

Características morfofisiológicas de bananeiras ‘Grande Naine’ aclimatizadas em resposta a utilização de silício *in vitro*

Morphophysiological characteristics of acclimatized ‘Grande Naine’ banana plants in response to *in vitro* use of silicon

Simone Abreu Asmar^{1*}; Moacir Pasqual²; Aparecida Gomes de Araujo³; Renata Alves Lara Silva⁴; Filipe Almendagna Rodrigues⁵; Leila Aparecida Salles Pio⁵

Resumo

Pesquisas acerca das modificações estruturais e fisiológicas inerentes ao processo de aclimatização são fundamentais para compreender esta fase. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar diferentes fontes de silício no cultivo *in vitro* de bananeira ‘Grande Naine’ sobre características bioquímicas, fitotécnicas e ultraestruturais, durante o processo de aclimatização. Para tanto, brotos de bananeira já estabelecidos *in vitro* foram inoculados em meio Murashige & Skoog (MS), com adição de 30 g L⁻¹ de sacarose, 1 mg L⁻¹ de ANA (ácido naftalenoacético) e solidificado com 1,8 g L⁻¹ de PhytigelTM. Foram testadas três fontes de silicato acrescidas ao meio MS, silicato de sódio, silicato de potássio e silicato de cálcio, na dosagem de 1 g L⁻¹ e o meio MS sem silicato como testemunha. Decorridos 45 dias do enraizamento *in vitro*, as plantas foram mantidas em casa de vegetação por 60 dias. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado. O uso do silício no cultivo *in vitro* é benéfico por proporcionar melhor aparato fotossintético, maiores conteúdos de celulose e hemicelulose durante a aclimatização de plantas de bananeira. O processo de aclimatização é fundamental, pois proporciona aumento na camada de cera epicuticular em folhas de bananeira ‘Grande Naine’.

Palavras-chave: *Musa* spp., cultivo *in vitro*, cera epicuticular

Abstract

Research about structural and physiological modifications inherent to the acclimatization process is fundamental to understand this phase. The objective of this work was evaluating different sources of silicon in the *in vitro* cultivation of the ‘Grande Naine’ banana plants on the biochemical, phytotechnical and ultrastructural characteristics during the acclimatization process. For such, banana tree plantlets already established *in vitro* were inoculated in Murashige & Skoog medium (MS) with the addition of 30 g L⁻¹ of sucrose, 1 mg L⁻¹ of ANA (naftalenoacetic acid) and solidified with 1,8 g L⁻¹ of PhytigelTM. Three sources of silicate added to the MS medium, namely sodium silicate, potassium silicate and calcium silicate at the dosage of 1 g L⁻¹ and to the MS medium without silicate as a control were tested. Elapsed 45 days from the *in vitro* rooting, the plants were kept in a greenhouse for 60 days. The experimental

¹ Eng^a Agr^a, Pós-doutoranda em Agronomia/Fitotecnia, Universidade Federal de Uberlândia, UFU, Uberlândia, MG. E-mail: siasmar@yahoo.com.br

² Eng^o Agr^o, Prof. Titular, Dept^o de Agricultura, Universidade Federal de Lavras, UFLA, Lavras, MG. E-mail: mpasqual@dag.ufla.br

³ Eng^a Agr^a, Pós-doutoranda EMDAGRO/SERGIPETEC, Aracajú, SE. E-mail: agaraujo2003@yahoo.com.br

⁴ Eng^a Agr^a, Doutoranda em Agronomia/Fitotecnia, Universidade Federal de Lavras, UFLA, Lavras, MG. E-mail: renata_vga@yahoo.com.br

⁵ Engenheiros Agrônomos, Pós-doutorando em Agronomia/Fitotecnia, Universidade Federal de Lavras, UFLA, Lavras, MG. E-mail: filipealmendagna@yahoo.com.br; leilapio.ufla@gmail.com

* Autor para correspondência

design was completely randomized. The use of silicon *in vitro* cultivation is beneficial for providing better photosynthetic apparatus, higher content of cellulose and hemicellulose during acclimatization of banana plants. The acclimatization process is essential because it provides an increase in epicuticular wax layer on leaves of 'Grand Naine' banana plants.

Key words: *Musa* spp., *in vitro* cultivation, epicuticular wax

Introdução

Um dos principais aspectos que limitam a expansão da bananicultura no Brasil é a utilização de mudas provenientes de métodos convencionais de propagação que, além da baixa taxa de multiplicação (3 a 8 filhotes/matriz/ciclo), possibilita a disseminação de pragas e doenças (ROELS et al., 2005).

A micropropagação é um método de propagação vegetativa amplamente estudado nas mais diversas espécies vegetais, sendo a modalidade dentro da cultura de tecidos a que mais tem difundido e encontrado aplicações práticas comprovadas. Entre as vantagens de sua utilização, estão a possibilidade de obtenção de várias plantas a partir de um explante inicial, independentemente da estação do ano; a redução do tempo e da área necessária para a propagação da espécie; as melhores condições sanitárias por meio do cultivo de meristemas para eliminação de doenças e a reprodução do genótipo da planta-mãe (ERIG; SCHUCH, 2005). Entretanto, o emprego da micropropagação em escala comercial na produção de mudas pode ser limitado, devido ao elevado custo para obtenção da muda e baixas taxas de sobrevivência na fase de aclimatização. Esta última fase, tem sido um grande entrave para a micropropagação de muitas espécies. Apesar de a bananeira apresentar um bom desempenho nesta etapa em diversas condições (PEREIRA et al., 2005), a otimização do processo pode melhorar ainda mais a eficiência na sobrevivência e vigor das mudas.

A ação benéfica do silício tem sido associada a diversos efeitos indiretos, como aumento da capacidade fotossintética, aumento no teor de clorofila total, redução da transpiração, maior crescimento de plantas e aumento da resistência

mecânica das células (ZHOU, 1995), exercendo assim, importante papel na estruturação das plantas. Sua presença na parede celular pode elevar os conteúdos de celulose, hemicelulose e lignina, aumentando a rigidez da célula (BARBOSA FILHO et al., 2001), características estas desejáveis, pois eleva as taxas de sobrevivência durante a fase de aclimatização.

A escassez de informações sobre o uso do silício em bananeira justificou o presente trabalho, que foi realizado com o objetivo de avaliar diferentes fontes de silício no cultivo *in vitro* de bananeira 'Grande Naine' sobre características bioquímicas, fitotécnicas e ultraestruturais, durante o processo de aclimatização.

Material e Métodos

Material vegetal e descrição do ambiente de cultivo – Brotos de bananeira 'Grande Naine' já estabelecidos *in vitro* foram inoculados em meio MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962), com adição de 30 g L⁻¹ de sacarose, 1 mg L⁻¹ de ANA (ácido naftalenoacético) e solidificado com 1,8 g L⁻¹ de Phytigel™. Foram testadas três fontes de silício acrescidas ao meio MS, silicato de sódio (Na₂SiO₃), silicato de potássio (K₂SiO₃) e silicato de cálcio (CaSiO₃), na dosagem de 1 g L⁻¹ e o meio MS sem adição de silicato como testemunha. O pH foi ajustado para 5,8 antes da autoclavagem, a 121°C e 1,2 atm, durante 20 minutos.

Posteriormente, em câmara de fluxo laminar, os propágulos foram inoculados em frascos de 200 mL, com 30 mL do meio de cultivo MS modificado de acordo com o tratamento. Os frascos foram vedados com tampas de polipropileno e com plástico do tipo parafilme. Após a inoculação, estes foram mantidos

em sala de crescimento convencional, com fotoperíodo de 16 horas, temperatura de $25\pm 2^\circ\text{C}$, com intensidade de $52,5\text{W m}^{-2}\text{ s}^{-1}$, fornecida por lâmpadas brancas fluorescentes.

Decorridos 45 dias do cultivo *in vitro*, as plantas foram retiradas dos frascos, individualizadas, submetidas à lavagem em água corrente para remover o excesso de meio de cultura aderido às raízes, sendo imediatamente transferidas para tubetes de 0,3 L preenchidos com substrato comercial Plantmax®.

As plantas foram mantidas em casa de vegetação por 60 dias, correspondente aos meses de julho e agosto, cobertas com filme de polietileno transparente (150 microns), sombrite 70% e sistema de nebulização intermitente. A parcela experimental foi constituída de três plantas (uma por tubete), com cinco repetições, num total de quinze plantas por tratamento, em delineamento inteiramente casualizado (DIC), com quatro tratamentos, os quais consistiram da mesma disposição da fase de enraizamento *in vitro*. Os dados foram submetidos ao programa estatístico Sisvar 4.3 (FERREIRA, 2000) e as médias foram comparadas pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

Ao final de 60 dias do período de aclimatização, foram avaliadas as características listadas a seguir.

Concentração de silício – O material vegetal utilizado para esta análise foi constituído de parte aérea e raízes secas em estufa ventilada, a 60°C , por 72 horas, até obterem peso constante e após esta etapa, foram moídas separadamente. A determinação de silício foi realizada pela metodologia proposta por Korndörfer, Pereira e Nolla (2004). Para isso, 0,1 g da amostra (parte aérea ou raízes secas e moídas) foi pesada em tubo de polietileno e a ela adicionados 2,0 mL de 30% (v/v) de H_2O_2 e 3,0 mL de NaOH (25 mol L^{-1}). Os tubos foram fechados e levados para digestão em autoclave, por 1 hora, a 123°C e 0,15 MPa. Após resfriamento, o volume foi completado com água deionizada. Desse extrato foi retirada uma alíquota de 1 mL e transferida para frasco com

capacidade de 20 mL, com o volume completado com água deionizada. A concentração de silício foi determinada por método espectrofotométrico com monitoramento a 410 nm da cor amarela do ácido molibdosilícico formado após reação entre silício e molibdato de amônio em meio HCl.

Determinação dos teores de clorofila – Teores de clorofila a, b e total foram quantificados segundo a metodologia de Arnon (1949). Foram coletadas cinco folhas de cada tratamento, no qual 0,5 g dos tecidos foliares foram macerados em nitrogênio líquido e colocados em acetona 80%. Em seguida, o material foi centrifugado a $8000 \times g$, por 15 minutos. O sobrenadante foi coletado para a determinação em espectrofotômetro (663 nm e 645 nm) dos conteúdos de pigmentos.

Determinação dos teores de celulose, hemicelulose, lignina e taninos – Os teores de celulose, hemicelulose e lignina foram determinados pelo método de Soest (1967). Na quantificação de taninos, o extrato foi obtido segundo a metodologia de Deshpande, Cheryan e Salunke (1986) e a determinação foi realizada pelo método colorimétrico de Folin-Denis, conforme AOAC (1990).

Características fitotécnicas – Foram analisados número de folhas, número de raízes, comprimento de parte aérea (cm), comprimento de raiz (cm), diâmetro de pseudocaule (cm), massa fresca e seca de parte aérea (g) e massa fresca e seca de raiz (g). A massa seca do material vegetal foi analisada após secagem em estufa, a 60°C , por 72 horas, até peso constante.

Características ultraestruturais – Amostras do terço mediano de 3 folhas em 5 plantas foram fixadas em Karnovsky (KARNOVSKY, 1965), pós-fixadas em tetróxido de ósmio (OsO_4) e, em seguida, desidratadas em soluções crescentes de acetona (30%, 50%, 70%, 90% e 100%), sendo então submetidas à secagem ao ponto crítico, utilizando-se CO_2 como líquido de transição (ROBARDS, 1978). Posteriormente, foram recobertas com ouro (20 nm)

e analisadas ao microscópio eletrônico de varredura LEO-EVO, seguindo o protocolo de Alves (2004).

Resultados e Discussão

O teor de silício na parte aérea das plantas foi influenciado significativamente pelos tratamentos utilizados. A concentração de silício foi maior utilizando-se silicato de cálcio (CaSiO_3) acrescido ao meio de cultivo, provavelmente devido à maior absorção e translocação deste elemento, favorecendo

maior acúmulo na parte aérea das plantas submetidas a este tratamento. A concentração de silício nas raízes também foi influenciada significativamente, e todos os tratamentos que continham fonte deste elemento apresentaram maior concentração em suas raízes (Tabela 1), comparados à testemunha. De acordo com Wiese, Nikolic e Romheld (2007), a concentração de sílica é maior na parte aérea que na raiz, com maior concentração nas folhas velhas que nas folhas novas.

Tabela 1. Concentração de silício na parte aérea (SiPA) e raízes (SiR) de bananeira ‘Grande Naine’ cultivada *in vitro* com diferentes fontes de silício e aclimatizadas por 60 dias.

Fonte de silício	SiPA (%)	SiR (%)
Testemunha	0,98 c	0,45 b
MS+ Na_2SiO_3	1,38 b	0,62 a
MS+ K_2SiO_3	1,10 b	0,75 a
MS+ CaSiO_3	1,75 a	0,66 a

Médias seguidas de mesma letra, nas colunas, não diferem entre si, pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

Fonte: Elaboração dos autores.

Botelho et al. (2005) verificaram que o teor de silício no caule de cafeeiros foi influenciado pelas fontes aplicadas deste elemento, tendo a concentração sido maior com a fonte silicato de sódio.

No estudo presente, a presença de silício na testemunha pode ser explicada pelo fato de o silício ser um elemento muito abundante na natureza, estando presente em toda parte, inclusive na água (LUZ et al., 2006). No entanto, não há como confirmar esta hipótese, pois não foi medida a quantidade utilizada de silício na água para o preparo do meio de cultura e nem da água usada no sistema de nebulização na casa de vegetação.

Os resultados deste atual trabalho indicam que o silício foi absorvido pelas raízes e translocado para

a parte aérea, desempenhando importantes funções fisiológicas e estruturais, estando assim, de acordo com Barros, Cunha e Miguens (2002).

No presente trabalho, maior concentração de clorofila a foi encontrada no tratamento com silicato de cálcio (CaSiO_3), enquanto maiores concentrações de clorofila b e total foram registradas nos tratamentos silicatos de cálcio (CaSiO_3) e potássio (K_2SiO_3). Maior relação clorofila a/b foi obtida utilizando-se silicato de sódio (Na_2SiO_3) (Tabela 2).

Segundo Deren et al. (1994), a absorção de silício traz diversos benefícios. Dentre estes, proporciona melhor arquitetura da planta ao tornar as folhas mais eretas, aumenta os teores de clorofila e, conseqüentemente, melhora a eficiência fotossintética.

Tabela 2. Teores de clorofila a, b, total e razão a/b em folhas de bananeira 'Grande Naine' cultivada *in vitro* com diferentes fontes de silício e aclimatizadas por 60 dias.

Fonte de silício	Clorofila ($\mu\text{g mL}^{-1}$)			
	a	B	Total	a/b
Testemunha	7,04 b	2,46 b	9,50 b	2,86 b
MS+Na ₂ SiO ₃	6,21 d	1,80 c	8,01 c	3,57 a
MS+K ₂ SiO ₃	7,80 b	3,03 a	10,83 a	2,58 b
MS+CaSiO ₃	8,01 a	2,85 a	10,86 a	2,80 b

Médias seguidas de mesma letra, nas colunas, não diferem entre si, pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

Fonte: Elaboração dos autores.

Braga et al. (2009) encontraram maiores teores de clorofila a, b e total utilizando 1 g L⁻¹ de diferentes fontes de silício no cultivo *in vitro* de morangueiro 'Oso Grande' (*Fragaria x ananassa*).

Os teores de celulose, hemicelulose e taninos presentes nas folhas também foram influenciados significativamente pelos tratamentos.

Maiores teores de celulose e taninos foram observados no tratamento silicato de sódio (Na₂SiO₃) (Tabela 3). Gomes et al. (2008) também detectaram maior conteúdo de taninos em batata usando adubação silicatada foliar e via solo, comparativamente à testemunha.

Tabela 3. Teores de celulose, hemicelulose, lignina e taninos em folhas de bananeira 'Grande Naine' cultivada *in vitro* com diferentes fontes de silício e aclimatizadas por 60 dias.

Fonte de silício	Celulose (%)	Hemicelulose (%)	Lignina (%)	Taninos (%)
Testemunha	1,44 c	1,05 b	1,14 a	532,61 c
MS+Na ₂ SiO ₃	1,90 a	1,83 a	1,18 a	838,95 a
MS+K ₂ SiO ₃	1,72 b	1,93 a	1,25 a	748,27 b
MS+CaSiO ₃	1,73 b	2,11 a	1,12 a	529,87 c

Médias seguidas de mesma letra, nas colunas, não diferem entre si, pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

Fonte: Elaboração dos autores.

Para todas as fontes de silício utilizadas, foi verificada maior concentração de hemicelulose que na testemunha (Tabela 3). O conteúdo de lignina não diferiu entre os tratamentos estudados. No entanto, Botelho et al. (2005) e Amaral et al. (2008) verificaram maior conteúdo de lignina em cafeeiro com a adição de diferentes fontes de silício ao substrato de plantio.

O silício é capaz de induzir uma série de reações metabólicas que atuam na defesa natural das plantas, resultando na formação de taninos e de outras substâncias químicas, como as ligninas

(LAING; ADANDONON, 2005). Ainda segundo Chérif, Asselin e Bélanger (1994), estas substâncias químicas são importantes componentes na resistência de plantas a patógenos, pois limita a ação destes pela formação de barreira física.

Não houve diferença significativa para as variáveis fitotécnicas número de folhas, número de raízes e comprimento de parte aérea (Tabela 4). Entretanto, maior comprimento de raiz foi observado nos tratamentos com silicato de sódio (Na₂SiO₃) e potássio (K₂SiO₃).

A adição de silicato ao meio de cultivo promoveu maiores diâmetros do pseudocaule, massa fresca e seca de parte aérea e massa fresca de raiz (Tabelas 4 e 5). Maior massa seca de raiz foi registrada

apenas no tratamento com silicato de sódio. Estes resultados estão de acordo com Malavolta (2006), na qual afirma que o silício aumenta o diâmetro dos caules, refletindo assim, em maiores massas fresca e seca de parte aérea.

Tabela 4. Número de folhas (NF), número de raízes (NR), comprimento de parte aérea (CPA), comprimento de raiz (CR) e diâmetro do pseudocaule (DP) em bananeira ‘Grande Naine’ cultivada *in vitro* com diferentes fontes de silício e aclimatizadas por 60 dias.

Fonte de silício	NF	NR	CPA (cm)	CR (cm)	DP (cm)
Testemunha	5,10 a	3,80 a	17,11 a	14,24 b	0,87 b
MS+Na ₂ SiO ₃	5,30 a	3,90 a	18,87 a	18,62 a	1,14 a
MS+K ₂ SiO ₃	5,00 a	4,80 a	16,82 a	17,24 a	1,06 a
MS+CaSiO ₃	4,60 a	3,90 a	14,05 a	12,83 b	1,11 a

Médias seguidas de mesma letra, nas colunas, não diferem entre si, pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

Fonte: Elaboração dos autores.

Tabela 5. Massa fresca de parte aérea (MFPA), massa seca de parte aérea (MSPA), massa fresca de raiz (MFR) e massa seca de raiz (MSR) em bananeira ‘Grande Naine’ cultivada *in vitro* com diferentes fontes de silício e aclimatizadas por 60 dias.

Fonte de silício	MFPA (g)	MSPA (g)	MFR (g)	MSR (cm)
Testemunha	4,57 b	0,39 b	1,41 b	0,08 b
MS+Na ₂ SiO ₃	7,74 a	0,63 a	2,64 a	0,22 a
MS+K ₂ SiO ₃	7,44 a	0,60 a	2,58 a	0,13 b
MS+CaSiO ₃	7,63 a	0,55 a	3,25 a	0,14 b

Médias seguidas de mesma letra, nas colunas, não diferem entre si, pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

Fonte: Elaboração dos autores.

De modo semelhante, Romero-Aranda, Jurado e Cuarteto (2006) evidenciaram maior massa de plântulas de tomate com a utilização de silicato de potássio. Trabalhando com orquídea, Zhou (1995) também constatou incremento em massa com a utilização de silicato de cálcio. A capacidade de absorção e acúmulo de silício pelas plantas é variável de acordo com a forma como elemento é disponibilizado, bem como a espécie estudada.

Gomes et al. (2009) não verificaram diferenças significativas utilizando silício para altura e diâmetro de hastes de plantas de batata. Contudo, resultados satisfatórios pela aplicação de silício foram observados na produtividade de cana-de-açúcar (KORNDÖRFER; PEREIRA; CAMARGO,

2002) e de arroz (CARVALHO-PUPATTO; BULL; CRUSCIOL, 2004). Dentre os benefícios proporcionados pela utilização do silício, destaca-se a influência positiva no crescimento e no desenvolvimento das plantas.

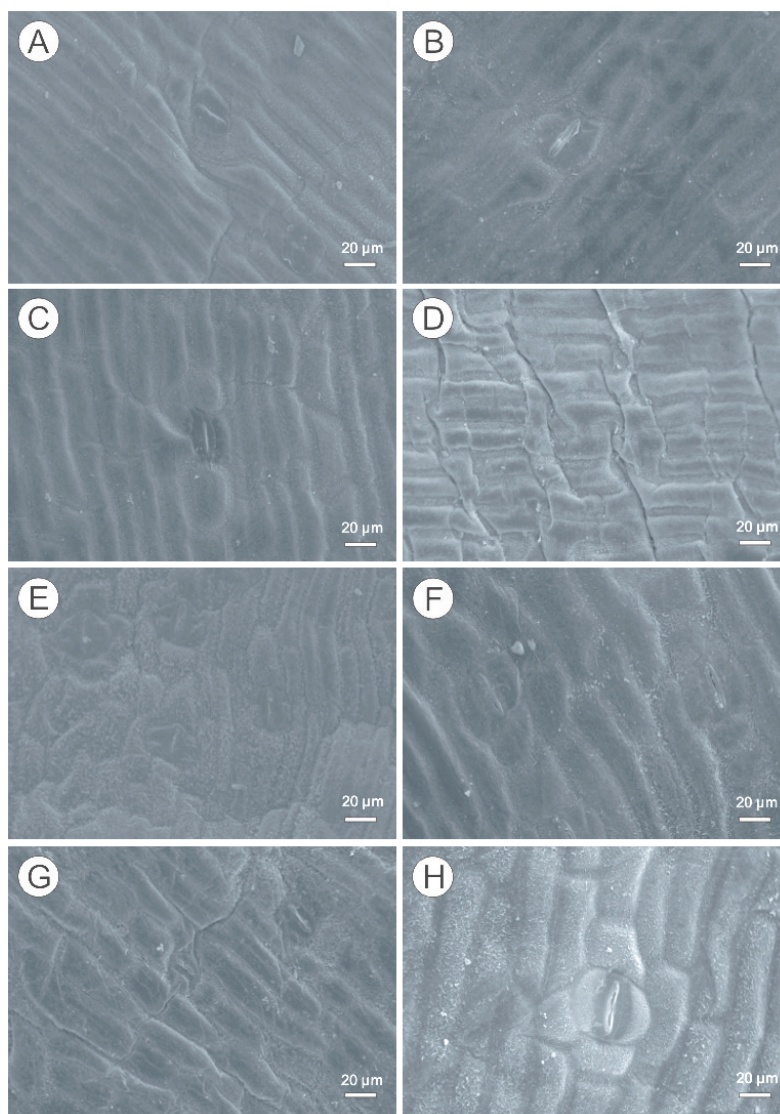
A camada de cera presente em plantas cultivadas *in vitro*, geralmente, é muito delgada, principalmente pela deficiência de luz nas salas de crescimento. A cera epicuticular é um polímero complexo com importantes funções nas células epidérmicas. Dentre elas, destaca-se a proteção contra a perda de água e, por se tratar de uma camada brilhante e refletora, atua também na proteção contra o excesso de luminosidade (ALQUINI et al., 2006). A presença de uma camada mais espessa de cera em plantas

cultivadas *in vitro* é importante, pois as funções citadas são fundamentais para a planta durante o processo de aclimatização, quando se observa que a morte das plantas se deve, principalmente, à perda excessiva de água devido à alta temperatura e à luminosidade na casa de vegetação.

Analisando as imagens de microscopia eletrônica de varredura (Figura 1) é possível notar

a presença de cera epicuticular nas superfícies adaxial e abaxial das folhas formadas *ex vitro* em todos os tratamentos, inclusive na testemunha. Por essa razão, ressalta-se a importância de se realizar uma fase de aclimatização, pois, dentre as principais características das plantas cultivadas *in vitro*, destaca-se a deficiente formação de cerosidade.

Figura 1. Eletromicrografias de folhas de bananeira submetidas a diferentes fontes de silício *in vitro* e aclimatizadas por 60 dias: superfície adaxial testemunha sem silício (A), superfície adaxial silicato de sódio (B), superfície adaxial silicato de potássio (C), superfície adaxial silicato de cálcio (D), superfície abaxial testemunha sem silício (E), superfície abaxial silicato de sódio (F), superfície abaxial silicato de potássio (G) e superfície abaxial silicato de cálcio (H).



Fonte: Elaboração dos autores.

Esses resultados estão de acordo com Sandoval, Müller e Weberling (1994) que relatam que a camada de cera se torna gradualmente espessa e mais bem distribuída em folhas novas de bananeira ‘Grande Naine’ formadas *ex vitro*, ao contrário do que ocorre em folhas *in vitro*.

No entanto, outros autores encontraram diferenças entre a aplicação de silício e a testemunha, tendo o silício influenciado na formação de camada de cera em plantas de café analisadas com auxílio da microscopia eletrônica de varredura, tanto na aplicação de silicato via solo (POZZA et al., 2004) quanto via foliar (AMARAL et al., 2008). Porém, isso não foi observado neste trabalho.

Independente do efeito do silício é possível perceber a necessidade de aclimatizar mudas de bananeira provenientes do cultivo *in vitro* antes de seu cultivo em campo, pois esta fase possibilita que ocorram importantes alterações estruturais que contribuirão para o sucesso da mesma.

Conclusões

O uso do silício no cultivo *in vitro* traz benefícios durante a aclimatização de plantas de bananeira por proporcionar melhor aparato fotossintético, maiores conteúdos de celulose e hemicelulose e conseqüentemente, melhor desenvolvimento das mesmas.

O processo de aclimatização é fundamental, pois proporciona aumento na camada de cera epicuticular em folhas de plantas de bananeira ‘Grande Naine’.

Referências

ALQUINI, Y.; BONA, C.; BOERGER, M. R. T.; COSTA, C. G.; BARROS, C. F. Epiderme. In: APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B.; CARMELLO-GUERREIRO, S. M. *Anatomia vegetal*. Viçosa, MG: UFV, 2006. p. 87-108.

ALVES, E. *Introdução à microscopia eletrônica*. Lavras: UFLA/FAEPE, 2004. 88 p.

AMARAL, D. R.; RESENDE, M. L. V.; RIBEIRO JÚNIOR, P. M.; BOREL, J. C.; MAC LEOD, R. E.

O.; PÁDUA, M. A. Silicato de potássio na proteção do café contra *Cercospora coffeicola*. *Tropical Plant Pathology*, Brasília, v. 33, n. 6, p. 425-431, nov./dez. 2008.

ARNON, D. I. Copper enzymes in isolates chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiology*, Rockville, v. 24, n. 1, p. 1-15, jan. 1949.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS – AOAC. *Official methods of analysis*. 15. ed. Washington, 1990. v. 2, 1298 p.

BARBOSA FILHO, M. P.; SNYDER, G. H.; FAGERIA, N. K.; DATNOFF, L. E.; SILVA, O. F. Silicato de cálcio como fonte de silício para arroz de sequeiro. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, Viçosa, MG, v. 25, n. 2, p. 325-330, 2001.

BARROS, L. U.; CUNHA, C. F.; MIGUENS, F. C. Structure, morphology, and composition of silicon biocomposites in the palm tree *Syagrus coronata* (Mart.). *Becc Protoplasma*, New York, v. 220, n. 1-2, p. 89-96, oct. 2002.

BOTELHO, D. M. S.; POZZA, E. A.; POZZA, A. A. A.; CARVALHO, J. G. de; BOTELHO, C. E.; SOUZA, P. E. de. Intensidade da cercosporiose em mudas de café em função de fontes e doses de silício. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v. 30, n. 6, p. 582-588, dez. 2005.

BRAGA, F. T.; NUNES, C. F.; FAVERO, A. C.; PASQUAL, M.; CARVALHO, J. G. de; CASTRO, E. M. de. Características anatômicas de mudas de morangueiro micropropagadas com diferentes fontes de silício. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v. 44, n. 2, p. 128-132, fev. 2009.

CARVALHO-PUPATTO, J. G.; BULL, L. T.; CRUSCIOL, C. A. C. Atributos químicos do solo, crescimento radicular e produtividade do arroz de acordo com a aplicação de escórias. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v. 39, n. 12, p. 1213-1218, dez. 2004.

CHÉRIF, M.; ASSELIN, A.; BÉLANGER, R. R. Defense responses induced by soluble silicon in cucumber roots infected by *Pythium* spp. *Phytopathology*, Corvallis, v. 84, n. 3, p. 236-242, 1994.

DEREN, C. W.; DATNOFF, L. E.; SNYDER, G. H.; MARTIN, F. G. Silicon concentration, disease response, and yield components of rice genotypes grown on flooded organic histosols. *Crop Science*, Madison, v. 34, n. 3, p. 733-737, may/jun. 1994.

DESHPANDE, S. S.; CHERYAN, M.; SALUNKE, D. K. Tannin analysis of food products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, Boca Raton, v. 24, n. 4, p. 401-449, 1986.

- ERIG, A. C.; SCHUCH, M. W. Micropropagação fotoautotrófica e uso da luz natural. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 35, n. 4, p. 961-965, 2005.
- FERREIRA, D. F. *SISVAR 4.3*: sistema de análises de variância para dados balanceados: programa de análises estatísticas e planejamento de experimentos. Lavras: UFLA/DEX, 2000. Software.
- GOMES, F. B.; GOMES, F. B.; MORAES, J. C.; SANTOS, C. D. dos; ANTUNES, C. S. Uso de silício como indutor de resistência em batata a *Myzus persicae* (Sulzer) (Hemiptera: Aphididae). *Neotropical Entomology*, Londrina, v. 37, n. 2, p. 185-190, mar./abr. 2008.
- GOMES, F. B.; MORAES, J. C.; NERI, D. K. P. Adubação com silício como fator de resistência a inseto-praga e promotor de produtividade em cultura de batata inglesa em sistema orgânico. *Ciência e Agrotecnologia*, Lavras, v. 33, n. 1, p. 18-23, jan./fev. 2009.
- KARNOVSKY, M. J. A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolality for use in electron microscopy. *Journal of Cell Biology*, New York, v. 27, n. 15, p. 137-138, apr. 1965.
- KORNDÖRFER, G. H.; PEREIRA, H. S.; CAMARGO, M. S. Papel do silício na produção de cana-de-açúcar. *STAB*, Piracicaba, v. 21, n. 2, p. 34-37, dez. 2002.
- KORNDÖRFER, G. H.; PEREIRA, H. S.; NOLLA, A. *Análise de silício*: solo planta e fertilizante. Uberlândia: GPSi-ICIAG-UFU, 2004. 50 p. (Boletim técnico, 2).
- LAING, M. D.; ADANDONON, A. Silicon and insect management – review. In: SILICON IN AGRICULTURE CONFERENCE, 3., 2005, Uberlândia. *Anais...* Uberlândia: UFU/ICIAG, 2005. 152 p.
- LUZ, J. M. Q.; GUIMARAES, S. T. M. R.; KORNDORFER, G. H. Produção hidropônica de alface em solução nutritiva com e sem silício. *Horticultura Brasileira*, Brasília, v. 24, n. 3, p. 295-300, sept. 2006.
- MALAVOLTA, E. *Manual de nutrição mineral de plantas*. São Paulo: Editora Agronômica Ceres, 2006. 638 p.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, Copenhagen, v. 15, n. 1, p. 473-497, jan. 1962.
- PEREIRA, M. C. T.; NIETSCH, S.; FRANÇA, A. C.; NUNES, C. F.; LIMA, C. de; GONÇALVES, V. D.; SALLES, B. P.; MORAIS, D. L. B.; KOBAYASHI, M. K. Aclimatização de mudas micropropagadas de bananeira sob diferentes condições de luminosidade. *Revista Brasileira de Fruticultura*, Jaboticabal, v. 27, n. 2, p. 238-240, ago. 2005.
- POZZA, A. A. A.; ALVES, E.; POZZA, E. A.; CARVALHO, J. G. de; MONTANARI, M.; GUIMARÃES, P. T. G.; SANTOS, D. M. Efeito do silício no controle da cercosporiose em três variedades de cafeeiro. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v. 29, n. 2, p. 185-188, mar./abr. 2004.
- ROBARDS, A. W. An introduction to techniques for scanning electron microscopy of plant cells. In: HALL, J. L. (Ed.). *Electron microscopy and cytochemistry of plant cells*. New York: Elsevier, 1978. p. 343-444.
- ROELS, S.; ESCALONA, M.; CEJAS, I.; NOCEDA, C.; RODRIGUEZ, R.; CANAL, M. J.; SANDOVAL, J.; DEBERGH, P. Optimization of plantain (*Musa AAB*) micropropagation by temporary immersion system. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, Dordrecht, v. 82, n. 1, p. 57-66, July 2005.
- ROMERO-ARANDA, M.; JURADO, O.; CUARTETO, J. Silicon alleviates the deleterious salt effect on tomato plant growth by improving plant water status. *Journal of Plant Physiology*, Stuttgart, v. 163, n. 8, p. 847-855, Aug. 2006.
- SANDOVAL, J. A.; MÜLLER, L. E.; WEBERLING, F. Foliar morphology and anatomy of *Musa* cv. Grande Naine (AAA) plants grown *in vitro* and during hardening as compared to field-grown plants. *Fruits*, Cirad, v. 49, n. 1, p. 37-46, 1994.
- SOEST, P. J. Van. Development of a comprehensive system of feed analysis and its applications to forage. *Journal of Animal Science*, Palo Alto, v. 26, n. 1, p. 119-128, Jan. 1967.
- WIESE, H.; NIKOLIC, M.; ROMHELD, V. Silicon in plant nutrition. In: SATTELMACHER, B.; HORST, W. J. (Ed.). *The apoplast of higher plants: compartment of storage, transport and reactions*. Dordrecht: Springer, 2007. p. 33-47.
- ZHOU, T. S. The detection of the accumulation of silicon in *Phalaenopsis* (Orchidaceae). *Annals of Botany*, London, v. 75, n. 6, p. 605-607, Dec. 1995.

