernas. **Plant, Cell & Environment**, Hoboken, v. 30, n. 11, p. 1411-1421, 2007.
- MCLAUGHLIN, J. E.; BOYER, J. S. Glucose localization in maize ovaries when kernel number decreases at low water potential and sucrose is fed to the stems. **Annals of Botany**, Oxford, v. 94, n. 1, p. 75-86, July 2004.
- MILLER, G. A. D. et al. Reactive oxygen species homeostasis and signalling during drought and salinity stresses. **Plant, Cell & Environment**, Hoboken, v. 33, n. 4, p. 453-467, Apr. 2010.
- MITANI, N.; YAMAJI, N.; MA, J. F. Identification of maize silicon influx transporters. **Plant and Cell Physiology**, Kyoto, v. 50, n. 1, p. 5-12, Jan. 2008.
- MOHAMED, H. I.; AKLADIOUS, S. A. Influence of garlic extract on enzymatic and non enzymatic antioxidants in soybean plants (*Glycine Max*) grown under drought stress. **Life Science Journal**, Woodbury, v. 11, p. 46-58, Jan. 2014.
- MOHAMMADKHANI, N.; HEIDARI, R. Drought-induced accumulation of soluble sugars and proline in two maize varieties. **World Applied Sciences Journal**, Faisalabad, v. 3, n. 3, p. 448-453, Jan. 2008.
- NAZ, H. I. R. A.; AKRAM, N. A.; ASHRAF, M. Impact of ascorbic acid on growth and some physiological attributes of cucumber (*Cucumis sativus*) plants under water-deficit conditions. **Pakistan Journal of Botany**, Karachi, v. 48, n. 3, p. 877-883, 2016.
- OVERVOORDE, P.; FUKAKI, H.; BEECKMAN, T. Auxin control of root development. **Cold Spring Harbor Perspectives in Biology**, Woodbury, v. 2, n. 6, p. a001537, June 2010.
- PENNISI, E. How Sorghum withstands heat and drought. **Science**, New York, v. 323, n. 5914, p. 573, Jan. 2009.
- PONTIGO, S. et al. Silicon in vascular plants: uptake, transport and its influence on mineral stress under acidic conditions. **Planta**, Berlin, v. 242, n. 1, p. 23-37, July 2015.
- RONDE, J. A. de et al. Photosynthetic response of transgenic soybean plants, containing an Arabidopsis P5CR gene, during heat and drought stress. **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, v. 161, n. 11, p. 1211-1224, Nov. 2004.
- RUAN, Y.-L. et al. Sugar input, metabolism, and signaling mediated by invertase: roles in development, yield potential, and response to drought and heat. **Molecular Plant**, Oxford, v. 3, n. 6, p. 942-955, Nov. 2010.
- SAMI, F. et al. Role of sugars under abiotic stress. **Plant Physiology and Biochemistry**, New Delhi, v. 109, p. 54-61, Dec. 2016.

SANGAKKARA, U. R.; FREHNER, M.; NÖSBERGER, J. Effect of soil moisture and potassium fertilizer on shoot water potential, photosynthesis and partitioning of carbon in mungbean and cowpea. **Journal of Agronomy and Crop Science**, Berlin, v. 185, n. 3, p. 201-207, Oct. 2000.

SEVANTO, S. Phloem transport and drought. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 65, n. 7, p. 1751-1759, Apr. 2014.

SEVILLA, F. et al. The thioredoxin/peroxiredoxin/sulfiredoxin system: current overview on its redox function in plants and regulation by reactive oxygen and nitrogen species. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 66, n. 10, p. 2945-2955, May 2015.

SHAN, C.; WANG, Y. Exogenous salicylic acid-induced nitric oxide regulates leaf water condition through root osmoregulation of maize seedlings under drought stress. **Brazilian Journal of Botany**, São Paulo, v. 40, n. 2, p. 591-597, June 2017.

SHARMA, S.; VILLAMOR, J. G. C.; VERSLUES, P. E. Essential role of tissue-specific proline synthesis and catabolism in growth and redox balance at low water potential. **Plant Physiology**, Lancaster, v. 157, n. 1, p. 292-304, Sept. 2011.

SHARP, R. E.; LENOBLE, M. E. ABA, ethylene and the control of shoot and root growth under water stress. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 53, n. 366, p. 33-37, Jan. 2002.

SHI, Y. et al. Silicon enhances water stress tolerance by improving root hydraulic conductance in *Solanum lycopersicum* L. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v. 7, p. 196, Feb. 2016.

SOFO, A. et al. Ascorbate peroxidase and catalase activities and their genetic regulation in plants subjected to drought and salinity stresses. **International Journal of Molecular Sciences**, Basel, v. 16, n. 6, p. 13561-13578, June 2015.

SOLEIMANZADEH, H. et al. Effect of potassium levels on antioxidant enzymes and malondialdehyde content under drought stress in sunflower (*Helianthus annuus* L.). **American Journal of Agricultural and Biological Sciences**, Vails Gate, v. 5, n. 1, p. 56-61, 2010.

SUO, J. et al. Salinity response in chloroplasts: insights from gene characterization. **International Journal of Molecular Sciences**, Basel, v. 18, n. 5, p. E1011, May 2017.

SZABADOS, L.; SAVOURE, A. Proline: a multifunctional amino acid. **Trends in Plant Science**, Kidlington, v. 15, n. 2, p. 89-97, Feb. 2010.

SZÉKELY, G. et al. Duplicated P5CS genes of *Arabidopsis* play distinct roles in stress regulation and developmental control of proline biosynthesis. **The Plant Journal**, Oxford, v. 53, n. 1, p. 11-28, Jan. 2008.

UMAR, S. Alleviating adverse effects of water stress on yield of sorghum, mustard and groundnut by potassium application. **Pakistan Journal of Botany**, Karachi, v. 38, n. 5, p. 1373-1380, Jan. 2006.

WANG, M. et al. The critical role of potassium in plant stress response. **International Journal of Molecular Sciences**, Basel, v. 14, n. 4, p. 7370-7390, Apr. 2013.

XIE, Z. et al. Silicon improves maize photosynthesis in saline-alkaline soils. **The Scientific World Journal**, Boynton Beach, v. 2015, p. 245072, 2015.

YANG, S. L. et al. Osmoregulation as a key factor in drought hardening-induced drought tolerance in *Jatropha curcas*. **Biologia Plantarum**, Praha, v. 59, n. 3, p. 529-536, Sept. 2015.

ZINSELMEIER, C.; JEONG, B.-R.; BOYER, J. S. Starch and the control of kernel number in maize at low water potentials. **Plant Physiology**, Lancaster, v. 121, n. 1, p. 25-36, Sept. 1999.

ZHAN, A.; SCHNEIDER, H.; LYNCH, J. Reduced lateral root branching density improves drought tolerance in maize. **Plant Physiology**, Lancaster, v. 168, n. 4, p. 1603-1615, Aug. 2015.

## CAPÍTULO 2

### A SUPLEMENTAÇÃO FOLIAR COM NITRATO DE POTÁSSIO INDUZ TOLERÂNCIA À SECA EM PLANTAS DE SORGO SUBMETIDAS AO ESTRESSE HÍDRICO NO PRÉ-FLORESCIMENTO

#### RESUMO

Objetivou-se com esse estudo, avaliar a capacidade da suplementação foliar com nitrato de potássio ( $\text{KNO}_3$ ) em induzir tolerância à seca em plantas de sorgo submetidas ao déficit hídrico no pré-florescimento. O experimento foi conduzido em casa de vegetação. O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado com 4 tratamentos sendo eles: capacidade de campo (CC), déficit hídrico (DH), capacidade de campo +  $\text{KNO}_3$  (CC +  $\text{KNO}_3$ ) e déficit hídrico +  $\text{KNO}_3$  (DH +  $\text{KNO}_3$ ) com seis repetições. Foram feitas duas aplicações foliar do  $\text{KNO}_3$  a 3% (m/v) sendo a primeira no dia zero do estresse e a segunda no quinto dia. O material vegetal utilizado foi a cultivar sensível à seca P898012. O DH foi imposto no pré-florescimento e mantido por doze dias. No décimo segundo dia de estresse, avaliou-se a relação  $F_v/F_m$ , índice de clorofila, trocas gasosas, macro e micro nutrientes, área foliar, morfometria do sistema radicular e, no final do ciclo, a biomassa seca de grãos. A suplementação foliar com  $\text{KNO}_3$ , em plantas irrigadas, promoveu incrementos no conteúdo de clorofilas, na taxa fotossintética, condutância estomática, transpiração e eficiência de carboxilação. Além disso, induziu aumentos nos níveis de P, Mg, S, Cu e Fe e proporcional maior crescimento em altura. Na condição de seca, as plantas tratadas com  $\text{KNO}_3$  apresentaram maiores níveis de clorofilas, maior taxa fotossintética, condutância estomática, transpiração, eficiência de carboxilação e maiores teores de P, K, Mg, S, Cu e Fe quando comparado àquelas não tratadas com  $\text{KNO}_3$ . Ademais, plantas tratadas com  $\text{KNO}_3$  nessa condição, apresentaram maior crescimento e tiveram o rendimento de grãos 3,2% maior que aquelas que não receberam  $\text{KNO}_3$ . Através dessas variáveis, é possível afirmar que o  $\text{KNO}_3$  induziu tolerância à seca em plantas de sorgo submetidas ao estresse hídrico severo no pré-florescimento.

**Palavras - chave:** Nutrição mineral. Nitrogênio. Trocas gasosas.  $F_v/F_m$ .

## ABSTRACT

The purpose of this study was to evaluate the capability of potassium nitrate ( $\text{KNO}_3$ ) foliar supplementation to induce drought tolerance in sorghum plants submitted to water stress in pre-flowering stage. The trial was conducted in a greenhouse. It was used the completely randomized design with four treatments, as they follow: field capacity (FC), water deficit (WD), field capacity +  $\text{KNO}_3$  (FC +  $\text{KNO}_3$ ) and water deficit +  $\text{KNO}_3$  (WD +  $\text{KNO}_3$ ) with six replicates each. It were made two foliar applications of  $\text{KNO}_3$  at 3% (m/v), being the first on stress day zero and the second on the fifth day. The vegetal material used was the drought sensitive cultivar P898012. The WD was placed in pre-flowering stage and kept for twelve days. On the twelfth stress day it was evaluated the  $F_v/F_m$  relation, chlorophyll index, gasexchange, macro and micronutrients, leaf area, root system morphometry and, in the end of the crop cycle, the grain dried biomass. The foliar supplementation with  $\text{KNO}_3$  in irrigated plants promoted an increase in chlorophyll contents, photosynthetic rate, stomatal conductance, transpiration and carboxylation efficiency. Moreover, it induced an increase in the levels of P, Mg, S, Cu and Fe, and a proportional increase in the plants height. In drought condition, plants treated with  $\text{KNO}_3$  showed higher chlorophyll levels, higher photosynthetic rate, stomatal conductance, transpiration, carboxylation efficiency and higher levels of P, K, Mg, S, Cu and Fe when compared to plants without  $\text{KNO}_3$  treatment. In addition, plants treated with  $\text{KNO}_3$  in this condition showed higher growth and grain yield 32,2% higher than the ones without  $\text{KNO}_3$ . Through these variables, it is possible to affirm that  $\text{KNO}_3$  induced drought tolerance in sorghum plants submitted to severe water stress in pre-flowering stage.

**Key words:** Mineral nutrition. Nitrogen. Gas exchange.  $F_v/F_m$ .

## 1 INTRODUÇÃO

Em 2050 a população humana mundial está projetada para atingir aproximadamente 9,6 bilhões de habitantes (LEE, 2011). Diante disso, estima-se que a produção de alimentos primários terá que aumentar em 70% até 2050 para garantir a segurança alimentar da população (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS, 2015 - FAOSTAT). No entanto, as mudanças climáticas ocorridas nos últimos anos têm alterado os padrões de precipitação no globo terrestre e tornado a produção de alimentos ameaçada, em ambientes cada vez mais escassos em água (VIDAL, 2013). Logo, o grande desafio para essa metade do século é produzir mais alimentos com recursos hídricos reduzidos (FOLEY et al., 2011), o que irá gerar uma pressão de seleção, exigindo culturas altamente adaptadas à seca (BORRELL et al., 2014).

Dentre essas culturas alimentícias destaca-se o sorgo (*Sorghum bicolor* Moench L.), originário da África tropical, sendo esse um cereal com grande adaptação à seca, constituindo fonte de alimento para mais de 500 milhões de pessoas em 98 países (PENNISI, 2009). Hoje se sabe que alguns genótipos de sorgo possuem tolerância à seca no estágio de pré-florescimento e outros em estágios de pós-florescimento (ROSENOW et al., 1996). Ainda nesse contexto, genótipos com tolerância a seca no pré-florescimento tendem a senescerem com a ocorrência de seca no pós-florescimento, enquanto aqueles tolerantes no pós-florescimento são sensíveis à ocorrência desse fator ambiental no pré-florescimento (BURKE et al., 2013).

Em sorgo, a seca no pré-florescimento conduz a um atraso na floração, enrolamento de folhas, aborto de flores, e redução do tamanho e peso da panícula e planta (BORRELL et al., 2014). Esse feito ocorre, devido à redução que a seca promove na condutância estomática. Essa redução é um dos mecanismos que os vegetais utilizam para reduzir a perda de água quando a capacidade de absorção de água no solo é menor que as perdas para atmosfera. No entanto, ao evitar a perda de água pela transpiração, inevitavelmente, a redução na condutância estomática, restringe a entrada de CO<sub>2</sub> para dentro do mesófilo (LAWLOR; CORNIC, 2002). Diante disso, os níveis de CO<sub>2</sub> próximo aos sítios catalíticos da Ribulose-1,5-Bisfosfato Carboxilase / Oxigenase (Rubisco) são reduzidos, e, portanto, ocorre uma redução na taxa fotossintética por vias estomáticas (LAVISNKY et al., 2015; SOUZA et al., 2013).

A medida que o estresse hídrico se torna mais duradouro e intenso, essa menor atividade da Rubisco e, conseqüentemente, do ciclo de Calvin, reduz o consumo de poder

reduzido produzido pela fotoquímica, tornando o aparato fotoquímico altamente reduzido e propício a formação de espécies reativas de oxigênio (EROs) (ARAÚJO; DEMINICIS, 2009). Essas EROs, em baixas concentrações, são importantes moléculas sinalizadoras, entretanto, quando sua produção excede a capacidade de eliminação metabólica, são altamente nocivas ao aparato fotossintético (NOCTOR; MHAMDI; FOYER, 2014).

Diante disso, a planta utiliza de vias para dissipar a energia em excesso, numa tentativa de evitar a fotooxidação. Para tanto, ocorre à ativação de vias que dissipam energia na forma de calor, como o ciclo das xantofilas, além de intensificar o metabolismo do nitrogênio, visto que, esse processo consome altos níveis de energia (CARELLI; FAHL; RAMALHO, 2006). No entanto, quando essas vias não são suficientes, sendo a planta um sistema dinâmico, ocorre a reemissão de energia na forma de fluorescência (GHANNOUM et al., 2003). Porém, quando todas essas vias acopladas são saturadas, as EROs se acumulam e promovem a oxidação de moléculas de clorofila, membranas e da proteína D1 do fotossistema II. Assim, o aparato fotoquímico entra em desequilíbrio e a fotossíntese é reduzida devido à fotoinibição (NOCTOR; MHAMDI; FOYER, 2014).

Em adição, ressalta-se que a redução nas trocas gasosas, inibe fortemente a absorção e transporte de nutrientes. Esse processo ocorre em parte, devido à redução de até 70% na transpiração que ocorre durante a seca (LAVISNKY et al., 2015), visto que o transporte de minerais é governado pela corrente transpiratória via xilema (WHITE, 2001). Associado a isso está à redução na taxa fotossintética e, portanto, a carga energética da planta. Plantas de milho, por exemplo, sob estresse hídrico severo podem apresentar uma redução média na taxa fotossintética de 80% (AVILA et al., 2016), fato que as conduzem a um déficit energético severo. Logo, essa baixa carga energética induz uma entropia no sistema, comprometendo dentre outros, a absorção de nutrientes, uma vez que muitos dos transportadores de nutrientes são canais dependentes de energia (GROSSMAN; TAKAHASHI, 2001).

Diante disso, recentes estudos têm chamado a atenção para nutrição mineral frente a fatores estressantes (SAUD et al., 2017; VIEIRA et al., 2016). Nesse contexto, tem sido observado que plantas bem nutridas apresentam melhor desempenho fisiológico em condições de estresse (ZHONG et al., 2017). Para tanto, tem-se observado que a suplementação mineral com compostos nitrogenados, dentre eles o nitrato de potássio ( $\text{KNO}_3$ ) têm promovido melhorias no ajustamento osmótico, sistema antioxidante enzimático (KHAMMARI et al., 2012), fotossíntese, condutância estomática, transpiração e nutrição em plantas sob estresse hídrico (GIMENO et al., 2014).

Ademais, é verificado que a suplementação com  $\text{KNO}_3$  pode influenciar positivamente sobre o “*stay green*” funcional, o qual é caracterizado pela manutenção dos pigmentos fotossintéticos, bem como do processo fotossintético (BORRELL et al., 2014). No entanto, muitos dos compostos nitrogenados incluindo o  $\text{KNO}_3$ , estão na forma de sais, e, portanto, em solos secos, podem contribuir ainda mais para o déficit de água no solo (GIMENO et al., 2014). Desse modo, uma alternativa seria explorar o uso de compostos nitrogenados via aplicação foliar, na tentativa de manter o *status* de nitrogênio na folha em condições ótimas, visto que poderia mitigar os efeitos da seca, induzindo melhorias fisiológicas nas plantas. Diante disso, objetivou-se com esse estudo, avaliar a capacidade do  $\text{KNO}_3$  em induzir tolerância à seca em plantas de sorgo submetidas ao estresse hídrico no pré-florescimento.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Condições de cultivo, material vegetal e desenho experimental

O experimento foi conduzido em condições de casa de vegetação na Embrapa Milho e Sorgo (19°28' S, 44°15'08'' W, 732 m de altitude), sendo o material vegetal utilizado a cultivar de sorgo sensível à seca no pré-florescimento, P898012 a qual apresenta no fenótipo a característica de “*stay green*”. O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado com quatro tratamentos e seis repetições. Os tratamentos foram capacidade campo (CC), déficit hídrico (DH), capacidade de campo + nitrato de potássio (CC + KNO<sub>3</sub>) e déficit hídrico mais nitrato de potássio (DH + KNO<sub>3</sub>). Os tratamentos CC e CC + KNO<sub>3</sub> tiveram a tensão de água no solo mantida próximo de -18 KPa durante todo o ciclo, enquanto os tratamentos DH e DH + KNO<sub>3</sub> foram impostos quando as plantas atingiram o pré-florescimento. No tratamento com déficit hídrico, o solo teve sua tensão de água reduzida para -138 KPa que corresponde a aplicação de 50% da água disponível, sendo mantida nesse nível por um período de doze dias (Souza et al. 2014). O KNO<sub>3</sub> foi fornecido por aplicação foliar com o auxílio de um aplicador pressurizado de CO<sub>2</sub>, calibrado para uma vazão de 200 L ha<sup>-1</sup> em dois momentos, no dia zero do estresse e no quinto dia de estresse a uma concentração de 3% (m/v).

As plantas foram cultivadas em vasos plásticos com capacidade de 20 L, contendo Latossolo Vermelho Distrófico Típico. O teor de água no solo foi monitorado diariamente entre 9h e 15h, com auxílio de sensores de umidade modelo GB Reader N1535 (Measurement Engineering, Austrália), instalados no centro de cada vaso, com auxílio de um trado de rosca, a uma profundidade de 20 cm. Esses sensores detectam a tensão de água no solo, com base na resistência elétrica, e são acoplados a medidores digitais. A reposição hídrica através de irrigação foi realizada com base nas leituras obtidas com o sensor e a água repostada, até a capacidade de campo durante o período que antecedeu a imposição dos tratamentos. Os cálculos de reposição de água foram realizados com o auxílio de uma planilha eletrônica, feita em função da curva de retenção de água do solo. A correção do solo, adubação de base e cobertura foram feitas com base na análise de solo (ANEXO A) e de acordo com a demanda da cultura do sorgo.

## 2.2 Análises fisiológicas e morfológicas

Após os doze dias de estresse foram avaliadas às trocas gasosas foliares, com um analisador de gases infravermelho (IRGA – Infrared Gas Analyzer), modelo LI 6400 (LI-COR, Lincoln, NE, EUA), equipado com um fluorômetro (LI-6400-40, LI-COR Inc.) As medições foram realizadas entre 09:00 e 11:00 h, sob radiação fotossinteticamente ativa artificial (RFA) de  $1500 \mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  em n\u00edvel da folha, com 21% de  $\text{O}_2$  e  $400 \mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1} \text{ ar}$ .

A vari\u00e1vel efici\u00eancia qu\u00e2ntica do fotossistema II foi obtida utilizando um fluor\u00f4metro de pulso modulado (PEA- Pocket chlorophyll Fluorimeter), modelo Hansatech. O teor relativo de clorofila e/ou \u00edndice de SPAD, foi determinado utilizando o clorofil\u00f4metro (*MODEL SPAD 502*, Minolta, Japan). O potencial h\u00eddrico foliar foi determinado utilizando uma bomba de press\u00e3o tipo Scholander ao meio-dia ( $\Psi_{\text{md}}$ ). Todas as an\u00e1lises biof\u00edsicas foram realizadas na primeira folha abaixo da folha bandeira. A porcentagem de macro (N, P, K, Mg, Ca e S) e micronutrientes (Zn, Fe, Mn e Cu) na folha foram determinadas conforme metodologia descrita por Silva (2009).

As medidas de \u00e1rea foliar foram realizadas com o aux\u00edlio de um medidor de \u00e1rea foliar (Li-Cor Inc.) O sistema informatizado WinRhizo (WinRhizo Pro, Regent Inc. Instr., Canada) foi utilizado para realizar as avalia\u00e7\u00f5es morfom\u00e9tricas do sistema radicular, onde mensurou-se o volume e \u00e1rea superficial das ra\u00edzes por classes de di\u00e2metro, como descrito a seguir: ra\u00edzes muito finas ( $\varnothing$  inferior a 0,5 mm), ra\u00edzes finas ( $> 0,5 \varnothing < 2,0$  mm) e ra\u00edzes grossas ( $\varnothing > 2,0$  mm) (MAGALH\u00c3ES; SOUZA; CANT\u00c3O, 2011).

## 2.3 An\u00e1lises agron\u00f4micas

No final do ciclo da cultura foi aferido a altura das plantas com uma r\u00e9gua graduada, e com um paqu\u00edmetro, o di\u00e2metro do colmo. Posteriormente, as plantas tiveram suas pan\u00edculas colhidas e submetidas \u00e0 secagem em estufa com circula\u00e7\u00e3o for\u00e7ada de ar, a  $70 \text{ }^\circ\text{C}$ , durante 72 h. Na sequ\u00eancia, com aux\u00edlio de uma balan\u00e7a anal\u00edtica digital, obteve-se a biomassa seca dos gr\u00e3os.

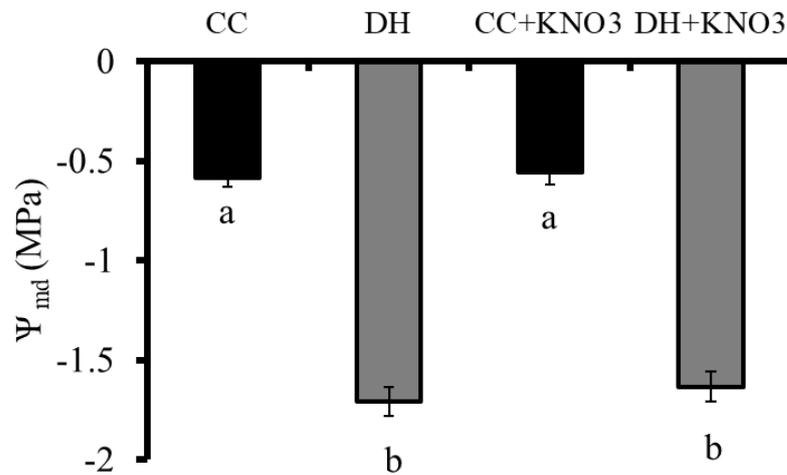
## 2.4 Análises estatísticas

Após obtenção dos dados, aplicaram-se testes estatísticos preliminares para adequação ou não dos resultados para posterior análise de variância (ANOVA) utilizando o programa estatístico SISVAR. O teste de Scott-Knott a 95% ( $p < 0,05^{**}$ ) de significância, foi utilizado para testar todo e qualquer contraste entre os tratamentos. A relação funcional entre fotossíntese e condutância estomática e eficiência de carboxilação e relação  $F_v/F_m$ , foi determinada por análise de regressão linear simples utilizando o programa estatístico BioEstat 5.0 com nível de significância de 99% ( $p < 0,01^*$ ).

### 3 RESULTADOS

Após os 12 dias de tratamento, todas as plantas que estavam sob déficit hídrico (DH), apresentaram redução no potencial hídrico foliar em relação às que permaneceram com irrigação no nível de capacidade de campo (CC), independente do tratamento (FIGURA 1).

Figura 1 - Potencial hídrico foliar mínimo de folhas de plantas de sorgo submetidas ao estresse hídrico e tratadas com  $\text{KNO}_3$  no pré-florescimento (CC - capacidade de campo; DH - déficit hídrico; CC +  $\text{KNO}_3$  - capacidade de campo +  $\text{KNO}_3$ ; DH +  $\text{KNO}_3$  - Déficit hídrico +  $\text{KNO}_3$ ).

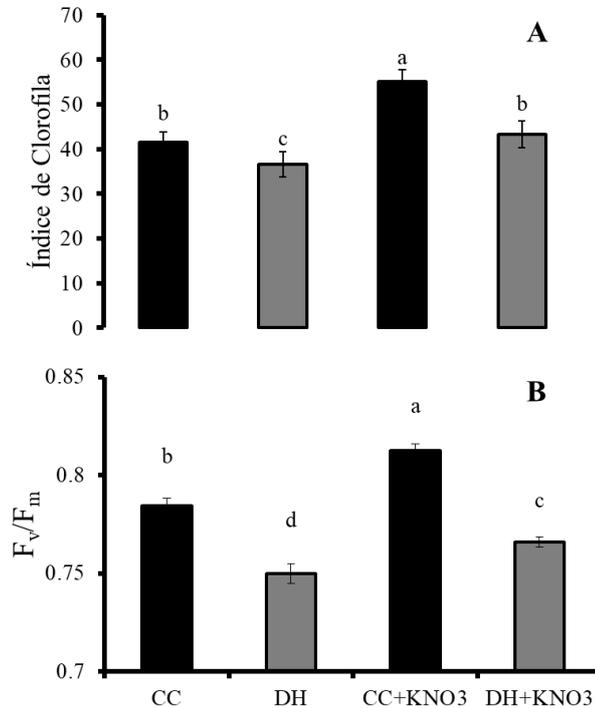


Legenda: Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si estatisticamente pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. As barras representam o erro padrão das médias de seis repetições.

Fonte: Do autor (2018).

O DH de 12 dias reduziu de forma significativa os níveis de clorofila (FIGURA 2-A). No entanto, o  $\text{KNO}_3$  induziu um aumento na biossíntese de clorofilas das plantas em CC e garantiu a manutenção das plantas sob DH, uma vez que, sob CC, plantas tratadas com  $\text{KNO}_3$ , apresentaram maiores índices de clorofila quando comparadas com aquelas não tratadas. Além disso, entre as plantas que estavam em condições de estresse, as tratadas com  $\text{KNO}_3$ , além de apresentar um maior índice de clorofila, dispunham também de valores dessa variável semelhante às que estavam sob CC.

Figura 2 - Índice de SPAD – A; Relação  $F_v/F_m$  – B, em plantas de sorgo submetidas ao estresse hídrico e tratadas com  $KNO_3$  no pré-florescimento (CC - capacidade de campo; DH - déficit hídrico; CC +  $KNO_3$  - capacidade de campo +  $KNO_3$ ; DH +  $KNO_3$  - Déficit hídrico +  $KNO_3$ ).



Legenda: Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si estatisticamente pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. As barras representam o erro padrão das médias de seis repetições.

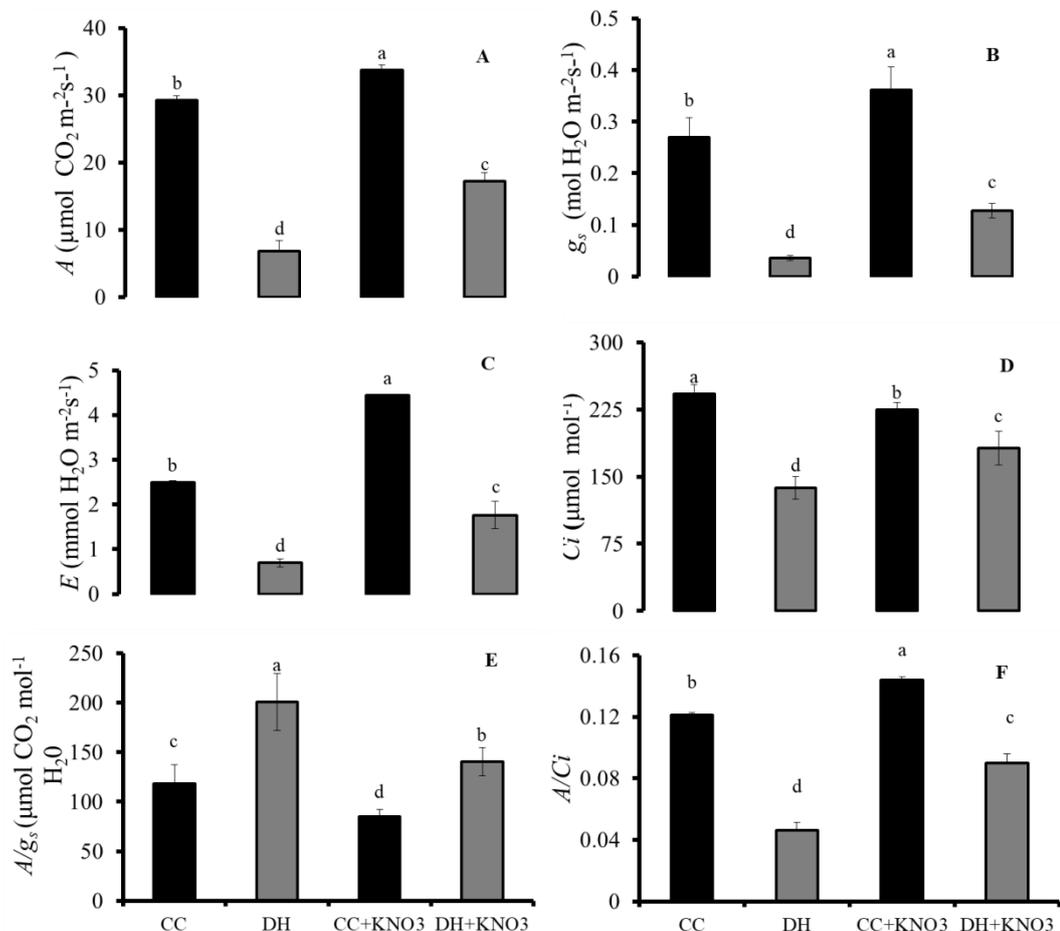
Fonte: Do autor (2018).

A relação  $F_v/F_m$ , que representa a eficiência quântica do fotossistema II (FIGURA 2-B), apresentou comportamento semelhante aos do índice de clorofila, demonstrando a fina regulação entre essas duas variáveis. Observou-se, portanto, que o DH promoveu um aumento na fluorescência da clorofila, independente do tratamento. Entretanto, as plantas tratadas com  $KNO_3$ , apresentaram níveis mais baixos de fluorescência quando comparado com seus controles nas duas condições hídricas.

Plantas cultivadas sob CC apresentaram maior taxa fotossintética (FIGURA 3-A), condutância estomática (FIGURA 3-B), transpiração (FIGURA 3-C) e eficiência de carboxilação (FIGURA 3-F), em relação àquelas que estavam em condições de DH. No entanto, é importante ressaltar que, plantas tratadas com  $KNO_3$ , apresentaram valores de taxa fotossintética, condutância estomática, transpiração e eficiência de carboxilação, superiores àquelas que não receberam a suplementação foliar com  $KNO_3$ , em ambas as condições hídricas.

O carbono interno foi superior nas plantas sob CC, independente do tratamento (FIGURA 3-D). No entanto, nessa condição hídrica, as plantas que não receberam  $\text{KNO}_3$  apresentaram maiores níveis de carbono interno em relação às plantas tratadas com  $\text{KNO}_3$ . Divergentemente, sob DH as plantas que receberam o tratamento com  $\text{KNO}_3$ , dispunham de valores de carbono interno superiores às que não foram tratadas. As plantas em condição de seca aumentaram a eficiência intrínseca no uso da água, quando comparadas com seus controles, sob irrigação normal (FIGURA 3-E). Entretanto, as plantas não tratadas com  $\text{KNO}_3$ , exibiram superior eficiência intrínseca do uso da água nos dois níveis de água no solo.

Figura 3 - A = taxa fotossintética ( $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) - A;  $g_s$  = condutância estomática ( $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) - B; E = Taxa transpiratória ( $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) - C;  $C_i$  = Carbono interno ( $\mu\text{mol mol}^{-1}$ ) - D;  $A/g_s$  = eficiência intrínseca no uso da água ( $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mmol H}_2\text{O}$ ) - E e  $A/C_i$  = eficiência de carboxilação - F em plantas de sorgo submetidas ao estresse hídrico e tratadas com  $\text{KNO}_3$  no pré-florescimento (CC – capacidade de campo; DH – déficit hídrico; CC +  $\text{KNO}_3$  – capacidade de campo +  $\text{KNO}_3$ ; DH +  $\text{KNO}_3$  – déficit hídrico +  $\text{KNO}_3$ ).

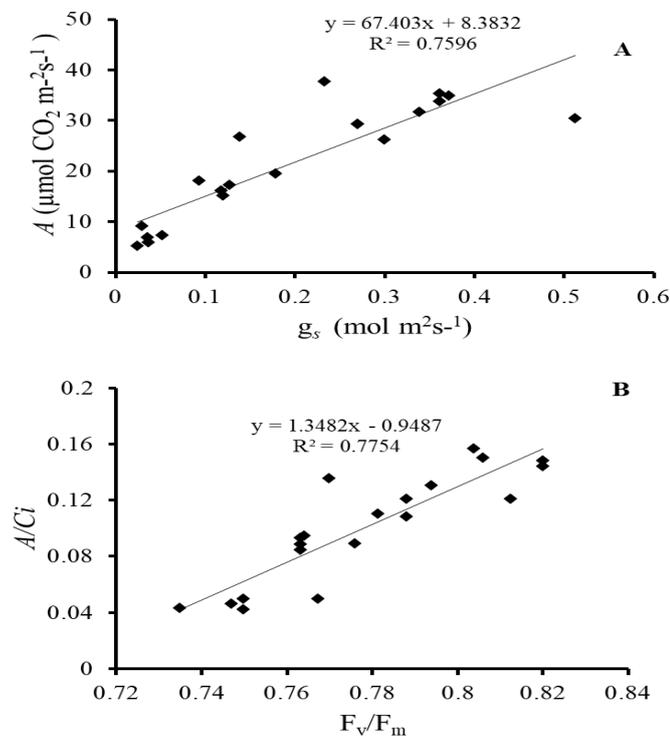


Legenda: Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si estatisticamente pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. As barras representam o erro padrão das médias de seis repetições.

Fonte: Do autor (2018).

A taxa fotossintética correlacionou positivamente ( $r = 0,87$ ) com a condutância estomática, de modo que, à medida que aumentava a condutância estomática aumentos significativos ocorriam na fotossíntese, (FIGURA 4-A). Nesse contexto, nota-se que a redução na condutância estomática induzida pela seca, contribuiu de forma significativa para menor fotossíntese nas plantas estressadas. Comportamento semelhante foi verificado para relação entre eficiência de carboxilação e eficiência do fotossistema II (FIGURA 4-B), visto que quanto maior a relação  $F_v/F_m$ , maior foi a eficiência de carboxilação ( $r = 0,88$ ).

Figura 4 - Relação entre condutância estomática ( $g_s$ ) e fotossíntese (A) -A e entre eficiência de carboxilação ( $A/C_i$ ) e eficiência do fotossistema II ( $F_v/F_m$ ) – B, em plantas de sorgo submetidas ao estresse hídrico e tratadas com  $KNO_3$  no pré-florescimento. Correlação linear, significativa a 1% de probabilidade.



Fonte: Do autor (2018).

Em relação à nutrição mineral, no geral, o déficit hídrico reduziu os macro e micronutrientes foliares, no entanto, a suplementação foliar com  $KNO_3$  atenuou os efeitos da seca (TABELA 1). O nitrogênio foi superior nas plantas em CC em relação às sob DH. Não houve efeitos do  $KNO_3$  nos níveis de nitrogênio nas plantas em CC, no entanto, as plantas sob DH e tratadas com  $KNO_3$  exibiam maiores valores de nitrogênio em suas folhas em relação àquelas que não receberam  $KNO_3$ .

Tabela 1 - Macro e micronutrientes em folhas de plantas de sorgo submetidas ao estresse hídrico e tratadas com KNO<sub>3</sub> no pre-florescimento.

	CC	DH	CC+KNO <sub>3</sub>	DH+KNO <sub>3</sub>
N (%)	4,59a	3,83 c	4,60 a	3,97 b
P (g/Kg)	3,47 b	2,25 d	4,27 a	2,96 c
K (g/Kg)	24,18 b	24,81 b	24,29 b	27,26 a
Ca (g/Kg)	10,15 a	7,66 b	9,58 a	8,38 b
Mg (g/Kg)	3,07 b	2,78 c	3,43 a	2,96 b
S (g/Kg)	2,29 b	1,98 c	2,56 a	2,04 c
Zn (mg/Kg)	150,45 a	107,64 b	149,09 a	113,64 b
Cu (mg/Kg)	11,43 b	9,32 c	12,02 a	8,76 c
Fe (mg/Kg)	186,40 b	158,40 c	238,97 a	179,70 b
Mn (mg/Kg)	187,53 c	256,63 a	197,50 c	241,25 b

Fonte: Do autor (2018).

Legenda: CC- capacidade de campo. DH- déficit hídrico. As médias seguidas pela mesma letra na linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.

Os teores de fósforo foram maiores em plantas sob CC independente do KNO<sub>3</sub>. Especificamente nessa condição hídrica, as plantas tratadas com KNO<sub>3</sub> apresentaram maiores níveis de fósforo em relação àquelas não tratadas. Comportamento semelhante foi observado durante a condição de estresse, uma vez que, plantas tratadas com KNO<sub>3</sub> apresentaram valores superiores aos das plantas que não receberam o tratamento. O potássio foi superior apenas nas plantas sob DH + KNO<sub>3</sub>, enquanto os demais tratamentos não diferiram entre si.

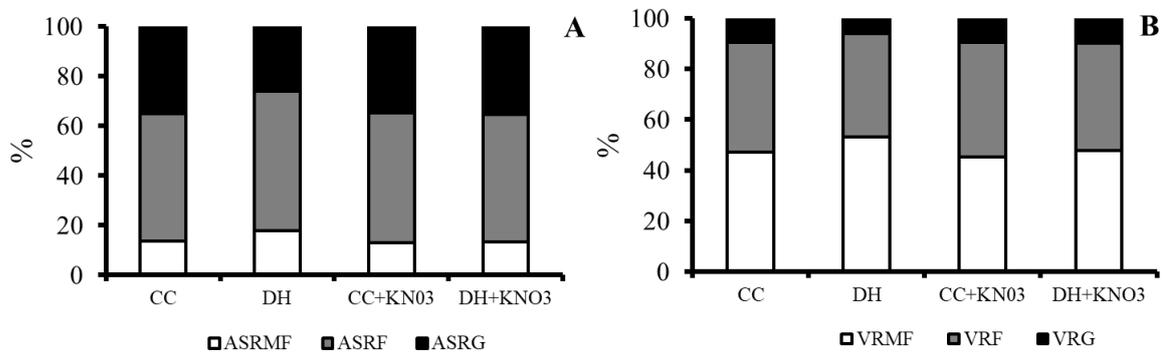
Os níveis de cálcio nas folhas foram afetados apenas pelos níveis de água, visto que, plantas sob capacidade de campo apresentaram maiores teores desse macronutriente. O tratamento com KNO<sub>3</sub> induziu aumento nos teores de magnésio em plantas sob CC e a manutenção em seus teores em plantas estressadas, uma vez que, plantas sob DH + KNO<sub>3</sub> apresentaram valores semelhantes aos de plantas CC + KNO<sub>3</sub>. As plantas do tratamento DH + KNO<sub>3</sub> exibiram os menores valores de magnésio em suas folhas. O enxofre teve seus teores reduzidos em plantas sob seca, independente do tratamento. Durante condições de irrigação normal, o KNO<sub>3</sub> promoveu incrementos em seus teores. Entre as plantas estressadas não houve alterações nos teores de enxofre.

As concentrações dos micronutrientes cobre e ferro, apresentaram comportamentos semelhantes. Plantas estressadas reduziram seus teores independente da presença KNO<sub>3</sub>. No entanto, as plantas em CC e tratadas com KNO<sub>3</sub> apresentaram valores superiores de ambos os nutrientes. Divergindo do cobre, que teve seus níveis semelhantes durante a seca em plantas estressadas, plantas sob DH + KNO<sub>3</sub> exibiram valores de ferro superiores às em DH, e ainda, semelhantes às em CC + KNO<sub>3</sub>. O zinco reduziu com a seca independente do KNO<sub>3</sub>, e, dentro do mesmo nível de água no solo seus teores não variaram. Em relação ao manganês, verificou

que o DH aumentou seus níveis independente do tratamento. Em condição de seca, plantas do tratamento DH exibiram maiores níveis desse elemento. Sob irrigação normal não houve diferenças entre os tratamentos.

Ao contrário das variáveis analisadas na parte área, onde a seca e o tratamento com  $\text{KNO}_3$  exerceram forte influência, a morfometria do sistema radicular não foi alterada por esses dois fatores. No entanto, é importante observar que a área superficial do sistema radicular (FIGURA 5-A) é ocupada em média por 15% de raízes muito finas, 65% de raízes finas e 30% de raízes grossas. O volume do sistema radicular (FIGURA 5-B) apresentou resultados semelhantes ao da área superficial, divergindo apenas no volume de raízes finas e muito finas, que ocupa em média 90% de todo o volume do sistema radicular.

Figura 5 - Morfometria de raízes de plantas de sorgo submetidas ao estresse hídrico e tratados com  $\text{KNO}_3$  no pré-florescimento. ASRMF: Área superficial de raízes muito finas.; ASRF: Área superficial de raízes finas.; ASRG: Área superficial de raízes grossas – A. VRMF: Volume de raízes muito finas.; VRF: Volume de raízes finas; VRG: Volume de raízes grossas- B (CC – capacidade de campo; DH – déficit hídrico; CC +  $\text{KNO}_3$  – capacidade de campo +  $\text{KNO}_3$ ; DH +  $\text{KNO}_3$  – déficit hídrico +  $\text{KNO}_3$ ).



Fonte: Do autor (2018).

O  $\text{KNO}_3$  influenciou positivamente na altura de plantas (TABELA 2), uma vez que plantas em condições de CC+  $\text{KNO}_3$  exibiram a maior altura de plantas entre todos os tratamentos, e ainda, que plantas sob DH +  $\text{KNO}_3$  apresentaram alturas semelhantes às aquelas em CC, demonstrando que o  $\text{KNO}_3$  atenuou os efeitos no estresse no crescimento dessas plantas. Entre todos os tratamentos estudados, apenas as plantas que estavam sob DH exibiram menor altura. O diâmetro de plantas foi menor em todas as plantas sob DH. Dentro do mesmo nível de água no solo não houve diferenças para essa variável entre os tratamentos.

Tabela 2 - Altura de planta (AP), diâmetro de planta (DP), área foliar (AF), biomassa seca de grão (BSG) de plantas de sorgo submetidas ao estresse hídrico e tratadas com  $\text{KNO}_3$  no pré-florescimento.

	CC	DH	CC+ $\text{KNO}_3$	DH+ $\text{KNO}_3$
AP (cm)	1.14 b	1.06 c	1.28 a	1.14 b
DP (mm)	12.47 a	10.54 b	12.27 a	11.45 b
AF (m <sup>2</sup> )	13.60 a	9.36 c	12.41 b	11.57 b
BSG (g)	30.11 a	12.65 c	29.97 a	18.39 b

Fonte: Do autor (2018).

Legenda: CC- capacidade de campo. DH- déficit hídrico.

As médias seguidas pela mesma letra na linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.

A área foliar foi superior em plantas do tratamento CC seguido dos tratamentos CC +  $\text{KNO}_3$  e DH +  $\text{KNO}_3$ , os quais não diferiram entre si. Entre todos os tratamentos, as plantas sob DH não tratadas com  $\text{KNO}_3$  foram as que apresentaram a menor área foliar. Diante disso, é possível notar que o  $\text{KNO}_3$  garantiu a manutenção da área foliar das plantas durante o estresse. A seca afetou significativamente a biomassa seca de grãos, uma vez que, todas as plantas que estavam nessa condição hídrica, reduziram sua biomassa em relação às plantas sob CC, independente do  $\text{KNO}_3$ . Em CC, não houve diferenças entre os tratamentos. No entanto, durante o DH, plantas tratadas com  $\text{KNO}_3$ , resultaram em um aumento de 32,2% no rendimento final de grãos em relação às plantas que não receberam  $\text{KNO}_3$ .

## 4 DISCUSSÃO

A suplementação foliar com  $\text{KNO}_3$  promoveu indução de tolerância à seca em plantas de sorgo submetidas ao estresse hídrico severo no pré-florescimento, e ainda, promoveu melhorias fisiológicas em plantas sob irrigação normal. Uma vez que as plantas dos tratamentos CC +  $\text{KNO}_3$  e DH +  $\text{KNO}_3$  apresentaram maior crescimento em altura em relação aos seus respectivos controles CC e DH. Ademais, as plantas do tratamento DH +  $\text{KNO}_3$  apresentaram um acréscimo de 32,2% a mais no rendimento final de grãos quando comparado àquelas não tratadas com  $\text{KNO}_3$ .

É importante ressaltar, que a linhagem P898012 é um material com fenótipo *stay green*, e que, materiais com esse fenótipo são sensíveis à seca no pré-florescimento (BURKE et al., 2013). Um dos efeitos da seca nessas linhagens é a senescência acelerada das folhas, que impacta diretamente na área foliar fotossinteticamente ativa, no crescimento e no rendimento de grãos (FAROOQ et al., 2009). Logo, o  $\text{KNO}_3$  contribuiu para manutenção do fenótipo *stay green* funcional, visto que, retardou a senescência, mantendo às plantas com uma maior área fotossinteticamente ativa após o estresse, em relação às plantas do tratamento DH. Deste modo, o aumento de 32,2% na biomassa seca de grãos nas plantas do tratamento DH +  $\text{KNO}_3$  em relação às plantas do tratamento DH, está diretamente ligado ao aumento da área foliar, visto que, aumenta a área de produção de fotoassimilados, os quais são altamente requeridos para sustentar o enchimento dos grãos (AVILA et al., 2016, 2017).

O aumento no crescimento das plantas do tratamento CC +  $\text{KNO}_3$  e no crescimento e rendimento de grãos nas plantas do tratamento DH +  $\text{KNO}_3$ , podem ser atribuídos ainda à melhoria no processo fotossintético promovido pelo  $\text{KNO}_3$ . Para tanto, no aparato fotoquímico, uma vez que aumentou os níveis de clorofila nas plantas sob irrigação normal os quais se manteve nas plantas sob estresse. Esse *feedback* positivo nos níveis de pigmentos fotossintéticos, principalmente durante a seca, pode ter contribuído para uma maior eficiência fotoquímica, uma vez que esses pigmentos são constituintes das antenas dos fotossistemas I e II, e portanto, são responsáveis pela absorção e transferência da energia solar para os fotossistemas (MIRKOVIC et al., 2017). Ademais, sabe-se que a transferência de energia contínua dos complexos antena para a fotoquímica é de suma importância para reduzir a perda de energia por vias não-fotoquímicas como a fluorescência, e ainda, evitar a oxidação e degradação de pigmentos fotossintéticos (KALAJI et al., 2016; MIRKOVIC et al., 2017).

A fluorescência da clorofila *a*, é um indicativo da integridade e eficiência do fotossistema II. Assim, uma menor fluorescência indica um menor nível de estresse e uma

maior eficiência fotoquímica, o que resulta em maior formação de produtos fotoquímicos, os quais são substratos para a fixação do carbono no ciclo de Calvin (KALAJI et al., 2016). À vista disso, nota-se que o  $\text{KNO}_3$  aumentou a eficiência fotoquímica nas plantas dos tratamentos CC +  $\text{KNO}_3$  e DH +  $\text{KNO}_3$  em relação às dos tratamentos CC e DH, respectivamente.

É importante notar que a via estomática contribuiu de forma significativa para a redução na taxa fotossintética de plantas estressadas, visto que, a redução da taxa fotossintética, foi correlacionada com a redução na condutância estomática, o que levou a uma redução nos níveis internos de carbono no mesofilo e na transpiração. Entretanto, nota-se que, o  $\text{KNO}_3$ , além de melhorar o processo fotoquímico, contribuiu também com os processos biofísicos foliares, que estão diretamente relacionados com a fotossíntese, uma vez que aumentou a transpiração e condutância estomática das plantas irrigadas e mitigou os efeitos em plantas estressadas.

A transpiração é um processo de grande importância para as plantas, visto que é responsável por eventos como o resfriamento foliar, propiciando às folhas a manutenção da abertura estomática ao longo do dia (MAUREL; VERDOUCQ; RODRIGUES, 2016). Paralelamente, uma maior condutância estomática pode favorecer a entrada do  $\text{CO}_2$  atmosférico para o mesofilo foliar, propiciando uma maior formação de compostos orgânicos, que posteriormente, serão transportados, descarboxilados e assimilados nas células da bainha durante o processo fotossintético (LAVINSKY et al., 2015).

Isso pode ser observado nesse trabalho, visto que plantas em CC exibiam maiores valores de condutância estomática, carbono interno e fotossíntese em relação a estressadas. Além disso, plantas do tratamento DH +  $\text{KNO}_3$  que apresentaram maior fotossíntese, exibiam também maior condutância estomática e níveis de carbono interno quando comparado àquelas do tratamento DH. Plantas tratadas com  $\text{KNO}_3$  em ambas as condições hídricas, tiveram ainda, maior eficiência de carboxilação, o que indica uma maior atividade da Rubisco (FAROOQ et al., 2009) em relação aos seus controles na mesma condição hídrica. Essa maior eficiência de carboxilação, explica os menores níveis de carbono interno nas plantas do tratamento CC +  $\text{KNO}_3$  em relação às do tratamento CC, a vista que a maior atividade da Rubisco intensifica o consumo de  $\text{CO}_2$ .

Em relação ao carbono interno, esse foi superior nas plantas tratadas com  $\text{KNO}_3$  na condição de DH quando comparado àquelas não tratadas. Isso pode ter ocorrido, pois essas plantas apresentaram uma condutância estomática 25% maior que aquelas não tratadas. Assim, plantas tratadas com  $\text{KNO}_3$  absorviam mais carbono, porém devido à redução na

eficiência de carboxilação que ocorreu devido à redução na eficiência do fotossistema II, o  $\text{CO}_2$  se acumulava. Para tanto, sugere-se que as melhorias nesses processos acoplados, pode ter favorecido a atividade do Ciclo de Calvin e promovido melhorias na fotossíntese das plantas tratadas com  $\text{KNO}_3$  em relação a seus controles dentro de cada nível de água no solo.

A maior fotossíntese e condutância estomática nas plantas dos tratamentos CC +  $\text{KNO}_3$  e DH +  $\text{KNO}_3$ , em relação a seus respectivos controles CC e DH, justifica a menor eficiência intrínseca no uso da água, pois esse parâmetro é baseado na razão da taxa fotossintética pela condutância. Logo, quanto maior a condutância estomática, menor será a eficiência intrínseca no uso da água. Esses dados corroboram com Gimeno et al. (2014), pois os autores observaram que plantas de citros submetidas ao estresse hídrico e tratadas com  $\text{KNO}_3$  apresentavam uma maior taxa fotossintética, condutância estomática e transpiração em relação aquelas não tratadas com  $\text{KNO}_3$ . No entanto, os autores não observaram aumento no sistema radicular e uso e eficiência da água. Logo, os autores atribuíram a maior taxa transpiratória e condutância estomática ao ajustamento osmótico, visto que as plantas tratadas com  $\text{KNO}_3$  aumentam significativamente os níveis de prolina e potássio nas folhas. De fato, nesse trabalho, plantas do tratamento DH +  $\text{KNO}_3$ , apresentaram os maiores níveis de potássio nas folhas entre todos os tratamentos. Assim, sugere-se que esse ajustamento osmótico pode ter favorecido a recuperação hídrica das plantas durante a noite e, portanto, contribuído com as trocas gasosas no dia posterior.

A suplementação foliar com  $\text{KNO}_3$  contribuiu ainda com a nutrição mineral das plantas, visto que, em condição de irrigação normal, plantas do tratamento CC +  $\text{KNO}_3$  apresentaram maiores níveis de P, Mg, S, Cu e Fe em relação as plantas em CC que não receberam a suplementação foliar com  $\text{KNO}_3$ . Além disso, em condições de déficit hídrico, as plantas tratadas com  $\text{KNO}_3$  exibiram maiores teores de N, P, K, Mg, S, Cu e Fe quando comparado àquelas não tratadas com  $\text{KNO}_3$ .

Diante disso, é importante ressaltar, que a absorção e transporte de minerais ocorrem por fluxo de massa através do xilema, a partir do fluxo transpiratório (GARG, 2003; MCWILLIAMS, 2003). Assim, esses maiores níveis de nutrientes apresentados pelas plantas tratadas com  $\text{KNO}_3$ , dentro de cada nível de água no solo, é resultado da maior transpiração que essas plantas apresentaram, uma vez que plantas do tratamento CC +  $\text{KNO}_3$  possuíam uma taxa transpiratória de 45,63% maior que àquelas do tratamento CC. Essa diferença é ainda maior em condições de estresse, pois plantas do tratamento DH +  $\text{KNO}_3$  apresentaram 60,61% a mais de transpiração em relação àquelas do tratamento DH. A comparação entre plantas irrigadas com estressadas contribui com essa afirmativa, pois quando se contrasta os

tratamentos CC com DH e CC + KNO<sub>3</sub> com DH + KNO<sub>3</sub>, nota-se que as plantas que estavam sob CC apresentaram maior taxa transpiratória, e, no geral, maiores teores de nutrientes em suas folhas.

Os maiores teores de nitrogênio nas plantas do tratamento DH + KNO<sub>3</sub> em relação ao tratamento DH, podem estar correlacionados com a manutenção nos teores de clorofilas e menor fluorescência observada nessas plantas, uma vez que o nitrogênio é um componente estrutural das clorofilas (PETERSON et al., 1993) e seu metabolismo é um processo de alto consumo energético. Assim, sugere-se que quando o ciclo de Calvin não é capaz de consumir toda energia gerada na fotoquímica, a atividade do metabolismo do nitrogênio poderia consumir parte dessa energia em excesso (CARELLI; FAHL; RAMALHO, 2006). Além disso, têm sido observado, que o metabolismo do nitrogênio pode estar associado à tolerância ao estresse hídrico no arroz, uma vez que contribui com a proteção do aparato fotossintético, através da ativação do sistema antioxidante e ajuste osmótico (ZHONG et al., 2017).

O aumento nos teores de clorofilas em plantas sob CC + KNO<sub>3</sub> e a manutenção nas plantas do tratamento DH + KNO<sub>3</sub>, está diretamente ligado aos teores de magnésio, uma vez que esse elemento constitui o núcleo central das clorofilas (RISSLER et al., 2002) e apresentou o mesmo padrão dos níveis dessa molécula. O magnésio pode ter contribuído ainda para maior eficiência de carboxilação das plantas dos tratamentos CC + KNO<sub>3</sub> e DH + KNO<sub>3</sub> em relação aos seus respectivos controles, pois o magnésio juntamente com o CO<sub>2</sub> formam o complexo de ativação da Rubisco (FAROOQ et al., 2009). O ferro é outro elemento que está intimamente ligado com a síntese de clorofilas, haja vista, que atua como um catalisador enzimático na rota de síntese dessas moléculas (CHEN; BARAK, 1982). Além disso, o ferro é um elemento fundamental na transferência de elétrons através das proteínas ferro-sulfurosas na respiração, fotoquímica e assimilação de nitrogênio (VIGANI; BRIAT, 2016). Melhorias no crescimento em altura das plantas tratadas com KNO<sub>3</sub> em CC e DH podem estar ligadas com o aumento e manutenção respectivamente, nos níveis de fósforo, visto que esse elemento é fundamental no metabolismo energético, e, portanto, para o crescimento e produção de grãos do vegetal, principalmente durante condições de estresse, onde a planta passa por um déficit energético (LIU et al., 2015).

O sistema radicular, apesar de não ter apresentado diferenças entre os tratamentos, foi importante para caracterizar as raízes pelas diferentes classes diamétricas. Para tanto, percebe-se a importância das raízes finas e muito finas, uma vez que essas foram as que apresentaram a maior área superficial e volume. Isso está diretamente relacionado com a capacidade de absorção de água e sais minerais, pois, raízes finas e muito finas, apresentam uma cinética de

absorção superior às grossas, pois raízes grossas geralmente já encontram-se em estádios de suberização avançados (LIU et al., 2010). A suberização para raízes grossas é um processo importante, visto que confere maior rigidez a essas raízes que, tem como principal função a sustentação do vegetal.

## 5 CONCLUSÕES

A suplementação foliar com  $\text{KNO}_3$ , em plantas irrigadas, promove incrementos no conteúdo de clorofilas, na taxa fotossintética, condutância estomática, transpiração e eficiência de carboxilação. Além disso, promove aumentos nos teores P, Mg, S, Cu e Fe e proporcionou maior crescimento em altura.

Na condição de seca, as plantas tratadas com  $\text{KNO}_3$  apresentaram maiores teores de clorofilas, maior taxa fotossintética, condutância estomática, transpiração, eficiência de carboxilação e maiores teores de P, K, Mg, S, Cu e Fe quando comparado àquelas não tratadas com  $\text{KNO}_3$ . Além disso, plantas tratadas com  $\text{KNO}_3$  nessa condição, apresentaram maior crescimento e tiveram o rendimento de grãos 32,2% maior que aquelas que não receberam  $\text{KNO}_3$ .

Portanto, os resultados obtidos nesse estudo, permite afirmar que o  $\text{KNO}_3$  induz tolerância à seca em plantas de sorgo submetidas ao estresse hídrico severo no pré-florescimento.

## REFERÊNCIAS

- ARAÚJO, S. A. C.; DEMINICIS, B. B. Fotoinibição da fotossíntese. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 7, n. 4, p. 463-472, out./dez. 2009.
- AVILA, R. G. et al. Drought changes yield and organic and mineral composition of grains of four maize genotypes. **Journal of Agricultural Research**, Lahore, v. 5, n. 9, p. 243-250, Sept. 2017.
- \_\_\_\_\_. Drought-tolerant maize genotypes invest in root system and maintain high harvest index during water stress. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 15, n. 3, p. 450-460, 2016.
- BORRELL, A. K. et al. Drought adaptation of stay-green sorghum is associated with canopy development, leaf anatomy, root growth, and water uptake. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 65, n. 21, p. 6251-6263, Nov. 2014.
- BURKE, J. J. et al. Leaf dhurrin content is a quantitative measure of the level of pre- and post flowering drought tolerance in sorghum. **Crop Science**, Madison, v. 53, n. 3, p. 1056-1065, May 2013.
- CARELLI, M. L. C.; FAHL, J. I.; RAMALHO, J. D. C. Aspects of nitrogen metabolism in coffee plants. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Londrina, v. 18, n. 1, p. 9-21, Jan./Mar. 2006.
- CHEN, Y.; BARAK, P. Iron nutrition of plants in calcareous soils. **Advances in Agronomy**, San Diego, v. 35, p. 217-240, 1982.
- FAROOQ, M. et al. Plant drought stress: effects, mechanisms and management. **Agronomy for Sustainable Development**, Paris, v. 29, n. 1, p. 185-212, Mar. 2009.
- FOLEY, J. A. et al. Solutions for a cultivated planet. **Nature**, London, v. 478, n. 7369, p. 337-342, Oct. 2011.
- FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS - FAOSTAT. **Food and Agriculture**. Washington: FAOSTAT, 2015. Disponível em: <<http://faostat3.fao.org/home/E>>. Acesso em: 10 maio 2018.
- GARG, B. K. Nutrient uptake and management under drought: nutrient-moisture interaction. **Current Agricultural**, New York, v. 27, n. 1/2, p. 1-8, Jan. 2003.
- GHANNOUM, O. et al. Non-stomatal limitations are responsible for drought-induced photosynthetic inhibition in four C4 grasses. **New Phytologist**, Cambridge, v. 159, n. 3, p. 835-844, Sept. 2003.
- GIMENO, V. et al. Foliar potassium nitrate application improves the tolerance of *Citrus macrophylla* L. seedlings to drought conditions. **Plant Physiology and Biochemistry**, New Delhi, v. 83, p. 308-315, Oct. 2014.

GROSSMAN, A.; TAKAHASHI, H. Macronutrient utilization by photosynthetic eukaryotes and the fabric of interactions. **Annual Review of Plant Biology**, Palo Alto, v. 52, p. 163-210, June 2001.

KALAJI, H. M. et al. Chlorophyll a fluorescence as a tool to monitor physiological status of plants under abiotic stress conditions. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 38, n. 4, p. 102, Apr. 2016.

KHAMMARI, I. et al. The effect of drought stress and nitrogen levels on antioxidant enzymes, proline and yield of Indian Senna (*Cassia angustifolia* L.). **Journal of Medicinal Plants Research**, Lagos, v. 11, p. 2125-2130, Mar. 2012.

LAVINSKY, A. O. et al. Analysis of maize photosynthesis parameters and whole plant oxidative damage under long-term drought. **Advances in Crop Science and Technology**, London, Suppl. 1, p. 1-6, May 2015.

LAWLOR, D. W.; CORNIC, G. Photosynthetic carbon assimilation and associated metabolism in relation to water deficits in higher plants. **Plant, Cell & Environment**, Hoboken, v. 25, n. 2, p. 275-294, 2002.

LEE, R. The outlook for population growth. **Science**, New York, v. 333, n. 6042, p. 569-573, July 2011.

LIU, C. et al. Effects of phosphorus application on photosynthetic carbon and nitrogen metabolism, water use efficiency and growth of dwarf bamboo (*Fargesia rufa*) subjected to water deficit. **Plant Physiology and Biochemistry**, New Delhi, v. 96, p. 20-28, Nov. 2015.

LIU, G. et al. Coordinated variation in leaf and root traits across multiple spatial scales in Chinese semi-arid and arid ecosystems. **New Phytologist**, Cambridge, v. 188, n. 2, p. 543-553, Oct. 2010.

MAGALHÃES, P. C.; SOUZA, T. C.; CANTÃO, F. R. O. Early evaluation of root morphology of maize genotypes under phosphorus deficiency. **Plant, Soil and Environment**, Oxford, v. 57, n. 3, p. 135-138, 2011.

MAUREL, C.; VERDOUCQ, L.; RODRIGUES, O. Aquaporins and plant transpiration. **Plant, Cell & Environment**, Hoboken, v. 39, n. 11, p. 2580-2587, Nov. 2016.

MCWILLIAMS, D. Drought strategies for cotton. Cooperative Extension Service. **Circular**, n. 582, New Mexico, 2003.

MIRKOVIC, T. et al. Light absorption and energy transfer in the antenna complexes of photosynthetic organisms. **Chemical Reviews**, Easton, v. 117, n. 2, p. 249-293, Jan. 2017.

NOCTOR, G.; MHAMDI, A.; FOYER, C. H. The roles of reactive oxygen metabolism in drought: not so cut and dried. **Plant Physiology**, Lancaster, v. 164, n. 4, p. 1636-1648, Apr. 2014.

PENNISI, E. How Sorghum withstands heat and drought. **Science**, New York, v. 323, n. 5914, p. 573, Jan. 2009.

- PETERSON, T. A. et al. **Using a chlorophyll meter to improve N management**. Nebraska: Institute of Agriculture and Natural Resources, 1993. 7 p.
- RISSLER, H. M. et al. Chlorophyll biosynthesis. Expression of a second chl I gene of magnesium chelatase in *Arabidopsis* supports only limited chlorophyll synthesis. **Plant Physiology**, Lancaster, v. 128, n. 2, p. 770-779, Feb. 2002.
- ROSENOW, D. T. et al. Breeding for pre- and post-flowering drought stress resistance in sorghum. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON GENETIC IMPROVEMENT OF SORGHUM AND MILLET, Lubbock, 1996. **Proceedings...** Lincoln: INSORMIL, 1996. p. 400-411.
- SAUD, S. et al. Effects of nitrogen supply on water stress and recovery mechanisms in Kentucky bluegrass plants. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v. 8, p. 983, June 2017.
- SILVA F. C. (Ed.). **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2009. 370 p.
- SOUZA, T. C. et al. Morphophysiology, morphoanatomy, and grain yield under field conditions for two maize hybrids with contrasting response to drought stress. **Acta Physiologiae Plantarum**, Copenhagen, v. 35, n. 11, p. 3201-3211, Nov. 2013.
- VIDAL, J. Climate change will hit poor countries hardest, study shows. **The Guardian**, Londres, Sept. 2013. Disponível em: <<https://www.theguardian.com/global-development/2013/sep/27/climate-change-poor-countries-ipcc>>. Acesso em: 10 maio 2018.
- VIEIRA, I. G. S. et al. Cultivation of cherry tomato under irrigation with saline water and nitrogen fertilization. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 20, n. 1, p. 55-61, Jan. 2016.
- VIGANI, G.; BRIAT, J.-F. Impairment of respiratory chain under nutrient deficiency in plants: does it play a role in the regulation of iron and sulfur responsive genes? **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v. 6, p. 1185, Jan. 2016.
- WHITE, P. J. The pathways of calcium movement to the xylem. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 52, n. 358, p. 891-899, May 2001.
- ZHONG, C. et al. Nitrogen metabolism in adaptation of photosynthesis to water stress in Rice Grown under different nitrogen levels. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v. 8, p. 1079, June 2017.

## ANEXO A – ANÁLISE DO SOLO E FERTILIZAÇÃO DAS PLANTAS

Quadro 1 - Resultado da análise química do solo.

VARIÁVEL	VALOR
pH H <sub>2</sub> O	5
H+Al cmolc/dm <sup>-3</sup>	10,77
Fósforo Mehlich 1 (mg dm <sup>-3</sup> )	134
Al cmolc dm <sup>-3</sup>	0,57
Ca cmolc dm <sup>-3</sup>	3,09
Mg cmolc dm <sup>-3</sup>	0,7
K mg dm <sup>-3</sup>	145,9
SB cmolc dm <sup>-3</sup>	4,163
CTC cmolc dm <sup>-3</sup>	14,933
V%	27,879
Sat. Al%	12,043
Cu mg dm <sup>-3</sup>	1,08
Fe mg dm <sup>-3</sup>	34,88
Mn mg dm <sup>-3</sup>	10,6
Zn mg dm <sup>-3</sup>	21,94
Si mg dm <sup>-3</sup>	9,5

**Calagem:**

Calcário dolomítico 1,5kg/1000kg de solo

**Adubação de base:**

8-28-16; 400kg ha<sup>-1</sup> / 200g para 1000kg de solo

**Adubação de cobertura:**

3g de ureia para 20kg de solo (vaso).

### CAPÍTULO 3

## A SUPLEMENTAÇÃO COM SILÍCIO INDUZ À TOLERÂNCIA À SECA EM PLANTAS DE SORGO AUMENTANDO O CRESCIMENTO DO SISTEMA RADICULAR E MELHORANDO A TAXA FOTOSSINTÉTICA

### RESUMO

O silício tem emergido como um agente potencial para induzir tolerância à seca em plantas, visto que além de ser um elemento estrutural, pode induzir respostas metabólicas que aumentam a tolerância a seca em diversas culturas. Deste modo, objetivou-se com esse trabalho, estudar os efeitos do silício sobre a arquitetura e morfometria do sistema radicular de plantas de sorgo cultivadas em dois níveis de água no solo, buscando elucidar se as melhorias fisiológicas promovidas pelo silício estão ligadas a modificações morfométricas do sistema radicular. Para tanto, cultivou-se em casa de vegetação o genótipo sensível à seca no pré-florescimento, BRS332. O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado com quatro tratamentos e seis repetições. Os tratamentos foram capacidade campo (CC), déficit hídrico (DH), capacidade de campo + silício (CC + Si) e déficit hídrico + silício (DH + Si). O fornecimento de silício se deu por fertirrigação a uma concentração de 2 mM aplicado via solo em um volume de 250 mL por dia, durante 17 dias (cinco dias antes de iniciar o estresse e mais 12 dias de estresse). Posteriormente avaliou-se o potencial hídrico foliar ao meio dia, as trocas gasosas, níveis de pigmentos fotossintéticos, expressão relativa de aquaporinas, morfometria do sistema radicular e produtividade. O tratamento com silício mitigou os efeitos da seca sobre o potencial foliar, fotossíntese, eficiência de carboxilação instantânea e na morfometria do sistema radicular das plantas de sorgo. Esses efeitos positivos contribuíram para um maior rendimento de grãos e, portanto, maior tolerância à seca. Esses efeitos positivos do silício ocorreram também nas plantas em capacidade de campo, demonstrando que o silício pode melhorar o desempenho produtivo na cultura do sorgo em condições de seca e capacidade de campo. O tratamento com silício não aumentou a expressão relativa das aquaporinas TIP 4 PIP1;6 e PIP1;3/1;4. No entanto, constatou-se nesse estudo que a aquaporina TIP 4 é mais responsiva a seca em plantas de sorgo do que as aquaporinas PIP1;6 e PIP1;3/1;4. Diante disso conclui que a suplementação com Si aumenta a tolerância a seca de plantas de sorgo por aumentar o crescimento do sistema radicular e mitigar os efeitos da seca sobre a fotossíntese.

**Palavras-chave:** Aquaporinas. Trocas gasosas. Pigmentos fotossintéticos. Nutrição.

## ABSTRACT

Silicon has emerged as a potential drought tolerance inducing agent in plants, since, besides a structural element, it can induce metabolic responses which increase drought tolerance in several crops. Thus, the purpose of this study was to observe the effects of silicon on the root system architecture and morphometry of sorghum plants grown in two soil water levels, in search to show if physiological improvements promoted by silicon are connected to root system morphometric changes. For this purpose, the drought sensitive genotype BRS332 was grown in a greenhouse during pre-flowering stage. It was used the completely randomized design with four treatments and six replicates. The treatments were field capacity (FC), water deficit (WD), field capacity + silicon (FC + Si) and water deficit + silicon (WD + Si). Silicon was provided through fertigation in a concentration of 2mM applied to the soil in a volume of 250mL per day, for 17 days (5 days before stress and 12 days of stress). Posteriorly, leaf hydric potential was assessed at midday, gas exchange, photosynthetic pigments levels, aquaporins relative expressions, root system morphometry and yield. The silicon treatment mitigated the drought effects over the leaf hydric potential, photosynthesis, instant carboxylation efficiency and root system morphometry of sorghum plants. These positive effects contributed for a higher grain yield and, therefore, higher drought tolerance. These positive silicon effects also occurred in plants in field capacity, showing silicon can improve yield performance in sorghum plants either in drought or field capacity conditions. Silicon treatment did not increase the relative expression of the aquaporins *TIP 4*, *PIP1;6* and *PIP1;3/1;4*. However, it was found in this study that the aquaporin *TIP 4* is more responsive to drought in sorghum plants than the aquaporins *PIP1;6* and *PIP 1;3/1;4*. At that, it is concluded that the supplementation with Si increases drought tolerance in sorghum plants by increasing root system growth and by mitigating the effects of drought over photosynthesis.

**Key words:** Aquaporins. Gas exchanges. Photosynthetic pigments. Nutrition.

## 1 INTRODUÇÃO

As plantas, como organismos sésseis estão sujeitas a diversos fatores ambientais estressantes, os quais comprometem seu crescimento e produção significativamente. No entanto, essas alterações no crescimento são altamente dependentes do tipo de estresse, duração, intensidade, estágio fenológico e espécie (MAGALHÃES; DURÃES, 2008). Na cultura do milho, por exemplo, o estresse causado pela seca, quando ocorre no pré-florescimento, com alta intensidade e duração média de 12 dias, pode reduzir a produção de grãos em até 60% (AVILA et al., 2017). Isso é de grande preocupação, pois estima-se que a agricultura terá que aumentar a produção de cereais de aproximadamente 2,1 bilhões de toneladas, atualmente, para 3 bilhões em 2050. Tudo isso, para garantir a segurança alimentar dos cerca de 9,6 bilhões de habitantes que haverá no globo (FAOSTAT, 2015; LEE, 2011).

Diante disso, haverá cada vez mais a necessidade de utilizar culturas adaptadas à seca visando garantir uma produção estável frente ao cenário de mudanças climáticas, os quais têm aumentado à frequência e a intensidade dos eventos de seca (PENNISI, 2009). Assim sendo, o sorgo surge como uma alternativa de cultura produtora de grãos amiláceos, com alto potencial para substituir o milho, uma vez que apresenta tolerância superior à seca e, portanto, maior estabilidade na sua produção em regiões propícias a escassez hídrica (BONFIM-SILVA et al., 2011).

A seca se caracteriza pelo déficit de água no solo e alto déficit de pressão de vapor na atmosfera (DAI, 2011). Logo, a planta tem uma disfunção hidráulica, uma vez que passa a perder água em uma velocidade maior do que suas raízes podem absorver (STANTON; MICKELBART, 2014). Assim, como primeira resposta à sinalização hídrica na folha, a planta, através de mudanças na pressão de turgor e potencial osmótico, reduz a condutância estomática (NIKINMAA et al., 2013). Essa resposta é de suma importância, uma vez que reduz a transpiração e conseqüentemente, a perda de água dos tecidos para atmosfera (FAROOQ et al., 2009). Entretanto, com a redução na condutância estomática, ocorre restrição na entrada de CO<sub>2</sub> para o mesófilo foliar, comprometendo dentre outros, a atividade fotossintética, inicialmente por limitação estomática (LAVISNKY et al., 2015). A medida que o estresse torna-se mais duradouro e intenso, a inibição na fotossíntese ocorre por falhas bioquímicas, muitas vezes provocadas por danos oxidativos (NOCTOR; MHAMDI; FOYER, 2014).

É válido ressaltar ainda, que além de reduzir a assimilação de carbono, a seca diminui a área de produção de fotoassimilados, visto que reduz a área foliar total através da aceleração

da senescência das folhas maduras e comprometimento no crescimento e expansão de folhas novas (BORREL et al., 2014). Esse processo representa a plasticidade da planta em resposta à seca, uma vez que reduz a área de transpiração, propiciando à planta um melhor gerenciamento hídrico (BORREL; HAMMER; HENZELL, 2000). Em contrapartida, essas modificações morfofisiológicas impactam diretamente a produção de grãos, principalmente quando ocorre no pré-florescimento, pois reduz o fluxo de fotoassimilados para a formação da panícula e enchimento de grãos (MAGALHÃES et al., 2016).

A down-regulation na taxa transpiratória e fotossintética induzidas pela seca, influencia negativamente a qualidade nutricional das plantas, isso porque a absorção e transporte de nutrientes ocorrem por fluxo de massa em um processo altamente dependente da transpiração (WHITE, 2001). Além disso, muito dos canais de transporte de macro e micronutrientes são dependentes de energia, e portanto, necessitam da fotossíntese para manutenção da homeostase na carga energética celular (GROSSMAN; TAKAHASHI, 2001). Essa disfunção nutricional é um dos motivos, por exemplo, da senescência acelerada das folhas, visto que reduz a absorção de nitrogênio, magnésio e ferro, elementos de suma importância para a síntese e estrutura de clorofilas (CHEN; BARAK, 1982; PETERSON et al., 1993; RISSLER et al., 2002).

A seca induz ainda alterações na morfometria e arquitetura do sistema radicular (FAROOQ et al., 2009). Para tanto, têm sido verificado que quando essas alterações ocorrem de forma a reduzir à área de raízes próximas a superfície do solo, e aumentam o crescimento em comprimento, a planta exibe maior tolerância à seca (BROEDEL et al., 2017). Isso é válido, visto que as camadas superficiais do solo sofrem maior evaporação, e portanto, secam com maior intensidade (BROEDEL et al., 2017). Logo, o investimento de carbono no crescimento de raízes profundas garante melhorias na eficiência de captura de água, contribuindo para uma maior eficiência hídrica e conseqüentemente, melhor distribuição de água nos tecidos da parte aérea (LASVINSKY et al., 2016; ZHAN; SCHNEIDER; LYNCH, 2015). Esse processo contribui para manutenção do potencial hídrico foliar, o qual influencia diretamente a taxa fotossintética, transpiração, a absorção de nutrientes, manutenção do “stay green”, crescimento e produção do vegetal (FAROOQ et al., 2009).

Tem sido verificado que o silício atua como antagonista aos efeitos da seca, proporcionando melhorias na condutividade hidráulica, manutenção de maiores taxas transpiratórias e fotossintéticas, aumentos no pool de aquaporinas, e manutenção dos níveis de pigmentos fotossintéticos (CAO et al., 2013; CHEN et al., 2011; DETMANN et al., 2012; LIU et al., 2014; SAUD et al., 2014; SHEN et al., 2010). Desse modo, é possível que o silício

possa atuar sobre o crescimento e arquitetura do sistema radicular, haja vista que muitas das melhorias propiciadas pelo silício durante a seca estão ligadas ao *status* hídrico da planta, o qual é altamente dependente de um sistema radicular plástico e a eficiência na captura de água do solo. No entanto, trabalhos que estudam os efeitos do silício sobre a arquitetura do sistema radicular são escassos. Deste modo, objetivou-se com esse trabalho, estudar os efeitos do silício sobre as trocas gasosas, stay green e morfometria e conteúdo de aquaporinas do sistema radicular de plantas de sorgo cultivadas em dois níveis de água no solo, buscando entender seus efeitos de forma sistemática.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Condições de cultivo, material vegetal e desenho experimental

O experimento foi conduzido em de casa de vegetação na Embrapa Milho e Sorgo (19°28' S, 44°15'08'' W, 732 m de altitude) cujo material vegetal utilizado foi a cultivar sensível à seca no pre-florescimento, BRS3 32. O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado com quatro tratamentos e seis repetições. Os tratamentos foram capacidade campo (CC), déficit hídrico (DH), capacidade de campo + silício (CC +Si) e déficit hídrico + silício (DH + Si). Os tratamentos CC e CC + Si tiveram a tensão de água no solo mantida próximo de -18 KPa durante todo o ciclo, já os tratamentos DH e DH + Si quando as plantas atingiram o pré-florescimento, tiveram sua tensão de água no solo reduzida para -138 KPa que corresponde a aplicação de 50% da água disponível, e foi mantida nesse nível por um período de doze dias (SOUZA et al., 2013). O fornecimento de silício se deu por fertirrigação a partir do produto comercial Silício Foliar®, que possui na sua composição 12% de silício. A partir das informações do fabricante foi preparado uma solução de 2 mM de silício, e essa foi aplicado via solo em um volume de 250 mL por dia, durante 17 dias (cinco dias antes de iniciar o estresse e mais 12 dias de estresse).

As plantas foram cultivadas em vasos plásticos com 20kg de solo do tipo Latossolo Vermelho Distrófico Típico. O teor de água no solo foi monitorado diariamente entre 9h e 15h, com auxílio de sensores de umidade modelo GB Reader N1535 (Measurement Engineering, Austrália), instalados no centro de cada vaso, com auxílio de um trado de rosca, a uma profundidade de 20 cm. Esses sensores detectam a tensão de água no solo, com base na resistência elétrica, e são acoplados a medidores digitais. A reposição hídrica através de irrigação foi realizada com base nas leituras obtidas com o sensor e a água repostada, até a capacidade de campo durante o período que antecedeu a imposição dos tratamentos. Os cálculos de reposição de água foram realizados com o auxílio de uma planilha eletrônica, feita em função da curva de retenção de água do solo. A correção, adubação de base e de cobertura foram realizadas com base em análises químicas do solo (ANEXO A, CAPÍTULO 2) e de acordo com a demanda da cultura.

## 2.2 Análises fisiológicas e morfológicas

Após os doze dias de estresse foram avaliadas às trocas gasosas foliares, com um analisador de gases infravermelho (IRGA – Infrared Gas Analyzer), modelo LI 6400 (LI-COR, Lincoln, NE, EUA), equipado com um fluorômetro (LI-6400-40, LI-COR Inc.) As medições foram realizadas entre 09:00 e 11:00 h, sob radiação fotossinteticamente ativa artificial (RFA) de  $1500 \mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  em n\u00edvel da folha, com 21% de  $\text{O}_2$  e  $400 \mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1} \text{ ar}$ .

O potencial h\u00eddrico foliar foi determinado utilizando uma bomba de press\u00e3o tipo Scholander ao meio-dia ( $\Psi_{\text{md}}$ ). Todas as an\u00e1lises biof\u00edsicas foram realizadas na primeira folha abaixo da folha bandeira. A porcentagem de macro (N, P, K, Mg, Ca e S) e micronutrientes (Zn, Fe, Mn e Cu) e Si nas folhas foram determinadas conforme metodologia descrita por Silva (2009).

Para determina\u00e7\u00e3o dos teores de pigmentos fotossint\u00e9ticos (clorofila a b e carotenoides) coletou-se o ter\u00e7o m\u00e9dio da primeira folha abaixo da folha bandeira em papel alum\u00ednio e gelo. Na sequ\u00eancia, 0,1 g de tecido foliar foi fragmentado em partes de aproximadamente 3 mm e imersos em 20 ml de acetona 80% (v/v) durante 24 horas a  $-4 \text{ }^\circ\text{C}$ , em ambiente protegido de luz. Ap\u00f3s esse per\u00edodo foi feito a determina\u00e7\u00e3o de acordo com (LINCHTENTHANLER; BUSCHMANN, 2001).

Para express\u00e3o relativa dos genes *PIP1;6*, *PIP1;3/1;4* e *TIP4;2* fragmentos de 10cm a partir da coifa foram retirados do sistema radicular, lavados em \u00e1gua destilada e armazenados em nitrog\u00eanio l\u00edquido. Posteriormente, 200mg de tecido de cada repeti\u00e7\u00e3o foram retirados e homogeneizados em almofariz com nitrog\u00eanio l\u00edquido. Desse macerado foi retirada uma amostra de 100mg de material e procedeu-se a extra\u00e7\u00e3o do RNA utilizando o kit high capacity<sup>®</sup> conforme orienta\u00e7\u00e3o do fabricante.

Seguinte a extra\u00e7\u00e3o, foi realizado os teste de integridade do RNA em eletroforese utilizando o gel de agarose a 2% (m/v) em cubeta Bio-RAD. A rea\u00e7\u00e3o foi realizada utilizando 5 $\mu\text{l}$  de \u00e1gua, 2 $\mu\text{l}$  de azul de bromofenol, 1 $\mu\text{l}$  de gel red e 2  $\mu\text{l}$  da amostra contendo o RNA. Para corrida utilizou-se uma voltagem de 110 volts por 15 minutos. Paralelamente foi determinada a pureza e a concentra\u00e7\u00e3o do RNA na amostra utilizando uma al\u00edquota de 2 $\mu\text{l}$ . A quantifica\u00e7\u00e3o da express\u00e3o relativa dos genes foi feita em PCR conforme Lana et al. (2009). A amplifica\u00e7\u00e3o do gene *PIP1;6*, foi feita utilizando o prime F-5'-TGACGGTGCTGACGGTGAT-3' R-5'-GGAGGAGCCCGAAGGTGAC-3' do gene *PIP1;3/1;4* F-5'-AATCGGGTTCGCGGTGTT-3' R-5'-CCAGGCATGGTTCTGGTTGTA-

3' e do gene *TIP4;2* F-5'-GCCGGGTTTCATCTACGAGTCT-3' R-5'-CTGACTGCCCTGCCACA-3'. O gene *Atcin1* foi utilizado como gene de referência e sua amplificação foi feita utilizando a sequência prime: F-5'-TGTTCCCTGGGATTGCTG-3' R-5'GCCGGACTCATCGTACTCA3' (LIU et al., 2015).

As medidas de área foliar foram realizadas com o auxílio de um medidor de área foliar (Li-Cor Inc.) Com sistema informatizado WinRhizo (WinRhizo Pro, Regent Inc. Instr., Canada) foram realizadas as avaliações morfométricas do sistema radicular, onde mensurou-se o volume e área superficial das raízes por classes de diâmetro, como descrito a seguir: raízes muito finas ( $\emptyset$  inferior a 0,5 mm), raízes finas ( $> 0,5 \emptyset < 2,0$  mm) e raízes grossas ( $\emptyset > 2,0$  mm) (MAGALHÃES; SOUZA; CANTÃO, 2011). O comprimento do sistema radicular foi aferido com o auxílio de uma régua graduada.

### **2.3 Análises agronômicas e índice de tolerância**

No final do ciclo da cultura foi aferida a altura das plantas com uma régua graduada. Posteriormente, as plantas foram particionadas em órgãos vegetativos e reprodutivos. Subsequentemente, foram feitas as medidas de comprimento das panículas com uma régua graduada e posteriormente foram submetidas à secagem em estufa com circulação forçada de ar, a 70°C, durante 72 h com as partes vegetativas. Na sequência, com auxílio de uma balança analítica digital, obteve-se a biomassa seca da panícula, dos grãos e vegetativa (folhas, colmo e raízes). Com base no peso seco total de grãos e total da planta foi determinado o índice de colheita (DURÃES; MAGALHÃES; OLIVEIRA, 2002). Para expressar a tolerância induzida pelo Si foi calculado o índice de tolerância. Assim sendo, o peso da biomassa seca de grãos das plantas na condição de déficit hídrico foram divididos pelo peso das plantas em capacidade de campo (SOUZA et al., 2013).

### **2.4 Análises estatísticas**

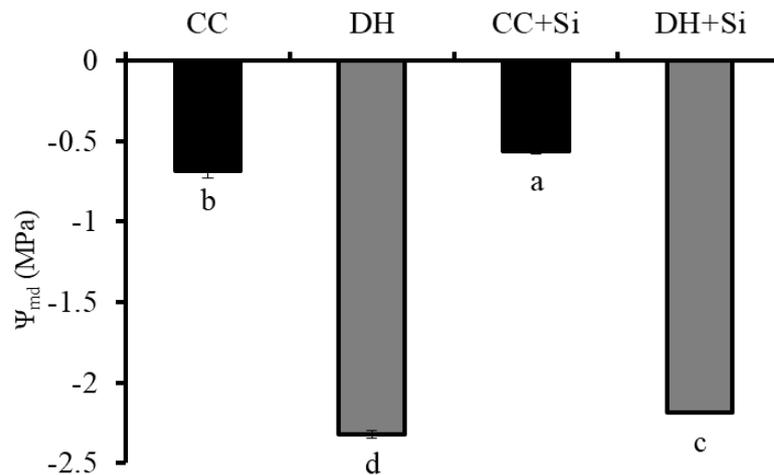
Após obtenção dos dados, aplicaram-se testes estatísticos preliminares para adequação, ou não, dos resultados a análise da variância (ANOVA) utilizando o programa estatístico SISVAR. O teste de Scott-Knott a 0,05% ( $p < 0,05^{**}$ ) de significância, foi utilizado para testar todo e qualquer contraste entre os tratamentos.

### 3 RESULTADOS

#### 3.1 Potencial hídrico foliar

O estresse hídrico severo no pré-florescimento reduziu o potencial hídrico das plantas, independente do tratamento (FIGURA 1). Sob irrigação, as plantas tratadas com silício apresentaram maior potencial hídrico foliar em relação às não tratadas. Esse mesmo comportamento foi observado para a condição de déficit hídrico.

Figura 1 - Potencial hídrico foliar ao meio dia em plantas de sorgo submetidas a diferentes regimes de água, tratadas ou não-tratadas com Si (CC – capacidade de campo; DH – déficit hídrico; CC + Si – tratadas com Si e sob capacidade de campo; DH + Si – tratadas com Si e sob déficit hídrico).



As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade. As barras representam o erro padrão da média de seis repetições.

Fonte: Do autor (2018).

#### 3.2 Pigmentos fotossintéticos

O déficit hídrico afetou de forma significativa os níveis de pigmentos fotossintéticos (TABELA 1). Assim sendo, verificou-se que, o conteúdo de clorofila a e total, foram reduzidos em todos os tratamentos sob déficit hídrico, em relação aos seus controles em capacidade de campo. Efeitos do silício também foram observados, uma vez que as plantas em capacidade de campo e tratadas com silício apresentaram um maior teor de clorofila a e total em relação às não tratadas. Na condição de seca não houve diferenças entre os tratamentos para os teores de clorofila a. Ainda nesse contexto, o conteúdo de clorofila b foi

reduzido com a seca, não sofrendo no entanto os efeitos do tratamento com silício. Divergentemente, os níveis de carotenóides sofreram a ação de ambos os fatores. Para tanto, observou-se uma redução nos seus teores em todos os tratamentos sob déficit hídrico em relação aos seus controles irrigados. Além disso, sob déficit hídrico, as plantas tratadas com silício exibiram níveis de carotenóides superiores aos das plantas que não receberam o tratamento com silício.

Tabela 1 - Conteúdo de clorofila a ( $\mu\text{g g}^{-1}$  MF), clorofila b ( $\mu\text{g g}^{-1}$  MF), clorofila total ( $\mu\text{g g}^{-1}$  MF) e carotenoides ( $\mu\text{g g}^{-1}$  MF) em folhas de plantas de sorgo submetidas ao estresse hídrico e fertilizadas com silício no pré-florecimento.

	CC	DH	CC+Si	DH+Si
Clorofila <i>a</i>	1377.08 b	678.56 c	1555.23 a	721.96 c
Clorofila <i>b</i>	480.26 a	244,87 b	469.37 a	262.63 b
Clorofila total	1857.34 b	923.48 c	2024.60a	984.60 c
Carotenoids	718.52 a	476.83 c	734.25 a	517.71 b

Fonte: Do autor (2018).

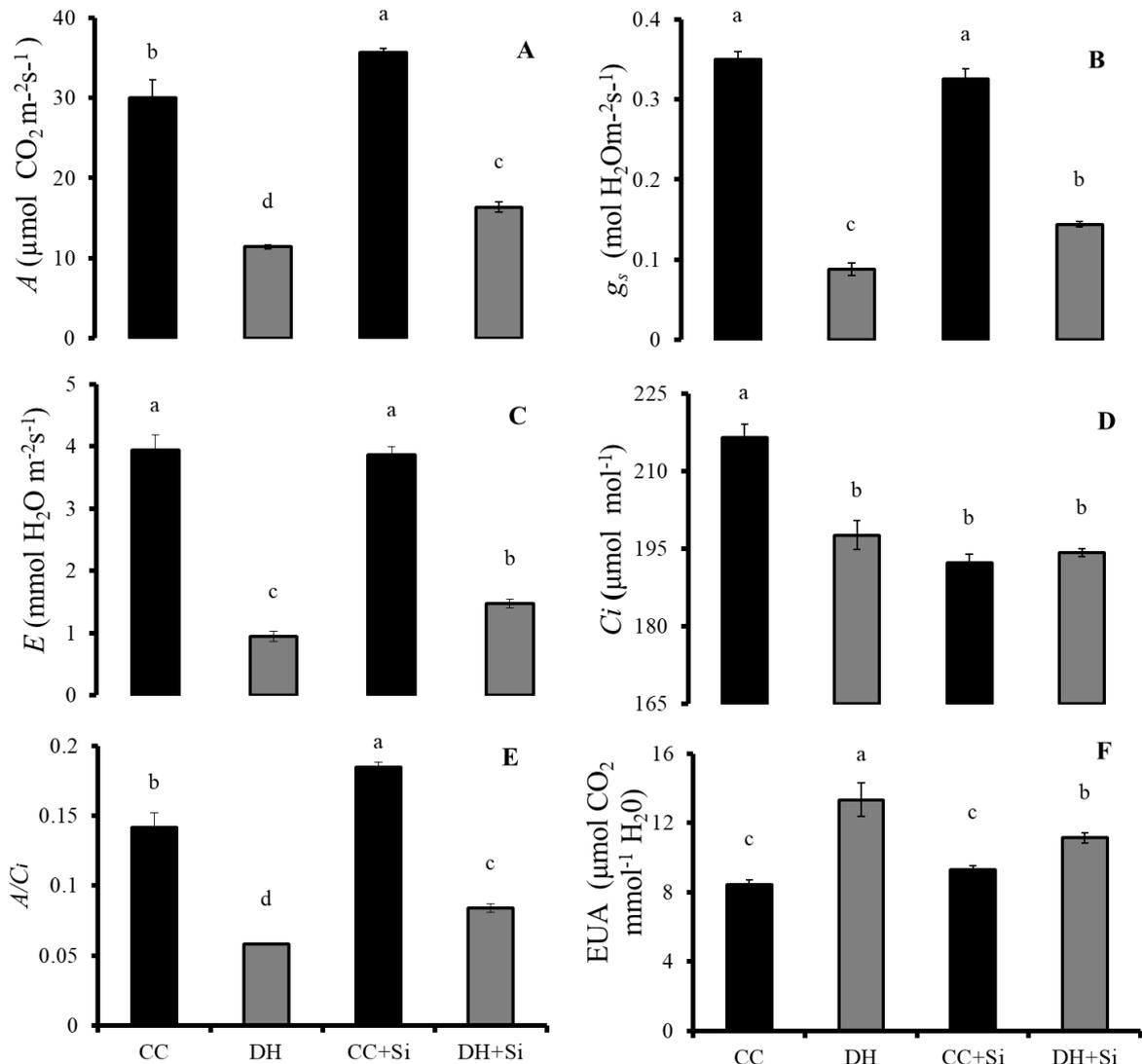
Legenda: CC: Capacidade de campo. DH: déficit hídrico.

As médias seguidas pela mesma letra na linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.

### 3.3 Trocas gasosas

A seca reduziu a taxa fotossintética e a eficiência de carboxilação das plantas de sorgo, tratadas ou não com silício. No entanto, as plantas tratadas com silício, apresentaram maior taxa fotossintética e eficiência de carboxilação do que seus respectivos controles, dentro de cada condição hídrica. A condutância estomática e transpiração também foram reduzidas pela seca, entretanto, não sofreram influência do silício na condição de irrigação normal. Sob déficit hídrico, o silício contribuiu para uma maior condutância estomática e transpiração. O Carbono interno foi maior nas plantas sob irrigação normal sem silício, em relação aos demais tratamentos, que não diferiram entre si. Todas as plantas sob déficit hídrico aumentaram a eficiência do uso da água, em relação aos seus controles, sob capacidade de campo. Ademais, na condição de déficit hídrico, as plantas não tratadas com silício exibiram maior uso e eficiência da água, do que àquelas que receberam silício. Em capacidade de campo não houve diferenças significativas para essa variável.

Figura 2 - A = taxa fotossintética ( $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) - A;  $g_s$  = condutância estomática ( $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) - B;  $E$  = taxa transpiratória ( $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) - C;  $C_i$  = carbono interno - D;  $A/C_i$  = eficiência de carboxilação estantânea - E; EUA = eficiência no uso da água ( $\text{mol CO}_2 \text{ mmol}^{-1} \text{ H}_2\text{O}$ ) - F, em plantas de sorgo submetidas ao estresse hídrico e fertilizadas com silício no pré-florescimento. (CC – capacidade de campo; DH – déficit hídrico; CC + Si – tratadas com Si em capacidade de campo; DH + Si – tratadas com Si e sob déficit hídrico).



Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si estatisticamente pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. As barras representam o erro padrão da média de seis repetições.

Fonte: Do autor (2018).

### 3.4 Macro e micro nutrientes

A seca reduziu significativamente os níveis de macro e micro nutrientes nas folhas. Para tanto, verificou-se uma redução nos teores de nitrogênio, fósforo, cálcio, magnésio e cobre em todas as folhas (TABELA 2) das plantas submetidas ao estresse hídrico, independente da fertilização com silício. Em divergência, o teor de potássio não sofreu

influência da seca e/ou da fertilização com silício, e, portanto, sua concentração nos tecidos foliares foi semelhante entre os tratamentos. O enxofre foi maior nas plantas irrigadas sem a presença de silício, e não apresentou diferenças significativas entre os demais tratamentos. Ademais, verificou-se que o zinco sofreu influência da seca e da fertilização com silício, visto que, seus teores foram superiores nas plantas em capacidade de campo e que, nessa condição hídrica, as plantas tratadas com silício exibiram maiores níveis desse nutriente. Sob déficit hídrico, os teores de zinco não diferiram entre os tratamentos. O ferro sofreu redução apenas nas plantas em capacidade de campo tratadas com silício, não havendo diferenças entre os demais tratamentos. O manganês reduziu com a seca e não diferiu entre o mesmo tratamento com o mesmo nível de água no solo. O silício foi maior nas plantas que receberam sua suplementação e não sofreu alterações significativas com a seca.

Tabela 2 - Macro e micronutrientes em folhas de plantas de sorgo submetidas ao déficit hídrico e fertilizadas com silício no pré-florescimento.

	CC	DH	CC+Si	DH+Si
N (%)	3,70 a	3.54 b	3,87 a	3.55 b
P (g/Kg)	3.85 a	3.06 b	3.93 a	2.82 b
K (g/Kg)	13.7 a	12.83 a	13.64 a	13.09 a
Ca (g/Kg)	7.53 a	6.60 b	7.16 a	6.13 b
Mg (g/Kg)	4.40 a	3.77 b	4.27 a	3.57 b
S (g/Kg)	3.77 a	1.99 b	2.60 b	1.99 b
Zn (mg/Kg)	64.03 b	51.15 c	76.47 a	52.15 c
Cu (mg/Kg)	8.35 a	6.05 b	8.28 a	5.81 b
Fe (mg/Kg)	212.06 a	222.45 a	155.90 b	194.01 a
Mn (mg/Kg)	127.34 b	159.14 a	136.08 b	160.70 a
Si (mg/Kg)	299,00 b	271,00 b	417,70 a	382,50 a

Fonte: Do autor (2018).

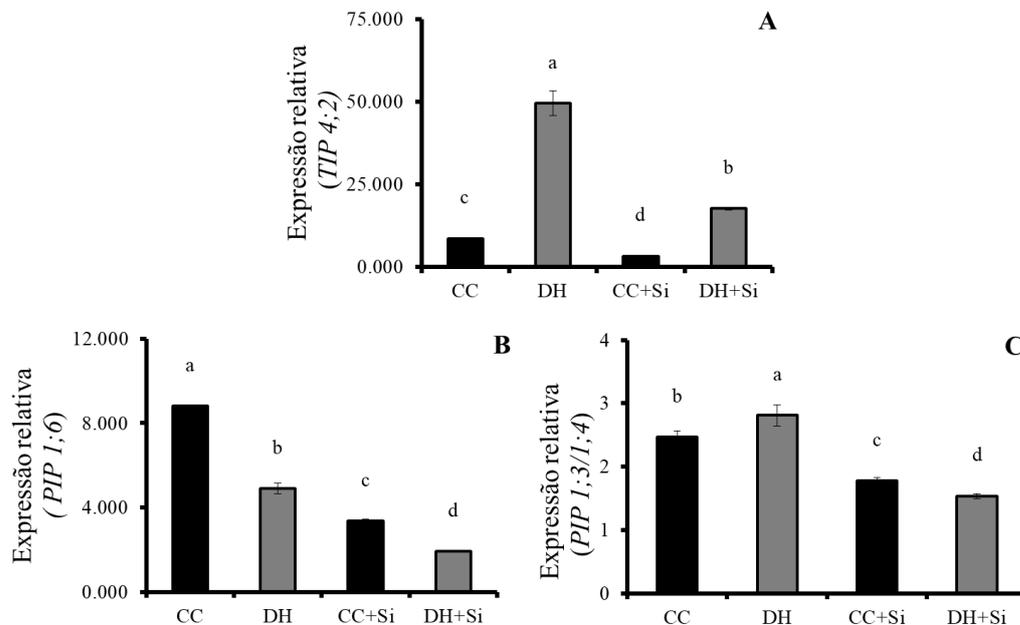
Legenda: CC: Capacidade de campo. DH: déficit hídrico. As médias seguidas pela mesma letra na linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade

### 3.5 Aquaporinas

A seca aumentou a expressão relativa do gene *TIP 4;2* (FIGURA 3-A), que codifica para uma aquaporina de tonoplasto, opondo-se aos tratamentos em capacidade de campo. Entretanto, o tratamento com silício, em ambas as condições hídricas, reduziu sua expressão relativa. O gene *PIP 1;6* (FIGURA 3-B), pertencente a uma família de aquaporinas de

membranas, teve sua expressão relativa reduzida tanto pela seca quanto pelo tratamento com silício. Para tanto, observou-se que todas as plantas sob estresse hídrico apresentaram sua expressão relativa reduzida em relação aos seus controles, em capacidade de campo. Além disso, as plantas tratadas com silício nas duas condições hídricas apresentaram menores valores de expressão relativa quando comparadas com seus tratamentos controles que não receberam silício. O gene *PIP 1;3/1;4* (FIGURA 3-C), teve sua expressão relativa aumentada nas plantas estressadas e não tratadas com silício, em relação ao seu controle irrigado. Divergentemente, as plantas estressadas e tratadas com silício apresentaram uma menor expressão relativa quando comparadas com as plantas em capacidade de campo e tratadas com silício. Ressalta-se ainda que, independente da condição hídrica, as plantas tratadas com silício exibiram menor expressão relativa do gene *PIP 1;3/1;4* do que aquelas não tratadas com silício.

Figura 3 - Expressão relativa dos genes de aquaporinas: TIP 4;2 –A.; *PIP 1;6*–B e *PIP 1;3/1;4*–C em raízes de plantas de sorgo submetidas ao déficit hídrico e fertilizadas com silício no pré-florescimento. (CC – capacidade de campo; DH – déficit hídrico; CC + Si – tratadas com Si e sob capacidade de campo; DH + Si – tratadas com Si e sob déficit hídrico).



Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si estatisticamente pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. As barras representam o erro padrão da média de seis repetições.

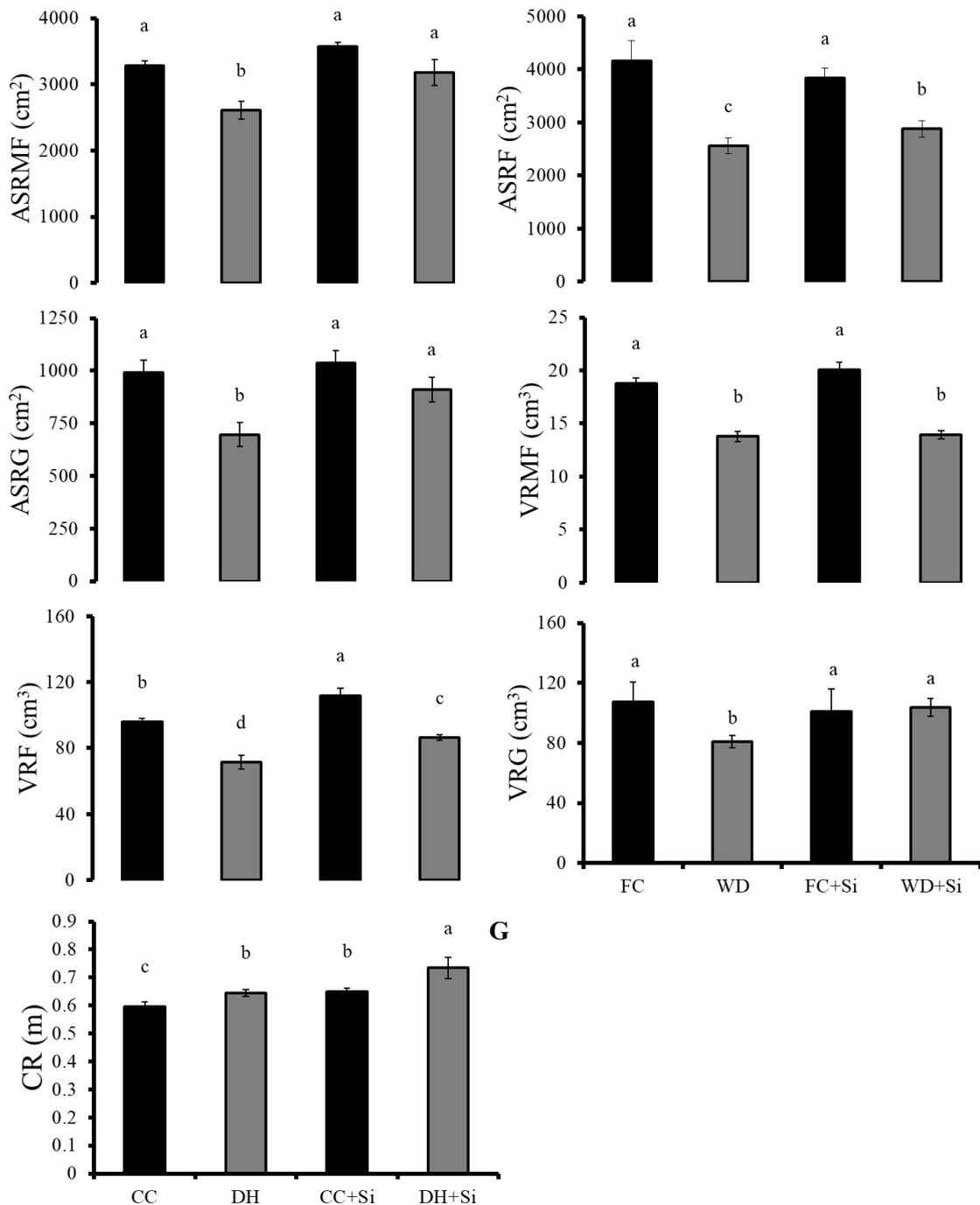
Fonte: Do autor (2018).

### 3.6 Morfometria de raízes

A área superficial de raízes muito finas (FIGURA 4-A) foi reduzida com a seca nas plantas estressadas que não receberam o tratamento com silício. Para tanto, notou-se que o silício contribuiu para a manutenção da área superficial de raízes muito finas durante a seca, uma vez que as plantas estressadas e tratadas com silício mantiveram o valor dessa variável semelhante ao apresentado pelas plantas irrigadas. A área de raízes finas (FIGURA 4-B) reduziu em todas as plantas sob seca independente do tratamento. Em contra partida, plantas tratadas com silício exibiram uma maior área superficial de raízes finas quando comparadas àquelas estressadas e não tratadas com silício. A área superficial de raízes grossas (FIGURA 4-C) apresentou o mesmo comportamento que a área superficial de raízes muito finas, reduzindo apenas nas plantas em déficit hídrico e não tratadas com silício.

O volume de raízes muito finas (FIGURA 4-D), foi menor nas plantas estressadas em relação à capacidade de campo, e, dentro de cada nível de água no solo, não houve diferenças significativas entre os tratamentos. Em relação ao volume de raízes finas (FIGURA 4-E), verificou-se influência do silício bem como da seca, visto que, houve uma redução com a seca nos valores dessa variável em plantas tratadas ou não com silício, e, dentro de cada nível de água no solo, plantas que receberam a fertilização com silício, exibiram maiores volumes de raízes finas quando comparadas aos seus controles. O volume de raízes grossas (FIGURA 4-F), foi inferior em plantas estressadas e não tratadas com silício, em relação aos demais tratamentos que não diferiram entre si. Plantas submetidas ao estresse hídrico aumentaram o comprimento de raízes (FIGURA 4-G) quando comparado às plantas sob irrigação independente do silício. No entanto, as plantas tratadas com silício, exibiram comprimento de raiz maior do que aquelas não tratadas com silício em ambas às condições hídricas. Ademais, as plantas tratadas com silício sob irrigação, exibiram os comprimentos de suas raízes semelhantes ao daquelas sob déficit hídrico e não tratadas com silício.

Figura 4 - Área superficial de raízes muito finas (ASRMF)  $\text{cm}^2$ - A, área superficial de raízes finas (ASRF)  $\text{cm}^2$  - B, área superficial de raízes grossas (ASRG)  $\text{cm}^2$  -C, volume de raízes muito finas (VRMF)  $\text{cm}^3$  -D, volume de raízes finas (VRF)  $\text{cm}^3$ - E, volume de raízes grossas (VRG)  $\text{cm}^3$  -F, e comprimento de raiz (m)- G de plantas de sorgo submetidas ao estresse hídrico e fertilizadas com silício no pré-florescimento. (CC – capacidade de campo; DH – déficit hídrico; CC + Si – tratadas com Si e sob capacidade de campo; DH + Si – tratadas com Si e sob déficit hídrico).



Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si estatisticamente pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. As barras representam o erro padrão da média de seis repetições.

Fonte: Do autor (2018).

### 3.7 Crescimento e rendimento

A seca afetou significativamente os parâmetros de crescimento e rendimento das plantas de sorgo, entretanto, a fertilização com silício além de atenuar os efeitos da seca, promoveu melhorias em plantas sob irrigação (TABELA 3). Para tanto, observou-se uma redução no crescimento em altura em todas os tratamentos sob déficit hídrico em relação aos seus controles em capacidade de campo. Porém, é importante notar, que, as plantas estressadas e fertilizadas com silício, possuíam a mesma altura que aquelas irrigadas e não tratadas com silício. Além disso, verificou-se que as plantas fertilizadas com silício, e irrigadas, exibiram a maior altura entre todos os tratamentos.

A massa seca vegetativa (raiz, colmo e folhas), foi superior em plantas sob déficit hídrico e não tratadas com silício, seguido das irrigadas normal e não tratadas com silício. As plantas tratadas com silício apresentaram os menores valores de biomassa seca vegetativa, e não diferiram entre si. A área foliar reduziu em todos os tratamentos sob seca em relação aqueles em capacidade de campo, no entanto, na condição de seca, as plantas tratadas com silício exibiram uma área foliar de 27.77% superior àquelas não tratadas com silício. Em condição de irrigação não houve diferenças entre os tratamentos.

Tabela 3 - Altura de planta (AP), massa seca vegetativa (MSV), área foliar (AF), comprimento de panícula (CP), massa seca panícula (MSP), massa seca de grãos (MSG) e índice de colheita (IC) de plantas de sorgo submetidas ao estresse hídrico e fertilizadas com silício no pré-florescimento.

	CC	DH	CC+Si	DH+Si
AP (m)	1.07b	0.99c	1.28 <sup>a</sup>	1.06b
MSV (g)	87.14b	95.66a	79.47c	75.79c
AF (m <sup>2</sup> )	0.49a	0.26c	0.48 <sup>a</sup>	0.36b
CP (cm)	30.25b	22.83c	34.41 <sup>a</sup>	29.91b
MSP (g)	76,63b	24,20d	90,96 <sup>a</sup>	32,32c
MSG (g)	69.68b	19.91d	79.27 <sup>a</sup>	26.27c
IC	0.42b	0.16d	0.46 <sup>a</sup>	0.24c

Fonte: Do autor (2018).

Legenda: CC: Capacidade de campo. DH: déficit hídrico.

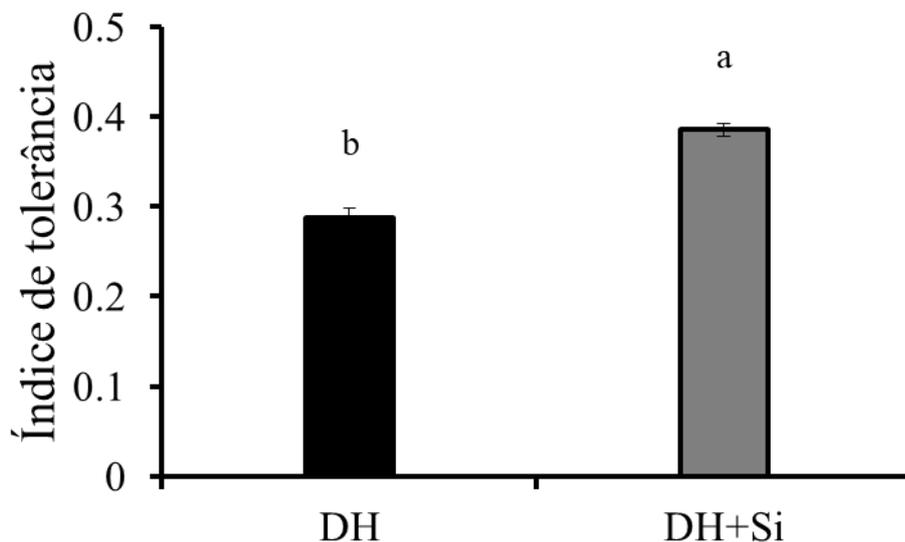
As médias seguidas pela mesma letra na linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade

O silício contribuiu com a formação e crescimento dos órgãos florais, visto que, as plantas sob irrigação tratadas com silício, apresentaram o maior comprimento de panícula

entre todos os tratamentos. Além disso, plantas tratadas com silício na condição de seca, apresentaram o comprimento de panícula superior aos das plantas não tratadas, e ainda o mesmo comprimento de plantas irrigadas não tratadas com silício.

A massa seca de panícula e de grãos sofreram ação da seca bem como do silício. Para tanto, observou-se uma redução nos valores dessas variáveis em todos os tratamentos de déficit hídrico em relação ao seus controles em capacidade de campo. Entretanto, tanto sob capacidade de campo quanto no déficit hídrico, as plantas tratadas com silício exibiram valores superiores de massa seca de panícula e massa seca de grãos em relação aos seus controles que não receberam silício. Sob capacidade de campo esse aumento foi de 15,27% para massa seca de panícula e de 12,09% para massa seca de grãos. Na condição de déficit hídrico o aumento foi de 25,12% para massa seca de panícula e de 24,21% para massa seca de grãos. O índice de colheita foi reduzido significativamente em todas as plantas sob déficit hídrico. No entanto, as plantas tratadas com silício apresentaram um índice de colheita superior ao daquelas não tratadas com silício, em ambas às condições hídricas. Diante disso, verificou-se que a suplementação com silício aumentou a tolerância das plantas de sorgo à seca em 25.5% (FIGURA 5).

Figura 5 - Índice de tolerância seca de plantas de sorgo submetidas ao estresse hídrico e fertilizadas com silício no pré-florescimento.



Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si estatisticamente pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. As barras representam o erro padrão da média de seis repetições.

Fonte: Do autor (2018).

## 4 DISCUSSÃO

A seca como um agente estressante reduziu o crescimento e o rendimento das plantas de sorgo, no entanto, o silício atenuou os seus efeitos. Para tanto, observou-se uma manutenção na altura, e um aumento de 24,21% no rendimento final de grãos nas plantas sob déficit hídrico tratadas com silício em relação às aquelas sob déficit hídrico não tratadas com silício. Além disso, sob irrigação, o silício contribuiu para um maior crescimento em altura e um aumento no rendimento final de grãos de 12,09%, indicando que o tratamento com silício além de aumentar a tolerância das plantas de sorgo à seca, melhora o desempenho produtivo de plantas sob capacidade de campo.

Essa redução no crescimento promovido pela seca deve-se, em parte, a redução no potencial hídrico da planta. Plantas com potenciais hídricos baixos apresentam baixa turgescência celular, comprometendo entre outros, a expansão celular, uma vez que reduz a atividade das expansinas de paredes e a pressão necessária para célula expandir após o seu afrouxamento (TARDIEU et al., 2000; ZHOU et al., 2015). Logo, o maior potencial hídrico exibido pelas plantas tratadas com silício, em ambas as condições hídricas em relação aos seus respectivos controles, pode ter contribuído para a manutenção do turgor celular e crescimento das mesmas.

Adicionalmente, o sistema vegetal necessita de energia para crescer e produzir. Deste modo, nota-se que a maior fotossíntese exibida pelas plantas tratadas com silício, sob capacidade de campo e déficit hídrico, em relação aos seus respectivos controles, contribuiu para o maior crescimento em altura, maior comprimento de panícula, massa seca de panícula e massa seca de grãos. Em paralelo a essa maior taxa fotossintética, destaca-se a área foliar superior apresentada pelas plantas sob déficit hídrico tratadas com silício em relação às aquelas na mesma condição não tratadas, pois essas plantas além de produzirem mais fotoassimilados, possuíam uma área maior de produção.

Esse dados corroboram com Detmann et al. (2012), pois os autores trabalhando com plantas de arroz, verificaram que a fertilização com silício aumentou o rendimento final de grãos das plantas através do aumento na fotossíntese, via alterações na condutância do mesófilo e metabolismo primário. Além disso, tem sido verificado em milho que, genótipos que mantêm maior taxa fotossintética durante a seca no pré-florescimento, apresentam melhor desempenho produtivo, visto que durante o estágio reprodutivo, ocorre uma alta demanda de energia para sustentar a formação e enchimento dos grãos (AVILA et al., 2016).

Em contrapartida, os efeitos do silício sobre o rendimento final de grãos não parece estar associado apenas ao aumento na fotossíntese, uma vez que Lavinsky et al. (2016) observaram que o silício é fundamental para formação de panículas de arroz. Os autores demonstraram que a essencialidade do silício durante a formação da panícula de arroz é tamanha, que as plantas que o receberam a partir do estágio R1 (formação de panícula) superexpressaram o gene *Lsi6*, responsável pelo transporte de silício, possivelmente para garantir concentração de silício na panícula equivalente a daquelas que o receberam desde o período vegetativo do ciclo. Lavinsky et al. (2016), ressaltaram ainda, que com panículas bem formadas, as plantas apresentaram um dreno mais forte e isso contribuiu para maior exportação de açúcares da folha bandeira para os grãos, impedindo o feedback negativo pelo produto na fotossíntese. Com o aumento na atividade dos drenos foi observado ainda, melhorias no índice de colheita, parâmetro esse que mensura a eficiência que as plantas particionam carbono para os grãos. De fato, esses resultados corroboram com os dados apresentados nesse trabalho, uma vez que as plantas que receberam silício apresentaram maior comprimento e massa seca de panícula e tiveram ainda, o índice de colheita superior ao de seus controles dentro de cada nível de água no solo. Isso ajuda entender os menores valores de biomassa seca vegetativa encontrados nas plantas tratadas com silício, pois com um dreno mais forte, as plantas alocaram uma maior quantidade de carbono de suas reservas para enchimento dos grãos.

Tem sido observado que o silício promove melhorias na condutividade hidráulica das plantas, principalmente em condições de seca (LIU et al., 2014). Essas melhorias na condutividade hidráulica são de suma importância para a manutenção do movimento estomático bem como para o crescimento das plantas (SUTKA et al., 2011). Neste trabalho, foi observado que, apesar da seca ter reduzido a taxa fotossintética, condutância estomática, transpiração e eficiência de carboxilação, as plantas tratadas com silício sob estresse hídrico, exibiram valores dessas variáveis superiores aos de plantas sob déficit hídrico não tratadas com silício. De fato diversos trabalhos tem demonstrado a capacidade do silício em aliviar as tensões da seca sobre a fotossíntese e condutância estomática (CAO et al., 2013; CHEN et al., 2011; DETMANN et al., 2012; LIU et al., 2014; SAUD et al., 2014; SHEN et al., 2010). Diante disso, nota-se a ação benéfica do silício durante à seca, pois a habilidade de manter valores de fotossíntese altos é uma característica importante para tolerância à seca em plantas (CATTIVELLI et al., 2008).

Ademais, notou-se uma maior fotossíntese também de plantas em capacidade de campo e tratadas com silício quando comparadas àquelas na mesma condição hídrica e não

tratadas com silício. Portanto, a melhoria da taxa fotossintética promovida pelo silício, não está ligada apenas a manutenção de valores altos de condutância estomática, pois plantas em capacidade de campo, independente do silício, exibiram os mesmos valores de condutância estomática e transpiração. No entanto, plantas tratadas com silício naquela condição hídrica, possuíam valores superiores de eficiência de carboxilação e inferiores de carbono interno. Para tanto, sugere-se que houve a entrada da mesma quantidade de carbono para o mesofilo foliar, porém a atividade de carboxilação operava em maior taxa, e, portanto consumia mais CO<sub>2</sub>. O mesmo é válido para condição de déficit hídrico, visto que as plantas tratadas com silício dispunham de maior condutância estomática, o que propicia uma maior entrada de CO<sub>2</sub> para o mesofilo, e portanto, contribuiria para a manutenção de maiores valores de carbono interno. No entanto, como o silício aumentou a eficiência de carboxilação dessas plantas, houve um maior consumo de carbono e seus níveis foram semelhantes ao de plantas estressadas e não tratadas com silício.

Detmann et al. (2012), verificaram que a fertilização com silício pode melhorar a taxa fotossintética por contribuir para uma maior condutância do carbono no mesofilo. Corroborando com Souza et al. (2016), que verificaram que plantas fertilizadas com Si durante R1 além de terem maior condutância do mesofilo, exibiam superior atividade da Anidrase carbônica e ainda, maiores valores de taxa máxima de carboxilação limitada pela Ribulose-1,5-bisfosfato, e de taxa máxima de carboxilação limitada pela taxa de transporte de elétrons. Assim, sugere-se que esses processos dinâmicos e acoplados, possam estar ligados a maior eficiência de carboxilação das plantas fertilizadas com silício, uma vez que facilitaria a chegada do CO<sub>2</sub> próximo aos sítios catalíticos da rubisco, aumentando sua atividade carboxilase.

Em adicional às trocas gasosas, foi observado um aumento nos níveis de clorofilas a e total nas plantas irrigadas e tratadas com silício, indicando uma melhoria no processo de absorção de luz. Na condição de seca, não foram observadas essas variações para clorofilas, entretanto, verificou-se aumentos nos níveis de carotenoides nas plantas tratadas com silício. Diante disso, ressalta-se que os carotenóides são pigmentos acessórios às clorofilas, fotoprotetores e antioxidantes, logo, a manutenção de seus níveis é de suma importância durante condição de estresse, uma vez que atuam prevenindo a fotoinibição (KRESLAVSKI et al., 2013; SHARMA et al., 2012). Resultados semelhantes foram observados por Gong et al. (2005), onde os autores observaram maiores níveis de clorofila a, b e carotenoides em folhas de *Triticum aestivum* L fertilizados com silício e submetido a seca em relação àquelas plantas na mesma condição hídrica não fertilizadas com silício. Os autores associaram a

redução nos níveis de pigmentos à danos oxidativos e destacaram que, a manutenção de maiores teores desses pigmentos nas plantas estressadas e tratadas com silício, está relacionada a um sistema antioxidante mais responsivo.

Ao observar o uso e eficiência da água, é possível notar um aumento nas plantas sob estresse hídrico em relação aquelas sob irrigação normal. Esse processo é uma resposta das plantas à seca na busca de mitigar a desidratação de seus tecidos. No entanto, para que ocorram aumentos na eficiência do uso da água, a planta reduz a condutância estomática e inevitavelmente, diminui a absorção de CO<sub>2</sub> (AVILA et al., 2017). Diante de baixos níveis de CO<sub>2</sub> próximos aos sítios catalíticos da Rubisco, esta tem sua eficiência de carboxilação comprometida pela falta de substrato (CO<sub>2</sub>) e a assimilação de carbono é reduzida por limitações estomáticas. Assim, apesar da eficiência no uso da água ser de suma importância em um cenário de seca, nem sempre plantas que são mais eficientes no uso da água serão mais produtivas. Nesse trabalho foi possível observar isso, uma vez que durante a seca, as plantas tratadas com silício apresentaram menor eficiência no uso da água, porém, exibiram maiores taxas fotossintéticas e rendimento de grãos superior.

A redução que a seca promoveu nas trocas gasosas pode estar diretamente relacionada aos níveis de nutrientes verificados nas folhas, uma vez que no geral, as plantas estressadas possuíam menores teores de minerais nas folhas quando comparadas àquelas irrigadas. Para tanto, sugere-se que a redução média de 68,3% que ocorreu na transpiração em plantas estressadas pode ter comprometido a absorção e transporte dos minerais, haja vista que esses processos são governados pela corrente transpiratória (WHITE, 2001). Ademais, pode estar associado com a redução na taxa fotossintética e, portanto, com carga energética da planta. Plantas de milho, por exemplo, sob estresse hídrico severo podem apresentar uma redução média na taxa fotossintética de 80% (AVILA et al., 2016), fato que as conduz a um déficit energético severo. Logo, essa baixa carga energética induz uma entropia no sistema, comprometendo dentre outros, a absorção de nutrientes, uma vez que muitos dos transportadores de nutrientes são canais dependentes de energia (GROSSMAN; TAKAHASHI, 2001). Teores superiores de silício em plantas tratadas com silício, nas folhas, deram-se devido a seu fornecimento exógeno.

Melhorias na morfometria do sistema radicular podem estar diretamente ligadas ainda, aos maiores valores de potencial hídrico foliar observado em plantas tratadas com silício, dado que aumenta a eficiência de absorção de água no solo. De fato, Souza et al. (2014) trabalhando com genótipos de milho tolerantes à seca, observaram que plantas que apresentam melhor desenvolvimento do sistema radicular exibem maiores valores de

potencial hídrico em condições de seca. Assim, sugere-se que a contribuição do sistema radicular ao potencial hídrico foliar, pode ter favorecido a manutenção da taxa transpiratória e condutância estomática das plantas estressadas e tratadas com silício quando comparadas àquelas na mesma condição que não receberam silício. Isso é válido uma vez que, Lavinsky et al. (2016) e Souza et al. (2016) observaram que durante o estresse hídrico, genótipos de milho que investiam carbono no crescimento do sistema radicular, exibiam maiores valores de condutância estomática, transpiração e fotossíntese quando comparado àqueles que não possuíam esse mecanismo.

Essa resposta adaptativa é de suma importância para aumentar a eficiência na captura de água no solo, visto que, as camadas superficiais do perfil do solo secam com mais rapidez (LYNCH; CHIMUNGU; BROWN, 2014). Assim, as plantas reduzem a quantidade de raízes próximas ao colo, e investem energia no crescimento em profundidade, em busca de solos com maior potencial hídrico (FAROOQ et al., 2009). O que está de acordo com os resultados encontrados nesse trabalho, visto que, no geral, houve uma modificação na arquitetura do sistema radicular de plantas sob déficit hídrico quando comparadas com plantas irrigadas. Para tanto, verificou-se que no geral, o sistema radicular das plantas estressadas possuíam menor área e volume, porém maior comprimento. Aqui é importante destacar, a influência positiva do silício no sistema radicular, pois garantiu a manutenção na área superficial de raízes muito finas, área superficial de raízes finas, área superficial de raízes grossas, volume de raízes finas, volume de raízes grossas e, principalmente, estimulou o crescimento em comprimento do sistema radicular. O fornecimento exógeno de silício contribuiu tanto com o crescimento do sistema radicular, que, plantas irrigadas que receberam sua suplementação, apresentaram valores semelhantes àquelas estressadas e não tratadas com silício.

Essas mudanças na morfologia do sistema radicular vão de encontro com os resultados encontrados com Zhan, Schneider e Lynch (2015), os quais constataram que genótipos de milho que investiram em comprimento de raízes, possuem maior rendimento final de grãos em relação àqueles que investem em crescimento de raízes superficiais. Além disso, Hattori et al. (2005), verificaram que o aumento na razão raiz/parte aérea é um traço marcante que contribuiu para maior tolerância a seca em plantas de sorgo suplementadas com silício.

Tem sido relatado que o aumento na atividade de proteínas canais pode contribuir com o desempenho da planta em condições de seca (FAROOQ et al., 2009). De fato, nesse trabalho verificou-se que durante a seca o gene TIP 4, que codifica uma aquaporina intrínseca do tonoplasto, aumentou sua expressão em todas as plantas submetidas ao déficit hídrico independente do tratamento, indicando que, essa aquaporina desempenha um papel chave

durante a seca. Possivelmente esse aumento esteja ligado a tentativa de manter o vacúolo com maiores níveis de água e portanto, a célula com maior potencial de pressão. Além disso, verificou-se que o gene *PIP 1;6* também teve sua expressão aumentada pela seca, porém esse aumento ocorreu apenas nas plantas estressadas e não tratadas com silício. Em contraste, o gene *PIP 1;3/1;4* reduziu sua expressão em todas as plantas com o estresse hídrico, e as plantas tratadas com silício apresentaram menores valores de expressão. O que está de acordo com Shi et al. (2016), pois estudando os efeitos do silício em plantas de tomate sob estresse hídrico, não observaram influência positiva do tratamento sob os genes de aquaporinas *SIP1; 3*, *SIP1; 5* e *SIP2; 6*.

Por outro lado, os resultados encontrados para os genes *PIPs* não condizem com os resultados verificados por Liu et al. (2014), pois eles observaram um aumento na expressão dos genes *PIP 1;6* e *PIP 1;3/1;4* quando as plantas foram submetidas ao estresse osmótico e tratadas com silício. No entanto, é importante destacar que os autores avaliaram a expressão dos genes em plantas em estágio fenológico vegetativo, o experimento foi conduzido em sistema hidropônico e a avaliação da expressão dos genes ocorreu com 4 e 24 horas após o estresse. Nesse trabalho, no momento da avaliação as plantas estavam em estágio reprodutivo, o cultivo foi feito em solo e o estresse teve intensidade severa e duração de 12 dias. Além disso, as plantas receberam a fertilização com silício durante dezessete dias.

Nesse contexto, sugere-se a existência de fatores endógenos e/ou exógeno que interferem na regulação da expressão dos genes que codificam essas proteínas. Isso é válido, uma vez que a condutância hidráulica da raiz é influenciada por vários fatores internos e externos, como a embolia dos vasos do xilema, anatomia da raiz, disponibilidade de água, sais na fase aquosa do solo, temperatura, e propriedades das células radiculares como, por exemplo, a turgescência (AROCA et al., 2005; BOURSIAC et al., 2005; MARTRE et al., 2002; SALIENDRA; MEINZER, 1992; SIEMENS; ZWIAZEK, 2004), afetando, diretamente, a atividade e/ou abundância das aquaporinas (LUU; MAUREL, 2005). Para tanto, sugere-se que, essa menor expressão nos genes das aquaporinas observado nas plantas tratadas com silício, possam estar ligadas a outros processos influenciados pelo silício e, portanto merece mais estudos.

## 5 CONCLUSÕES

O tratamento com silício mitigou os efeitos da seca sobre o potencial foliar, fotossíntese, eficiência de carboxilação instantânea e na morfometria do sistema radicular das plantas de sorgo. Esses efeitos positivos contribuíram para um maior rendimento de grãos e, portanto, maior tolerância à seca. Os efeitos positivos do silício ocorreram também nas plantas em capacidade de campo, demonstrando que o silício pode melhorar o desempenho produtivo na cultura do sorgo em condições de seca e capacidade de campo.

O tratamento com silício não aumentou na expressão relativa das aquaporinas PIP1;6 e PIP1;3/1;4. No entanto, constatou-se nesse estudo que a aquaporina TIP 4 é mais responsiva a seca em plantas de sorgo do que as aquaporinas PIP1;6 e PIP1;3/1;4.

## REFERÊNCIAS

- AROCA, R. et al. The role of aquaporins and membrane damage in chilling and hydrogen peroxide induced changes in the hydraulic conductance of maize roots. **Plant Physiology**, Lancaster, v. 137, n. 1, p. 341-353, Jan. 2005.
- AVILA, R. G. et al. Drought changes yield and organic and mineral composition of grains of four maize genotypes. **Journal of Agricultural Research**, Lahore, v. 5, n. 9, p. 243-250, Sept. 2017.
- AVILA, R. G. A. et al. Drought-tolerant maize genotypes invest in root system and maintain high harvest index during water stress. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 15, n. 3, p. 450-460, 2016.
- BONFIM-SILVA, E. D. N. A. et al. Desenvolvimento inicial de gramíneas submetidas ao estresse hídrico. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 24, n. 2, p. 180-186, abr./jun. 2011.
- BORRELL, A. K. et al. Drought adaptation of stay-green sorghum is associated with canopy development, leaf anatomy, root growth, and water uptake. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 65, n. 21, p. 6251-6263, Nov. 2014.
- BORRELL, A. K.; HAMMER, G. L.; HENZELL, R. G. Does maintaining green leaf area in sorghum improve yield under drought? II. Dry matter production and yield. **Crop Science**, Madison, v. 40, n. 4, p. 1037-1048, July 2000.
- BOURSIAC, Y. et al. Early effects of salinity on water transport in Arabidopsis roots. Molecular and cellular features of aquaporin expression. **Plant Physiology**, Lancaster, v. 139, p. 790-805, Oct. 2005.
- BROEDEL, E. et al. Deep soil water dynamics in an undisturbed primary forest in central Amazonia: differences between normal years and the 2005 drought. **Hydrological Processes**, Chichester, v. 31, n. 9, p. 1749-1759, Apr. 2017.
- CALDWELL, M. M.; RICHARDS, J. H.; GIVNISH, T. J. Competing root systems: morphology and models of absorption. In: GIVNISH, T. J. (Ed.). **On the economy of plant form and function**. Cambridge: Cambridge University Press, 1986. p. 251-273.
- CAO, B. L. et al. Effect of silicon on growth, photosynthesis and transpiration in tomato. **Journal of Plant Nutrition and Fertilizer**, Oxford, v. 19, n. 2, p. 354-360, Jan. 2013.
- CATTIVELLI, L. et al. Drought tolerance improvement in crop plants: an integrated view from breeding to genomics. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 105, n. 1/2, p. 1-14, 2008.
- CHEN, W. et al. Silicon alleviates drought stress of rice plants by improving plant water status, photosynthesis and mineral nutrient absorption. **Biological Trace Element Research**, London, v. 142, n. 1, p. 67-76, July 2011.
- CHEN, Y.; BARAK, P. Iron nutrition of plants in calcareous soils. **Advances in Agronomy**, San Diego, v. 35, p. 217-240, 1982.

DAI, A. Drought under global warming: a review. **Wires Climate Change**, New York, v. 2, n. 1, p. 45-65, Jan./Feb. 2011.

DETMANN, K. C. et al. 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. **New Phytologist**, London, v. 196, n. 3, p. 752–762, Nov. 2012.

DURÃES, F. O. M.; MAGALHÃES, P. C.; OLIVEIRA, A. C. Índice de colheita genético e as possibilidades da genética fisiológica para melhoramento do rendimento do milho. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 1, n. 1, p. 33-40, 2002.

FAROOQ, M. et al. Plant drought stress: effects, mechanisms and management. **Agronomy for Sustainable Development**, Paris, v. 29, n. 1, p. 185-212, Mar. 2009.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS - FAOSTAT. **Food and Agriculture**. Washington: FAOSTAT, 2015. Disponível em: <<http://faostat3.fao.org/home/E>>. Acesso em: 10 maio 2018.

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

GROSSMAN, A.; TAKAHASHI, H. Macronutrient utilization by photosynthetic eukaryotes and the fabric of interactions. **Annual Review of Plant Biology**, Palo Alto, v. 52, p. 163-210, June 2001.

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

JAVOT, H.; MAUREL, C. The role of aquaporins in root water uptake. **Annals of Botany**, Oxford, v. 90, n. 3, p. 301-313, Sept. 2002.

KRESLAVSKI, V. D. et al. Molecular mechanisms of stress resistance of photosynthetic machinery. In: ROUT, G. R.; DAS, A. B. (Ed.). **Molecular stress physiology of plants**. India: Springer India, 2013. p. 21-51.

LAVINSKY, A. O. et al. Analysis of maize photosynthesis parameters and whole plant oxidative damage under long-term drought. **Advances in Crop Science and Technology**, London, Suppl. 1, p. 1-6, May 2015.

\_\_\_\_\_. Silicon improves rice grain yield and photosynthesis specifically when supplied during the reproductive growth stage. **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, v. 206, p. 125-132, Nov. 2016.

LEE, R. The outlook for population growth. **Science**, New York, v. 333, n. 6042, p. 569-573, July 2011.

LICHTENTHALER, H. K.; BUSCHMANN, C. Chlorophylls and carotenoids: measurement and characterization by UV-VIS spectroscopy. In: WROLSTAD, R. E. (Ed.). **Current protocols in food analytical chemistry**. New York: John Wiley and Sons, 2001. p. F4.3.1–F4.3.8.

LIU, P. et al. Aquaporin-mediated increase in root hydraulic conductance is involved in silicon-induced improved root water uptake under osmotic stress in *Sorghum bicolor* L. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 65, n. 17, p. 4747-4756, Sept. 2014.

LUU, D. T.; MAUREL, C. Aquaporins in a challenging environment: molecular gears for adjusting plant water status. **Plant Cell and Environment**, Oxford, v. 28, n. 1, p. 85-96, Jan. 2005.

LYNCH, J. P.; CHIMUNGU, J.; BROWN, K. M. Root anatomical phenes associated with water acquisition from drying soil: targets for crop improvement. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 65, n. 21, p. 6155-6166, Apr. 2014.

MAGALHÃES, P. C.; DURÃES, F. O. M. Fisiologia da produção. In: CRUZ, J. C. et al. (Ed.). **A cultura do milho**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2008. p. 63-87.

MAGALHÃES, P. C. et al. Phenotypic plasticity of root system and shoots of *Sorghum bicolor* under different soil water levels during pre-flowering stage. **Australian Journal of Crop Science**, Lismore, v. 10, n. 1, p. 81-87, 2016.

MAGALHÃES, P. C.; SOUZA, T. C.; CANTÃO, F. R. O. Early evaluation of root morphology of maize genotypes under phosphorus deficiency. **Plant, Soil and Environment**, Oxford, v. 57, n. 3, p. 135-138, 2011.

MARTRE, P. et al. Plasma membrane aquaporins play a significant role during recovery from water deficit. **Plant Physiology**, Lancaster, v. 130, n. 4, p. 2101-2110, Dec. 2002.

NIKINMAA, E. et al. Assimilate transport in phloem sets conditions for leaf gas exchange. **Plant, Cell & Environment**, Hoboken, v. 36, n. 3, p. 655-669, Mar. 2013.

NOCTOR, G.; MHAMDI, A.; FOYER, C. H. The roles of reactive oxygen metabolism in drought: not so cut and dried. **Plant Physiology**, Lancaster, v. 164, n. 4, p. 1636-1648, Apr. 2014.

PENNISI, E. How *Sorghum* withstands heat and drought. **Science**, New York, v. 323, n. 5914, p. 573, Jan. 2009.

PEREZ-MARTIN, A. et al. Regulação da fotossíntese e condutância estomática e mesofílica sob estresse hídrico e recuperação em oliveiras: correlação com a expressão gênica de anidrase carbônica e aquaporinas. **Jornal de Botânica Experimental**, Goiânia, v. 65, n. 12, p. 3143-3156, 2014.

PETERSON, T. A. et al. **Using a chlorophyll meter to improve N management**. Nebraska: Institute of Agriculture and Natural Resources, 1993. 7 p.

RISSLER, H. M. et al. Chlorophyll biosynthesis. Expression of a second chl I gene of magnesium chelatase in *Arabidopsis* supports only limited chlorophyll synthesis. **Plant Physiology**, Lancaster, v. 128, n. 2, p. 770-779, Feb. 2002.

SALIENDRA, N. Z.; MEINZER, F. C. Genotypic, developmental and drought-induced differences in root hydraulic conductance of contrasting sugarcane cultivars. *Journal of Experimental Botany*, Oxford, v. 43, n. 254, p. 1209-1217, Sept. 1992.

SAUD, S. et al. Silicon application increases drought tolerance of Kentucky Bluegrass by improving plant water relations and morphophysiological functions. *The Scientific World Journal*, Boynton Beach, v. 2014, p. 368694, 2014.

SHARMA, P. et al. Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. *Journal of Botany*, New York, v. 2012, p. 1-26, 2012.

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

SHI, Y. et al. Silicon enhances water stress tolerance by improving root hydraulic conductance in *Solanum lycopersicum* L. *Frontiers in Plant Science*, Lausanne, v. 7, p. 196, Feb. 2016.

SIEMENS, J. A.; ZWIAZEK, J. J. Changes in water flow properties of solution culture-grown trembling aspen (*Populus tremuloides*) seedlings under different intensities of water-deficit stress. *Physiologia Plantarum*, Copenhagen, v. 121, n. 1, p. 44-49, May 2004.

SILVA F. C. (Ed.). **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2009. 370 p.

SOUZA, A. O. de et al. Corn root morphoanatomy at different development stages and yield under water stress. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v. 51, n. 4, p. 330-339, Apr. 2016.

\_\_\_\_\_. ABA application to maize hybrids contrasting for drought tolerance: changes in water parameters and in antioxidant enzyme activity. *Plant Growth Regulation*, Dordrecht, v. 73, n. 3, p. 205-217, July 2014.

SOUZA, T. C. et al. Morphophysiology, morphoanatomy, and grain yield under field conditions for two maize hybrids with contrasting response to drought stress. *Acta Physiologiae Plantarum*, Copenhagen, v. 35, n. 11, p. 3201-3211, Nov. 2013.

STANTON, K. M.; MICKELBART, M. V. Maintenance of water uptake and reduced water loss contribute to water stress tolerance of *Spiraea alba* Du Roi and *Spiraea tomentosa* L. *Horticulture Research*, London, v. 1, p. 14033, 2014.

SUTKA, M. et al. Natural variation of root hydraulics in *Arabidopsis* grown in normal and salt stressed conditions. *Plant Physiology*, Lancaster, v. 155, n. 3, p. 1264–1276, Mar. 2011.

TARDIEU, F. et al. Spatial distributions of expansion rate, cell division rate and cell size in maize leaves: a synthesis of the effects of soil water status, evaporative demand and temperature. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 51, n. 350, p. 1505-1514, Sept. 2000.

WHITE, P. J. The pathways of calcium movement to the xylem. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 52, n. 358, p. 891-899, May 2001.

ZHAN, A.; SCHNEIDER, H.; LYNCH, J. Reduced lateral root branching density improves drought tolerance in maize. **Plant Physiology**, Lancaster, v. 168, n. 4, p. 1603-1615, Aug. 2015.

ZHOU, S. et al. The involvement of expansins in response to water stress during leaf development in wheat. **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, v. 183, p. 64-74, July 2015.

## CAPÍTULO 4

### O SILÍCIO REGULA POSITIVAMENTE O METABOLISMO PRIMÁRIO, ANTIOXIDANTE E OSMORREGULADOR DE PLANTAS DE SORGO

#### RESUMO

O acúmulo de Si nas plantas pode aliviar os efeitos desfavoráveis de estresses como seca, metais pesados, desequilíbrio nutricional por indução de diferentes mecanismos de tolerância, levando ao maior acúmulo de biomassa e maior rendimento das culturas. Diante disso, objetivou-se com esse trabalho, elucidar os mecanismos de atuação do Si como um elemento benéfico no metabolismo primário, antioxidante e osmoprotetor em plantas de sorgo em dois níveis de água no solo. Para tanto, cultivou-se em casa de vegetação o genótipo sensível à seca no pré-florescimento, BRS332. O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado com quatro tratamentos e seis repetições. Os tratamentos foram capacidade campo (CC), déficit hídrico (DH), capacidade de campo + silício (CC +Si) e déficit hídrico + silício (DH + Si). Os tratamentos CC e CC + Si tiveram a tensão de água no solo mantida próximo de -18 KPa durante todo o ciclo, já os tratamentos DH e DH + Si quando as plantas atingiram o pré-florescimento, tiveram sua tensão de água no solo reduzida para -138 KPa que corresponde a aplicação de 50% da água disponível, e foi mantida nesse nível por um período de doze dias. O fornecimento de silício se deu por fertirrigação a uma concentração de 2 mM aplicado via solo em um volume de 250ml por dia, durante 17 dias ( cinco dias antes de iniciar o estresse e mais 12 dias de estresse. Posteriormente avaliou-se o potencial hídrico foliar, metabolismo primário, antioxidante enzimático e não enzimático, osmorregulador e os níveis de peróxido de hidrogênio e malondialdeído. Após a análise dos dados constatou-se que o Si atenua o déficit hídrico de plantas de sorgo pelo aumento na atividade enzimática antioxidante, além de antioxidantes não enzimáticos e substâncias osmoprotetoras. Plantas tratadas com Si apresentaram menores danos às membranas celulares, que foram comprovados pela menor peroxidação lipídica. Os efeitos benéficos do Si se estendem às plantas que não passaram pelo déficit hídrico. O Si parece utilizar a via de peróxido como sinalização para regular respostas metabólicas.

**Palavras-chave:** Tolerância à seca. Carboidratos. Proteínas. Prolina. Peroxidação.

## ABSTRACT

The accumulation of Si in plants can relieve the stresses unfavorable effects, such as drought, heavy metals, nutritional disbalance caused by different tolerance mechanisms, leading to a higher biomass accumulation and higher crop yield. Thus, the objective of this study was to elucidate the acting mechanisms of Si as a benefic element in primary, antioxidant and osmoregulator metabolisms in sorghum plants in two different soil water levels. For this purpose, the drought sensitive genotype BRS332 was grown in a greenhouse during pre-flowering stage. It was used the completely randomized design, with four treatments and six replicates. The treatments were field capacity (FC), water deficit (WD), field capacity + silicon (FC + Si) and water deficit + silicon (WD + Si). The treatments FC and FC + Si had the soil water tension kept around -18KPa during plant life cycle while the treatments WD and WD + Si had their soil water tension reduced to -138KPa when reached pre-flowering stage. This reduction corresponds to the application of 50% of the available water, and this level was kept for a twelve days period. Afterwards, it was assessed the leaf hydric potential, primary, antioxidant, enzymatic, non-enzymatic and osmoregulator metabolisms and hydrogen peroxide and malondialdehyde levels. After the data assessment, it was verified that Si softens water deficit of sorghum plants by increasing antioxidant enzymatic activity, besides non-enzymatic antioxidants and osmoprotectant substances. Silicon treated plants showed less cell membrane damage, proven by a smaller lipid peroxidation. The beneficial effects of Si extends to plants who haven't been through water deficit. Si appears to use a peroxide route as signaling to regulate metabolic responses.

**Key words:** Drought tolerance. Carbohydrates. Proteins. Proline. Peroxidation.

## 1 INTRODUÇÃO

A agricultura vem sofrendo uma pressão de seleção pela exigência de utilização de espécies vegetais cada vez mais produtivas e adaptadas à seca (CRESPO-HERRERA et al., 2018). Assim sendo, o *Sorghum bicolor* (L.), tem emergido como uma cultura com potencial para utilização, visto que é a quinta cultura produtora de grãos mais importante do mundo e apresenta tolerância à seca superior em relação às culturas produtoras de grãos amiláceos, como o milho. Exatamente por isso, o sorgo é uma das principais fontes de energia para milhões de pessoas em regiões secas na Ásia e África (DICKO et al., 2006) e, aproximadamente 85% do seu cultivo no mundo está fixado em ambientes secos (ASSEFA; STAGGENBORG; PRASAD, 2010).

Os efeitos da seca sobre a produção vegetal são influenciados por fatores como duração e intensidade do estresse, estágio fenológico da cultura em que o estresse se estabelece, bem como pelo tipo de espécie e material genético (ARAUS; SERRET; EDMEADES, 2012). Especificamente na cultura do sorgo, a seca imposta no pré-florescimento e com alta intensidade pode reduzir em cerca de 55% a produção de grãos (ASSEFA; STAGGENBORG; PRASAD, 2010).

Essa redução na produção inicia-se quando a perda de água para a atmosfera passa a ser maior do que sua extração do solo. Nesse cenário, a planta tem seu potencial hídrico foliar reduzido e, conseqüentemente, reduz a condutância estomática e assimilação de carbono (AVILA et al., 2016). Aliado a isso, ocorre uma redução na atividade das enzimas sacarolíticas, principalmente da invertase ácida de parede, o que compromete o particionamento de carbono das folhas para os órgãos drenos (ZINSELMEIER; JEONG; BOYER, 1999). Esse processo resulta no acúmulo de açúcares redutores, solúveis e amido nas folhas, além de um decréscimo acentuado do suprimento de carboidratos nos órgãos reprodutivos em formação, resultando em panículas com menor número de grãos e com grãos vazios.

A seca compromete ainda o metabolismo do nitrogênio, alterando quantitativa e qualitativamente o conteúdo de proteínas e aminoácidos. Essas alterações ocorrem, muitas vezes, visando ao ajustamento fisiológico para atenuar os efeitos deletérios da seca sobre o metabolismo vegetal (BHARGAVA; SAWANT, 2013). Diante disso, alterações quantitativas explícitas são verificadas no conteúdo de prolina, um aminoácido multifuncional, inerte e compatível, altamente correlacionado com ajustamento osmótico e estabilização de proteínas

nos tecidos de folhas e raízes durante o déficit hídrico (HAYAT et al., 2012; SZABADOS; SAVOURE, 2010).

O metabolismo vegetal, constitutivamente produz espécies reativas de oxigênio (EROs) tais como oxigênio singlete ( $^1\text{O}_2$ ), superóxido ( $\text{O}_2^-$ ), hidroxila ( $\text{OH}^\cdot$ ) e peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) nos cloroplastos, peroxissomos, mitocôndrias e citosol. Essas moléculas quando em equilíbrio, são importantes mensageiros secundários que regulam vários processos fisiológicos no desenvolvimento vegetal (SLESACK et al., 2007). No entanto, em condições estressantes, como a seca, suas produções podem ocorrer em uma taxa maior que suas remoções, tornando-as tóxicas ao metabolismo celular (GILL; TUTEJA, 2010).

Para lidar com o estresse oxidativo, as plantas dispõem de um sofisticado sistema de defesa antioxidante enzimático e não enzimático. A defesa enzimática ocorre através da atividade da dismutase do superóxido (SOD, catalase (CAT), peroxidase do guaiacol (POD) e pelas enzimas do ciclo ascorbato-glutationa como peroxidase do ascorbato (APX) redutase do dehidroascorbato (DHAR), redutase do monodehidroascorbato (MDHAR) e redutase da glutaciona (GR) (GILL; TUTEJA, 2010). O ciclo ascorbato-glutationa, além de eliminar o  $\text{H}_2\text{O}_2$ , é uma importante via de dissipação de energia, visto que durante sua atividade há consumo de energia advinda da ferredoxina ou do NADPH para ação das enzimas MDHAR e GR (FOYER; NOCTOR, 2005). Além de cofator enzimático, o ascorbato pode eliminar diretamente o  $^1\text{O}_2$ ,  $\text{O}_2^-$ ,  $\text{OH}^\cdot$  (AHMAD et al., 2010). Diante disso, o sistema antioxidante enzimático e não enzimático constituem um importante mecanismo de tolerância ao estresse provocado pela seca em plantas (SUN et al., 2018).

Embora as plantas apresentem modificações morfo-anatômicas e fisiológicas que permitam sobreviver a condições de estresse, a ocorrência da seca ainda causa prejuízos à produção vegetal. Nesse sentido, uma prática que vem sendo utilizada é a aplicação de substâncias que mitiguem o efeito de estresses abióticos no vegetal (ASKARI; EHSANZADEH, 2015; LI et al., 2018). O Si tem um importante papel no desenvolvimento de diversas espécies, sendo que seus efeitos mais acentuados são observados em plantas sob estresses bióticos ou abióticos (ETESAMI; JEONG, 2018; LI et al., 2018). De fato, o acúmulo de Si na rizosfera e nas plantas pode aliviar os efeitos desfavoráveis de estresses como seca, metais pesados, desequilíbrio nutricional por indução de diferentes mecanismos de tolerância, levando ao maior acúmulo de biomassa e maior rendimento das culturas (LI et al., 2018).

No entanto, informações sobre o metabolismo primário associado ao Si sob déficit hídrico ainda não foram obtidas de maneira sistemática. Além disso, poucos trabalhos buscam

entender os efeitos benéficos do Si sobre a fisiologia do vegetal em condições não estressantes. Para o arroz, a suplementação com Si é economicamente viável, de modo que no Japão o Si é um insumo essencial (ALVAREZ; DATNOFF, 2001). No entanto, para cultura do sorgo esses estudos são inexistentes. Diante disso, objetivou-se com esse trabalho, elucidar os mecanismos de atuação do Si como um elemento benéfico no metabolismo primário, antioxidante e osmoprotetor em plantas de sorgo cultivadas em dois níveis de água no solo.

## **2 MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1 Condições de cultivo, tratamento, material vegetal e desenho experimental**

Foram realizados como mencionado anteriormente no capítulo 3.

### **2.2 Potencial hídrico foliar**

O potencial hídrico foliar ao meio-dia ( $\Psi_{md}$ ) foi determinado utilizando uma bomba de pressão do tipo Scholander (modelo 1000. PMS Instrument Company – Albany OR, EUA). As medições foram realizadas às 12 horas, de acordo com a metodologia descrita por Scholander et al. (1964).

### **2.3 Extração e atividade das enzimas do metabolismo antioxidante**

Para as análises de quantificação da atividade das enzimas do sistema antioxidante, ascorbato, peróxido de hidrogênio e peroxidação lipídica, foi utilizado a segunda folha abaixo da folha bandeira e fragmentos de raízes com 10 cm a partir do ápice radicular. Todas as amostras foram devidamente coletadas, acondicionadas em nitrogênio líquido e armazenadas em ultra freezer a  $-80^{\circ}\text{C}$ .

A extração das enzimas foi realizada a partir da maceração de 200 mg de tecido foliar em nitrogênio líquido com 50% de PVPP e procedendo-se ao protocolo de extração proposto por Biemelt, Keetman e Albrecht (1998), onde o tampão de extração foi composto por tampão fosfato de potássio 100 mM (pH 7,8), EDTA 0,1 mM e ácido ascórbico a 10 mM. Em seguida, o extrato foi submetido à centrifugação a 13000 g por 10 minutos, a  $4^{\circ}\text{C}$ . Os sobrenadantes, posteriormente obtidos, foram utilizados para avaliar a atividade da dismutase do superóxido (SOD), catalase (CAT), peroxidase do ascorbato (APX) e peroxidase (POD). A determinação da quantidade de proteína foi realizada pelo método de Bradford (1976).

A atividade da SOD foi determinada com base na metodologia de Giannopolitis e Ries (1977), em que é avaliada a capacidade da enzima em inibir a fotorredução do azul de nitrotetrazólio (NBT). Para tanto, uma alíquota do extrato enzimático foi incubado em um meio contendo 50 mM de fosfato de potássio pH 7,8, metionina 14 mM, EDTA 0,1  $\mu\text{M}$ , NBT 75  $\mu\text{M}$  e riboflavina 2  $\mu\text{M}$ . As amostras, juntamente com o meio de incubação, foram iluminados com lâmpada fluorescente de 20 W durante 7 minutos. As leituras foram

realizadas em espectrofotômetro a 560 nm. A atividade da SOD foi determinada em  $\text{U mg}^{-1}$  proteína, em que 1U corresponde à quantidade de enzima necessária para inibir em 50% a fotorredução do NBT.

Para avaliar a atividade da CAT foi utilizada metodologia proposta por Havir e McHale (1987). Diante disso, uma alíquota do extrato enzimático foi adicionada ao meio de incubação contendo fosfato de potássio 100 mM (pH 7,0), e peróxido de hidrogênio 12,5 mM. A atividade da enzima foi determinada com base no consumo de  $\text{H}_2\text{O}_2$  a cada 15 segundos, por 3 minutos, a 240 nm em espectrofotômetro. O coeficiente de extinção molar utilizado foi  $36 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ . A atividade da CAT foi determinada em  $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$  proteína.

A atividade da APX foi avaliada com base na metodologia de Nakano e Asada (1981), em que acompanha-se da taxa de oxidação do ascorbato a 290 nm, a cada 15 segundos, durante 3 minutos. Desse modo, uma alíquota do extrato enzimático foi adicionada a um meio contendo tampão fosfato de potássio 100 mM e pH 7,0, ácido ascórbico 0,5 mM e peróxido de hidrogênio 0,1 mM. O coeficiente de extinção molar utilizado foi  $2,8 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ . A atividade da APX foi determinada em  $\mu\text{mol AsA min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$  proteína.

Já para avaliar a atividade da POD foi utilizado metodologia de Fang e Kao (2000), onde é observada a formação de tetraguaiacol pelo aumento da absorbância. Assim sendo, uma alíquota do extrato enzimático foi adicionada a um meio contendo tampão fosfato de sódio 50 mM e pH 6,0 e guaiacol 0,13%. Antes da leitura espectrofotométrica a 470 nm, durante 3 minutos, foi adicionado  $\text{H}_2\text{O}_2$  a 0,15%. O coeficiente de extinção molar utilizado foi  $26,6 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ . A atividade da POD foi determinada em  $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$  proteína.

A atividade da DHAR foi realizada segundo Nakano e Asada (1981), em que uma alíquota do extrato enzimático foi incubado em tampão fosfato de potássio 50 mM, pH 7,0, glutathiona reduzida 0,3 mM, dehidroascorbato (DHA) 0,1 mM e EDTA 0,001 mM. A leitura foi realizada no espectrofotômetro a 265 nm, observando-se o aumento na absorbância, que indica a formação de ascorbato (NAKANO; ASADA, 1981). A atividade da DHAR foi determinada em  $\mu\text{mol AsA min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$  proteína.

Para a redutase do monodeidroascorbato (MDHAR) sua atividade foi quantificada de acordo com metodologia proposta por Hossain, Nakano e Asada (1984). Para tanto, uma alíquota do extrato enzimático foi adicionada a um meio contendo tampão Tris-HCl 50 mM e pH 7,6, ácido ascórbico 2,5 mM e NADH 0,1 mM. A reação foi analisada pelo decréscimo na absorbância a 340 nm devido à oxidação do NADH.

## **2.4 Extração e quantificação do teor de peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) e malondialdeído (MDA)**

Para a quantificação de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e MDA, 200 mg de tecido foliar foi macerado em nitrogênio líquido e PVPP, sendo homogeneizados em ácido tricloroacético (TCA) 0,1% (m/v) e centrifugados a 10000 g por 15 minutos, a 4°C. A concentração de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> foi obtida por espectrofotometria de acordo com Velikova, Yordanov e Edreva (2000). Já para concentração de MDA, utilizou-se a metodologia proposta por Buege e Aust (1978).

## **2.5 Extração e quantificação de ascorbato**

Para a quantificação da concentração de ascorbato nas folhas e raízes, utilizou-se protocolo estabelecido por Arakawa et al. (1981), onde 50 mg de tecido foliar fresco foram macerados em nitrogênio líquido com PVPP e posteriormente homogeneizado em 1500 de ácido tricloroacético (TCA) 5% (m/v), em seguida o homogeneizado foi centrifugado a 13000 g, por 15 minutos, a 4°C. Posteriormente foi retirado uma alíquota do sobrenadante (20 µL) e adicionada ao meio de reação contendo TCA 5% (m/v), etanol 99,8% (v/v), ácido fosfórico (H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>) 0,4% em etanol (v/v), bathophenantrolina 0,5% em etanol (p/v) e FeCl<sub>3</sub> 0,03% em etanol (m/v). Após homogeneizada, a mistura foi incubada, a 30°C, por 90 minutos. A concentração de ascorbato nas folhas foi determinada de acordo com a absorvância das amostras a 534 nm, com base na curva-padrão com concentrações conhecidas.

## **2.6 Extração e quantificação das biomoléculas do metabolismo primário**

No fim do período de estresse, para a extração das biomoléculas do metabolismo primário, a terceira e quarta folha abaixo da folha bandeira e fragmentos de raízes com 10 cm a partir do ápice radicular foram coletadas. As amostras foram secadas em estufa de circulação forçada a ± 65 °C até atingir massa constante e moídas em moinho. Posteriormente, homogeneizou-se 200 mg do tecido foliar seco, previamente processado, em tampão fosfato de potássio 0,1 M (pH 7,0), e, em seguida, os extratos foram incubados em banho-maria por 30 minutos, à 40 °C. Logo, o extrato foi centrifugado a 1000 g durante 20 minutos, sendo o sobrenadante coletado e o processo repetido uma vez e os sobrenadantes combinados. Após a coleta do sobrenadante o material foi armazenado a -20°C. O pellet foi utilizado para a extração de amido.

Utilizou-se alíquotas desses sobrenadantes para analisar a concentração dos açúcares solúveis totais (AST) pelo método de antrona (YEMM; WILLIS, 1954), açúcares redutores (AR) pelo método do ácido dinitrosalicílico - DNS (MILLER, 1959), proteínas totais pelo método de Bradford (BRADFORD, 1976) e aminoácidos pelo método da ninhidrina (YEMM; COCKING; RICKETTS, 1955). O conteúdo de sacarose nas folhas foi estimado pela diferença entre a concentração de AST e dos AR.

A extração do amido foi realizada pela ressuspensão do pellet em tampão acetato de potássio, pH 4,8. Posteriormente, foi adicionada a enzima amiloglucosidase ( $1 \text{ mg mL}^{-1}$ ) no meio, prosseguindo-se à incubação em banho-maria a  $40^{\circ}\text{C}$  por duas horas. Após a reação, centrifugou-se as amostras a  $5.000 \text{ g}$  por 20 minutos e coletou-se o sobrenadante, que teve seu volume completado com água para 15mL. A quantificação de amido foi realizada pelo método da antrona (YEMM; WILLIS, 1954). A curva padrão para a determinação espectrofotométrica dos carboidratos foi preparada com D-glicose.

## **2.7 Extração e quantificação de prolina**

A quantificação da concentração de prolina nas folhas foi realizada com base na metodologia proposta por Bates, Waldren e Teare (1973). Para tal, foram macerados 100 mg de tecido foliar seco em ácido sulfosalicílico 3%. Os extratos obtidos foram homogeneizados à temperatura ambiente durante 60 minutos e, posteriormente, filtrados com papel de filtro. As alíquotas obtidas após a filtração reagiram com solução composta por 2 mL de ninhidrina ácida e 2 mL de ácido acético glacial em tubo de ensaio durante 1 hora a  $100^{\circ}\text{C}$ . A concentração de prolina nas folhas foi determinada de acordo com a absorbância das amostras a 520 nm e com base na curva-padrão com concentrações conhecidas de prolina.

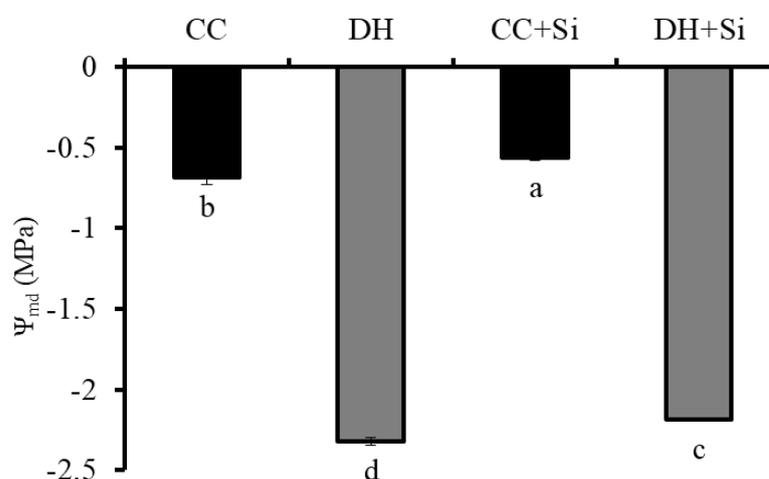
A relação prolina/ aminoácido foi calculada a partir dos danos de aminoácido total e prolina total. Assim sendo, foi dividido o conteúdo de prolina pelo de aminoácidos e o resultado multiplicado por mil.

Após a obtenção dos dados, aplicaram-se testes estatísticos preliminares para adequação, ou não, dos resultados a análise da variância (ANOVA). O teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade, foi utilizado para testar todo e qualquer contraste entre os tratamentos.

### 3 RESULTADOS

Após os dozes dias de déficit hídrico foi verificada uma drástica redução no potencial hídrico foliar das plantas de sorgo que estavam sob déficit hídrico, independente da aplicação de Si (FIGURA 1). No entanto, as plantas tratadas com Si exibiram valores de potencial hídrico foliar superiores às que não receberam Si, tanto sob déficit hídrico (DH) quanto em capacidade de campo (CC).

Figura 1 - Potencial hídrico foliar ao meio dia em plantas de sorgo submetidas a diferentes regimes de água, tratadas ou não tratadas com Si (CC – capacidade de campo; DH – déficit hídrico; CC + Si – tratadas com Si e sob capacidade de campo; DH + Si – tratadas com Si e sob déficit hídrico).



As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade. As barras representam o erro padrão da média de seis repetições.

Fonte: Do autor (2018).

A seca promoveu alterações nos padrões de distribuição de carboidratos (TABELA 1). Nas folhas de plantas sob déficit hídrico ocorreu um aumento no conteúdo de amido, AST, AR e sacarose em relação aos seus respectivos controles irrigados. Verificou-se também que as plantas tratadas com Si apresentavam maiores teores amido, AST, AR e sacarose do que aquelas que não receberam Si, independente do regime hídrico.

Na raiz foi observado comportamento semelhante ao encontrado em folhas, quando ocorreu um aumento no conteúdo de amido, AST, AR e sacarose nas plantas sob DH em relação aos seus respectivos controles irrigados. Verificou-se ainda que plantas tratadas com Si exibiram mais amido em relação aquelas não tratadas em ambas as condições hídricas. Ao contrário do amido, os maiores níveis AST e sacarose foram encontrados em plantas sob DH

e não tratadas com Si. Os níveis de AR nas raízes não foram influenciados pelo tratamento com Si.

Tabela 1 - Macro e micromoléculas em folhas e raízes de plantas de sorgo submetidas ao déficit hídrico e tratadas com Si no pré-florescimento.

	Folha			
	CC	DH	CC+Si	DH+Si
Amido*	39.84 d	61.07 b	50.35 c	78.16 a
AST*	138.28 d	275.03 b	204.02 c	362.95 a
AR*	91.75 d	149.06 b	112.45 c	168.59 a
Sacarose*	46.52 d	125.97 b	91.58 c	194.36 a
Proteína total**	17.30 c	17.14 c	22.08 a	19.58 b
AA total***	224.30 b	204.82 b	196.79 b	257.09 a
Prolina***	21.70 c	121.26 a	20.52 c	99.90 b
Prolina/AA	9.80 c	59.18 a	7.98 c	49.57 b
	Raiz			
	CC	DH	CC+Si	DH+Si
Amido*	91.33 c	147.74 b	137.83 b	239.27 a
AST*	176.85 c	522.16 a	140.49 c	427.00 b
AR*	49.05 b	115.60 a	71.94 b	126.33 a
Sacarose*	127,8 c	406,56 a	68,55 d	300,67 b
Proteína total**	3.56 b	4.71 a	4.59 a	4.71 a
AA total***	28.29 c	44.24 a	32.98 b	36.38 b
Prolina***	2.16 c	16.30 a	2.96 c	7.00 b
Prolina/AA	0.95 c	7.97 a	1.16 c	3.74 b

Fonte: Do autor (2018).

Legenda: CC: Capacidade de campo. DH: déficit hídrico. Amido, Açúcares solúveis totais (AST); Açúcares Redutores (AR); Sacarose; proteínas totais; Aminoácidos totais (AA total); prolina e relação prolina/ aminoácidos (Prolina/AA). \*  $\mu\text{g}$  de glicose  $\text{g}^{-1}$  MS; \*\*  $\mu\text{g}$  proteína  $\text{g}^{-1}$  MS; \*\*\*  $\mu\text{mol}$   $\text{g}^{-1}$  MS. As médias seguidas pela mesma letra na linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott Knott not a 5% de probabilidades.

Os níveis de proteínas aumentaram nas folhas de plantas tratadas com Si, sendo esse aumento mais expressivo nas plantas em CC, que exibiram os maiores níveis de proteínas nas folhas em relação aos demais tratamentos. Os tratamentos que não receberam Si não

apresentaram diferença entre si para essa variável. A seca e o Si induziram aumentos nos níveis de aminoácidos totais nas plantas em CC, no entanto, os maiores níveis foram observados nas plantas em DH que não receberam Si. O teor de prolina e a relação prolina/AA aumentaram com o DH, independente do tratamento com Si. No entanto, nessa condição hídrica, as plantas não tratadas com Si dispunham de maiores níveis de prolina e maior relação prolina/AA quando comparado àquelas tratadas com silício. Em contrapartida, não houve diferenças nos níveis de prolina bem como para relação prolina/AA entre os tratamentos sob CC.

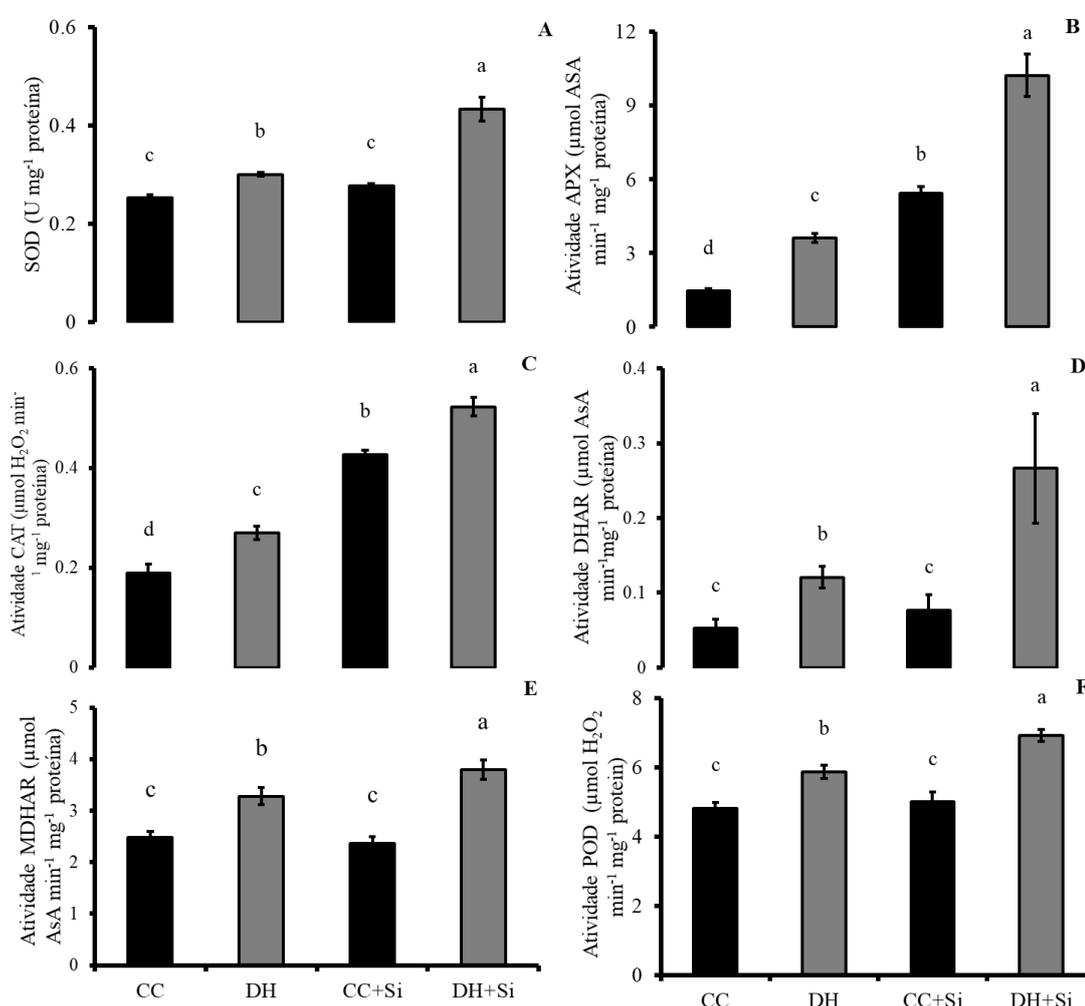
Nas raízes, assim como nas folhas, os níveis de proteína foram influenciados pelo Si, visto que plantas tratadas com Si sob CC apresentaram maior conteúdo de proteína total em relação àquelas não tratadas. Verificou-se ainda, que a seca induziu aumento nos níveis de proteínas em plantas estressadas, uma vez que plantas sob DH não tratadas com Si aumentaram seus níveis de proteínas em comparação ao CC. O conteúdo de aminoácidos totais seguiu padrão semelhante ao de proteínas, demonstrando a influência do Si no metabolismo do nitrogênio. No entanto, aqui é importante ressaltar que a seca também foi um fator importante, pois os maiores teores de aminoácidos foram verificados nas plantas estressadas não tratadas com Si.

Por outro lado, houve um aumento de prolina nas raízes em decorrência de DH. No entanto, o Si levou à menor produção de prolina em plantas DH + Si em relação às plantas DH. No que se refere à relação Prolina/AA, nas folhas e nas raízes foi aumentada pelo DH, independente do tratamento com Si. Plantas tratadas com Si e submetidas ao DH apresentaram menor relação prolina/aa do que as plantas não tratadas.

A seca e o Si influenciaram significativamente o metabolismo antioxidante enzimático. Assim sendo, verificou-se que a atividade da SOD (FIGURA 2A) foi aumentada com o DH e esse aumento foi maior nas plantas tratadas com Si. Em CC, a atividade da SOD foi semelhante entre os tratamentos. A atividade de APX (FIGURA 2B) e CAT (FIGURA 2C) apresentaram padrões semelhantes. Assim sendo, verificou-se que a seca induziu aumentos na atividade dessas peroxidases em relação aos seus controles na CC. Uma forte influência do Si foi também observada, visto que plantas estressadas e tratadas com Si possuíam maior atividade da APX e CAT em relação a todos os tratamentos. A capacidade do Si em estimular a atividade dessas enzimas é verificada ainda ao observar as plantas na CC e tratadas com Si, pois essas apresentaram maior atividade da APX e CAT até mesmo com relação aquelas plantas sob DH e não tratadas com Si. A atividade das enzimas DHAR (FIGURA 2D), MDHAR (FIGURA E) e POD (FIGURA 2F) seguiram o mesmo padrão.

Assim sendo, foi verificado um aumento em suas atividades com a seca, no entanto, esse aumento foi mais expressivo em plantas estressadas tratadas com Si. Em CC não foi verificado efeitos do Si sobre suas atividades.

Figura 2 - Atividade das enzimas do sistema antioxidante enzimático (dismutase do superóxido (SOD) - A; peroxidase do ascorbato (APX) - B; catalase (CAT) - C; redutase do dehidroascorbato (DHAR) - D; redutase do monodehidroascorbato (MDHAR) - E; peroxidase do guaiacol (POD) - F) em folhas de plantas de sorgo submetidas a diferentes regimes de água, tratadas ou não tratadas com Si (CC – capacidade de campo; DH – déficit hídrico; CC + Si – tratadas com Si e sob capacidade de campo; DH + Si – tratadas com Si e sob déficit hídrico).



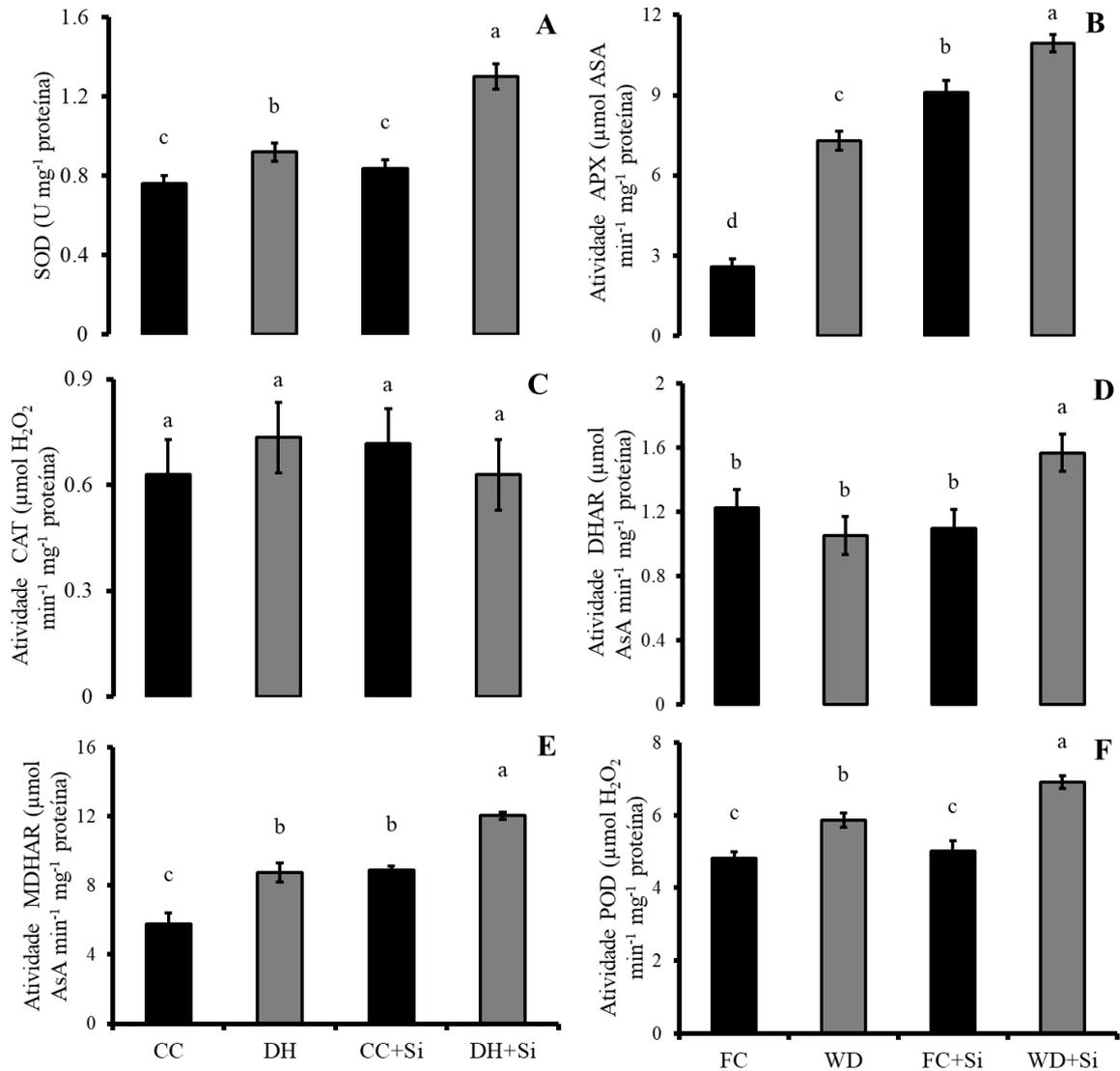
As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade. As barras representam o erro padrão da média de seis repetições.

Fonte: Do autor (2018).

Na raiz, verificou-se um aumento na atividade da SOD (FIGURA 3A) e APX (FIGURA 3B) com o DH, esse aumento foi ainda maior em plantas DH + Si. Na APX foi constatado ainda influência do Si em plantas na CC, visto que essas apresentam valores

superiores ao de plantas sob DH não tratadas com Si. A atividade da CAT (FIGURA 3C) não diferiu entre os tratamentos. Por outro lado, a DHAR (FIGURA 3D) teve sua atividade aumentada em plantas sob DH + Si. A MDHAR (FIGURA 3E) foi fortemente influenciada tanto pela seca quanto pelo Si. Assim sendo, verificou-se um aumento em todas as plantas estressadas, porém plantas tratadas com Si exibiam maior atividade da enzima nessa condição hídrica. A influência do Si sobre a atividade dessa enzima foi tanto, que as plantas em CC tratadas com esse mineral, exibiram valores semelhantes à daquelas em DH e não tratadas com Si. A POD (FIGURA 3F) assim como a SOD, aumentou sua atividade com o estresse e seu aumento foi superior em plantas tratadas com Si. Em CC não houve diferenças significativas na sua atividade.

Figura 3 - Atividade das enzimas do sistema antioxidante enzimático (dismutase do superóxido (SOD) - A; peroxidase do ascorbato (APX) - B; catalase (CAT) - C; redutase do dehidroascorbato (DHAR) - D; redutase do monodehidroascorbato (MDHAR) - E; peroxidase do guaiacol (POD) - F) em raízes de plantas de sorgo submetidas a diferentes regimes de água, tratadas ou não tratadas com Si (CC – capacidade de campo; DH – déficit hídrico; CC + Si – tratadas com Si e sob capacidade de campo; DH + Si – tratadas com Si e sob déficit hídrico).



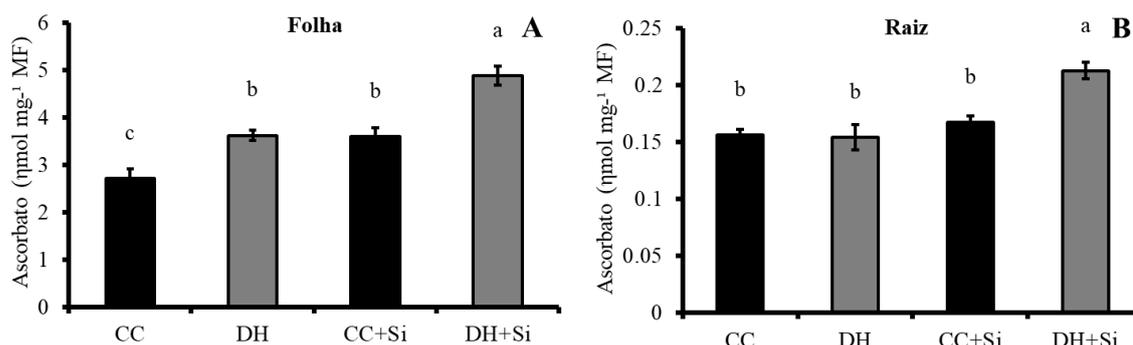
As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade. As barras representam o erro padrão da média de seis repetições.

Fonte: Do autor (2018).

Os níveis do antioxidante ascorbato foi aumentado significativamente com a suplementação com Si bem como com a seca em folhas e raízes (FIGURA 4). Especificamente em folhas, houve um aumento em plantas estressadas em relação aos seus controles irrigados. Ainda nessa condição, plantas tratadas com Si apresentaram maiores níveis de ascorbato. O Si induziu aumentos até mesmo em plantas irrigadas, as quais

sintetizaram ascorbato em concentrações superiores a de suas plantas controle irrigadas e semelhante a das plantas estressadas não tratadas com silício. Na raiz, o aumento nos níveis de ascorbato ocorreu apenas em plantas estressadas e tratadas com silício.

Figura 4 - Níveis de ascorbato em folhas (A) e raízes (B) de plantas de sorgo submetidas a diferentes regimes de água, tratadas ou não tratadas com Si (CC – capacidade de campo; DH – déficit hídrico; CC + Si – tratadas com Si e sob capacidade de campo; DH + Si – tratadas com Si e sob déficit hídrico).



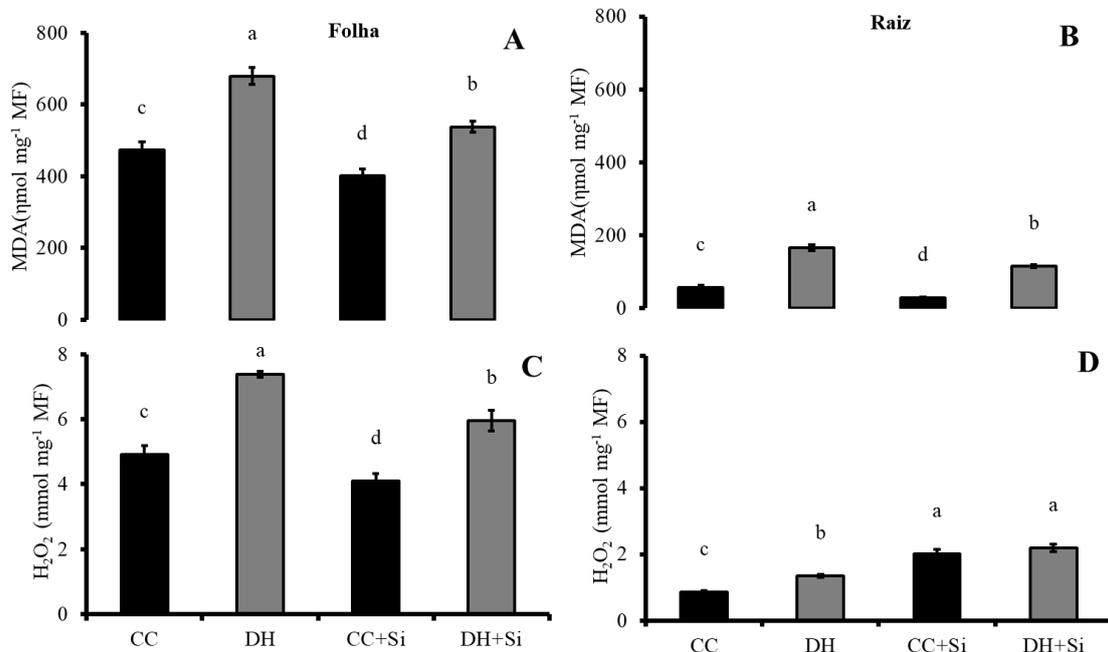
As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade. As barras representam o erro padrão da média de seis repetições.

Fonte: Do autor (2018).

Diante das alterações no metabolismo antioxidante enzimático e não enzimático, investigou-se os níveis de peróxido de hidrogênio e de danos oxidativos através da quantificação dos níveis de MDA. Diante disso, constatou-se que a seca aumenta a peroxidação lipídica nas folhas (FIGURA 5A) bem como incrementa os níveis de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (FIGURA 5C). Entretanto, constatou-se que plantas que receberam a suplementação com Si exibiam menores níveis de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> bem como menores danos oxidativos. Interessantemente, em capacidade de campo também foi verificado esse mesmo comportamento.

Na raiz os níveis de MDA (FIGURA 5 B) apresentou o mesmo comportamento verificado em folhas. Por outro lado, os níveis de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> aumentou nas plantas do tratamento DH em relação às CC não suplementadas com silício. As plantas tratadas com Si não apresentaram diferenças significativas em seus valores de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (FIGURA 5 D), porém exibiram concentrações superiores a aquelas não suplementadas com Si.

Figura 5 - Níveis de Malondialdeído - MDA (A-folhas, B-raízes) e peróxido de hidrogênio -  $H_2O_2$  (C folha, D-Raízes) de plantas de sorgo submetidas de plantas de sorgo submetidas a diferentes regimes de água, tratadas ou não tratadas com Si (CC – capacidade de campo; DH – déficit hídrico; CC + Si – tratadas com Si e sob capacidade de campo; DH + Si – tratadas com Si e sob déficit hídrico).



As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade. As barras representam o erro padrão da média de seis repetições.

Fonte: Do autor (2018).

## 4 DISCUSSÃO

A deficiência hídrica no solo compromete significativamente o crescimento e produção do vegetal, uma vez que promove distúrbios metabólicos que comprometem processos importantes como fotossíntese, particionamento de carbono, respiração e metabolismo do nitrogênio (FLEXAS et al., 2006). No entanto, nesse estudo a suplementação mineral com Si reduziu os efeitos negativos da seca no metabolismo vegetal.

Nesse contexto, observou-se que plantas suplementadas com Si exibiram maiores níveis de amido, AST, AR e sacarose em suas folhas em ambas as condições hídricas. Esse aumento pode ser explicado pela maior taxa fotossintética exibida por essas plantas (FIGURA 2-A, CAPÍTULO 3), uma vez que uma maior produção de fotoassimilados corrobora para maior biossíntese e acúmulo desses carboidratos nas folhas e raízes (OGBAGA; STEPIEN; JOHNSON, 2014). Aqui, é importante ressaltar que, açúcares podem atuar na proteção contra os danos oxidativos causado por EROs, tais como  $^1\text{O}_2$ ,  $\text{O}_2^-$  e  $\text{OH}^-$ , as quais não são eliminadas por vias enzimáticas (OGBAGA et al., 2016). Assim sendo, sugere-se que o aumento de açúcares nas folhas pode ter promovido uma maior proteção das moléculas e membranas celulares da oxidação, propiciando melhorias na homeostase celular dessas plantas.

Em relação ao maior acúmulo dos carboidratos em folhas e raízes das plantas sob déficit hídrico deve-se levar em conta o estágio de desenvolvimento em que as plantas de sorgo estavam no momento do déficit hídrico. A seca foi imposta no pré-florescimento, estágio em que a planta já tinha praticamente estabelecido seu crescimento vegetativo. Desse modo, o dreno mais forte das plantas de sorgo nesse momento é a formação dos órgãos reprodutivos, cujo desenvolvimento fica comprometido pela seca. Com isso, a planta perde sua eficiência de particionamento de carbono e passa a acumular mais carboidratos nas folhas, colmo e raízes (AVILA et al., 2016; LAVINSKY et al., 2015). Assim, as plantas sob déficit hídrico e suplementadas com Si, por exibirem maior fotossíntese, acumulavam ainda mais carboidratos do que plantas estressadas e não suplementadas com Si. Para tanto, é importante destacar que a redução na produção em decorrência do déficit hídrico, não está ligada à falta de energia, mas ao comprometimento no particionamento de carboidratos nessas plantas.

De fato, Zinselmeier, Jeong e Boyer (1999) verificaram que durante baixos potenciais hídricos ocorre uma drástica redução na atividade da invertase ácida de parede no carpelo dos grãos de milho. Diante disso, o descarregamento de sacarose reduz, comprometendo o desenvolvimento do embrião e o acúmulo de amido no endosperma da semente. O trabalho de Mclaughlin e Boyer (2004) complementa esses resultados ao observarem durante o déficit

hídrico uma drástica redução da atividade de invertases de parede, gradiente de glicose e abortamento de flores.

O Si exerceu efeitos positivos ainda sobre moléculas nitrogenadas, uma vez que plantas tratadas com Si apresentaram maiores níveis de proteínas nas folhas do que aquelas não tratadas. Esse aumento pode estar ligado à biossíntese de proteínas do aparato fotoquímico bem como de proteínas que participam do processo bioquímico de assimilação do carbono. Dentre essas proteínas está a Rubisco, uma vez que plantas tratadas com Si exibiram maior eficiência de carboxilação quando comparadas a seus respectivos controles que não receberam Si (FIGURA 2-E, CAPITULO 3), sugerindo que possa ter ocorrido um aumento no pool de Rubisco nas folhas dessas plantas. Ressalta-se ainda, que o Si aumentou a atividade das enzimas no metabolismo antioxidante tanto em plantas irrigadas quanto estressadas. Assim sendo, o aumento nos níveis de proteínas totais pode estar ligado também ao aumento na biossíntese dessas enzimas. No entanto, sugere-se que trabalhos futuros efetuem uma análise proteômica para identificar especificamente quais são as proteínas que estão aumentando com o tratamento com seca e silício, pois o aumento da atividade de enzimas pode ocorrer pelo aumento nos níveis de substrato, cinética de ativação e pelo aumento no seu pool (BISSWANGER, 2017).

Comportamento semelhante foi verificado em raízes, diferindo somente que nesse órgão os níveis de proteínas aumentaram também nas plantas estressadas não tratadas com silício. Durante o déficit hídrico ocorre uma mudança no padrão de biossíntese de proteínas principalmente em raízes, uma vez que nesse órgão há a necessidade de ajustamento osmótico e hidráulico. Para tanto, é normal observar o aumento no conteúdo de proteínas canais como aquaporinas (GARG et al., 2018) e de proteínas de ajustamento osmótico como as late embryogenesis abundant - LEAs (ZAMORA-BRISEÑO; JIMÉNEZ, 2016), deidrinas e outras proteínas correlacionadas com a dessecação do tecido (OSAKABE et al., 2014).

O processo de ajustamento osmótico pode estar relacionado ainda com os maiores níveis de aminoácidos encontrados nas folhas de plantas estressadas e tratadas com Si e de plantas estressadas não tratadas com Si nas raízes. Inclusive, foi verificado tanto em folhas como em raízes, um aumento de aproximadamente 85% no conteúdo de prolina em plantas sob seca em relação aquelas irrigadas. No entanto, nessa condição hídrica, tanto em folha quanto nas raízes, os níveis de prolina foram menores nas plantas suplementadas com Si. Isso demonstra que esse aminoácido é altamente responsivo e correlacionado com a desidratação de tecido durante a seca, visto que plantas suplementadas com Si exibiram maior potencial hídrico foliar e menor conteúdo de prolina. Além disso, pode-se observar que plantas sob

estresse investiam um conteúdo significativamente maior de seus aminoácidos totais para o biossíntese de prolina, no entanto, esse número foi menor em plantas estressadas suplementadas com silício.

Diante disso, sugere-se a prolina como um importante oscilador fisiológico durante condições de déficit hídrico em sorgo, visto que seus níveis se correlacionam com a desidratação do tecido vegetal (SILVA et al., 2011). De fato, a prolina tem sido relatada como um aminoácido multifuncional no metabolismo celular durante condições de estresses ambientais, visto que pode atuar como um agente osmótico inerte e compatível que contribui para o ajustamento osmótico do tecido. Além disso, apresenta papel de chaperona molecular estabilizando proteínas e evitando suas desconfiguração e aglomeração (HAYAT et al., 2012; SZABADOS; SAVOURE, 2010).

É importante ressaltar ainda que, durante o déficit hídrico ocorre uma alta produção de EROs nos cloroplastos pela fotossíntese, mitocôndrias durante a respiração, peroxissomos pela hidrólise lipídica e/ou fotorrespiração, as quais podem causar graves danos oxidativos as células quando não controladas (GILL; TUTEJA, 2010). Nesse cenário, a prolina desempenha também um importante papel, pois no seu processo de biossíntese ocorre um alto consumo de equivalente redutores, o que contribui para homeostase redox, e menor formação de EROs. Ademais, tem sido verificado que além de evitar a formação de EROs, a prolina atua como uma molécula antioxidante capaz de desativar o oxigênio singleto, uma EROs altamente tóxica ao metabolismo celular quando em altas concentrações (HAYAT et al., 2012.; KAUR; ASTHIR, 2015).

Os sistemas antioxidantes enzimático e não enzimático também são considerados como mecanismos fisiológicos altamente correlacionados com a tolerância à seca, visto que são importantes mecanismos responsáveis pela eliminação de EROs (KUNDU et al., 2018). Diante disso, observa-se mais uma vez a capacidade do Si em induzir tolerância à seca, visto que as plantas estressadas e suplementadas com Si exibiam, principalmente nas folhas maior atividade da SOD, CAT, APX, DHAR, MDHAR e POD. Inclusive, a APX e CAT tiveram suas atividades aumentadas até mesmo em plantas irrigadas. A SOD possui um papel central no metabolismo oxidativo, pois sua ação dismuta o radical superóxido em peróxido de hidrogênio. É dito um duplo papel, pois ao mesmo tempo que elimina o superóxido que é uma ERO altamente danosa, produz o peróxido de hidrogênio que, em baixas concentrações, é um importante mensageiro secundário (RIO et al., 2018).

A biossíntese de peróxido de hidrogênio pode ocorrer ainda pela via fotorrespiratória que, durante o déficit hídrico, pode ser intensificada. Assim, quando as duas vias são

intensificadas, inevitavelmente, o pool de  $H_2O_2$  pode chegar a níveis tóxicos ao metabolismo. Com o aumento de  $H_2O_2$ , as primeiras enzimas a atuarem são as que compõem o ciclo ascorbato-glutationa (APX, DHAR, MDHAR e GR), onde o  $H_2O_2$  é reduzido a água e oxigênio pela APX. No entanto, com a elevação nas concentrações de  $H_2O_2$ , ocorre uma redução na atividade da APX por mecanismo de feedback negativo (SHARMA et al., 2012). A partir daí, o papel de desintoxicar o metabolismo é assumido por outras peroxidases como a CAT e POD, que atuam em concentrações maiores de  $H_2O_2$ . Essas enzimas, assim como a APX convertem o peróxido de hidrogênio a água e oxigênio (GILL; TUTEJA, 2010).

Diante disso, é possível notar que durante o déficit hídrico as plantas de sorgo apresentam uma tripla defesa na eliminação de  $H_2O_2$ , visto que elevam a atividade das peroxidases APX, CAT e POD. No entanto, é importante ressaltar que o Si estimulou ainda mais essas peroxidases. Isso explica os menores danos oxidativos expressos em níveis de MDA observados em folhas e raízes das plantas tratadas com Si. Além disso, confirma o papel do Si como um elemento importante não apenas como um indutor de tolerância à seca, mas também como benéfico para o crescimento do vegetal mesmo em condições de água adequadas (EPSTEIN, 1999).

Essa observação chama muito a atenção, pois as plantas no dia a dia estão sujeitas a inúmeros agentes ambientais estressantes, uns em maior intensidade outros em menores, no entanto, isolados ou em conjunto, reduzem significativamente o rendimento potencial de diferentes culturas, inclusive do sorgo. Assim, a fertilização com Si torna-se uma alternativa prática e barata para melhorar o desempenho das culturas agrícolas no campo (COSKUN et al., 2016).

Ao observar os níveis de peróxido de hidrogênio em folhas e raízes de plantas estressadas, é possível notar que em folhas suas concentrações assim como as de MDA são em torno de quatro vezes maiores em relação ao verificado em raízes. Diante disso, nota-se que o estresse, é mais acentuado em folhas do que em raízes. Isso é válido, uma vez que ao terem seu potencial hídrico reduzido, as folhas reduzem a perda de calor latente e ainda diminuem a eficiência fotoquímica, o que propicia um ambiente de alto estresse (REDDY; CHAITANYA; VIVEKANANDAN, 2004). Os menores níveis de  $H_2O_2$  ajuda a entender ainda o porquê a CAT não teve sua atividade aumentada nas raízes. A CAT é uma enzima de baixa afinidade pelo peróxido, diante disso, para que ela seja ativada são necessários altos níveis de peróxido. Por outro lado, a APX por ser uma peroxidase de alta afinidade pelo peróxido é ativada rapidamente com as oscilações nos níveis de peróxido de hidrogênio (SHARMA et al., 2012).

Assim, diante dos danos oxidativos, atividade das enzimas antioxidantes e níveis de  $H_2O_2$ , sugere-se que uma das linhas de sinalização do Si em plantas, seja a via de  $H_2O_2$ , visto que as raízes das plantas tratadas com Si exibiram valores semelhantes de  $H_2O_2$ , porém maiores que aquelas não tratadas. No entanto, esse aumento não foi prejudicial, visto que apresentaram menores níveis de MDA, indicando que as membranas celulares foram eficientemente protegidas pela SOD, APX, DHAR, MDHAR e POD e que o peróxido estava sendo produzido possivelmente como um agente sinalizador. De fato, as EROs, especialmente o peróxido de hidrogênio, têm sido propostas como um componente central de adaptação de plantas a estresses bióticos e abióticos (DAT et al., 2000).

Além do sistema antioxidante enzimático, o sistema antioxidante não enzimático também é um mecanismo usado pelas plantas de sorgo durante a seca, visto que houve um aumento expressivo nos níveis de ascorbato em todas as plantas sob déficit hídrico, tanto em folhas como raízes. Entretanto, em folhas esse aumento foi em torno de 95% maior do que em raízes. Ressalta-se ainda, o que o Si possa atuar na via de biossíntese de ascorbato, uma vez que plantas tratadas com Si exibiam maiores níveis desse antioxidante não enzimático quando comparado àquelas que não foram suplementadas com silício. Em folhas esse aumento foi tanto que, plantas irrigadas tratadas com Si apresentaram valores semelhantes às plantas estressadas não tratadas com silício. Isso demonstra claramente o papel benéfico do Si para a cultura do sorgo, pois é verificado que o ascorbato é um importante regulador do crescimento e desenvolvimento de plantas (AHMAD et al., 2010), sendo ainda, altamente correlacionado com a tolerância à seca (YANG et al., 2008).

Sua participação na tolerância a seca está relacionada com mitigação dos danos oxidativos causados por EROs como oxigênio singlete, superóxido, radical hidroxila e peróxido de hidrogênio através de sua neutralização que pode ocorrer por duas vias dinâmicas, a enzimática e a não-enzimática (GILL; TUTEJA, 2010). Na via enzimática, duas moléculas de ascorbato serão utilizadas pela APX no ciclo ascorbato-glutationa para reduzir o  $H_2O_2$  a água, com a concomitante geração de monodehidroascorbato. Nesse ciclo, além de desativação do peróxido de hidrogênio, ocorre um alto consumo de poder redutor pelas enzimas MDHAR e GR. Assim sendo, além de atuar na eliminação de EROs o ciclo ascorbato-glutationa é um mecanismo importante para evitação da formação de EROs, uma vez que contribui com a dissipação do excesso de energia fotoquímica que ocorre durante o déficit hídrico (SUO et al., 2017).

Além de seu papel como co-fator enzimático no metabolismo antioxidante, como antioxidante não-enzimático, o ascorbato atua regenerando o tocoferol a partir do radical

tocoferoxil, como um mecanismo protetor de membranas (AHMAD et al., 2010). O ascorbato também atua como cofator da violaxantina de-epoxidase, sustentando assim a dissipação do excesso de energia de excitação, em um processo de suma importância para prevenção da formação de EROs durante condições de estresse (FOYER; NOCTOR, 2005).

## 5 CONCLUSÕES

O Si atenua o déficit hídrico de plantas de sorgo pelo aumento na atividade enzimática antioxidante, além de antioxidantes não enzimáticos e substâncias osmoprotetoras.

Plantas tratadas com Si apresentaram menores danos às membranas celulares, que foram comprovados pela menor peroxidação lipídica.

Efeitos benéficos do Si se estendem às plantas que não passaram pelo déficit hídrico.

O Si parece utilizar a via de peróxido como sinalização para regular respostas metabólicas.

## REFERÊNCIAS

- AHMAD, P. et al. Roles of enzymatic and nonenzymatic antioxidants in plants during abiotic stress. **Critical Reviews in Biotechnology**, Boca Raton, v. 30, n. 3, p. 161-175, Sept. 2010.
- ALVAREZ, J.; DATNOFF, L. E. The economic potential of silicon for integrated management and sustainable rice production. **Crop Protection**, Guildford, v. 20, n. 1, p. 43-48, Feb. 2001.
- ARAKAWA, N. et al. Separative determination of ascorbic acid and erythorbic acid by high-performance liquid chromatography. **Journal of Nutritional Science and Vitaminology**, Tokyo, v. 27, n. 1, p. 1-7, 1981.
- ARAUS, J. L.; SERRET, M. D.; EDMEADES, G. Phenotyping maize for adaptation to drought. **Frontiers in Physiology**, Lausanne, v. 3, p. 305, Aug. 2012.
- ASKARI, E.; EHSANZADEH, P. Mitigação do estresse hídrico através da aplicação foliar de ácido salicílico e seus efeitos interativos nas características fisiológicas dos genótipos de erva-doce (*Foeniculum vulgare* Mill.). **Acta Physiologiae Plantarum**, Warszawa, v. 37, n. 2, p. 4, 2015.
- ASSEFA, Y.; STAGGENBORG, S. A.; PRASAD, V. P. V. Grain sorghum water requirement and responses to drought stress: a review. **Crop Management**, v. 9, n. 1, p. 1-11, Nov. 2010.
- AVILA, R. G. A. et al. Drought-tolerant maize genotypes invest in root system and maintain high harvest index during water stress. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 15, n. 3, p. 450-460, 2016.
- BATES, L. S.; WALDREN, R. P.; TEARE, I. D. Rapid determination of free proline for water-stress studies. **Plant and Soil**, The Hague, v. 39, n. 1, p. 205-207, Aug. 1973.
- BHARGAVA, S.; SAWANT, K. Drought stress adaptation: metabolic adjustment and regulation of gene expression. **Plant Breeding**, Berlin, v. 132, n. 1, p. 21-32, Feb. 2013.
- BIEMELT, S.; KEETMAN, U.; ALBRECHT, G. Re-aeration following hypoxia or anoxia leads to activation of the antioxidative defense system in roots of wheat seedlings. **Plant Physiology**, Lancaster, v. 116, n. 2, p. 651-658, Feb. 1998.
- BISSWANGER, H. **Enzyme kinetics: principles and methods**. 3. ed. New York: John Wiley & Sons, 2017. 336 p.
- BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, Orlando, v. 72, n. 1/2, p. 248-254, May 1976.
- BUEGE, J. A.; AUST, S. D. Microsomal lipid peroxidation. In: QIN, P. Z. **Methods in enzymology**. New York: Academic Press, 1978. p. 302-310.
- COSKUN, D. et al. The role of silicon in higher plants under salinity and drought stress. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v. 7, p. 1072, 2016.

CRESPO-HERRERA, L. A. et al. Genetic gains for grain Yield in CIMMYT's Semi-arid wheat yield trials grown in suboptimal environments. **Crop Science**, Madison, v. 58, p. 1890-1898, Sept./Oct. 2018.

DAT, J. et al. Dual action of the active oxygen species during plant stress responses. **Cellular and Molecular Life Sciences**, Basel, v. 57, n. 5, p. 779-795, May 2000.

DICKO, M. H. et al. Phenolic compounds and related enzymes as determinants of sorghum for food use. **Biotechnology and Molecular Biology Review**, Oxford, v. 1, n. 1, p. 20-37, Apr. 2006.

EPSTEIN, E. Silicon. **Annual Review of Plant Biology**, Palo Alto, v. 50, p. 641-664, June 1999.

ETESAMI, H.; JEONG, B. R. Silicon (Si): review and future prospects on the action mechanisms in alleviating biotic and abiotic stresses in plants. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, Amsterdam, v. 147, p. 881-896, Jan. 2018.

FANG, W.-C.; KAO, C. H. Enhanced peroxidase activity in rice leaves in response to excess iron, copper and zinc. **Plant Science**, Limerick, v. 158, n. 1/2, p. 71-76, Sept. 2000.

FLEXAS, J. et al. Manter um balanço de carbono positivo sob condições adversas: respostas da fotossíntese e respiração ao estresse hídrico. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 127, n. 3, p. 343-352, 2006.

FOYER, C. H.; NOCTOR, G. Oxidant and antioxidant signalling in plants: a re-evaluation of the concept of oxidative stress in a physiological context. **Plant, Cell & Environment**, Hoboken, v. 28, n. 8, p. 1056-1071, Aug. 2005.

GARG, G. et al. A plant aquaporin (SoPIP2; 1): regulatory protein channel in plants under stress. **Octa Journal of Biosciences**, Oxford, v. 6, n. 1, p. 5-8, June 2018.

GIANNOPOLITIS, C. N.; RIES, S. K. Superoxide dismutases: I. Occurrence in higher plants. **Plant Physiology**, Lancaster, v. 59, n. 2, p. 309-314, Feb. 1977.

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

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

HAYAT, S. et al. Role of proline under changing environments: a review. **Plant Signaling & Behavior**, Georgetown, v. 7, n. 11, p. 1456-1466, Nov. 2012.

HOSSAIN, M. A.; NAKANO, Y.; ASADA, K. Monodehydroascorbate reductase in spinach chloroplasts and its participation in regeneration of ascorbate for scavenging hydrogen peroxide. **Plant and Cell Physiology**, Kyoto, v. 25, n. 3, p. 385-395, Apr. 1984.

KAUR, G.; ASTHIR, B. Proline: a key player in plant abiotic stress tolerance. **Biologia Plantarum**, Praha, v. 59, n. 4, p. 609-619, Dec. 2015.

KUNDU, P. et al. Targeting the redox regulatory mechanisms for abiotic stress tolerance in crops. In: WANI, S. H. (Ed.). **Biochemical, physiological and molecular avenues for combating abiotic stress tolerance in plants**. New York: Academic Press, 2018. p. 151-220.

LAVINSKY, A. O. et al. Analysis of maize photosynthesis parameters and whole plant oxidative damage under long-term drought. **Advances in Crop Science and Technology**, London, Suppl. 1, p. 1-6, May 2015.

LI, Z. et al. Silicon enhancement of estimated plant biomass carbon accumulation under abiotic and biotic stresses. A meta-analysis. **Agronomy for Sustainable Development**, Paris, v. 38, n. 3, p. 26, June 2018.

MAFAKHERI, A. et al. Effect of drought stress on yield, proline and chlorophyll contents in three chickpea cultivars. **Australian Journal of Crop Science**, Lismore, v. 4, n. 8, p. 580, 2010.

MCLAUGHLIN, J. E.; BOYER, J. S. Glucose localization in maize ovaries when kernel number decreases at low water potential and sucrose is fed to the stems. **Annals of Botany**, Oxford, v. 94, n. 1, p. 75-86, July 2004.

MILLER, G. L. Modified DNS method for reducing sugars. **Analytical Chemistry**, Washington, v. 31, n. 3, p. 426-428, 1959.

NAKANO, Y.; ASADA, K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. **Plant and Cell Physiology**, Kyoto, v. 22, n. 5, p. 867-880, Aug. 1981.

OGBAGA, C. C. et al. Biochemical analyses of sorghum varieties reveal differential responses to drought. **PloS One**, San Francisco, v. 11, n. 5, p. e0154423, 2016.

OGBAGA, C. C.; STEPIEN, P.; JOHNSON, G. N. Sorghum (*Sorghum bicolor*) varieties adopt strongly contrasting strategies in response to drought. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 152, n. 2, p. 389-401, Oct. 2014.

OSAKABE, Y. et al. Response of plants to water stress. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v. 5, p. 86, Mar. 2014.

REDDY, A. R.; CHAITANYA, K. V.; VIVEKANANDAN, M. Drought-induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, v. 161, n. 11, p. 1189-1202, Nov. 2004.

RIO, L. A. et al. Plant superoxide dismutases: function under abiotic stress conditions. In: GUPTA, D. K.; PALMA, J. M.; CORPAS, F. J. (Ed.). **Antioxidants and antioxidant enzymes in higher plants**. Amsterdam: Springer, 2018. p. 1-26.

SCHOLANDER, P. F. et al. Hydrostatic pressure and osmotic potential in leaves of mangroves and some other plants. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, Washington, v. 52, n. 1, p. 119-125, July 1964.

SHARMA, P. et al. Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. **Journal of Botany**, New York, v. 2012, p. 1-26, 2012.

SILVA, V. A. et al. Resposta fisiológica de clone de café Conilon sensível à deficiência hídrica enxertado em porta-enxerto tolerante. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 45, n. 5, p. 457-464, maio 2011.

SLESIAK, I. et al. The role of hydrogen peroxide in regulation of plant metabolism and cellular signalling in response to environmental stresses. **Acta Biochimica Polonica**, Warszawa, v. 54, n. 1, p. 39-50, 2007.

SUN, Y. et al. Redox imbalance contributed differently to membrane damage of cucumber leaves under water stress and fusarium infection. **Plant Science**, Limerick, v. 274, p. 171-180, Sept. 2018.

SUO, J. et al. Salinity response in chloroplasts: insights from gene characterization. **International Journal of Molecular Sciences**, Basel, v. 18, n. 5, p. E1011, May 2017.

SZABADOS, L.; SAVOURE, A. Proline: a multifunctional amino acid. **Trends in Plant Science**, Kidlington, v. 15, n. 2, p. 89-97, Feb. 2010.

VELIKOVA, V.; YORDANOV, I.; EDREVA, A. Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants: protective role of exogenous polyamines. **Plant Science**, Limerick, v. 151, n. 1, p. 59-66, Feb. 2000.

YANG, Y. et al. Effect of drought and low light on growth and enzymatic antioxidant system of *Picea asperata* seedlings. **Acta Physiologiae Plantarum**, Warszawa, v. 30, n. 4, p. 433-440, July 2008.

YEMM, E. W.; COCKING, E. C.; RICKETTS, R. E. The determination of amino-acids with ninhydrin. **Analyst**, London, v. 80, n. 948, p. 209-214, 1955.

YEMM, E. W.; WILLIS, A. J. The estimation of carbohydrates in plant extracts by anthrone. **Biochemical Journal**, London, v. 57, n. 3, p. 508, July 1954.

ZAMORA-BRISEÑO, J. A.; JIMÉNEZ, E. S. de. A LEA 4 protein up-regulated by ABA is involved in drought response in maize roots. **Molecular Biology Reports**, Dordrecht, v. 43, n. 4, p. 221-228, Apr. 2016.

ZINSELMEIER, C.; JEONG, B.-R.; BOYER, J. S. Starch and the control of kernel number in maize at low water potentials. **Plant Physiology**, Lancaster, v. 121, n. 1, p. 25-36, Sept. 1999.