

**MEIOS DE CULTURA E FONTES DE SILÍCIO  
NO DESENVOLVIMENTO *IN VITRO* DE  
GÉRBERA**

**DIOGO PEDROSA CORRÊA DA SILVA**

**2007**

**DIOGO PEDROSA CORRÊA DA SILVA**

**MEIOS DE CULTURA E FONTES DE SILÍCIO NO  
DESENVOLVIMENTO *IN VITRO* DE GÉRBERA**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração em Fisiologia Vegetal, para a obtenção do título de “Mestre”.

Orientadora:

Profa. Dra. Patrícia Duarte de Oliveira Paiva

LAVRAS  
MINAS GERAIS - BRASIL

2007

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da  
Biblioteca Central da UFLA**

Silva, Diogo Pedrosa Corrêa da.

Meios de cultura e fontes de silício no desenvolvimento *in vitro* de gérbera /  
Diogo Pedrosa Corrêa da Silva. -- Lavras : UFLA, 2007.  
84 p. : il.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, 2007.

Orientador: Patrícia Duarte de Oliveira Paiva.

Bibliografia.

1. *Gerbera jamesonii*. 2. Silício. 3. Citocininas. 4. Aclimatização. 5. Anatomia  
vegetal. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD – 583.5504165

**DIOGO PEDROSA CORRÊA DA SILVA**

**MEIOS DE CULTURA E FONTES DE SILÍCIO NO  
DESENVOLVIMENTO *IN VITRO* DE GÉRBERA**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração em Fisiologia Vegetal, para a obtenção do título de “Mestre”.

APROVADA em 10 de agosto de 2007.

Prof. Dr. Amauri Alves Alvarenga	UFLA
Dra. Raírys Cravo Nogueira	UFLA
Prof. Dr. Breno Régis Santos	UNIPAC

Profa. Dra. Patrícia Duarte de Oliveira Paiva  
UFLA  
(Orientadora)

LAVRAS  
MINAS GERAIS - BRASIL

A Deus,

*pois o Senhor é o meu pastor e nada me faltará.*

**OFEREÇO**

A Minha mãe guerreira, Maria Lúcia,  
pelo empenho e amor,

**DEDICO**

## AGRADECIMENTOS

A Deus, por estar ao meu lado em todos os momentos de minha vida.

Aos meus pais, Maria e Renato (*in memoriam*), ao meu padrasto, Sérgio, “chuchu” e aos meus irmãos, “Guto”, “Mô” e minha “pinduquinha”, por todo amor, dedicação, carinho e por sempre me apoiarem em todos os momentos da minha caminhada. Eu amo muito vocês!

Aos meus tios, Vera, Lúcia, Mirian (*in memoriam*), Marcelo, “Ró” (*in memoriam*) e Dinda; meus avós, vó Newton, vó Tuxa, vó Zuilo (*in memoriam*) e vó Maria (*in memoriam*); ao meu padrinho Zezé, a “tia” Laura e à pequena Sophia e a todos os meus familiares, que sempre acreditaram em meu potencial e me incentivaram a seguir em frente.

À Universidade Federal de Lavras e ao CNPq, pela oportunidade da realização do mestrado e pela concessão da bolsa de estudos.

A minha orientadora, professora Dra. Patrícia Duarte de Oliveira Paiva, por toda atenção, apoio e conselhos oferecidos durante esses dois anos de convívio profissional.

Ao professor Dr. Renato Paiva, pela oportunidade da iniciação científica durante a graduação, pela co-orientação durante o mestrado.

A pós-doutoranda, Dra. Raírys Cravo Nogueira, pela valiosa ajuda durante a realização deste trabalho, pela participação da banca avaliadora e pela amizade.

Ao professor Dr. Breno Régis Santos, pela amizade e por fazer parte da banca avaliadora.

Ao professor Dr. Amauri Alves Alvarenga, por fazer parte da banca avaliadora.

Ao pesquisador Dr. Marcelo Murad Magalhães, pelo agradável convívio e por fazer parte da banca avaliadora.

Ao professor Dr. Evaristo Mauro de Castro, pelo auxílio nas análises anatômicas das minhas plantas.

Aos professores do setor de Fisiologia Vegetal, Renato, Donizeti, Chalfun, Evaristo, Amauri, Ângela e Luiz Edson, por todos os conhecimentos transmitidos.

Ao pessoal do Laboratório de Anatomia Vegetal, Tales, Fran e Gil, pela amizade e ajuda na realização do trabalho.

À grande família que fiz no Laboratório de Cultura de Tecidos: Mauro, Breno, Raírys, Cristiano, Lenaldo, Fernanda, Gabi, Patrícia, Letícia, Eduardo, Luciano, Vanessa, Daí, Milene, Marcelo Rodriguez, Jessé, Carol, Cleilton, Marcelo Padovani, Stefânia, Solange, Alvinho e minha morena “Tininha”.

Aos funcionários Izonel, “Lena”, “Tanhan”, Evaristo, Joel, Odorêncio e “Barrinha”, pela grande amizade ao longo desses anos.

A todos os amigos da Fisiologia Vegetal, em especial: Sidnei, Lisandro, “Espeto”, Fulvia, Tales, Gustavo e Morbeck.

A todos os meus amigos, “salve a cachorrada”, ao Bola, Humberto, Marcelinho, Carol e Dudu, entre tantos outros, pela amizade e as cervejinhas, porque ninguém é de ferro.

A minha princesa Bel, pela barra pesada que suportou nesses últimos meses, e os dias de mau humor e a dificuldade para nos encontrar. Te amo!

A todos os amigos da graduação e pós-graduação que estiveram e estão comigo nessa caminhada.

A todos que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho, meus sinceros agradecimentos.

## **BIOGRAFIA**

Diogo Pedrosa Corrêa da Silva, filho de Renato Lopes Corrêa da Silva e Maria Lúcia Pedrosa Corrêa da Silva, nasceu em 12 de março de 1981, na cidade de São João Del-Rei, estado de Minas Gerais.

Concluiu o ensino médio na Escola Estadual Cônego Oswaldo Lustosa, em dezembro de 1998, na cidade de São João Del-Rei.

Graduou-se Engenheiro Agrônomo pela Universidade Federal de Lavras em julho de 2005. Durante o curso de graduação foi bolsista de iniciação científica pela Fapemig, sob a orientação do professor Renato Paiva, no período de julho de 2003 a julho de 2005, na área de Fisiologia Vegetal, desenvolvendo vários trabalhos em propagação *in vitro* de plantas.

Ingressou no mestrado em Agronomia, área de concentração Fisiologia Vegetal, em agosto de 2005, concluindo-o em agosto de 2007.



## SUMÁRIO

RESUMO.....	i
ABSTRACT.....	ii

### CAPÍTULO I: INTRODUÇÃO GERAL

1 INTRODUÇÃO.....	2
2 REFERENCIAL TEÓRICO .....	5
2.1 Descrição da espécie.....	5
2.2 Cultura de tecidos vegetais .....	5
2.3 Meios nutritivos .....	7
2.4 Silício.....	8
2.5 Silício e aspectos anatômicos .....	10
2.6 Aclimatização .....	11
3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	13

### CAPÍTULO II: OTIMIZAÇÃO DO MEIO DE CULTURA PARA MULTIPLICAÇÃO *IN VITRO* DE GÉRBERA.

1 RESUMO.....	20
2 ABSTRACT.....	21
3 INTRODUÇÃO.....	22
4 MATERIAL E MÉTODOS .....	24
4.1 Material vegetal.....	24
4.2 Condições gerais do cultivo <i>in vitro</i> .....	24
4.3 Experimento 1: Efeito da adição de TDZ (Thidiazuron) em diferentes concentrações salinas do meio de cultura MS para multiplicação <i>in vitro</i> de gérbera.....	25
4.4 Experimento 2: Efeito da adição de zeatina em diferentes concentrações salinas do meio de cultura MS para multiplicação <i>in vitro</i> de gérbera.....	25
4.5 Experimento 3: Número de plantas por frasco e concentrações de carvão ativado no desenvolvimento <i>in vitro</i> de gérbera.....	25
4.6 Delineamento estatístico .....	26

4.7 Avaliações .....	26
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>27</b>
5.1 Experimento 1: Efeito do TDZ (Thidiazuron) e concentrações salinas do meio de cultura MS na multiplicação <i>in vitro</i> de gérbera.....	27
5.2 Experimento 2: Efeito de zeatina e concentrações salinas do meio de cultura MS na multiplicação <i>in vitro</i> de gérbera.....	31
5.3 Experimento 3: Número de plantas por frasco e concentrações de carvão ativado no desenvolvimento <i>in vitro</i> de gérbera.....	34
<b>6 CONCLUSÕES.....</b>	<b>37</b>
<b>7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>38</b>

### **CAPÍTULO III: FONTES DE SILÍCIO NO CULTIVO *IN VITRO* DE GÉRBERA.**

<b>1 RESUMO.....</b>	<b>41</b>
<b>2 ABSTRACT.....</b>	<b>42</b>
<b>3 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>43</b>
<b>4 MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>45</b>
4.1 Material vegetal.....	45
4.2 Meio de cultura.....	45
4.3 Experimentos: Efeito de fontes de silício e concentrações de meio de cultura no cultivo <i>in vitro</i> de gérbera. ....	46
4.3.1 Experimento 1: Efeito do silicato de Potássio e das concentrações salinas do meio de cultura MS no cultivo <i>in vitro</i> de gérbera.. ....	46
4.3.2 Experimento 2:Efeito do silicato de Cálcio e das concentrações salinas do meio de cultura MS no cultivo <i>in vitro</i> de gérbera.....	46
4.3.3. Experimento 3:Efeito do silicato de Sódio e das concentrações salinas do meio de cultura MS no cultivo <i>in vitro</i> de gérbera.....	46
4.3.4. Experimento 4:Efeito do Ácido silícico e das concentrações salinas do meio de cultura MS no cultivo <i>in vitro</i> de gérbera.....	46
4.4. Delineamento estatístico.....	46
4.5. Condições de incubação.....	47
4.6. Avaliações.....	47
4.7. Efeito de silicio na pré-aclimatização de gérbera.....	47

<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>48</b>
5.1 Experimento 1: Efeito do silicato de Potássio e das concentrações salinas do meio de cultura MS no cultivo <i>in vitro</i> de gérbera .....	48
5.2 Experimento 2:Efeito do silicato de Cálcio e das concentrações salinas do meio de cultura MS no cultivo <i>in vitro</i> de gérbera .....	52
5.3 Experimento 3:Efeito do silicato de Sódio e das concentrações salinas do meio de cultura MS no cultivo <i>in vitro</i> de gérbera .....	56
5.4 Experimento 4:Efeito do Ácido silícico e das concentrações salinas do meio de cultura MS no cultivo <i>in vitro</i> de gérbera. ....	60
5.5: Experimento 5: Efeito de silício na pré-aclimatização de gérbera.....	66
<b>6 CONCLUSÕES .....</b>	<b>68</b>
<b>7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>69</b>

**CAPÍTULO IV: ASPECTOS DA ANATOMIA FOLIAR DE GÉRBERA CULTIVADA *IN VITRO* COM DIFERENTES FONTES DE SILÍCIO.**

<b>1 RESUMO.....</b>	<b>72</b>
<b>2 ABSTRACT.....</b>	<b>73</b>
<b>3 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>74</b>
<b>4 MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>76</b>
4.1 Anatomia de folhas produzidas por cultivo <i>in vitro</i> na presença de silício.....	76
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>78</b>
5.1 Cortes paradérmicos.....	78
5.2 Cortes Transversais.....	80
<b>6 CONCLUSÕES.....</b>	<b>82</b>
<b>7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>84</b>

## RESUMO

SILVA, Diogo Pedrosa Corrêa da. **Meios de cultura e fontes de silício no desenvolvimento *in vitro* de gérbera.** 2007. 84p. Dissertação (Mestrado em Agronomia. Fisiologia Vegetal) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.\*

As gérberas (*Gerbera jamesonii*) pertencem à família Araceae e são originárias do sul da África. Na natureza, são encontradas em colorações que variam do amarelo ao laranja-escuro, mas, com o desenvolvimento de cultivares híbridas, disponibilizou-se no mercado grande variedade de cores. A propagação comercial dessa espécie é realizada por meio de cultura de tecidos. No entanto, ainda é necessário aprimorar as etapas da propagação, para tornar esse processo mais eficiente. O uso de silício contribui para a qualidade final do vegetal, pois seu acúmulo na cutícula das folhas permite proteção às plantas, aumento da capacidade fotossintética, redução de perda de água e, ainda, promove maior crescimento. O trabalho teve como objetivo otimizar o meio de cultivo para o desenvolvimento *in vitro* de gérbera, buscando melhorar a qualidade e aumentar a quantidade de propágulos produzidos. Também estudou-se a efetividade do silício no desenvolvimento de gérbera, para proporcionar melhor qualidade. Foram realizados experimentos com diferentes citocininas (Thiaduzuron e Zeatina), carvão ativado e, ainda, avaliou-se o número de plantas por frascos. Para a avaliação de silício, testaram-se diferentes fontes (silicato de sódio, silicato de potássio, silicato de cálcio e ácido silícico) adicionadas em diferentes concentrações ao meio de cultivo MS para desenvolvimento e para aclimatização. Avaliaram-se crescimento, produção de brotos e enraizamento, além de características anatômicas. Verificou-se que o uso de TDZ não foi efetivo para cultivo *in vitro* de gérbera. A zeatina mostrou-se eficiente no desenvolvimento de gérbera, sendo recomendado o uso da concentração 1,0 mg L<sup>-1</sup> para a obtenção de maior número de folhas e de brotações. O uso de duas plantas por frascos e a adição de 0,58 mg L<sup>-1</sup> de carvão ativado no meio de cultura foi mais efetivo. Para o desenvolvimento de gérberas, o silicato de cálcio, na concentração de 1,0 gL<sup>-1</sup>, proporcionou melhores resultados no desenvolvimento *in vitro* de gérbera. Na aclimatização, não houve diferença significativa para as concentrações das fontes de silício. A análise da anatomia foliar das plantas mostrou que plantas cultivadas em meio de cultura com fontes silicato de potássio, silicato de cálcio e ácido silícico apresentaram maior espessura do parênquima e menor relação entre o diâmetro polar e equatorial em folhas de gérberas. O uso de silicato de sódio proporcionou a formação de maior número de estômatos nas folhas de plantas de gérberas cultivadas *in vitro*.

---

\* Comitê de orientação: Dra. Patrícia Duarte de Oliveira Paiva (Orientadora), Dr. Renato Paiva (Co-orientador), Dr. Evaristo Mauro de Castro (Co-orientador)

## ABSTRACT

SILVA, Diogo Pedrosa Corrêa da. **Culture medium and sources of silicium at the development of gerbera in vitro**. 2007. 84 p. Master (Program in Agronomy. Plant Physiology) - Federal University of Lavras, Lavras, MG.\*

Gerberas (*Gerbera jamesonii*) belong to the family Araceae and are from the south of Africa. In the nature we can find many colors varying originated from the yellow to the dark orange, but with the development of hybrid cultivars, it is available a great variety of colors is available at the market. The commercial propagation of this specie is done through tissue culture. However to make this process more efficient it is necessary to improve the propagation stages. The use of silicium contributed to the final quality of the vegetal, once its accumulation on the cuticle provided protection to the plants, increases the photosynthetic capacity, decreases the loss of water, and also provides a bigger growing. These works aimed improve the development medium of gerbera seeking advance the quality and quantity of plants produced. Also aimed study the effectiveness of silicium in the development of gerbera, providing a better quality. Experiments were made using different cytokinins (TDZ-Thiaduzuron and Zeatina), activated charcoal and also the number of plants in each flask was assessed. To the assessment of the silicium, different sources were added to the medium (Sodium silicate, Potassium silicate, Calcium silicate and Acid silícic) added in different concentrations to the MS medium to the development and acclimatization. We assessed the growing, production of shoots, production of roots, and anatomic characteristics. The use of TDZ was effective to the culture of gerbera *in vitro*. The Zeatin was efficient at the development of gerbera, being recommended the use of the concentration of 1,0 mg L<sup>-1</sup> to obtain a higher number of leaves and shoots. The use of two plants in each flask and the addition of 0,58 mg L<sup>-1</sup> of activated charcoal to the culture medium were more effective. To the development of gerbera the Calcium silicate at the concentration of 1,0 g L<sup>-1</sup>, provided the better results at the development of gerbera *in vitro*. During acclimatation there were no significant difference among the concentrations of sources of silicium used. The analysis of the leaf anatomy of the plants indicates that the cultivate plants in culture medium with sources of Potassium silicate, Calcium silicate and Acid salicylic showed a bigger thickness of the mesophyll and a lower ratio between the polar diameter and the equatorial diameter in leaves of gerberas. The use of Sodium silicate provided the formation of a higher number of stomata in the leaves of gerberas cultivated *in vitro*.

---

\* Guidance Committee: Dra. Patrícia Duarte de Oliveira Paiva (Adviser), Dr. Renato Paiva (Co-Adviser), Dr. Evaristo Mauro de Castro (Co-Adviser)



## **CAPÍTULO I: INTRODUÇÃO GERAL**

## 1 INTRODUÇÃO

Atualmente, a floricultura brasileira insere-se num novo contexto econômico, social e cultural do país, reflexo da incorporação de valores ligados à melhoria das condições de vida e de bem-estar da população (Rezende, 2005). Segundo Rezende (2005), são crescentes a valorização e o consumo de flores e plantas ornamentais, tanto de espécies e variedades de corte ou cultivadas em vasos, como de arranjos e ornamentações nos ambientes domésticos, coletivos e eventos sociais. O mesmo ocorre com a incorporação crescente de plantas, gramas e forrações utilizadas na jardinagem e no paisagismo em obras e áreas públicas, além de projetos e construções de natureza privada, comerciais e residenciais.

Nos últimos anos, tem aumentado o interesse pelas gérberas, pois, suas flores apresentam boa durabilidade e uma gama de cores que podem satisfazer aos mercados mais exigentes. Nesse contexto, estudos vêm sendo realizados, buscando encontrar a melhor alternativa para a propagação comercial desta espécie.

A propagação de gérbera pode ser feita por via sexuada (sementes) ou por via assexuada (divisão de touceiras). Ambos os métodos não são recomendados para a propagação comercial, pois, suas sementes originam progênies desuniformes pela alogamia da espécie e a divisão de touceiras dissemina e acumula doenças por meio de sucessivas gerações.

Diante desses problemas, os produtores utilizam a cultura de tecidos para a produção de mudas. No entanto, ainda é necessário aprimorar as etapas da propagação, para tornar esse processo mais eficiente. Dentre essas etapas destacam-se o estabelecimento do material inicial ou “explantes primários”, a otimização do meio para cultivo desse material, objetivando maiores taxas de



multiplicação e o enraizamento e a posterior aclimatização das plântulas (Rezende, 2005).

A aclimatização é uma etapa crítica, caracterizada pela passagem da fase *in vitro* para a casa de vegetação, afetada basicamente pelos fatores de estresse hídrico, fotossíntese, absorção de nutrientes e fitossanidade. Devido a esses fatores, torna-se necessário que a plântula em aclimatização utilize fatores que diminuam os efeitos dessa transferência e propicie boas condições para o seu melhor desenvolvimento.

O uso de silício contribui para a qualidade final do vegetal, pois seu acúmulo na cutícula das folhas permite proteção às plantas, aumento da capacidade fotossintética, redução de perda de água e, ainda, promove um maior crescimento (Epstein, 1999).

Os benefícios do silício às plantas conferido às plantas são devido a sua contribuição para a estruturação da parede celular de raízes e folhas. Assim, esse elemento não tem papel metabólico definido nas plantas e sua ação, segundo Malavolta et al. (1997), provoca efeitos indiretos, os quais, no conjunto, contribuem para uma maior produtividade.

O silício solúvel tem sido pouco estudado, principalmente pelo fato de o silício não ser elemento essencial às plantas. Entretanto, inúmeros trabalhos em campo têm demonstrado efeito benéfico da sua utilização em diversas culturas, por estar associado a diversos efeitos indiretos, como aumento da eficiência da capacidade fotossintética, redução da transpiração e aumento da resistência mecânica das células (Epstein, 1999).

Nesse contexto, os objetivos deste trabalho foram otimizar o meio de crescimento de gérbera testando citocininas (TDZ e zeatina), carvão ativado e número de plantas por frascos, visando melhorar a quantidade e a qualidade das mudas produzidas *in vitro* e verificar o efeito de diferentes fontes de silício

adicionadas ao meio de cultivo em diferentes concentrações de seus sais, no desenvolvimento *in vitro* e na aclimatização.

## REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 Descrição da espécie

As gérberras (*Gerbera jamesonii*) pertencem à família Araceae e são originárias do sul da África. Esse gênero inclui cerca de 30 espécies de plantas herbáceas perenes, dotadas de folhas basais e flores reunidas em capítulos solitários e multifloros com cerca de 10 cm de diâmetro, em várias cores (Gerstenberger & Sigmund, 1980). Na natureza, são encontradas em cores que variam do amarelo ao laranja-escuro. Com o desenvolvimento de cultivares híbridas, disponibilizou-se no mercado uma gama de cores, abrangendo branco, nata, rosa, vermelho, carmim e, até mesmo, violeta (INFOAGRO, 2007).

As cultivares mais utilizadas são resultantes da hibridização entre a *Gerbera jamesonii* e a *Gerbera viridifolia*, outra espécie sul-africana. O híbrido é conhecido por *Gerbera hybrida* e dele existem alguns milhares de cultivares com grande variabilidade nas características florais, diferentes tamanhos, formas da flor e cores que vão do branco ao amarelo, laranja, vermelho, rosa e púrpura, além das variegadas (Hansen, 1985). Comercialmente, são cultivadas como flores de corte ou envasadas.

A propagação pode ser via sexuada por meio de sementes, divisão de touceiras ou cultura de tecidos (Mascarini, 1998).

### 2.2 Cultura de tecidos vegetais

A cultura de tecidos vegetais representa um ramo da biotecnologia, constituindo uma técnica de crescimento de células, tecidos e órgãos em um meio nutritivo artificial, isolados da planta-mãe (George, 1996). O cultivo de tecidos vegetais *in vitro* pode minimizar os efeitos da variação de fatores

ambientais, assim como é possível conseguir maior controle sobre as condições de temperatura, luz e nutrientes (Seabrook, 1980). Na multiplicação *in vitro* há grande economia de tempo e possibilidade de produção de clones promissores e livres de patógenos (Pierik, 1990; George, 1993).

A aplicação mais prática da cultura de tecidos é a micropropagação, também denominada de propagação vegetativa *in vitro* (Grattapaglia & Machado, 1998). Dentre os principais benefícios da micropropagação de plantas podem ser citadas: a) a possibilidade de aumento rápido do número de indivíduos geneticamente idênticos a partir de plantas selecionadas, b) a produção de mudas durante todo o ano, mesmo em regiões nas quais a planta não apresenta condições para a propagação sexuada e c) a produção de plantas com elevada qualidade sanitária, em geral livre de bactérias, fungos e vírus (Echeverrigaray et al., 2001).

Diversos trabalhos têm demonstrando que a gérbera pode ser propagada vegetativamente por cultivo *in vitro* de inflorescências (Pawłowska, 1977; Rezende, 2005), folhas (Hedtrich, 1979), parte central do rizoma (Sawa, 1977), escapo ou talo floral (Chu & Huang, 1983), meristemas (Murashige et al., 1974 e Ruffoni et al., 1987) e capítulos florais (Pierik et al., 1975, Laliberte et al., 1985 e Arelló, 1991). Segundo Chu & Huang (1983), uma objeção se faz em relação à utilização de inflorescências, folhas, parte central do rizoma, escapo ou talo floral e capítulos florais para o estabelecimento da cultura de gérbera *in vitro*: a porcentagem de explantes com formação de brotos é pequena e, algumas vezes, nula.

### 2.3 Meios nutritivos

Torres et al. (2001) descrevem que o meio de cultura é constituído de componentes essenciais (água, sais inorgânicos, fonte de carbono e energia, vitaminas e reguladores de crescimento) e opcionais (aminoácidos, amidas, ácidos orgânicos e substâncias naturais complexas). A composição do meio de cultura tem importante função nas respostas de crescimento de células e tecidos *in vitro*.

Plantas ou explantes cultivados *in vitro* têm exigências nutricionais específicas. Assim, ao excisar parte da planta para cultivo *in vitro*, observa-se que os explantes não são completamente autotróficos e requerem meios nutritivos suplementados com as necessidades exógenas da célula, considerando os elementos essenciais, constituintes orgânicos e energia (Torres et al., 2001).

Os meios de cultura podem ser ainda modificados de acordo com a necessidade de cada tipo de explante e a espécie com a qual se esteja trabalhando (Torres et al., 2001).

Radice & Marconi (1998), trabalhando com regeneração de gérbera *in vitro* a partir de capítulos florais, observaram que a combinação de  $0,05 \text{ mg L}^{-1}$  de AIB,  $0,75 \text{ mg L}^{-1}$  de BAP e  $0,1 \text{ mg L}^{-1}$  de  $\text{GA}_3$ , agregados ao meio de cultivo MS, permitiu a multiplicação normal de gemas induzidas a partir de secções de capítulos florais.

Olivera et al. (2000), testando BA (benziladenina) e cinetina para a multiplicação de gérbera, concluíram que a utilização de BA na concentração de  $1,76 \text{ mg L}^{-1}$  foi favorável ao desenvolvimento *in vitro*.

Trabalhando com  $3,0 \text{ mg L}^{-1}$  BAP (6-benzilaminopurina), Rezende (2005) obteve, em média, 3,2 brotações e 6,6 folhas por explante a partir da indução de calos em capítulos florais de gérbera.

Timbó (2007), utilizando com  $3,0 \text{ mg L}^{-1}$  de BAP e  $3,0 \text{ mg L}^{-1}$  de AIA (ácido indol acético), obteve as maiores taxas de multiplicação registradas para a cultivar Igor: 6,4 e 8,3, no primeiro e no segundo subcultivos, respectivamente. A cultivar Capuccino registrou os menores valores: 3,9 e 3,3, no primeiro e no segundo subcultivos, respectivamente.

## 2.4 Silício

A essencialidade do silício (Si) para as plantas superiores foi demonstrada apenas para algumas espécies, apesar de ser um constituinte majoritário dos vegetais (Epstein, 1994; Marschner, 1995). Os mecanismos bioquímicos responsáveis pelos efeitos da deficiência de Si ainda não estão elucidados, não havendo evidência para qualquer ligação orgânica (Birchall et al., 1996).

O Si não tem sido muito estudado, principalmente por não ser considerado essencial às plantas. Contudo, do ponto de vista fisiológico, para o crescimento e o desenvolvimento das plantas, o silício, em muitos casos, tem demonstrado efeito benéfico sobre o aumento de produção de diversas culturas (Epstein, 1994).

Acredita-se que o silício possa interferir na arquitetura das plantas, favorecendo a fotossíntese, ao proporcionar folhas mais eretas, o que significa maior eficiência fotossintética (Epstein, 1994).

A absorção do silício pelas plantas ocorre na forma de ácido monossilícico ( $\text{H}_4\text{SiO}_4$ ). As plantas diferem bastante na sua capacidade de absorver o silício e até mesmo genótipos de uma espécie podem apresentar concentrações diferentes de silício, como demonstrado para cevada por Nable et al. (1990). Lanning (1960) encontrou diferenças marcantes no teor de silício em diferentes órgãos, avaliados entre cultivares de morangueiros.

O silício no interior das plantas é considerado como elemento pouco móvel e o seu transporte, da raiz até a parte aérea, ocorre através do xilema e depende da taxa de transpiração, como para todos os demais nutrientes, segundo Korndörfer & Datnoff (2000).

O silício tende a acumular-se nas folhas, formando uma barreira protetora e regulando a perda de água da planta por evapotranspiração. Existe grande diversidade de fontes de silício usadas na agricultura. Além dos produtos especialmente desenvolvidos para aplicações foliares, termofosfatos e diferentes escórias industriais são aplicados ao solo e adicionam significativas quantidades de silício, juntamente com outros nutrientes (Lima Filho et al., 1999). A forma presente na maioria dos produtos para aplicação via solo, disponível no Brasil, é o silicato de cálcio ( $\text{CaSiO}_3$ ), sendo o teor de  $\text{SiO}_2$  da fonte variável conforme a origem do material. A eficiência da adubação com silício parece depender da natureza dos silicatos utilizados (Barbosa Filho et al., 2000; Pereira et al., 2003). A dose de Si a ser aplicada depende da reatividade da fonte, do teor de Si no solo e da cultura considerada (De Datta, 1981).

Marschner (1995) relata que o fornecimento de Si é benéfico para muitas espécies vegetais e, em determinadas circunstâncias, para a maioria das plantas superiores. O silício pode estimular o crescimento e a produção vegetal por meio de várias ações indiretas, como a diminuição do auto-sombreamento, deixando as folhas mais eretas, o decréscimo na suscetibilidade ao acamamento, a maior rigidez estrutural dos tecidos, a proteção contra estresses abióticos, como a redução da toxidez de Al, Mn, Fe e Na, a diminuição na incidência de patógenos e o aumento na proteção contra herbívoros, incluindo os insetos fitófagos (Epstein, 1994; Marschner, 1995).

Em pepineiros, Adata & Besford (1986) observaram vários efeitos devido à adição de Si ( $100 \text{ mg kg}^{-1}$ ) ao meio nutritivo. Entre esses efeitos estão o aumento no teor de clorofila, maior massa foliar (fresca e seca), atraso na

senescência e aumento da rigidez das folhas maduras, as quais mantinham-se mais horizontais. A melhor arquitetura foliar permite maior penetração de luz solar, maior absorção de CO<sub>2</sub> e diminuição da transpiração excessiva, o que permite o incremento da taxa fotossintética (Takahashi, 1995).

Soares et al. (2007), trabalhando com orquídeas cultivadas *in vitro* com duas diferentes fontes de silício, silicato de sódio e Supa Potássio<sup>®</sup> (fonte de silicato de potássio), obtiveram os melhores resultados para número de brotos, utilizando 5 mg L<sup>-1</sup> de Supa potássio<sup>®</sup> e, para comprimento da parte aérea, número de raízes e comprimento médio de raízes de orquídea, com adição ao meio de cultura de 5 mg L<sup>-1</sup> de Supa Potássio<sup>®</sup> associado a concentrações elevadas (20mg.L<sup>-1</sup>) de silicato de sódio.

Zhou (1995) verificou um aumento de tamanho das folhas de *Phalaenopsis* cultivado *in vitro*, com concentrações de 0,1 a 1,0 mg L<sup>-1</sup> de silicato de cálcio adicionadas ao meio de cultura VW modificado.

## **2.5 Silício e aspectos anatômicos**

A compreensão apropriada da estrutura básica de uma planta ou órgão é essencial e indispensável para se chegar ao conhecimento preciso de um vegetal (Castro, 2002).

As condições ambientais sob as quais ocorre o cultivo *in vitro*, no que se refere à composição do meio de cultura e do ar no interior dos recipientes, bem como quanto à luminosidade e à temperatura, fazem com que a planta proveniente da micropropagação apresente algumas características em relação às folhas, às raízes e ao mecanismo de nutrição da plântula (Pasqual, 2001).

A análise da anatomia foliar também mostra que os depósitos de silício, comumente chamados de silicofitólitos, ocorrem na parede celular como incrustação e ou impregnação ou, ainda, sob a forma de corpos silicosos (opala) no interior das células de diferentes tecidos (Metcalf, 1983; Sangster, 1999).



Na epiderme foliar, o silício combina-se com a celulose (Jones & Handreck, 1967; Cheong et al., 1973), podendo estar presente nas células-guarda dos estômatos, nos tricomas, nas células papilosas e nas células buliformes (Campos & Labouriau, 1969; Silva & Laubouriau, 1970). Segundo estes autores, o silício também pode estar presente nos elementos vasculares. A deposição de silício na parede das células torna a planta mais resistente à ação de fungos e insetos e evita a perda excessiva de água, diminuindo a taxa de transpiração (Cheong et al., 1973; Postek, 1981 e Dayanandam et al., 1983).

A forma adquirida pelos depósitos do silício, bem como a sua distribuição no interior do vegetal, depende da espécie em estudo e das condições climáticas do ambiente onde esse cresce, podendo ser característica para uma espécie, gênero e, mesmo, para algumas famílias, sendo, então, um caráter com aplicação taxonômica (Metcalf, 1983; Wrang et al., 1998).

## **2.6 Aclimatização**

A aclimatização envolve o transplante da plântula da condição *in vitro* para a casa de vegetação que, geralmente, consiste de uma fase crítica e que pode ser um fator limitante para o processo de micropropagação de algumas espécies (Torres et al., 1998).

Entre os fatores que podem estar envolvidos no processo de aclimatização, podem-se relacionar genótipo, estresse hídrico, alteração do metabolismo heterotrófico para autotrófico, infecção por patógenos e estresse pela alteração na radiação (Debergh & Maene, 1981).

Durante a aclimatização, o controle da luz pode ser efetuado com a utilização de sombrite. A umidade é conservada elevada, com cobertura plástica das plantas, irrigações ou nebulizações. A nutrição pode ser feita com auxílio de soluções nutritivas balanceadas, aliada ao aumento das condições autotróficas da

planta, quando a folha eleva a sua capacidade fotossintética (Desjardins et al., 1987; Zimmerman, 1988).

Segundo McCown (1988), o período de aclimatização varia de uma a quatro semanas e corrige as alterações ou anormalidades induzidas *in vitro*, o que inclui a transição do metabolismo heterotrófico para o autotrófico e o estabelecimento de relações hídricas normais, por meio da regulação da perda e da absorção de água.

Trabalhos com gérberras mostram ambigüidade na eficiência na aclimatização. Rezende (2005), trabalhando com o substrato comercial 30/10, da empresa Vida Verde, em sala de crescimento, obteve o percentual de sobrevivência de 100%. Por outro lado, Olivera et al. (2000), trabalhando com o substrato comercial *Sunshine Growing Mix 3*, da marca Sim gro<sup>®</sup>, em casa de vegetação, relatam que a aclimatização de plântulas de gérberra foi afetada de forma significativa pelo efeito residual dos tratamentos usados durante a fase de indução de brotações e enraizamento *in vitro*.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADATIA, M. H.; BESFORD, R. T. The effects of silicon on cucumber plants grown in recirculating nutrient solution. **Annals of Botany**, London, v. 58, n. 3, p. 343-351, 1986.

ARELLO, E. F. **Aspectos gerais do comportamento *in vitro* de *Kielmeyera coriacea* Martius (Guttiferae): produção e enraizamento de brotações.** 148p. 1991. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Escola Superior de Agricultura de Lavras, Lavras.

BARBOSA FILHO, M. P.; SNYDER, G. H.; PRABHU, A. S. DATNOFF, L. E.; KORNDORFER, G. H. **Importância do silício para a cultura do arroz: uma revisão de literatura.** Piracicaba, 2000. 11 p. (Encarte Técnico. Informações Agronômicas, 89).

BIRCHALL, J. D.; BELLIA, J. P.; ROBERTS, N. B. On the mechanisms underlying the essentiality of silicon: interactions with aluminium and copper. **Coordination Chemistry Reviews**, Lausanne, v. 149, p. 231-240, 1996.

CAMPOS, A. C.; LABOURIAU, L. G. Corpos silicosos de gramíneas dos cerrados II. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 4, p. 143-151, 1969.

CASTRO, E. M. de. **Alterações anatômicas, fisiológicas e fotoquímicas em *Mikania glomerata* sprengel (Guaco) sob diferentes fotoperíodos e níveis de sombreamento.** 2002. 221 p. Tese (Doutorando em Fitotecnia)-Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG 2002.

CHEONG, W. Y.; HEITZ, A.; DEVILLE. The effect of silicon on sugar cane growth in pure nutrient solution. **Journal Science Food Agriculture**, v. 24, n. 1, p. 113-115, 1973.

CHU, C. Y.; HUANG, M. C. *In vitro* formation of gerbera (*Gerbera hybrida* Hort.) plantlets through excised scape culture. **Journal of the Japanese Society for Horticultural Science**, Taiwan, v. 52, n. 1, p. 45-50, 1983.

DAYANANDAN, P.; KAUFMAN, P. B.; FRANKLIN, C. L. Detection of silica in plants. **American Journal of Botany**, v. 70, n. 7, p. 1079-1084, 1983.

DE DATTA, S. K. **Principles and practices of rice production**. New York: J. Willey, 1981. 618 p.

DEBERGH, P. C.; MAENE, L. J. A scheme for the commercial propagation of ornamental plants by tissue culture. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 14, n. 4, p. 335-345, 1981.

DESJARDINS, Y.; GOSSELIN, A.; YELLE, S. Acclimatization of *ex vitro* strawberry plantlets in CO<sub>2</sub>-enriched environments and supplementary lighting. **Journal of American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 112, n. 5, p. 846-851, 1987.

ECHEVERRIGARAY, S.; ANDRADE, L. B.; DELAMARE, A. P. L.; ZENI, A, L. B.; CARRER, R. Cultura de tecidos e micropropagação de plantas aromáticas e medicinais. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. **Biotechnologia na agricultura e na agroindústria**. Guaíba: Agropecuária, 2001. p. 257-276.

EPSTEIN, E. The anomaly of silicon in plant biology. **Proceedings of National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v. 91, n. 1, p. 11-17, 1994.

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

GEORGE, E. F. **Plant propagation by tissue culture: the technology**. 2.ed. London: Exegetics, 1993. v. 1, 574 p.

GEORGE, E. F. **Plant propagation by tissue culture: the technology**. Edington: Exegetics, 1996. Pt. 1, 574 p.

GERSTENBERGER, K; SIGMUND, I. **European Horticultural Statistics – Non – Edible Products**, Hannover-Germany: Association Internationale des producteurs de L'Horticulture, Institut fur Gartenbauokonomie University 173 p. (Institut fur Gartenbauokonomie University, 28), 1980.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (Ed.). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: EMBRAPA-CBAB, 1998. p. 331-353.

HASEN, H. V. A taxonomic revision of the genus *Gerbera* (Compositae, Mutisieae) sections *Gerbera*, *Parva*, *Piloselloides* (in Africa), and *Lasiopus*. **Opera Botanica**, v. 78, 1-38 p. 1985.

HEDTRICH, C. M. Production of shoots from leaves and production of *Gerbera jamesonii*. **European Journal of Horticultural Science**, Weihenstephan, v. 44, n. 1, p. 1-3, 1979.

INFOAGRO, **El cultivo de la gerbera**. Disponível em: <<http://www.infoagro.com/flores/flores/gerbera.htm#3.%20IMPORTANCIA%20ECONÓMICA>>. Acesso em: 21 mar. 2007.

JONES, L. H. P.; HANDRECK, K. A. Silica in soils, plants and animals. **Advance Agriculture**, v. 19, p.107-149, 1967.

KORNDÖRFER, G. H.; DATNOFF, L. E. Papel do silício na produção de cana-deaçúcar. In: SEMINÁRIO DE CANA-DE-ALCANTARA DE PIRACICABA, 5., 2000, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: Fealq, 2000. p. 53-61.

LALIBERTE, S.; CHRETIEN, L.; VIETH, J. *In vitro* plantlet production from young capitulum explants of *Gerbera jamesonii*. **HortScience**, Alexandria, v. 20, n. 1, p. 137-139, 1985.

LANNING, F. C. Nature and distribution of silica in strawberry plants. **Journal of American Society for Horticultural Science**, Maryland, v. 76, p. 349-358, 1960.

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

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A de. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. 2.ed. Piracicaba: Potafos, 1997. 319p.

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. 2.ed. New York: Academic, 1995. 887 p.

MASCARINI, L. El cultivo de la gerbera en substrato. **Revista Horticultura Internacional**, Lima, n. 19, p. 86-88, 1998.

McCOWN, B. H. Adventitious rooting of tissue cultured plants. In: DAVIS, T. D.; HAISSING, B. E.; SANKHLA, N. (Ed.). **Adventitious root formation in cuttings**. Portland: Diocorides, 1988. p. 289-302.

METCALFE, C. R. Secretary mineral Substances - Silica. In: METCALFE, C. R.; CHALK, L. **Anatomy of the Dicotyledons**. 2.ed. Oxford: Claredon, 1983. v. 2, p. 82-94.

MURASHIGE, T.; SERPA, M.; JONES, J. B. Clonal multiplication of gerbera through tissue culture. **HortScience**, Alexandria, v. 9, n. 3, p. 175-180, 1974.

NABLE, R. O.; LANCE, R. C. M.; CARTWRIGHT, B. Uptake of boron and silicon by barley genotypes with differing susceptibilities to boron toxicity. **Annals of Botany**, London, v. 66, n. 1, p. 83-90, 1990.

OLIVERA, V. Z.; GUTIÉRREZ, M. A.; GUTIÉRREZ, J. A.; ANDRADE, M. Cultivo *in vitro* de gerbera (*Gerbera jamesonii* H. Bolus) y su aclimatación en invernadero. **Bioagro**, La Prata, v. 12, n. 3, p. 75-80, 2000.

PASQUAL, M. **Texto acadêmicos, meios de cultura**. Lavras: UFLA/FAEPE, 2001. 127 p.

PAWLOWSKA, H. Trials on gerbera propagation *in vitro*. **Referativnyi Zhurnal**, Moskva, v. 21, n. 2, p. 177-81, 1977.

PEREIRA, H. S.; VITTI, G. C.; KORNDORFER, G. H. Comportamento de diferentes fontes de silício no solo e na cultura do tomateiro. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 27, n. 1, p. 101-108, 2003.

PIERIK, R. L. M. **Cultivo *in vitro* de las plantas superiores**. Martins Nijoff, 1990. 326 p.

PIERIK, R. L. M.; JANSEN, J. L. M.; MAASDAM, A.; BINNENDIJK, C. M. Optimalization of gerbera plantlet production from excised capitulum explants. **Scientia Horticulturae**, Wageningen, v. 3, n. 4, p. 351-357, 1975.

POSTEK, M. T. The occurrence of silica in leaves of *Magnolia grandiflora*. **Botanical Gazette**, v. 142, n. 1, p. 124-134, 1981.

RADICE, S.; MARCONI, P. L. Clonación *in vitro* de diversos cultivares de *Gerbera jamesonii* a partir de capítulos florales. **Revista de la Facultad de Agronomía**, La Plata, n. 103, p. 111-118, 1998.

REZENDE, R. K. S. **Aspectos do cultivo *in vitro* e divergência genética em gébera (*Gerbera jamesonii*)**. 2005. 91 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia. Fisiologia Vegetal) Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

RUFFONI, B.; DAMIANO, C.; SILVANO, G.; BREGLIANO, R. The sterilization and micropropagation of *Gerbera jamesonii* hybrida. **Annali dell Istituto Sperimentale per la Floricoltura**, San Remo, v. 18, n. 1, p. 21-42, 1987.

SANGSTER, A. G.; HODSON, M. J.; TUBB, H. J. Silicon on deposition in higher plants. In: SILICON IN AGRICULTURE CONFERENCE, 1999, Flórida, USA. **Abstracts...** Florida USA, 1999. 4 p.

SAWA, K. The culture of pith from rhizome of gerbera *in vitro*. **Agriculture and Horticulture**, Seibundo Sinkoshia, v. 32, n. 3, p. 50-51, 1977.

SEABROOK, J. E. A. Laboratory culture. In: STABA, E. J. (Ed.). **Plant tissue culture as a source of biochemicals**. Boca Raton: CRP, 1980. p. 1-20.

SILVA, S. T.; LABORIAU, L. G. Corpos silicosos em gramíneas do cerrado III. **Pesquisa. Agropecuária Brasileira**, v. 5, p. 167-182, 1970.

SOARES, J. D.; VILLA, F.; ALMENDAGNA RODRIGUES, F.; PASQUAL, M.; CARVALHO, J. G. **Fontes de Silício na propagação *in vitro* de orquídea**. Disponível em: [http://www.maa.gba.gov.ar/agricultura\\_ganaderia/floricultura/MACRO%20MICRO%20PROPAG/63%5B1%5D.Abubacao\\_com\\_silicio\\_de\\_orquidea\\_FINAL.doc](http://www.maa.gba.gov.ar/agricultura_ganaderia/floricultura/MACRO%20MICRO%20PROPAG/63%5B1%5D.Abubacao_com_silicio_de_orquidea_FINAL.doc). Acesso em: 23 mar. 2007.

TAKAHASHI, E. Uptake mode and physiological functions of silica. In: MATSUO, T.; KUMAZAWA, K.; ISHII, R.; ISHIHARA, K.; HIRATA, H. (Ed.). **Science of the rice plant: physiology**. Tokyo: Food and Agriculture Policy Research Center, 1995. Cap. 5, p. 420-433.

TIMBÓ, A. L. de O.; CARVALHO, A. C. P. P. de, MORAIS, J. P. S. J. P. de L. AGUILAR. **Produção de mudas de seis variedades de gébera (*Gerbera jamesonii*), através da micropropagação** Disponível em: <http://www.cnpat.embrapa.br/publica/documentos/inicientifica/arquivos/AnaLuiza.html>. Acesso em: 19 abr. 2007.

TORRES, A. C.; BARBOSA, N. V. dos R.; WILLADINO, L.; GUERRA, M. P.; FERREIRA, C. F.; PAIVA, S. A. V. de. **Meio e condições de incubação para a cultura de tecidos de plantas:** formulações de meio de cultura de tecidos de plantas. Brasília, 2001. 19 p. (Circular Técnica, 24).

TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; FERREIRA, A. T. Retrospectiva da cultura de tecidos de plantas. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (Ed.). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas.** Brasília: EMBRAPA-SPI/EMBRAPA-CNPH, 1998. v. 1, p. 11-20.

WRANG, S. S.; KIN, K.; HESS, W. M. Variation of silica bodies in leaf epidermal long cells within and seventeen species of *Oryza* (Poaceae). **American Journal Botany**, v. 85, n. 4, p. 461-466, 1998.

ZHOU, T. S. The detection of the accumulation of silicon in *Phalaenopsis* (Orchidaceae). **Annals of Botany**, v. 75, p. 605-607, 1995.

ZIMMERMAN, R. H. Micropropagation of woody plants: Post tissue culture aspects. **Acta Horticulturae**, Wageningen, v. 227, p. 489-499, 1988.



**CAPÍTULO II: OTIMIZAÇÃO DO MEIO DE CULTURA PARA  
MULTIPLICAÇÃO *IN VITRO* DE GÉRBERA**

## 1 RESUMO

SILVA, Diogo Pedrosa Corrêa da. Otimização do meio de multiplicação *in vitro* para gérbera . In: \_\_\_\_\_. **Meios de cultura e fontes de silício no desenvolvimento *in vitro* de gérbera.** 2007. Cap. 2, p. 19 – 39. Dissertação (Mestrado em Agronomia. Fisiologia Vegetal) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.\*

As técnicas de cultura de tecidos têm sido utilizadas para a propagação de plantas, principalmente as ornamentais, destacando-se a violeta e a gérbera. No intuito de aprimorar esse processo, este trabalho foi realizado com o objetivo otimizar o processo de indução de brotações *in vitro* de gérbera. Foi utilizado o híbrido de gérbera Jaguar Cream. As plantas já estabelecidas *in vitro* foram subcultivadas e inoculadas em meio de cultura MS, em duas concentrações (50% e 100%) de seus sais, acrescido de 30 g.L<sup>-1</sup> sacarose e solidificado com 6 g L<sup>-1</sup> de ágar. No primeiro experimento, acrescentou-se Thidiazuron (TDZ) nas concentrações de 0; 0,05; 0,10; 0,20; 0,50 e 1,0 mg L<sup>-1</sup>, perfazendo um fatorial 2 x 6. No segundo experimento, acrescentou-se zeatina nas concentrações 0; 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5 e 3,0 mg L<sup>-1</sup>, perfazendo um fatorial 2 x 6. Foram utilizadas 4 repetições por tratamento, sendo cada parcela constituída por um frasco com 2 plântulas. No terceiro experimento utilizou-se o meio MS acrescido de 30 g L<sup>-1</sup> sacarose e solidificado com 6 g L<sup>-1</sup> de ágar. Acrescentou-se carvão ativado nas concentrações de 1, 2 e 3 g L<sup>-1</sup> e foram inoculados com diferentes números de explantes (1, 2 e 3 plantas), perfazendo um fatorial de 3x 3. Foram utilizadas 4 repetições, sendo cada frasco uma repetição. O uso de TDZ não foi efetivo para o cultivo de gérbera *in vitro*. Somente para número de raízes houve interação entre as concentrações de zeatina e de meio de MS, tendo o cultivo no meio MS100% dos seus sais proporcionado a formação de maior número de raízes. Maior número de brotos foi formado na concentração de 1,2 mg L<sup>-1</sup> de zeatina. Maior número de folhas por explantes foi obtido em plantas cultivadas em meio acrescidos de 1,09 mg L<sup>-1</sup> de zeatina. A adição de 0,58 mg L<sup>-1</sup> de carvão ativado foi efetivo na indução de brotos. A utilização de 2 explantes por frasco proporcionou maior altura de plantas de gérbera cultivada *in vitro*.

---

\* Comitê de orientação: Prof. Dra. Patrícia Duarte de Oliveira Paiva (orientadora), Prof. Dr. Renato Paiva (Co-orientador)

## 2 ABSTRACT

SILVA, Diogo Pedrosa Corrêa da. Improvement of the *in vitro* multiplication medium for gerbera. In: \_\_\_\_\_. **Culture Medians and sources of silicium at the development of gerbera in vitro.** 2007. Cap. 2, p. 19 – 39. Dissertation (Master Program in Agronomy. Plant Physiology) - Federal University of Lavras, Lavras, MG. \*

Techniques of tissue culture are being used to the propagation of plants, mainly the ornamental ones, outstanding violeta and gerbera. Aiming improve this process, the object of this work was to optimize the process of induction of gerbera shoots *in vitro*. The hibrid Jaguar Cream was used. The plants already stabilished *in vitro* was subcultured and inoculated in MS medium with two salt concentrations (50% and 100%), added with 30 g L<sup>-1</sup> of sucrose and solidified with 6 g L<sup>-1</sup> of agar. In the first experiment Thidiazuron (TDZ) was added in the concentrations of 0; 0,05; 0,10; 0,20; 0,50 e 1,0 mg L<sup>-1</sup> resulting in a factorial of 2 x 6. In the second experiment Zeatin was added in the concentrations of 0; 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5 e 3,0mg L<sup>-1</sup>, resulting in a factorial of 2 x 6. Four replications were used in the treatments, where each plot had one flask with two plants in each flask. In the third experiment was used MS medium added with 30mg L<sup>-1</sup> of sucrose and solidified with 6mg L<sup>-1</sup> of agar. Activated charcoal was added in the concentrations of 1, 2 e 3 g L<sup>-1</sup> and were inoculated with different number of explants (1, 2 e 3 plants), resulting in a factorial of 3 x 3. Four repetitions were used, being each flask with one repetition. There was no interaction between the concentrations of TDZ and MS medium. The use of TDZ was not effective for the cultivation of gerbera *in vitro*. Only for the number of roots there was an interaction between the concentrations of Zeatin and MS medium, once the cultivation in the MS medium with 100% of its salts resulted in the formation of a higher number of roots. A higher number of shoots was formed in the concentration of 1,20 mg L<sup>-1</sup> of zeatin. A higher number of leaves in each explant was obtained in plants cultivated in a medium added with 1,09 mg L<sup>-1</sup> of zeatin. The addition of 0,58 mg L<sup>-1</sup> of charcoal activated was effective in the induction of shoots. When two explants were used in each flask a higher height of the gerbera plants cultivated *in vitro* was observed.

---

\* Guidance Committee: Dra. Patrícia Duarte de Oliveira Paiva (Adviser), Dr. Renato Paiva (Co-Adviser).

### 3 INTRODUÇÃO

As técnicas de cultura de tecidos têm sido amplamente empregadas para a propagação de plantas, principalmente as ornamentais, destacando-se a violeta e a gérbera (Bouzigues, 1987).

A aplicação mais prática da cultura de tecidos é a micropropagação, também denominada de propagação vegetativa *in vitro* (Grattapaglia & Machado, 1998). Dentre os principais benefícios da micropropagação de plantas podem ser citadas: a) a possibilidade de aumento rápido do número de indivíduos geneticamente idênticos a partir de plantas selecionadas, b) a produção de mudas durante todo o ano, mesmo em regiões nas quais a planta não apresenta condições para a propagação sexuada e c) a produção de plantas com elevada qualidade sanitária, em geral livre de bactérias, fungos e vírus (Echeverrigaray et al., 2001).

Uma das maneiras pelas quais pode ser conduzida a micropropagação *in vitro* é pela multiplicação de brotações por meio de sucessivas subculturas, ou seja, as gemas axilares são estimuladas a crescer formando tufo de brotos, os quais são subdivididos, dando origem a novos explantes que, por sua vez, repetem o mesmo processo (Rezende, 2005).

É fundamental a utilização de citocininas no meio de cultura para maximizar as taxas de multiplicação. No entanto, a escolha da citocinina e da concentração a ser utilizada dependerá da cultivar (Pierik et al., 1982).

Diversos meios foram modificados para melhor atender ao desenvolvimento de gérbera. Radice & Marconi (1998) utilizaram ácido indol butírico (AIB), benziladenina (BA) e GA<sub>3</sub>; Olivera et al. (2000) testaram BA e cinetina para multiplicação; Rezende (2005) trabalhou com BAP (6-benzilaminopurina) e Timbó (2007) trabalhando com a interação BAP e ácido indol acético (AIA).

Este trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar o efeito de TDZ, zeatina, carvão ativado, número de plantas por frascos e concentrações salinas do meio MS na indução de brotações *in vitro* de *Gerbera jamesonii* cv. Jaguar Cream.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Cultura de Tecidos de Plantas, do setor de Fisiologia Vegetal do Departamento de Biologia, na Universidade Federal de Lavras (UFLA), em Lavras, MG.



**FIGURA 1** Gérbera cultivar Jaguar Cream. Fonte: S & G Flowers (2007).

### 4.1 Material vegetal

Foram utilizadas plantas matrizes de *Gerbera jamesonii* cv. Jaguar Cream (Figura 1) já estabelecidas *in vitro*, as quais foram seccionadas em explantes com 2 folhas, medindo entre 4 a 6 cm.

### 4.2 Condições gerais do cultivo *in vitro*

Nos experimentos 1 e 2, as plântulas foram repicadas e inoculadas em meio nutritivo MS (Murashige & Skoog, 1962) modificado, sem a adição das vitaminas piridoxina e ácido nicotínico e com adição de 10 mg L<sup>-1</sup> de Mio

inositol e  $1 \text{ mg L}^{-1}$  tiamina. O experimento 3 foi realizado utilizando o meio MS (Murashige & Skoog, 1962). Todos os meios foram acrescidos de  $30 \text{ g L}^{-1}$  sacarose e solidificados com  $6 \text{ g L}^{-1}$  de ágar, tendo o pH ajustado para  $5,8 \pm 0,1$ . Utilizaram-se frascos de vidro com 50 ml de meio de cultura.

A esterilização dos meios de cultura foi feita em autoclave, à temperatura de  $121^\circ\text{C}$  e pressão de  $1,05 \text{ kg cm}^{-2}$ , durante 20 minutos.

As plantas foram inoculadas em câmara de fluxo laminar em condições estéreis e transferidas para sala de crescimento por 45 dias com fotoperíodo de 16 horas, temperatura de  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  e irradiância de fótons de  $43 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ .

#### **4.3 Experimento 1: Efeito da adição de TDZ (Thidiazuron) em diferentes concentrações salinas do meio de cultura MS para a multiplicação *in vitro* de gérbera**

O meio de cultura MS modificado foi elaborado em duas concentrações diferentes dos seus sais (50% e 100%) e acrescentado de TDZ, nas concentrações 0; 0,01; 0,05; 0,10; 0,20; 0,50 e  $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ , constituindo um fatorial de  $2 \times 6$ .

#### **4.4 Experimento 2: Efeito da adição de zeatina em diferentes concentrações salinas do meio de cultura MS para a multiplicação *in vitro* de gérbera**

O meio de cultura MS modificado foi elaborado em duas concentrações diferentes dos seus sais (50% e 100%) e acrescentado de zeatina, nas concentrações 0; 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5 e  $3,0 \text{ mg L}^{-1}$ , constituindo um fatorial  $2 \times 6$ .

#### **4.5 Experimento 3: Número de plantas por frasco e concentrações de carvão ativado no desenvolvimento *in vitro* de gérbera**

O meio de cultura MS foi suplementado com carvão ativado nas concentrações 0, 1; 2; 3 g L<sup>-1</sup>. Nos frascos, foram inoculados 1, 2 e 3 plantas por frascos, objetivando avaliar o efeito da interferência entre plantas, constituindo um fatorial de 4x3.

#### **4.6 Delineamento estatístico**

Nos experimentos 1 e 2, adotou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado, com 12 tratamentos e 5 repetições, sendo 1 frasco por parcela, com dois explantes em cada recipiente.

No experimento 3, adotou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado, totalizando 12 tratamentos com 5 repetições cada e 1 frasco por parcela.

Os dados quantitativos foram comparados por meio de regressão polinomial, empregando-se o Software Sisvar (Ferreira, 2000).

#### **4.7 Avaliações**

Após 45 dias nos experimentos 1 e 2, avaliaram-se a altura da maior brotação, o número de brotações, o número de folhas e a presença de raízes.

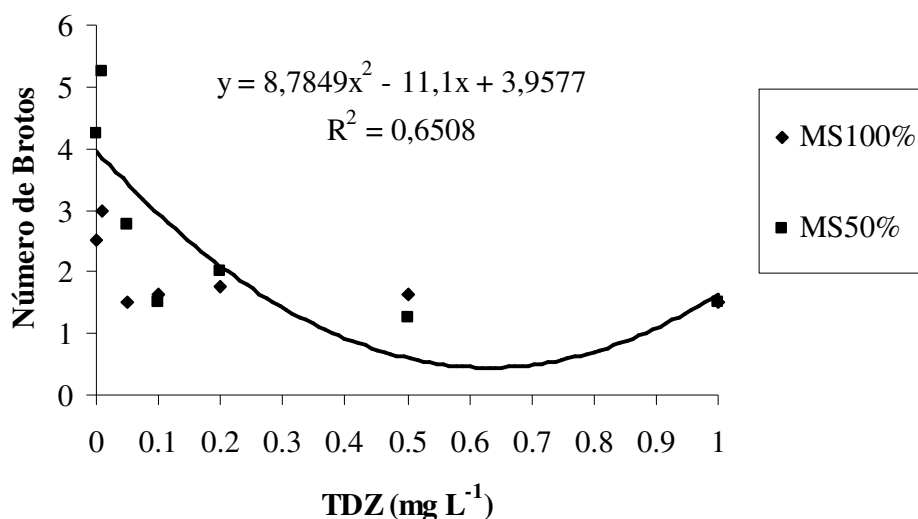
As características avaliadas após 45 dias de condução do experimento 3 foram: altura da planta, número de brotações e número de folhas.



## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Experimento 1: Efeito do Thidiazuron (TDZ) e concentrações salinas do meio de cultura MS na multiplicação *in vitro* de gérbera

Para número de brotações, a interação entre as concentrações de sais do meio de crescimento e concentrações de TDZ foi significativa. Utilizando-se o meio MS 100% dos sais, maior número de brotos (3,96 por explantes) foi obtido na ausência de regulador de crescimento (Figura 2).



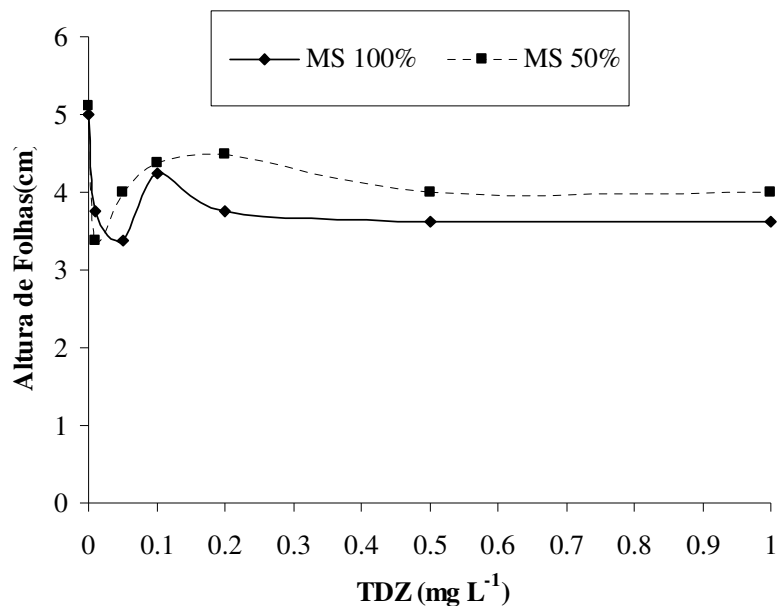
**FIGURA 2** Número de brotos formados em explantes de gérbera cultivadas *in vitro*, em diferentes concentrações de TDZ acrescidas ao meio de cultura MS modificado. UFLA, Lavras, MG, 2007.

Pela análise do gráfico da Figura 2, verifica-se que houve redução no número de brotos com o aumento das concentrações de TDZ. Oliveira (2000) obteve média semelhante utilizando 1,76 mg L<sup>-1</sup> de BA (benziladenina).

Rezende (2005) utilizando MS com 50% dos seus sais, adicionado de  $0,05 \text{ mg L}^{-1}$  de BAP para cultivo de gérbera, obteve a maior média (3,2 brotos). Comparado ao tratamento com o uso de TDZ, o resultado encontrado por Rezende (2005), para número de brotos, foi inferior.

Da mesma maneira, Sousa et al. (2001), cultivando macieira *in vitro*, observaram que concentrações maiores que  $0,01 \text{ mg L}^{-1}$  de TDZ não foram eficientes para a indução de brotações.

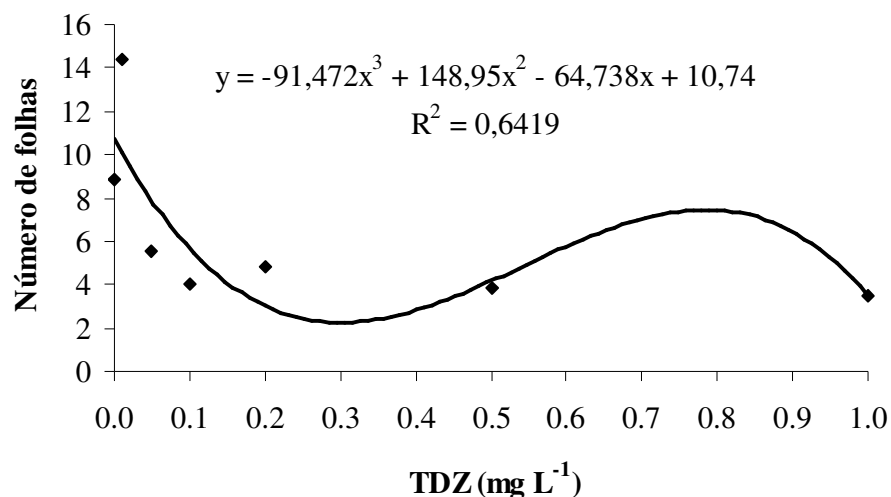
Analisando-se a altura da plantas, observa-se que ocorreu interação entre as concentrações salinas do meio MS e de TDZ testadas, conforme gráfico da Figura 3. Pelos resultados, observa-se que maior altura de plantas foi obtida na ausência de TDZ, assim como ocorreu com número de brotos formados.



**FIGURA 3** Altura da plantas de explantes de gérbera cultivados *in vitro*, em diferentes concentrações dos sais do meio MS e de TDZ. UFLA, Lavras, MG, 2007.

Borges et al. (2005), trabalhando com tomateiro, verificaram que o uso de TDZ não apresentou diferença na altura de plantas em relação aos tratamentos em que TDZ não foi utilizado. Também Sousa et al. (2001), em cultivo *in vitro* de abacaxi, não observaram efeito de TDZ para altura da planta.

Analisando o número de folhas formadas em explantes de gérberas cultivadas *in vitro* (Figura 4), constata-se que somente as concentrações de TDZ foram significativas, não havendo interação com as concentrações dos sais do meio MS. Maior número de folhas foi obtido na ausência de TDZ.



**FIGURA 4** Número de folhas formadas em explantes de gérbera cultivados *in vitro*, em diferentes concentrações de TDZ acrescidas ao meio de cultura MS modificado. UFLA, Lavras, MG, 2007.

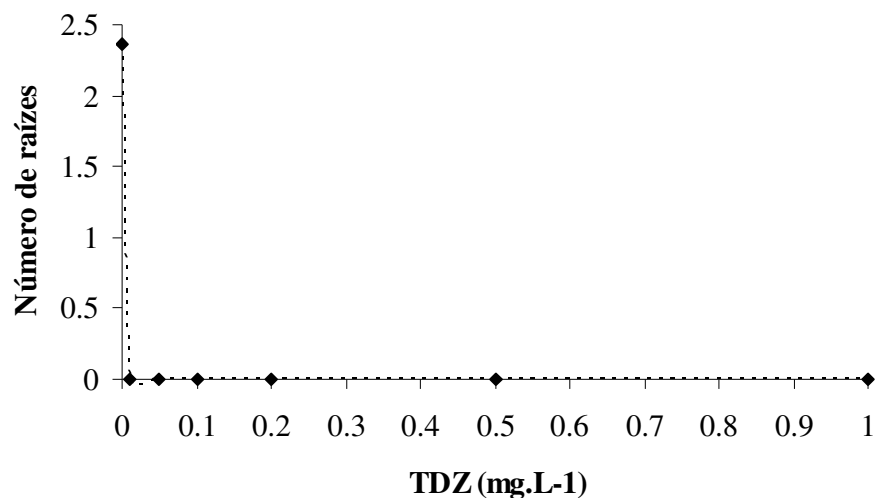
Observa-se, pelo gráfico da Figura 4, que o número de folhas por explantes apresentou tendência de reduzir na medida em que se elevaram as concentrações de TDZ adicionadas ao meio de cultura.

Rezende (2005), cultivando gérbera em meio MS com 50% dos sais, obteve 6,6 folhas por explantes quando adicionou 0,05mg L<sup>-1</sup> de BAP ao meio.

Comparando-se com os resultados obtidos neste trabalho, o meio MS modificado sem adição de TDZ proporcionou maior número de folhas (10,74 folhas por explantes) que o BAP.

O mesmo ocorreu no trabalho de Olivera (2000) que, utilizando 1,76 mg L<sup>-1</sup> de BA em cultivo *in vitro* de gérbera, obteve 10,8 folhas por explante.

Para número de raízes, somente a concentração de TDZ foi significativa, não havendo a interação entre as concentrações salinas do meio MS. Na ausência de TDZ, houve maior número de raízes, mostrando que o uso de TDZ não foi eficiente na rizogênese nos explantes (Figura 5).



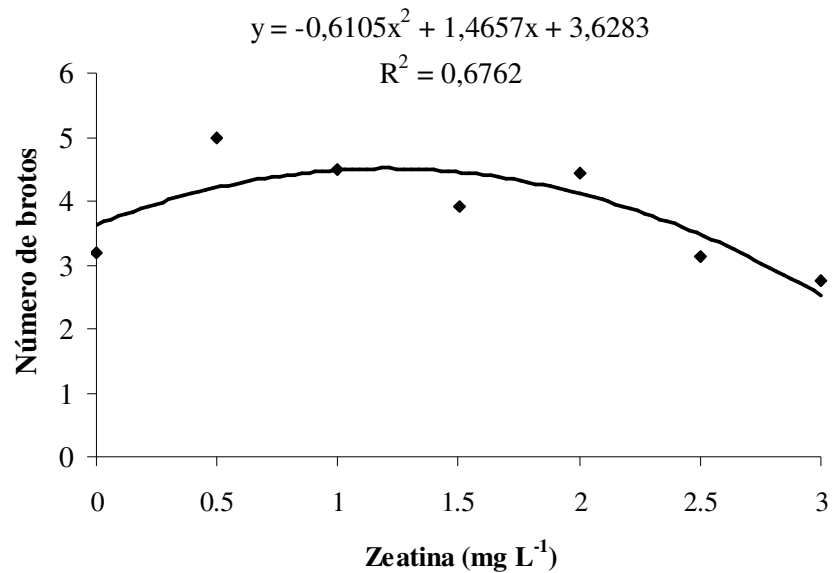
**FIGURA 5** Número de raízes formadas em explantes de gérbera cultivados *in vitro*, em diferentes concentrações de TDZ acrescidas ao meio MS modificado. UFLA, Lavras, MG, 2007.

Ao contrário, Borges et al. (2005), trabalhando com tomateiro, não observaram inibição na formação de raízes com o uso de TDZ.

Provavelmente, por se tratar de uma citocinina, o TDZ não estimulou a formação de raízes, que é atribuída ao balanço hormonal favorável às auxinas (Taiz & Zeiger, 2004).

## 5.2. Experimento 2: Efeito de zeatina e concentrações salinas do meio de cultura MS na multiplicação *in vitro* de gérbera

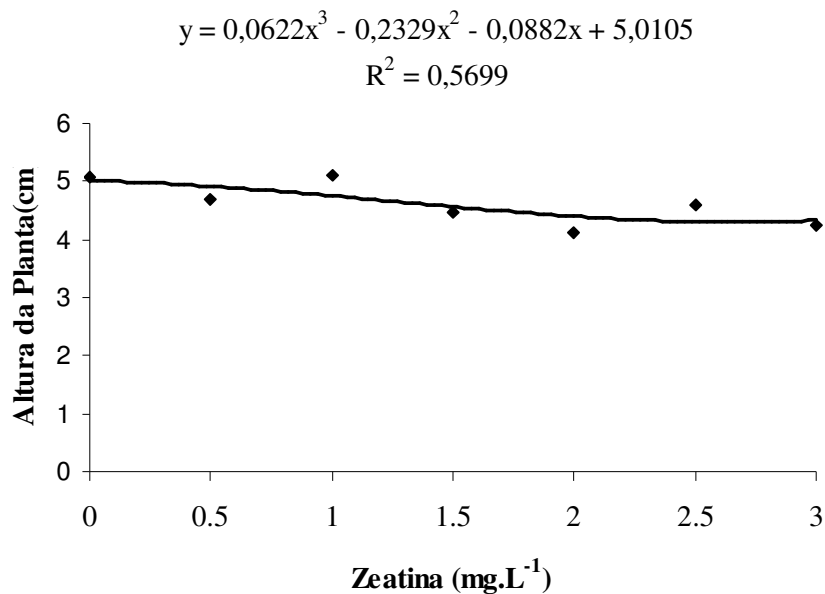
Apenas as concentrações de zeatina, independente das concentrações salinas do meio, foram significativas, afetando o número de brotos formados. Maior número de brotos pode ser estimado com a utilização de 1,2 mg L<sup>-1</sup> de zeatina no meio de cultura (Figura 6).



**FIGURA 6** Número de brotos formados em explantes de gérbera cultivados *in vitro* em diferentes concentrações de zeatina acrescidas ao meio de cultura MS modificado. UFLA, Lavras, MG, 2007.

Também Silva et al. (2006) observaram maior sobrevivência e estabelecimento dos explantes *in vitro*, utilizando zeatina no cultivo *in vitro* de mirtilo.

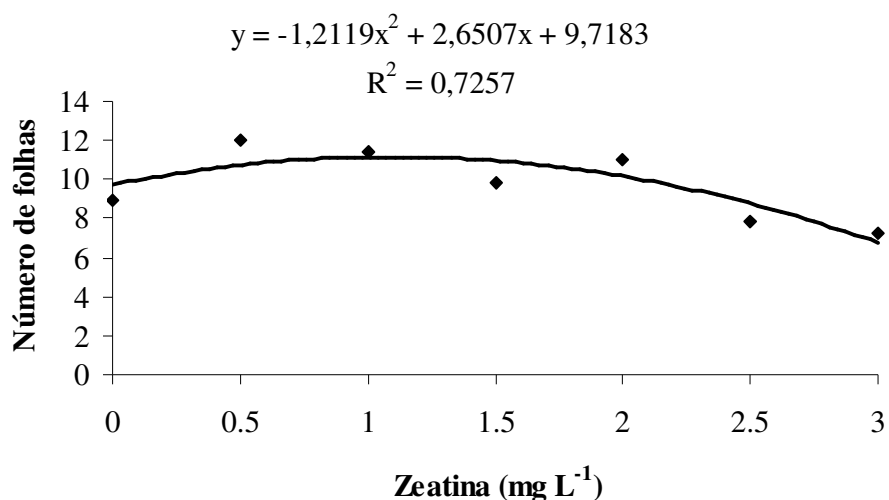
Analisando-se a altura de plantas formadas, constata-se que também apenas zeatina foi significativa, não havendo efeito dos meios de cultura. A ausência de zeatina no meio de cultura proporcionou a formação de plantas com maior altura (Figura 7).



**FIGURA 7** Altura das plantas de gérbera cultivadas *in vitro*, em diferentes concentrações de zeatina acrescidas ao meio de cultura MS modificado. UFLA, Lavras, MG, 2007.

Analisando-se o número de folhas formadas em explantes de gérbera cultivadas *in vitro*, constata-se que somente o uso de zeatina foi significativo, independente das concentrações salinas de meio MS. Maior número de folhas

pode ser obtido com a utilização de 1,09 mg L<sup>-1</sup> de zeatina no meio de cultura (Figura 8).



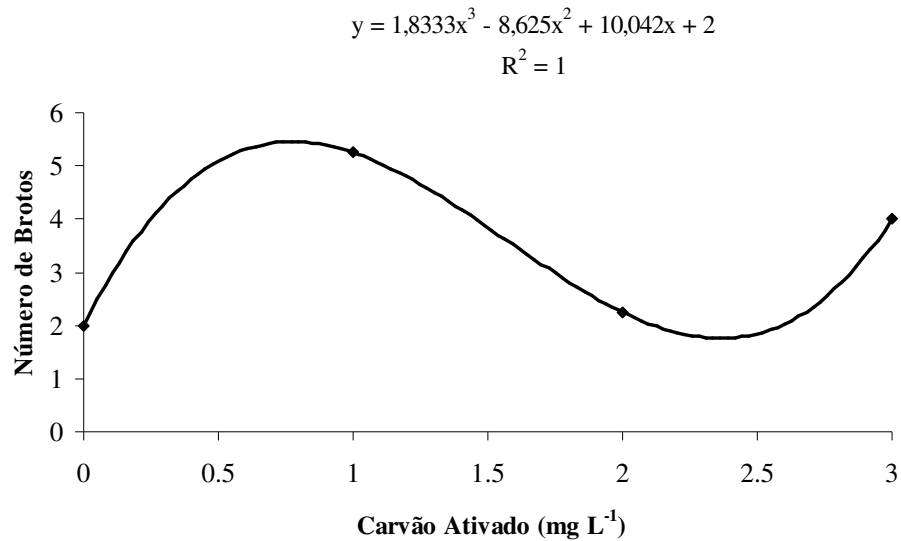
**FIGURA 8** Número de folhas formadas em explantes de gérbera cultivados *in vitro*, em diferentes concentrações de zeatina acrescidas ao meio de cultura MS modificado. UFLA, Lavras, MG, 2007.

Resultados obtidos por Carvalho et al. (2004), cultivando caquizeiro *in vitro*, também comprovaram maior eficiência do uso de zeatina para a formação de folhas.

Analisando o número de raízes, observa-se que ocorreu interação entre as concentrações dos sais do meio de crescimento e as concentrações de zeatina. No meio de cultura MS100% dos sais, na ausência de zeatina, houve maior formação de raízes, 2,25 por explantes. Utilizando MS 50% dos sais, na ausência de zeatina, foi obtido maior número de raízes (Figura 9).



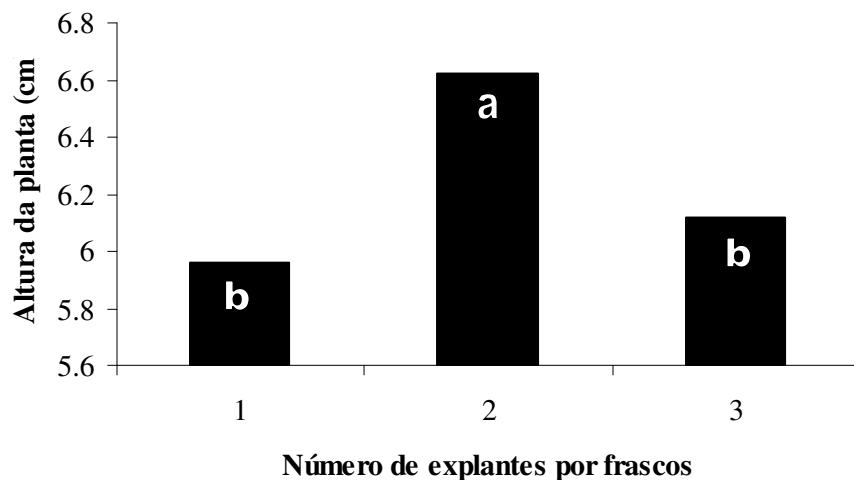




**FIGURA 10** Número de brotos formados em explantes de gérbera cultivados *in vitro* com diferentes concentrações de carvão ativado adicionado ao meio de cultura MS. UFLA, Lavras, MG, 2007.

Mendel (2001), trabalhando com inhame (*Dioscorea alata* L), também verificou que o número de plantas por frasco não mostrou diferença em nenhum dos aspectos estudados.

Analisando a altura das plantas de gérberas cultivadas *in vitro*, constata-se que somente número de plantas por frascos foi significativo, independente do uso de carvão ativado, tendo sido obtidas plantas com maior altura (6,62 cm) quando se utilizaram duas plantas por frascos (Figura 11).



**FIGURA 11** Altura de plantas de gérbera cultivada *in vitro*, em diferente número de explantes por frascos. UFLA, Lavras, MG, 2007.

Analisando-se número de folhas, observa-se que a interação meio da concentração de carvão e número de plantas não foi significativa. Também as concentrações de carvão e número de plantas, isoladamente, não foram significativas.

## 6 CONCLUSÕES

O uso de TDZ não é recomendado para o cultivo *in vitro* de gérberas, cultivar Jaguar Cream.

Recomenda-se a utilização do meio MS modificado acrescido de 1,2 mg L<sup>-1</sup> de zeatina para a formação de brotos e de 1,09 mg L<sup>-1</sup> para a formação de folhas de gérbera da cultivar Jaguar Cream.

O uso de carvão ativo na concentração de 0,58 mg L<sup>-1</sup> foi favorável à indução de brotos em plantas de gérbera cultivadas *in vitro*.

Recomenda-se o cultivo de dois explantes por frasco.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BORGES; N. S. S.; BENBADIS; A. K.; MARCO, C. A. Respostas morfogênicas de tomateiro cultivado *in vitro*. **Revista Ciência Agrônômica**, v. 36, n. 1, p. 91-97, 2005.

BOUZIGUES, P. La production de vitroplants pour l'horticulture ornamentale em France. **Revue Horticole**, Paris , n. 277, p. 15-23, 1987.

CARVALHO, D. C.; BIASI, L. A., TELLES, C. A. Organogênese do caquizeiro 'Fuyu' a partir de ápices meristemáticos. **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 10, n. 3, p. 303-307, 2004.

ECHEVERRIGARAY, S.; ANDRADE, L. B.; DELAMARE, A. P. L.; ZENI, A, L. B.; CARRER, R. Cultura de tecidos e micropropagação de plantas aromáticas e medicinais. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. **Biotecnologia na agricultura e na agroindústria**. Guaíba: Agropecuária, 2001. p. 257-276.

FERREIRA, D. F. Análises estatísticas por meio do SISVAR para Windows versão 4.0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45., 2000, São Carlos. **Anais...** São Carlos, SP: UFSCAR, 2000. v.1, 225 p.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (Ed.). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: EMBRAPA-CBAB, 1998. p. 331-353.

MEDEL, G. H.; SILVEIRA, J. A. E.; FONSECA, Z. I.; ALCANTARA, A. G.; SALAZAR, N. E.; LICEA, G. E. L. C.; RODRÍGUEZ, S. A. M. Efecto de algunos factores del ambiente 'in vitro' en la multiplicación del ñame, IV: Dosis de medio de cultivo y densidad de inóculo por frasco **Revista de Tecnología e Higiene de Los Alimentos**, n. 326, p. 123-126, 2001

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 15, n. 3, p. 473-497, 1962.

OLIVERA, V. Z.; GUTIÉRREZ, M. A.; GUTIÉRREZ, J. A.; ANDRADE, M. Cultivo *in vitro* de gerbera (*Gerbera jamesonii* H. Bolus) y su aclimatación en invernadero. **Bioagro**, La Prata, v. 12, n. 3, p. 75-80, 2000.

PIERIK, R. L. M.; STEEGMANS, H. H. M.; VERHAEGH, J. A. W.; WOUTERS, A. N. Effect of cytokinin and cultivar on shoot formation of *Gerbera jamesonii* *in vitro*. **Netherlands Journal of Agricultural Science**, v. 30, n. 4, p. 341-346, 1982

RADICE, S.; MARCONI, P. L. Clonación *in vitro* de diversos cultivares de *Gerbera jamesonii* a partir de capítulos florales. **Revista de la Facultad. Agronomía**, La Plata, n. 103, p. 111-118, 1998.

REZENDE, R. K. S. **Aspectos do cultivo *in vitro* e divergência genética em gérbera (*Gerbera jamesonii*)**. 2005. 91 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia. Fisiologia Vegetal) Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

S & G FLOWERS. *Gerbera jamesonii*. Disponível em: <[http://www. sg-flowers. com](http://www.sg-flowers.com)>. Acesso em: 10 abr. 2007.

SILVA, L. C.; SCHUCH, M. W.; SOUZA, J. A.; ERIG, A. C.; ANTUNES, L. E. C. Meio nutritivo, reguladores de crescimento e frio no estabelecimento *in vitro* de mirtilo (*Vaccinium ashei* Reade) cv. Delite. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 12, n. 4, p. 405-408, 2006.

SOUSA, J. C.; ROCHA, M. V.; ALVES, G. C.; CACAU, J. B.; CORREIA, D.; CAVALCANTE JÚNIOR, A. T. **Efeito das citocininas Thidiazuron e Benzilaminopurina na multiplicação de gemas *in vitro* de abacaxizeiro**. 2001. Disponível em: <[http://www.redbio.org/portal/encuentros/enc\\_2001/posters/01/posterpdf/01-025/025.PDF](http://www.redbio.org/portal/encuentros/enc_2001/posters/01/posterpdf/01-025/025.PDF)>. Acesso em: 25 jun. 2007.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. Porto Alegre: Artmed, 2004. p. 449-484.

TIMBÓ, A. L. de O.; CARVALHO, A. C. P. P. de; MORAIS, J. P. S., AGUILAR, J. P. de L. . **Produção de mudas de seis variedades de gérbera (*Gerbera jamesonii*), através da micropropagação** Disponível em: <<http://www.cnpat.embrapa.br/publica/documentos/iniciencia/arquivos/AnaLuiza.html>>. Acesso em: 19 abr. 2007.

**CAPÍTULO III: FONTES DE SILÍCIO NO CULTIVO *IN VITRO*  
DE GÉRBERA**

## 1 RESUMO

SILVA, Diogo Pedrosa Corrêa da. Fontes de silício no cultivo *in vitro* de gérbera. In: \_\_\_\_\_. **Meios de cultura e fontes de silício no desenvolvimento *in vitro* de gérbera.** 2007. Cap. 3, p. 40 – 70. Dissertação (Mestrado em Agronomia. Fisiologia Vegetal) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.\*

As plantas ou explantes cultivados *in vitro* possuem exigências nutricionais específicas. Dentre esses elementos, pode-se destacar o silício, que apresenta benefícios para plantas, como aumento da tolerância ao estresse hídrico, aumento da capacidade fotossintética, redução do acamamento e redução na transpiração, efeitos esses bastante relevantes na fase de aclimatização. Dessa forma, objetivou-se avaliar a efetividade do silício no cultivo *in vitro* e na aclimatização de gérbera. Foram utilizadas plantas, já estabelecidas *in vitro*, de *Gerbera jamesonii* cv. Jaguar Cream. Os explantes utilizados possuíam entre 4 a 6 cm, com 2 folíolos cada. O meio utilizado foi o MS, com diferentes concentrações de sais: 25%, 50%, 75% e 100% e suplementado com silicato de potássio, silicato de sódio, silicato de cálcio e ácido silícico nas concentrações 0, 0,25; 0,5; 0,75; 1 g L<sup>-1</sup>, em diferentes experimentos. O meio de cultura foi ainda acrescido de 30 g L<sup>-1</sup> de sacarose e solidificado em 6 g L<sup>-1</sup> de ágar, tendo seu pH ajustado para 5,8±0,1. O experimento foi mantido em sala de crescimento, a 25±2°C de temperatura, por um período de 45 dias, sob fotoperíodo de 16 horas e irradiância de fótons de 43 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>. As características avaliadas foram: altura da maior brotação, número de brotações, número de folhas e presença de raízes. Após a avaliação, as plantas foram transferidas para tubetes com o substrato comercial plantmax<sup>®</sup> e envolvidas com sacos plásticos para manter a umidade. Após a transferência, as plântulas foram cobertas com sacos plásticos, retirados gradativamente a cada 7 dias, até a retirada total, no 21<sup>o</sup> dia. Após o período de 30 dias, avaliou-se a taxa de sobrevivência das plântulas. Para a indução de brotos, folhas e raízes em explantes de gérbera cultivadas *in vitro*, o uso de silicato de cálcio proporcionou maiores valores na concentração de 1,0 g L<sup>-1</sup> e o meio de crescimento MS 50%. O uso de silicato de potássio na concentração de 1,0 g L<sup>-1</sup> proporcionou plantas de maior altura quando cultivadas em meio MS 50%. Não houve diferença na porcentagem de pegamento das plantas oriundas dos diferentes tratamentos.

---

\* Comitê de orientação: Prof. Dra. Patrícia Duarte de Oliveira Paiva (Orientadora), Prof. Dr. Renato Paiva (Co-orientador)

## 2 ABSTRACT

SILVA, Diogo Pedrosa Corrêa da. Silicium sources used at the *in vitro* cultivation of gerbera. In: \_\_\_\_\_. **Culture medium and sources of silicium at the development of gerbera *in vitro***. 2007. Cap. 3, p. 40 – 70. Dissertação (Master Program in Agronomy/Plant Physiology) - Federal University of Lavras, Lavras, MG. \*

Plants or explants cultivated *in vitro* have some specific nutritional demands. Among these elements, the silicium can be stand out, once it present benefits for the plants like an increase in the tolerance to the hydric stress, an increase of the photosynthetic capacity, an reduction in the put in a horizontal position and reduction in the transpiration, quite relevant effects in the acclimatization phase. By this way it was aimed evaluate the effectiveness of the silicium in the *in vitro* cultivation and acclimatization of gerbera. Plants of *Gerbera jamesonii* cv Jaguar Cream already stabilished *in vitro* were used. The explants used had about 4 to 6cm with 2 leaves each. The medium used was MS, with different concentrations of salts: 25%, 50%, 75% and 100% added with Potassium silicate, Sodium silicate, Calcium silicate and Acid salicylic in the concentrations of (0, 0,25; 0,5; 0,75; 1 g L<sup>-1</sup>), in different experiments. The culture medium was added with 30g L<sup>-1</sup> of sucrose and solidified with 6g L<sup>-1</sup> of agar, the pH was adjusted to 5,8±0,1. The experiment was kept at the growth room in a temperature of 25±2°C for a period of 45 days, with a photoperiod of 16 hours and photons irradiance of 43 mol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>. The characteristics accessed were: height of the biggest shoot, number of shoots, number of leaves and presence of roots. After the acessesment, the plants were transferred for tubets with the commercial substrate plantmax® and involved with plastic sacks to maintain the humidity. After the transference, the plants were covered with plastic sacks, taken of gradually every 7 days until the total retreat in the 21<sup>o</sup> day. After the period of 30 days, the tax of survival of the plants was evaluated. For induction of shoots, leaves and roots in the explants of gerbera cultivated *in vitro*, the use of Calcium silicate provided larger values in the concentration of 1,0 g L<sup>-1</sup> and MS growth medium 50%. The use of Potassium silicate in the concentration of 1,0 g L<sup>-1</sup> provided plants with bigger height when cultivated in MS medium 50%. There was no difference in the percentage of survive of the plants from the different treatments.

---

\* Guidance Committee: Dra. Patrícia Duarte de Oliveira Paiva (Adviser), Dr. Renato Paiva (Co-Adviser).



### 3 INTRODUÇÃO

O uso das técnicas de micropropagação permite a obtenção, em um curto espaço de tempo, de grande número de plantas com qualidade superior. O emprego da cultura de tecidos tem sido crescente para a produção de mudas de gérbera, sendo uma técnica bastante utilizada na propagação comercial. As primeiras tentativas nesse sentido foram feitas por Pierik & Segers (1973), na Holanda, estudando os fatores que afetam a formação de raízes adventícias, em cultivo de nervuras de folhas jovens. Os resultados deste trabalho serviram de base para posteriores estudos do cultivo *in vitro* de gérbera.

Plantas ou explantes cultivados *in vitro* possuem exigências nutricionais específicas, requerendo meios nutritivos suplementados com as necessidades exógenas da célula, considerando os elementos essenciais, constituintes orgânicos e energia (Torres et al., 2001).

Dentre esses elementos pode-se destacar o silício, que apresenta, como benefícios para plantas, aumento da tolerância ao estresse hídrico, aumento da capacidade fotossintética, redução no acamamento, redução na transpiração e aumento na resistência ao ataque de pragas e doenças (Ma et al., 2001).

Uma das fases da micropropagação, na qual o uso de silício pode proporcionar benefícios, é a aclimatização. Essa fase envolve o transplante da plântula da condição *in vitro* para a casa de vegetação que, geralmente, consiste de uma fase crítica e que pode ser um fator limitante para o processo de micropropagação de algumas espécies (Torres et al., 1998).

Essa passagem crítica, da fase *in vitro* para a casa de vegetação, deve-se basicamente aos fatores de estresse hídrico, fotossíntese, absorção de nutrientes e fitossanidade. Devido a isso, é necessário que a plântula em aclimatização

utilize fatores que diminuam os efeitos dessa transferência e propicie boas condições para o seu melhor desenvolvimento.

Dessa maneira, o silício pode contribuir para a qualidade final do vegetal, pois seu acúmulo na cutícula das folhas permite proteção às plantas, aumento da capacidade fotossintética, redução de perda de água e promove um maior crescimento (Epstein, 1999).

No entanto, existem poucos trabalhos sobre a utilização de silício *in vitro*, mas pode-se citar o trabalho de Soares et al. (2007) que utilizaram orquídeas cultivadas *in vitro*. Maior broto foi formado na concentração de 5 mg L<sup>-1</sup> de Supa potássio<sup>®</sup> (fonte de silicato de potássio). Para comprimento da parte aérea, número de raízes e comprimento médio de raízes de orquídea foram verificados que com 5 mg L<sup>-1</sup> de Supa Potássio<sup>®</sup> associada a altas concentrações (5, 10 e 20 mg L<sup>-1</sup>) de silicato de sódio obtive melhores resultados.

O objetivo da realização deste trabalho foi verificar a eficiência do uso de silício adicionado ao meio de cultura MS para cultivo *in vitro* e aclimatização de gérbera.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Cultura de Tecidos de Plantas e NA sala de crescimento do setor de Fisiologia Vegetal do Departamento de Biologia, Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras, MG.

### 4.1 Material vegetal

Plantas matrizes de *Gerbera jamesonii* cv. Jaguar Cream já estabelecidas *in vitro* foram seccionadas em brotos com 2 folhas, medindo entre 4 a 6 cm.

### 4.2 Meio de cultura

O meio nutritivo utilizado foi o MS (Murashige & Skoog, 1962), nas concentrações DE 25%, 50%, 75% e 100% dos seus sais, acrescidos de 30 g L<sup>-1</sup> sacarose, e solidificado com 6 g L<sup>-1</sup> de ágar. O pH foi ajustado para 5,8±0,1, sendo colocados 50 mL de meio de cultura em cada frasco de vidro.

A esterilização dos meios de cultura foi feita por autoclave, à temperatura de 121°C e pressão de 1,05 kg cm<sup>-2</sup>, durante 20 minutos.

### 4.3 Experimentos: Efeito de fontes de silício e concentrações de meio de cultura no cultivo *in vitro* de gérbera

Foram realizados quatro experimentos, testando-se as seguintes fontes de silício: silicato de sódio, silicato de cálcio, silicato de potássio e ácido silícico.

#### **4.3.1 Experimento 1: Efeito do silicato de potássio e das concentrações salinas do meio de cultura MS no cultivo *in vitro* de gérbera**

O meio de cultura MS, nas concentrações de 25%, 50%, 75% e 100% dos sais, foi suplementado com silicato de potássio ( $K_2SiO_3$ ), nas concentrações 0 (Testemunha), 0,25; 0,5; 0,75 e  $1g L^{-1}$ , perfazendo um fatorial 4x5.

#### **4.3.2 Experimento 2: Efeito do silicato de cálcio e das concentrações salinas do meio de cultura MS no cultivo *in vitro* de gérbera**

O meio de cultura MS nas concentrações de 25%, 50%, 75% e 100% dos sais, foi suplementado com silicato de cálcio ( $CaSiO_3$ ), nas concentrações 0 (Testemunha), 0,25; 0,5; 0,75 e  $1g L^{-1}$ , perfazendo um fatorial 4x5.

#### **4.3.3 Experimento 3: Efeito do silicato de sódio e das concentrações salinas do meio de cultura MS no cultivo *in vitro* de gérbera**

O meio de cultura MS, nas concentrações de 25%, 50%, 75% e 100% dos sais, foi suplementado com silicato de sódio ( $Na_2SiO_3$ ), nas concentrações 0 (Testemunha), 0,25; 0,5; 0,75 e  $1g L^{-1}$ , perfazendo um fatorial 4x5.

#### **4.3.4 Experimento 4: Efeito do ácido silícico e das concentrações salinas do meio de cultura MS no cultivo *in vitro* de gérbera**

O meio de cultura MS, nas concentrações de 25%, 50%, 75% e 100% dos sais, foi suplementado com ácido silícico ( $H_4SiO_4$ ), nas concentrações 0 (Testemunha), 0,25; 0,5; 0,75 e  $1g L^{-1}$ , perfazendo um fatorial 4x5.

#### **4.4 Delineamento estatístico**

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 4x5, totalizando 20 tratamentos com 5 repetições cada, sendo a parcela constituída de um frasco com 2 plantas.

#### **4.5 Condições de incubação**

As plantas foram inoculadas em câmaras de fluxo laminar horizontal em condições estéreis e transferidas para sala de crescimento por 45 dias com fotoperíodo de 16 horas, temperatura de  $25\pm 2^{\circ}\text{C}$  e irradiância de fótons de  $43\ \mu\text{mol m}^{-2}\ \text{s}^{-1}$ .

#### **4.6 Avaliações**

As características avaliadas após 45 dias de cultivo foram: altura da maior brotação, número de brotações, número de folhas e presença de raízes. Os dados quantitativos foram comparados por meio de regressão polinomial, empregando-se o Software Sisvar (Ferreira, 2000).

#### **4.7 Efeito de silício na pré-aclimatização de gérbera *in vitro***

Plântulas desenvolvidas *in vitro* nos experimentos de 1 a 4 foram utilizadas como material vegetal. As plântulas foram transferidas para tubetes contendo o substrato comercial Plantmax<sup>®</sup>, seguindo-se a ordem dos tratamentos aplicados *in vitro*.

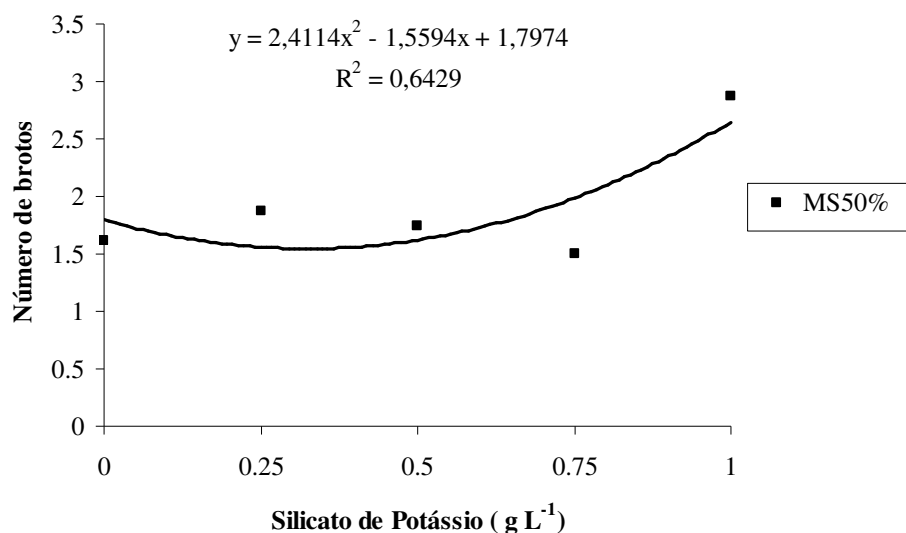
Após a transferência, cada tubete foi coberto com sacos plásticos para a manutenção da umidade, sendo retirados gradativamente a cada 7 dias, até a retirada total, no 21<sup>o</sup> dia. As plantas foram mantidas em sala de aclimatização sob fotoperíodo de 12 horas e irradiância de fótons de  $60\ \mu\text{mol m}^{-2}\ \text{s}^{-1}$ .

Após um período de 30 dias, avaliou-se a taxa de sobrevivência das plântulas. Plantas vivas receberam nota 1 e plantas mortas, nota 0. Os dados foram analisados pelo programa estatístico SAS( Sas Institute, 1990).

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Experimento 1: Efeito do silicato de potássio e das concentrações salinas do meio de cultura MS no cultivo *in vitro* de gérbera

Analisando-se o número de brotações, constata-se que ocorreu interação entre as concentrações salinas do meio MS e as concentrações de silicato de potássio testadas. Houve significância apenas para o meio MS utilizado com 50% de sua concentração salina. Maior número de brotos (2,65/explantes) foi obtido em explantes cultivados em meio acrescidos de  $1,0\text{g L}^{-1}$  de silicato de potássio (Figura 1).

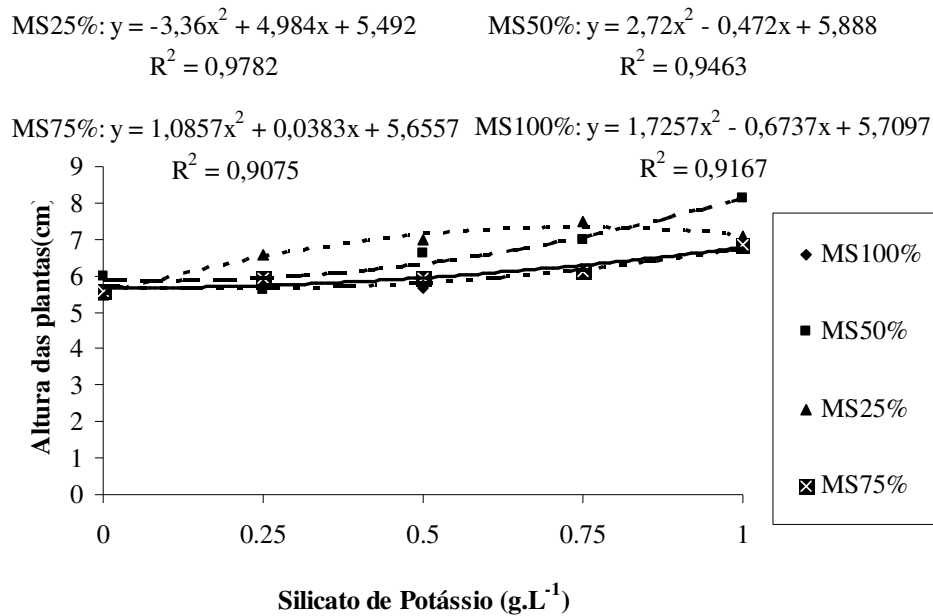


**FIGURA 1** Número de brotos formados em explantes de gérbera cultivados *in vitro*, em meio de cultura MS50% e silicato de potássio. UFLA, Lavras, MG, 2007.

Observa-se, ainda na Figura 1, que o número de brotos formados aumentou com o uso de concentrações mais elevadas de silicato de potássio.

Soares et al. (2007), trabalhando com *Cattleya loddgesii*, com incremento nas concentrações da fonte de silicato de potássio, observou um decréscimo no número de brotos de orquídea. Para essa espécie, a concentração ideal foi 5 mL L<sup>-1</sup> de Supa Potássio®.

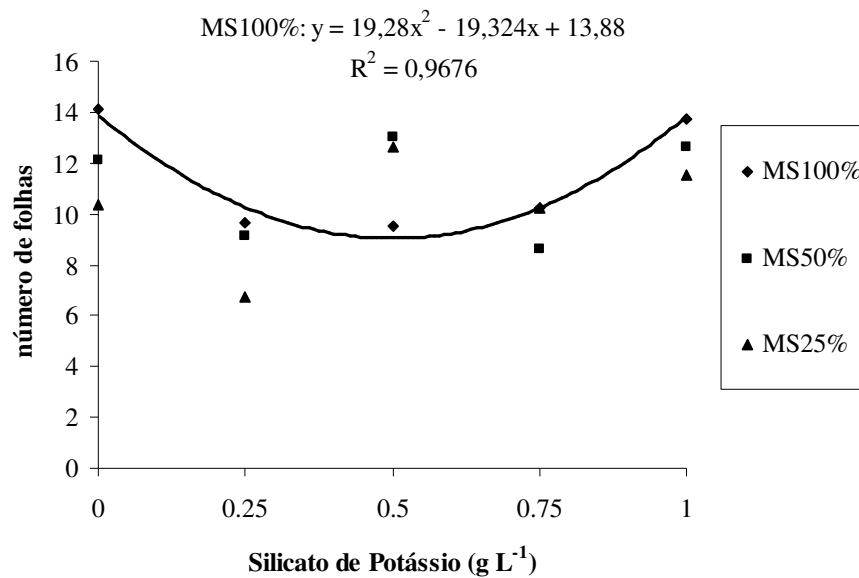
Avaliando-se a altura das plantas, observa-se também houve interação entre as concentrações salinas do meio de crescimento MS com as concentrações de silicato de potássio testadas, como mostrado na Figura 2. Plantas de maior altura foram formadas na concentração de 50% dos sais do MS acrescido de 1,0 g L<sup>-1</sup> de silicato de potássio (Figura 2).



**FIGURA 2** Altura das plantas de gérbera cultivadas *in vitro*, em diferentes concentrações de sais do meio MS e de silicato de potássio. UFLA, Lavras, MG, 2007.

Observa-se, para todas as concentrações salinas testadas do meio MS, que, à medida que se elevaram as concentrações de silicato de potássio, foram formadas plantas com maior altura.

Analisando-se o número de folhas formadas, constata-se que também houve interação entre as concentrações salinas do MS e as concentrações de silicato de potássio testadas (Figura 3). Os brotos de explantes cultivados em meio MS 100%, na ausência de silicato de potássio, apresentaram maior número de folhas (14,12/explante).

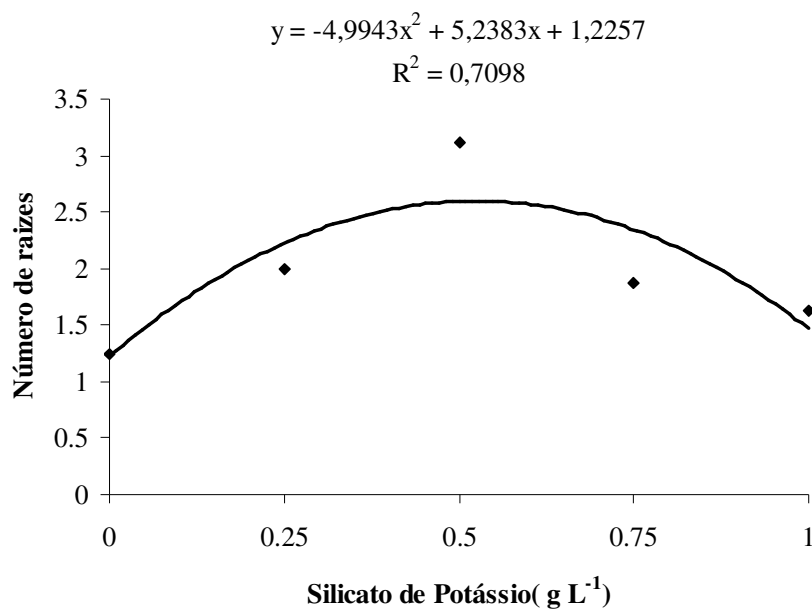


**FIGURA 3** Número de folhas formadas em explantes gérbera cultivados *in vitro*, em diferentes concentrações de meio MS e silicato de potássio. UFLA, Lavras, MG, 2007.

Semelhantemente, Soares et al. (2007) também observou a formação de maior número de folhas em explantes de *Cattleya loddgesii* cultivadas na ausência de Supa Potássio<sup>®</sup>.



Analisando-se o número de raízes, observa-se que somente a interação entre meio MS100% e concentrações de silicato de potássio foi significativa. Maior número de raízes foi formado com a adição de 0,52 g L<sup>-1</sup> de silicato de potássio. A formação de raízes foi diminuída com o uso de concentrações mais elevadas de silicato de potássio ou na ausência dessas (Figura 4).



**FIGURA 4** Número de raízes formadas em explantes gérbera cultivados *in vitro* em meio MS 100% dos sais e diferentes concentrações de silicato de potássio. UFLA, Lavras, MG, 2007.

Soares et al. (2007) constatou maior formação de raízes em orquídeas, na concentração de 5 mL L<sup>-1</sup> de Supa Potássio®.

Esse efeito da redução da formação de raízes é contrário à formação de brotações que teve seus valores elevados à medida que as concentrações de

silicato de potássio foram aumentadas. Também o crescimento em altura das plantas foi favorecido pelo aumento das concentrações de silicato de potássio.

### **5.2: Experimento 2: Efeito do silicato de cálcio e das concentrações salinas do meio de cultura MS no cultivo *in vitro* de gérbera**

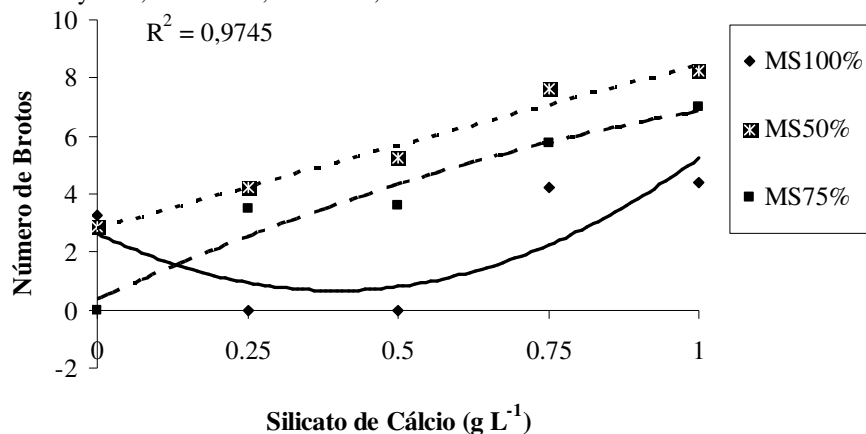
Analisando-se o número de brotos, constata-se que ocorreu interação entre as concentrações do meio de cultura e de silicato de cálcio. O melhor resultado foi observado no cultivo *in vitro* meio MS com 50% dos sais, acrescido de  $1,0 \text{ g L}^{-1}$  de silicato de cálcio, formando, em média, 8,25 brotos por explante (Figura 5).

Analisando-se número de brotos, constata-se que o uso de silicato de cálcio proporcionou a formação de número de brotos mais elevado em relação ao silicato de potássio: 8,25 e 2,65, respectivamente, na mesma concentração salina do meio MS.

$$\text{MS100\%: } y = 12,56x^2 - 9,964x + 2,646 \quad \text{MS75\%: } y = -2,8457x^2 + 9,3457x + 0,3683$$

$$R^2 = 0,657 \quad R^2 = 0,9436$$

$$\text{MS50\%: } y = -0,1486x^2 + 5,8006x + 2,8034$$

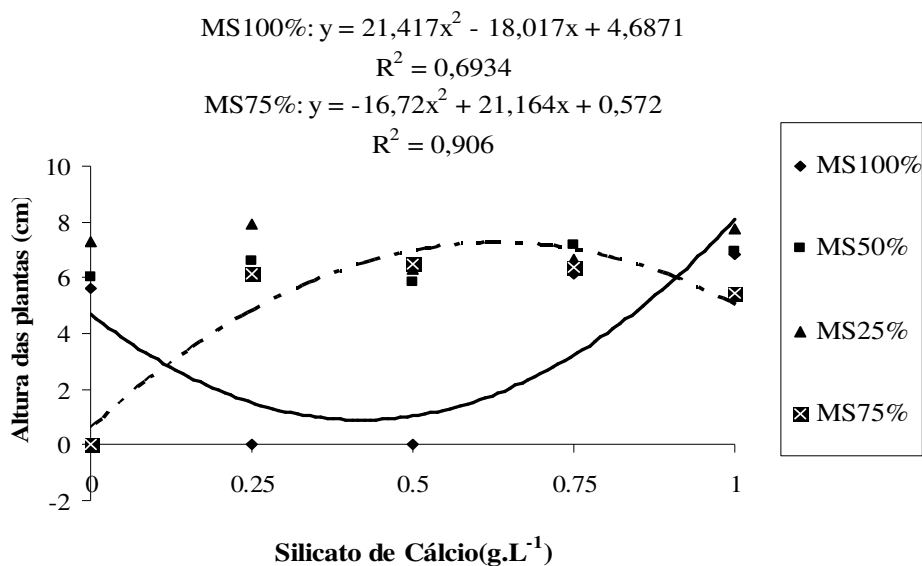


**FIGURA 5** Número de brotos formados em explantes de gérbera cultivados *in vitro*, em diferentes concentrações MS e de silicato de cálcio. UFLA, Lavras, MG, 2007.

Em todas as concentrações salinas testadas do meio MS, observou-se elevação do número de brotos formados com o aumento das concentrações de silicato de cálcio.

Para altura das plantas também houve interação entre as concentrações salinas do meio de cultura e de silicato de cálcio aplicadas. Brotos com maior altura (8,09cm) foram formados em meio MS 100% dos sais, acrescido de 1,0 g L<sup>-1</sup> de silicato de cálcio (Figura 6).

Comparando-se com os resultados obtidos com a utilização do silicato de potássio, conclui-se que o uso de silicato de cálcio proporcionou a formação de brotos com menor altura.

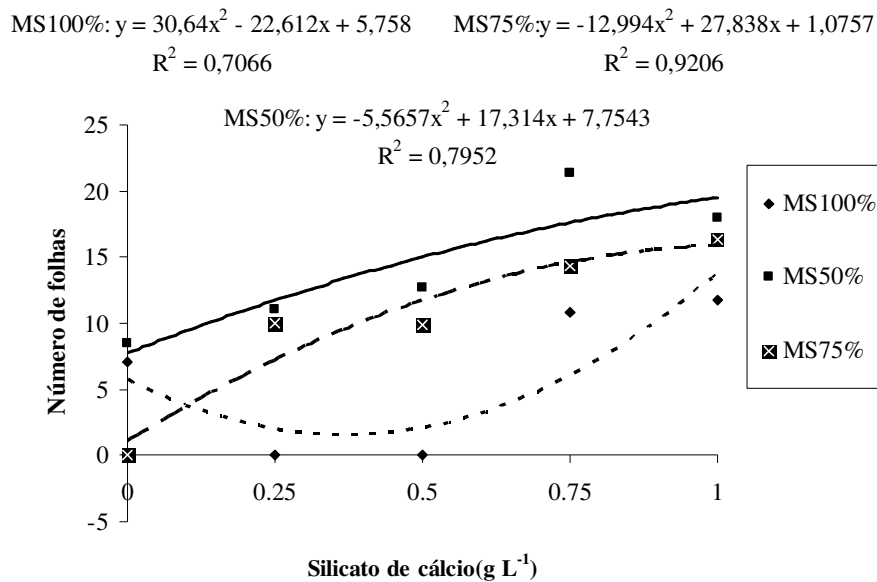


**FIGURA 6** Altura das plantas de gérbera cultivadas *in vitro*, em diferentes concentrações do meio MS e de silicato de cálcio. UFLA, Lavras, MG, 2007.

Zhou (1995) verificou um aumento de tamanho das folhas de *Phalaenopsis* com o cultivo em concentrações de 0,1-1,0 mg L<sup>-1</sup> de silicato de cálcio adicionadas ao meio de cultura VW modificado. O crescimento de plantas, órgãos, tecidos e células *in vitro* depende do desenvolvimento de meios de cultura otimizados para a perfeita interação de componentes essenciais como fontes de carbono e nutrientes minerais.

Para número de folhas, houve interação das concentrações de silicato de cálcio e as concentrações salinas do meio MS. Obteve-se maior número de folhas em explantes mantidos na concentração 1,0 g L<sup>-1</sup> silicato de cálcio adicionado ao meio MS50%, formando, em média, 19,50 folhas por explantes (Figura 7).

Comparado ao uso de com silicato de potássio, o emprego de silicato de cálcio proporcionou a indução de maior número de folhas, em média, 5 a mais, em relação ao uso de silicato de potássio.

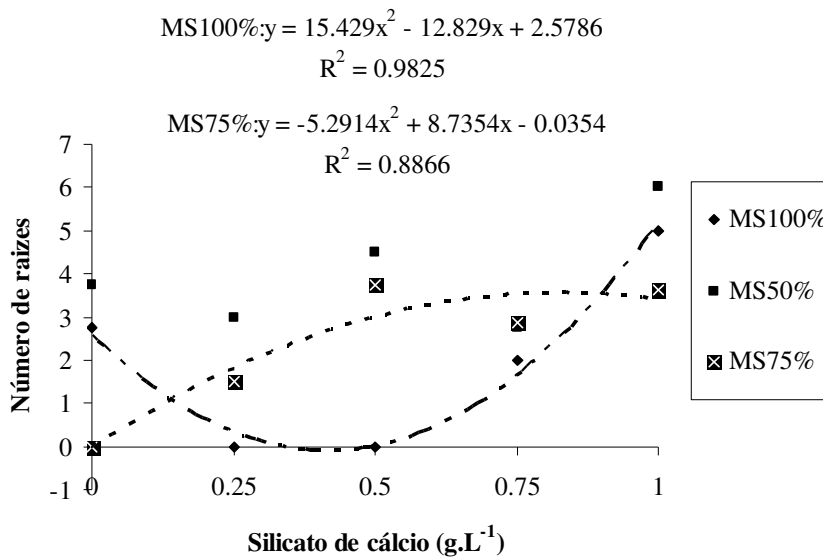


**FIGURA 7** Número de folhas formadas em explantes de gérbera cultivados *in vitro* em diferentes concentrações do meio de cultura MS e de silicato de cálcio. UFLA, Lavras, MG, 2007.

Verifica-se, pelo gráfico da Figura 7, que houve tendência de aumentar o número de folhas à medida que se elevaram as concentrações de silicato de cálcio ao meio de cultura.

Analisando-se o número de raízes, observa-se que ocorreu interação entre as diferentes concentrações do meio MS e de silicato de cálcio. Maior média foi obtida em brotos desenvolvidos no meio MS50% adicionado de 1,0 g L<sup>-1</sup> de silicato de sódio. Comparando-se esses resultados com os obtidos com a adição de silicato de potássio ao meio de cultura, verifica-se que também houve maior formação de raízes em brotos cultivados em meio MS acrescido de

silicato de cálcio, sendo formadas, em média, 2,8 raízes a mais por explante (Figura 8).



**FIGURA 8** Número de raízes formadas em explantes de gérbera cultivados *in vitro*, em diferentes concentrações do meio de cultura MS e de silicato de cálcio. UFLA, Lavras, MG, 2007.

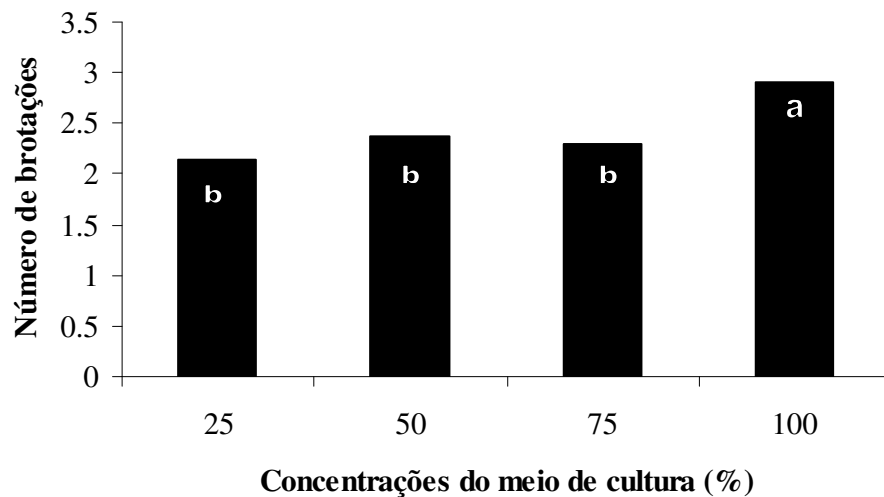
Observa-se que o número de raízes formadas tendeu a se elevar à medida que as concentrações de silicato de cálcio no meio de cultura foram aumentadas.

### 5.3 Experimento 3: Efeito do silicato de sódio e das concentrações salinas do meio de cultura MS no cultivo *in vitro* de gérbera

Analisando-se o número de brotações formadas, observa-se que não houve interação entre os fatores testados havendo significância somente a variável meio de cultivo independente das concentrações de silicato de sódio. Os

resultados mostram que meio MS 100% com médias de 2,9 brotos proporcionou o melhor resultado (Figura 9).

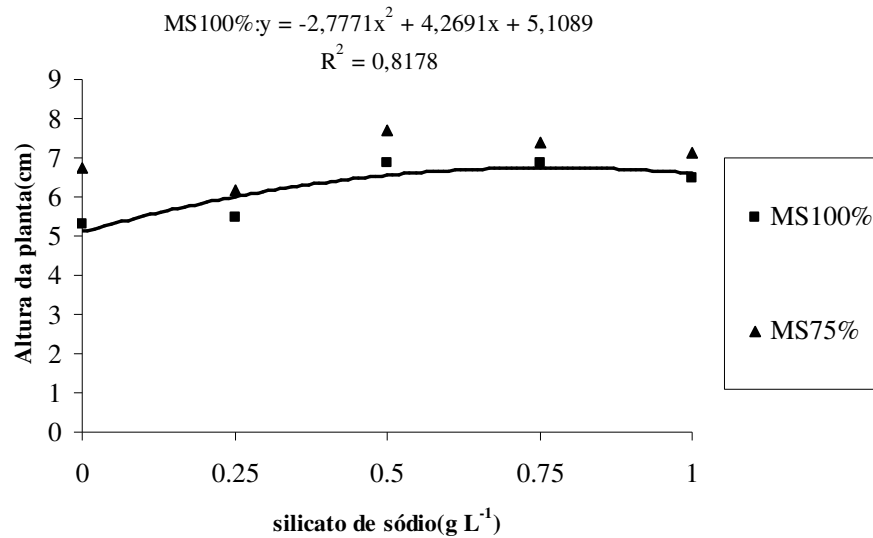
Os resultados obtidos no estudo de silicato de sódio mostram que, para número de brotos, o silicato de sódio apresentou maiores médias que para plantas cultivadas em silicato de potássio, mas não superando os resultados obtidos com o uso de silicato de cálcio.



**FIGURA 9** Número de brotos formados em explantes de gérbera cultivados *in vitro*, em diferentes concentrações do meio de cultura MS. UFLA, Lavras, MG, 2007.

Analisando-se a altura de plantas, constata-se que houve interação entre as concentrações salinas do meio de cultura e concentrações de silicato de sódio testadas. Plantas com maior altura (7,75 cm) foram formadas em explantes cultivadas em meio MS75% acrescido de 0,5 g L<sup>-1</sup> de silicato de sódio (Figura 10).

Comparando com os outros resultados obtidos, o uso de silicato de sódio proporcionou a formação de plantas com menor altura em relação ao uso de silicatos de cálcio e potássio.



**FIGURA 10** Altura das plantas de gérbera cultivadas *in vitro* em diferentes concentrações do meio de cultura MS e de silicato de sódio. UFLA, Lavras, MG, 2007.

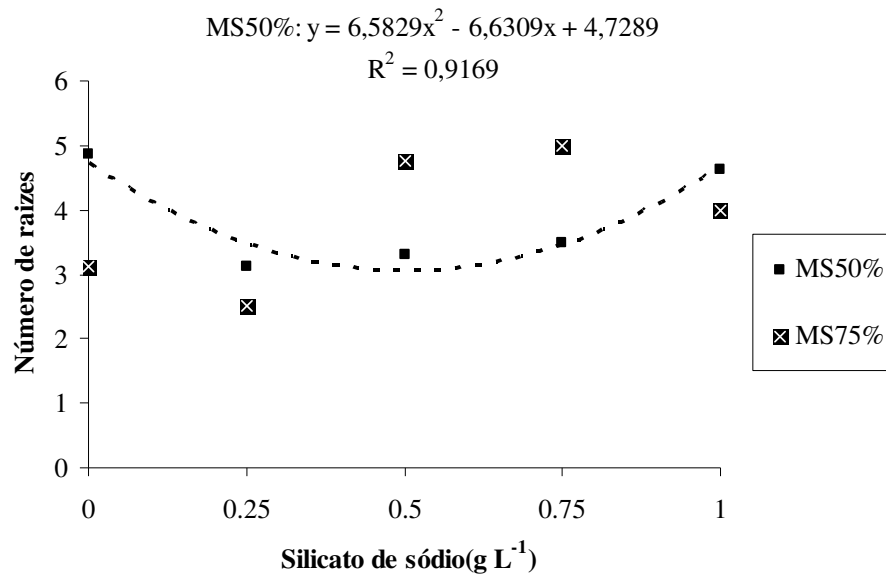
Em cultivo *in vitro* de orquídeas, Soares et al. (2007) observou que, com o aumento das concentrações de silicato de sódio, houve decréscimo no comprimento das plântulas de orquídea.

Analisando-se o número de folhas formadas *in vitro*, constata-se que não houve significância dos fatores estudados.

Para o número de raízes, observou-se interação entre as concentrações dos sais do meio MS e as concentrações de silicato de sódio. Observando-se os resultados, observa-se que maior número de raízes foi formado em explantes cultivados em meio MS50%, na ausência de silicato de sódio (Figura 11).



Comparando-se com as fontes silicato de potássio e silicato de cálcio, o uso de silicato de sódio proporcionou a formação de maior número de raízes em comparação com explantes cultivados em silicato de potássio (3,12/explante), mas ambos foram inferiores ao observado em explantes cultivados em silicato de cálcio (6/explante).

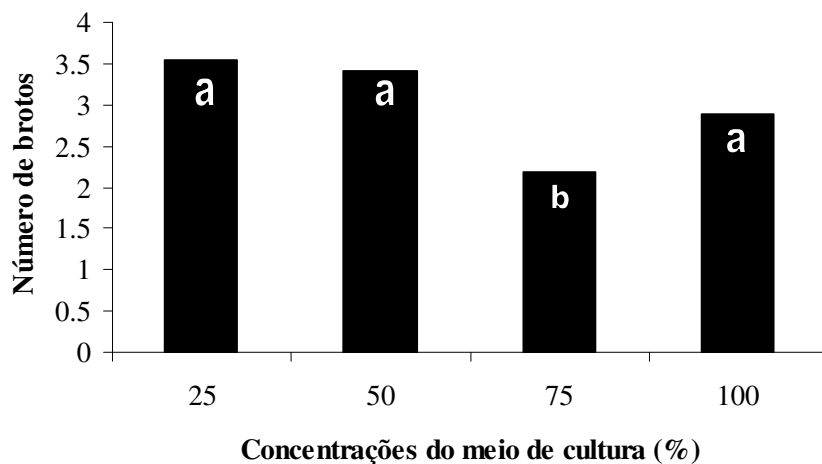


**FIGURA 11** Número de raízes formadas em explantes de gérbera cultivados *in vitro*, em diferentes concentrações do meio de cultura MS e de silicato de sódio. UFLA, Lavras, MG, 2007.

Para número de raízes formadas em orquídeas cultivadas *in vitro*, Soares et al. (2007) observou melhores resultados quando acrescentou 20 mg L<sup>-1</sup> de silicato de sódio ao meio de cultura.

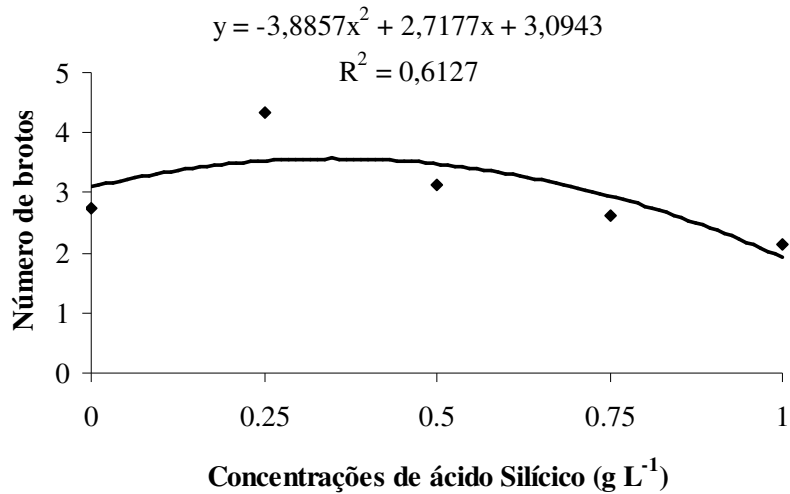
#### 5.4 Experimento 4: Efeito do ácido silícico e das concentrações salinas do meio de cultura MS no cultivo *in vitro* de gérbera

Analisando-se número de brotações, observa-se que a interação entre os fatores testados não foi significativa, havendo efeito somente das concentrações do meio de cultura e das de silicato de sódio, isoladamente. Para as concentrações dos sais do meio de cultura MS, o meio MS25%, MS50% e MS100% (Figura 12).



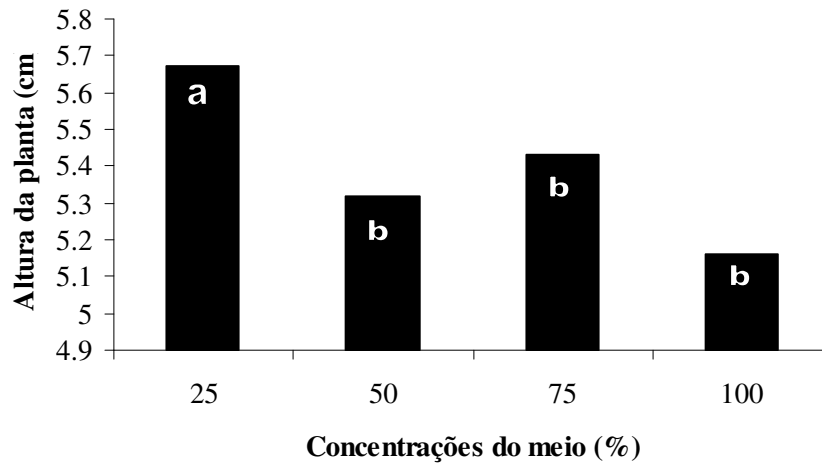
**FIGURA 12** Número de brotos formados em explantes de gérbera cultivados *in vitro*, em diferentes concentrações dos sais do meio de cultura MS. UFLA, Lavras, MG, 2007.

Maior número de brotos (3,57/explante) foi obtido em explantes cultivados em 0,35 g L<sup>-1</sup> de ácido silícico. O uso de ácido silícico proporcionou maior média de número de brotos formados, em comparação com o uso dos silicatos de potássio (2,65/explantes) e de sódio (2,48/explantes), mas inferiores aos obtidos com o uso silicato de cálcio (8,25/explantes) (Figura 13).



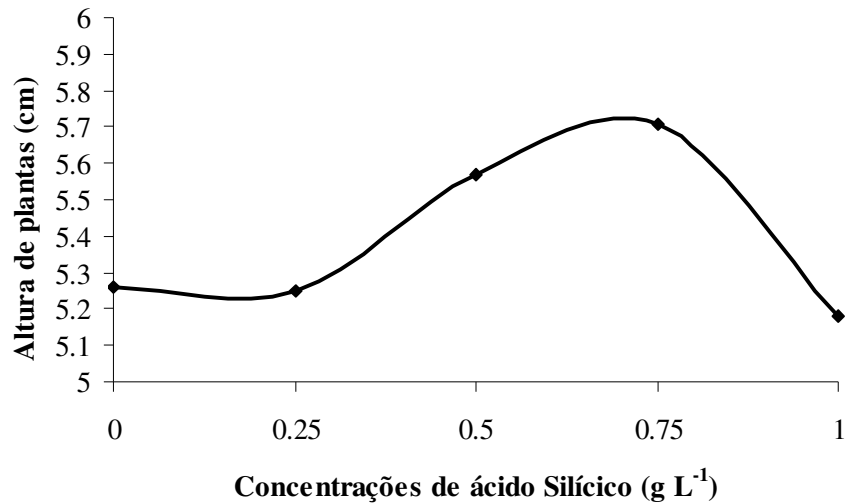
**FIGURA 13** Número de brotos formados em explantes de gérbera cultivados *in vitro*, em diferentes concentrações de ácido silícico. UFLA, Lavras, MG, 2007.

Quanto à altura das plantas formadas, pôde-se perceber que o meio de crescimento e as concentrações de ácido silícico não apresentaram interação, mas foram significativos isoladamente. O meio de cultura MS 25% proporcionou a formação de plantas com maior altura (5,7cm) (Figura 14)



**FIGURA 14** Altura da plantas de gérbera cultivadas *in vitro*, em diferentes concentrações dos sais do meio de cultura MS. UFLA, Lavras, MG, 2007.

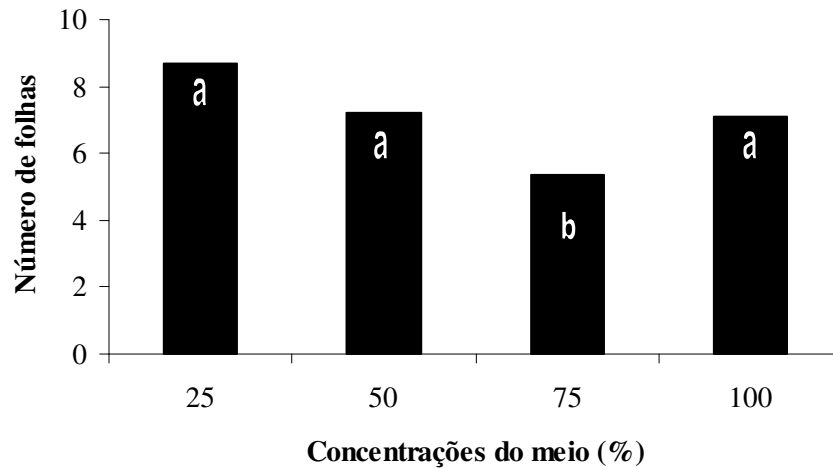
Maior altura das plantas foi obtida com a utilização de  $0,75 \text{ g L}^{-1}$  de silicato de sódio no meio de cultura. O ácido silícico proporcionou menor de altura média de brotos,  $5,72 \text{ cm}$ , em comparação com as outras fontes de silício testadas (silicato de potássio, silicato de cálcio e silicato de sódio) (Figura 15).



**FIGURA 15** Altura das plantas de gérbera cultivadas *in vitro*, em diferentes concentrações de ácido silícico. UFLA, Lavras, MG, 2007.

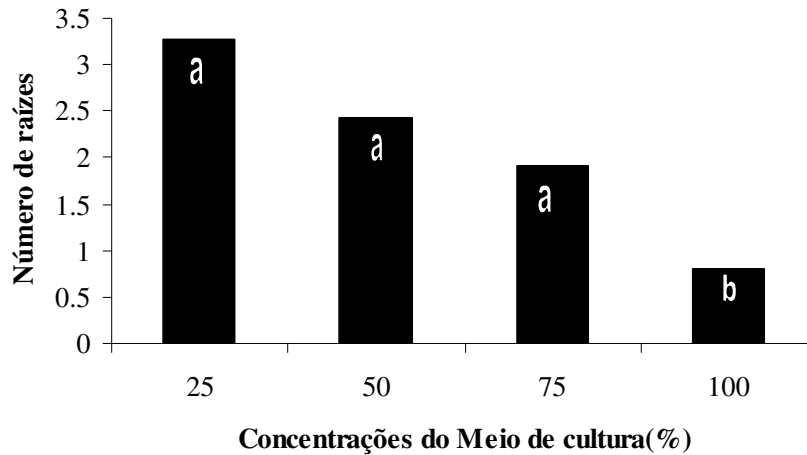
Aumentando as concentrações do ácido silícico no meio de cultura, a altura das plantas tende a aumentar até a concentração de 0,75 g L<sup>-1</sup>, reduzindo em concentrações mais elevadas.

Para a variável número de folhas, somente as concentrações dos sais do meio de cultura foram significativos. Maior número de folhas formadas foi observado nas concentrações de 25%, 50% e 100% do sais do meio de cultivo MS (Figura 16).



**FIGURA 16** Número de folhas de gérbera cultivadas *in vitro*, em diferentes concentrações dos sais do meio de cultura MS. UFLA, Lavras, MG, 2007.

Analisando-se o número de raízes formadas, observa-se que somente as concentrações salinas do MS apresentaram significância, não havendo efeito da interação dos fatores avaliados. Maior número de raízes foi observado em explantes cultivados em meio de cultivo com 25%, 50%, 75% de suas concentrações salinas (Figura 17).



**FIGURA 17** Número de raízes formadas em explantes de gérbera cultivados *in vitro*, em diferentes concentrações dos sais do meio de cultura MS. UFLA, Lavras, MG, 2007.

De maneira geral, observou-se que concentrações de ácido silícico mais elevadas afetaram o desenvolvimento da gérbera.

Segundo Malavolta et al. (1997), todo nutriente em excesso, como pode ter o ocorrido nesse caso, o ácido silícico provoca um desbalanço nutricional no sistema, neste caso, na plântula de gérbera e no meio de cultura.

Analisando-se as diferentes fontes e concentrações de silício utilizadas, pode-se concluir que melhor desenvolvimento de gérbera *in vitro* é obtido acrescentando-se  $1,0 \text{ g L}^{-1}$  de silicato de cálcio em meio MS com 50% de sua concentração salina. Apesar das outras fontes também terem sido eficientes para o desenvolvimento *in vitro*, os resultados foram bastante superiores com o uso de silicato de cálcio (Tabela 1).

**TABELA 1** Médias dos melhores resultados obtidos para gérberas cultivadas *in vitro* em meio de cultura acrescido de diferentes fontes de silício. UFLA, Lavras, MG, 2007.

Fontes de silício	Número de brotos	Altura de plantas	Número de folhas	Número de raízes
<b>Silicato de potássio</b>	2,65 c	8,13 a	14,12 b	2,80 c
<b>Silicato de cálcio</b>	8,25 a	8,09 b	19,50 a	6,00 a
<b>Silicato de sódio</b>	2,48 d	7,75 c	10,51 c	5,00 b
<b>Ácido silícico</b>	3,57 b	5,72 d	6,82 d	2,30 d

\* Médias seguidas por letras distintas na coluna diferem entre si, pelo teste Scott Knott, a 5%.

### 5.5 Experimento 5: Efeito de silício na pré-aclimatização de gérbera

Com relação ao efeito de fontes de silício na pré-aclimatização, não houve influência dos mesmos na taxa de sobrevivência das mudas, sendo a porcentagem média de sobrevivência de 82%.

Comparando-se a porcentagem de sobrevivência, os resultados são apresentados na Tabela 2.

**Tabela 2** Porcentagem de sobrevivência de plântulas de gérberas cultivadas *in vitro* na presença de diferentes fontes de silício. UFLA, Lavras, MG, 2007.

Fonte	% de sobrevivência
<b>Silicato de cálcio</b>	77%
<b>Silicato de potássio</b>	88%
<b>Silicato de sódio</b>	73%
<b>Ácido silícico</b>	90%



Rezende (2005) realizou um trabalho com o substrato comercial 30/10, da empresa Vida Verde, em sala de crescimento, obtendo o percentual de sobrevivência de 100%. Por outro lado, Olivera et al. (2000), trabalhando com o substrato comercial *Sunshine Growing Mix 3* da marca Sim gro<sup>®</sup> em casa de vegetação, relatam que a aclimatização de plântulas de gérbera foi afetada de forma significativa pelo efeito residual dos tratamentos usados durante a fase de indução de brotações e enraizamento *in vitro*.

## 6 CONCLUSÃO

Para indução de brotos, folhas e raízes em explantes de gérbera cultivadas *in vitro*, recomenda-se o uso de silicato de cálcio na concentração de  $1,0 \text{ g L}^{-1}$  e o meio de cultura MS na concentração salina de 50%.

O uso de silicato de potássio na concentração de  $1,0 \text{ g L}^{-1}$  adicionado ao meio MS50% dos seus sais é recomendado para a obtenção de plantas de gérbera com maior altura cultivadas *in vitro*.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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

FERREIRA, D. F. Análises estatísticas por meio do SISVAR para Windows versão 4.0. In: REUNIAO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45., 2000, São Carlos. **Anais...** São Carlos, SP: UFSCAR, 2000. v.1. p. 225.

MA, J. F.; MIYAKE, Y.; TAKAHASHI, E. Silicon as a beneficial element for crop plants. In: DATNOFF, L. E.; SNYDER, G. H.; KORNDORFER, G. H. (Ed.). **Silicon in agriculture**. Elsevier Science, 2001. p. 17-39.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A de. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. 2.ed. Piracicaba: Potafos, 1997. 319 p.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 15, n. 3, p. 473-497, 1962.

OLIVERA, V. Z. ; GUTIÉRREZ, M. A.; GUTIÉRREZ, J. A.; ANDRADE, M. Cultivo *in vitro* de gerbera (*Gerbera jamesonii* H. Bolus) y su aclimatación en invernadero. **Bioagro**, La Prata, v. 12, n. 3, p. 75-80, 2000.

PIERIK, R. L. M.; SEGERS, T. A. *In vitro* culture of midrib explants of gerbera: adventitious root formation and callus induction. **Zeitschrift fur Pflanzenphysiologie**, Stuttgart, v. 69, n. 3, p. 204-212, 1973.

SAS INSTITUTE. **SAS User's guide**: statistics. Release 6.03. Cary, 1990. 584p.

SOARES, J. D.; VILLA, F.; ALMENDAGNA RODRIGUES, F.; PASQUAL, M.; CARVALHO, J. G. **Fontes de Silício na propagação *in vitro* de orquídea**. Disponível em:  
<[http://www.maa.gba.gov.ar/agricultura\\_ganaderia/floricultura/MACRO%20MICRO%20PROPAG/63%5B1%5D.Abubacao\\_com\\_silicio\\_de\\_orquidea\\_FINAL.doc](http://www.maa.gba.gov.ar/agricultura_ganaderia/floricultura/MACRO%20MICRO%20PROPAG/63%5B1%5D.Abubacao_com_silicio_de_orquidea_FINAL.doc)>. Acesso em: 23 mar. 2007.

REZENDE, R. K. S. **Aspectos do cultivo *in vitro* e divergência genética em gérbera (*Gerbera jamesonii*)**. 2005. 91 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia. Fisiologia Vegetal) Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

TORRES, A. C.; BARBOSA, N. V. dos R.; WILLADINO, L.; GUERRA, M. P.; FERREIRA, C. F.; PAIVA, S. A. V. de. **Meio e condições de incubação para a cultura de tecidos de plantas**: formulações de meio de cultura de tecidos de plantas. Brasília, 2001. 19 p. (Circular Técnica, 24).

TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; FERREIRA, A. T. Retrospectiva da cultura de tecidos de plantas. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (Ed.). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: EMBRAPA-SPI/EMBRAPA-CNPq, 1998. v. 1, p. 11-20.

ZHOU, T. S. The detection of the accumulation of silicon in *Phalaenopsis* (Orchidaceae). **Annals of Botany**, v. 75, p. 605-607, 1995.

**CAPÍTULO IV: ASPECTOS DA ANATOMIA FOLIAR DE GÉRBERA  
CULTIVADA *IN VITRO* COM DIFERENTES FONTES DE SILICIO**

## 1 RESUMO

SILVA, Diogo Pedrosa Corrêa da. Aspectos da anatomia foliar de gérbera com diferentes fontes de Silício. In: \_\_\_\_\_. **Meio de cultura e fontes de silício no desenvolvimento *in vitro* de gérbera.** 2007. Cap. 4, p. 71 – 84. Dissertação (Mestrado em Agronomia. Fisiologia Vegetal) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.\*

Nos vegetais, os depósitos de silício, comumente chamados de silicofitólitos, ocorrem na parede celular como incrustação e ou impregnação ou, ainda, sob a forma de corpos silicosos no interior das células de diferentes tecidos. O objetivo deste trabalho foi verificar, por meio de análises anatômicas foliares, as diferenças morfológicas nas plantas com o uso de silício adicionado ao meio de cultura MS para cultivo de gérbera *in vitro*. Foram utilizadas plantas de gérbera cultivadas *in vitro* em meio MS, acrescidas de fontes de silício (silicato de sódio, silicato de potássio, silicato de cálcio e ácido silícico). Para os estudos anatômicos, os cortes paradérmicos foram feitos à mão livre. As seções foram clarificadas em solução de hipoclorito de sódio 1% (v/v), por um período de 3 a 5 minutos e três lavagens em água destilada. Em seguida, o material foi neutralizado em solução de ácido acético 1% (v/v) por 1 minuto, repetindo-se as lavagens com água destilada. Foram avaliados o diâmetro polar e equatorial, e a relação entre eles, além do número de estômatos. Para os cortes transversais, o material foi submetido aos procedimentos usuais em microtécnica vegetal e, após inclusão em parafina histológica, foi seccionado ao micrótomo rotativo Spencer, na espessura média de 12µm. A coloração dos cortes anatômicos foi efetuada pelo processo de dupla coloração com safranina-azul de astra. Foram avaliados a espessura da epiderme adaxial, o parênquima lacunoso e a epiderme adaxial. Os resultados mostraram que plantas de gérbera cultivadas *in vitro* acrescidas como 0,5gL<sup>-1</sup> de silicato de sódio apresentaram diferenciação na anatomia foliar, aumentando sua relação entre o diâmetro polar e equatorial e diminuindo a espessura do parênquima lacunoso. Os tratamentos, com silicato de potássio, silicato de cálcio e ácido silícico, diminuíram o número de estômatos presentes nas folhas de gérbera cultivada *in vitro*.

---

\* Comitê de orientação: Prof. Dra. Patrícia Duarte de Oliveira Paiva (Orientadora), Prof. Dr. Evaristo Mauro de Castro (Co-orientador)

## 2 ABSTRACT

SILVA, Diogo Pedrosa Corrêa da. Leafly anatomic aspects of gerbera with different sources of silicium. In: \_\_\_\_\_. **Culture Medium and sources of silicium at the development of gerbera in vitro**. 2007. Cap. 4, p.71 – 84. Dissertation (Master Program in Agronomy. Plant Physiology) - Federal University of Lavras, Lavras, MG. \*

It is known that in the vegetables, the silicium deposits, commonly called silicofitolits happen in the cellular wall as incrustation or impregnation, or in the form of silicium bodies inside the cells of different tissues. The aim of this work was to verify, through leaf anatomical analyses, the morphological differences in the plants with the use of silicium added to the culture medium MS for cultivation of gerbera *in vitro*. It was used plants of gerbera cultivated *in vitro* in MS medium added with sources of silicium (Sodium silicate, Potassium silicate, Calcium silicate and acid salicylic). For the anatomical studies, paradermic cuts were done by free hand. The sections were clarified in solution of hypochlorite of sodium 1% (v/v), for a period of 3 to 5 minutes and three washes in distilled water. After that, the material was neutralized in solution of acid acetic 1% (v/v) for 1 minute, repeating the washes with distilled water. The polar and equatorial diameters were accessed, their relationship and number of stomata. For the transverse cuts the material was submitted to the usual procedures in vegetable microtechnique and, after inclusion in histological paraffin, it was sectioned in the rotative microtome Spencer, with a medium thickness of 12µm. The coloration of the anatomical cuts was made by the process of couple coloration with astra and blue-safranina. There were accessed the thickness of the adaxial epiderm, mesophill and abaxial epiderm. The gerbera plants cultivated *in vitro* added with 0,5g L-1 of Sodium silicate presented differentiation in the leafly anatomy, increasing the relationship between the polar and equatorial diameter and reducing the thickness of the mesophill. The treatments like Potassium silicate, Calcium silicate and Acid silicylic reduced the number of stomata in the leaves of gerbera cultivated *in vitro*.

---

\* Guidance Committee: Dra. Patrícia Duarte de Oliveira Paiva (Adviser), Dr. Evaristo Mauro de Castro (Co-Adviser).

### 3 INTRODUÇÃO

A compreensão apropriada da estrutura básica de uma planta ou órgão é essencial e indispensável para se chegar a um conhecimento preciso sobre um vegetal (Castro, 2002).

Alterações na morfologia foliar podem influenciar processos metabólicos e fisiológicos associados, principalmente, à fotossíntese e à transpiração. Muitas dessas evidências indicam que o estado da água e a fase gasosa durante os vários estágios da cultura são a chave dos fatores envolvidos na desorganização morfológica *in vitro*. O ambiente de cultivo pode afetar e conduzir a diferentes atividades enzimáticas, resultando em várias mudanças nos processos metabólicos na planta. Algumas respostas, comumente, assemelham-se a plantas cultivadas sob condições de estresse (Fidelis, 1998).

Nos vegetais, os depósitos de silício, normalmente chamados de silicofitólitos, ocorrem na parede celular como incrustação e ou impregnação, ou, ainda, sob a forma de corpos silicosos no interior das células de diferentes tecidos (Metcalf, 1983; Sangster, 1999).

Os silicofitólitos são resultantes de processos químicos e biológicos que se iniciam com as plantas absorvendo, principalmente, o ácido monossilício da solução do solo, por fluxo de massa (Jones & Handreck, 1967; Dayanandam et al., 1983; Postek, 1981) ou sob a forma de ácidos policlínicos e compostos organossilicosos solúveis em água (Matctychenkov & Snyder, 1996). Segundo estes autores, o silício também pode ocorrer nos elementos vasculares. A deposição do silício na parede das células torna a planta mais resistente à ação do ambiente e evita a perda excessiva de água, diminuindo a taxa de transpiração (Cheong et al., 1973; Postek, 1981; Dayanandam et al., 1983).

A forma adquirida pelos depósitos de silício, bem como a sua distribuição no interior do vegetal, depende da espécie em questão e das



condições climáticas do ambiente onde ela cresce, podendo ser característica para uma espécie, gênero e, mesmo, para algumas famílias, sendo, então, um caráter com aplicação taxonômica (Metcalf, 1983; Wrang et al., 1998).

O objetivo deste trabalho foi verificar, por meio da anatomia foliar, as diferenças morfológicas nas plantas em consequência do uso de silício adicionado ao meio de cultura MS para cultivo de gérbera *in vitro*.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Cultura de Tecidos de Plantas, sala de crescimento, do Setor de Fisiologia Vegetal e no Laboratório de Anatomia Vegetal do Departamento de Biologia da Universidade Federal de Lavras (UFLA), em Lavras, MG.

### 4.1 Anatomia de folhas produzidas por cultivo *in vitro* na presença de silício

As folhas foram retiradas de plântulas desenvolvidas *in vitro* em meio de cultura MS 50 %, acrescido de silicato de sódio, silicato de potássio, silicato de cálcio e ácido silícico, na concentração de 0,5 g L<sup>-1</sup> e, ainda, uma testemunha sem adição de silício.

Após 30 dias de cultivo *in vitro*, de cada tratamento foram escolhidas, ao acaso, 5 plantas e, de cada uma, foram retiradas duas folhas do segundo par de folhas. As folhas foram fixadas em FAA (formol, ácido acético, álcool) por 72 horas e, depois, foram conservadas em álcool 70% (v/v). Dessas foram extraídos segmentos de 0,5cm<sup>2</sup> da região mediana. Realizaram-se, então, os cortes paradérmicos que foram feitos à mão livre. As seções foram clarificadas em solução de hipoclorito de sódio 1% (v/v), por um período de 3 a 5 minutos e realizadas três lavagens em água destilada. Em seguida, o material foi neutralizado em solução de ácido acético 1% (v/v) por 1 minuto, repetindo-se as lavagens com água destilada (Johansen, 1940; Sass, 1951). Para os cortes transversais, o material foi submetido aos procedimentos usuais em microtécnica vegetal (Sass, 1951) e, após inclusão em parafina histológica, foi seccionado ao micrótomo rotativo Spencer, na espessura média de 12µm. A coloração dos cortes anatômicos foi efetuada pelo processo de dupla coloração com safranina-azul de astra (Bukatsh, 1972). Finalmente, foram montadas lâminas

semipermanentes do material obtido com água glicerinada 50% (v/v), no caso dos cortes paradérmicos e lâminas permanentes com bálsamo do Canadá.

As lâminas confeccionadas com os cortes anatômicos foram utilizadas para a realização de medições de espessura das epidermes adaxial e abaxial e dos mesofilos, com auxílio de lente ocular micrométrica em microscópio de campo claro Carl Zeiss-amjlival. Posteriormente, essas lâminas foram fotomicrografadas utilizando-se um microscópio Olympus BX 60 e câmera digital Cannon.

As medições de espessura foram analisadas pelo programa SigmaScan pro, utilizando-se delineamento inteiramente casualizado com dez repetições por tratamento, sendo cada repetição composta por três medidas. Os dados foram analisados pelo programa Sisvar (Ferreira, 2000), por meio do teste de médias Skott-Knott.

Foram avaliados diâmetro polar, diâmetro equatorial, sua relação e número de estômatos, para os cortes paradérmicos e para os cortes transversais, epiderme abaxial e adaxial e mesofilo.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Secções paradérmicas

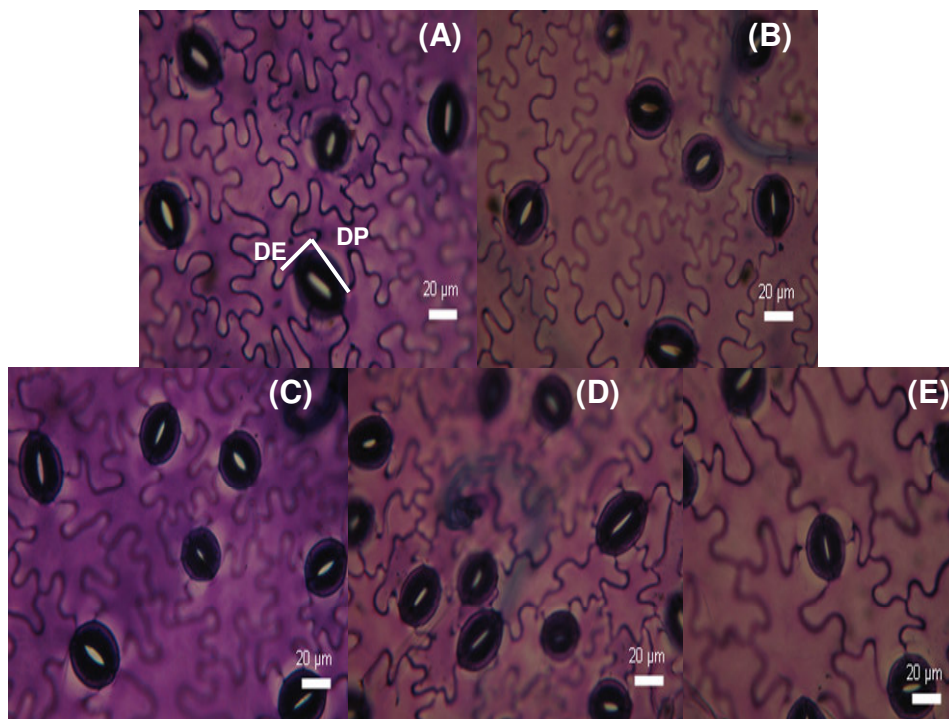
Analisando-se as secções paradérmicas, observou-se que não ocorreu significância dos diâmetros polar e equatorial, mas a relação entre esses parâmetros foi significativa, conforme dados da Tabela 3.

**TABELA 1** Diâmetro polar (DP), diâmetro equatorial (DE) e sua relação (DP/DE) em folhas de gérbera cultivadas *in vitro*, em meio de cultura acrescido de diferentes fontes de silício. UFLA, Lavras, MG, 2007.

Tratamentos	Diâmetro polar ( $\mu\text{m}$ )	Diâmetro equatorial ( $\mu\text{m}$ )	Relação DP/DE
Testemunha	87,41	74,08	1,18 a
Silicato de sódio	84,10	69,70	1,20 a
Silicato de potássio	82,68	74,68	1,11 b
Silicato de cálcio	81,14	73,86	1,10 b
Ácido silícico	82,92	75,35	1,10 b

\* Médias seguidas por letras distintas na coluna diferem entre si, pelo teste Scott Knott, a 5%.

As plantas cultivadas em meio MS e na presença de silicato de sódio apresentaram maior relação entre diâmetro polar e equatorial dos estômatos e uma configuração mais elíptica em comparação com o observado em folhas das plantas cultivadas em meio com silicato de potássio, silicato de cálcio e ácido silícico, que apresentaram formato mais circular, isto é, menor relação diâmetro polar e equatorial (Figura 1). Esse resultado pode ter acontecido devido ao acúmulo de silício nas células-guarda, como citado por Campos & Labouriau (1969) e Silva & Laubouriau (1970).



**FIGURA 1** Secções paradérmicas de plantas de gérbera cultivada *in vitro* com diferentes fontes de silício. (A) Testemunha, (B) silicato de sódio, (C) silicato de potássio, (D) silicato de cálcio e (E) ácido silícico. DP-diâmetro polar, DE-diâmetro equatorial. UFLA, Lavras, MG, 2007.

Com relação ao número de estômatos, as plantas cultivadas em meio de cultura com silicato de sódio apresentaram a maior média, com 145,64 estômatos por  $\text{mm}^2$  (Tabela 2). O uso de silicato de cálcio, que proporcionou melhor resultado no desenvolvimento *in vitro* das plantas, apresentou menor número de estômatos por  $\text{mm}^2$ .

**TABELA 2:** Número de estômatos por mm<sup>2</sup> em folhas de gérbera cultivados *in vitro*, acrescidas em diferentes fontes de silício. UFLA, Lavras, MG, 2007.

Tratamentos	Número de estômatos
Testemunha	85,84 c
Silicato de sódio	145,64 d
Silicato de potássio	85,84 b
Silicato de cálcio	79,92 c
Ácido silícico	100,64 b

\* Médias seguidas por letras distintas na coluna diferem entre si, pelo teste Scott-Knott, a 5%.

## 5.2 Secções transversais

Secções transversais da folha revelaram que a epiderme é uniestratificada, formada de células aproximadamente retangulares. Os estômatos ocorrem apenas na epiderme inferior, são sempre hipoestomáticas.

Não houve significância nos resultados encontrados para as epidermes das faces adaxial e abaxial.

Ao contrário do que foi relatado por Datnoff et al. (2001), trabalhando com arroz em cultivo de sequeiro, o uso de silício no cultivo de gérbera *in vitro* não foi efetivo no engrossamento das epidermes.

Para a formação do mesofilo, as fontes de silício, silicato de sódio, silicato de potássio e silicato de cálcio proporcionaram aumento da espessura de seus parênquimas, mostrando, assim, a eficiência do uso de silício no cultivo de gérbera *in vitro*, como mostrado na Tabela 3.

**TABELA 3** Epiderme das faces adaxial e abaxial e mesofilo de folhas de gérbera cultivada *in vitro*, acrescidas de diferentes fontes de silício. UFLA, Lavras, MG, 2007.

<b>Tratamentos</b>	<b>Epiderme adaxial (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	<b>Mesofilo (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	<b>Epiderme abaxial (<math>\mu\text{m}</math>)</b>
Testemunha	61,01	554,41 b	76,35
Silicato de sódio	51,06	596,12 b	58,48
Silicato de potássio	52,12	722,23 a	63,96
Silicato de cálcio	59,93	723,47 a	61,89
Ácido silícico	45,34	673,82 a	63,32

\* Médias seguidas por letras distintas na coluna diferem entre si, pelo teste Scott-Knott, a 5%.

Trabalhando com pepineiro, Adatia & Besford (1986) observaram vários efeitos devido à adição de Si ao meio nutritivo. Dentre esses, constatou maior massa foliar (fresca e seca) específica. Esses resultados podem ter relação com o aumento da espessura do mesofilo.

## 6 CONCLUSÕES

Plantas de gérbera cultivadas *in vitro*, acrescidas como 0,5g L<sup>-1</sup> de silicato de potássio, silicato de cálcio e ácido silícico, apresentaram modificações na anatomia foliar, diminuindo sua relação entre o diâmetro polar e equatorial e aumentando a espessura do mesofilo.

O tratamento com silicato de sódio apresentou maior número de estômatos presentes nas folhas de gérbera cultivada *in vitro*.



## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADATIA, M. H.; BESFORD, R. T. The effects of silicon on cucumber plants grown in recirculating nutrient solution. **Annals of Botany**, London, v. 58, n. 3, p. 343-351, 1986.

BUKATSH, F. Benerkungren zur doppelfarbung astrablausafrina. **Microkosmos**, Stuttgart, v. 61, p. 255-260, 1972.

CAMPOS, A. C.; LABOURIAU, L. G. Corpos silicosos de gramíneas dos cerrados II. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 4, p. 143-151, 1969.

CASTRO, E. M. de. **Alterações anatômicas, fisiológicas e fotoquímicas em *Mikania glomerata* sprengel (Guaco) sob diferentes fotoperíodos e níveis de sombreamento**. 221 p. 2002. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

CHEONG, W. Y.; HEITZ, A.; DEVILLE. The effect of silicon on sugar cane growth in pure nutrient solution. **Journal Science Food Agriculture**, v. 24, n. 1, p. 113-115, 1973.

DATNOFF, L. E.; SNYDER, G. H.; KORNDÖRFER, G. H. **Silicon in agriculture**. Amsterdam: Elsevier, 2001. 403 p.

DAYANANDAN, P.; KAUFMAN, P. B.; FRANKLIN, C. L. Detection of silica in plants. **American Journal Botanic**, v. 70, n. 7, p. 1079-1084, 1983.

FERREIRA, D. F. **Análises estatísticas por meio do SISVAR para Windows versão 4.0**. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45., 2000, São Carlos. **Anais...** São Carlos, SP: UFSCAR, v. 1, p. 225-258, 2000.

FIDELIS, I. **Micropropagação de *Brosimum guadichaudii* Tréc. (Mama-Cadela) uma espécie considerada medicinal**. 1998. 109 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

JOHANSEN, D. A. **Plant microtechnique**. 2.ed. New York: Mc Graw-Hill, 1940. 523 p.

JONES, L. H. P.; HANDRECK, K. A. Silica in soils, plants and animals. **Advance Agriculture**, v. 19, p. 107-149, 1967.

MATYCHENKOV, V. V.; SNYDER, G. S. Molibe Silicon compounds in some soils of Southem Florida. **Eurasian Soil Science**, v. 29, n. 12, p. 1350-1354, 1996.

METCALFE, C. R. Secretary mineral substances - Silica. In: METCALFE, C. R.; CHALK, L. **Anatomy of the dicotyledons**. 2.ed. Oxford: Claredon, 1983. v. 2, p. 82-94.

POSTEK, M. T. The occurrence of silica in leaves of *Magnolia grandiflora*. **Botanic Gaz.**, v. 142, n. 1, p. 124-134, 1981.

SANGSTER, A. G.; HODSON, M. J.; TUBB, H. J. Silicon on deposition in higher plants. In: SILICON IN AGRICULTURE CONFERENCE, 1999, Flórida. **Abstracts...** Flórida, USA, 1999. p. 4.

SASS, J. E. **Botanical microtechnique**. 2.ed. Iowa: State College, 1951. 350p.

SILVA, S. T.; LABORIAU, L. G. Corpos silicosos em gramíneas do cerrado III. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 5, p. 167-182, 1970.

WRANG, S. S.; KIN, K.; HESS, W. M. Variation of silica bodies in leaf epidermal long cells within and seventeen species of *Orysa* (Poaceae). **American Journal Botanic**, v. 85, n. 4, p. 461-466, 1998.