



Revista Agrária Acadêmica

Agrarian Academic Journal

Volume 3 – Número 5 – Set/Out (2020)



doi: 10.32406/v3n5/2020/36-43/agrariacad

Silício no desenvolvimento in vitro de Fisális. Silicon in Physalis in vitro development.

<u>Luiz Eduardo Santos Lazzarini</u>, <u>Gabrielen de Maria Gomes Dias</u>, Samia Torres Silva, Neilton Antônio Fiusa Araújo, <u>Joyce Dória</u>, <u>Moacir Pasqual</u>

Resumo

Objetivou-se com esse trabalho avaliar o efeito de diferentes doses de ácido silícico no desenvolvimento *in vitro* de fisális. Segmentos nodais de plântulas estabelecidas *in vitro*, foram inoculados em meio de cultura MS com diferentes doses de ácido silícico (0,0; 1,0; 2,0 e 4,0 g L⁻¹). O delineamento inteiramente casualizado, com 10 repetições por tratamento, cada repetição composta por um frasco com três explantes. Após 30 dias, foram avaliadas as características fitotécnicas (comprimento de parte aérea, comprimento de raiz, diâmetro de caule, número de folhas e número de brotações) e caracterização ultraestrutural. A presença de ácido silícico no meio de cultura, proporcionou melhoria nas estruturas foliares de plântulas de fisális (*Physalis peruviana*).

Palavras-chave: Physalis peruviana. Ácido silícico. Pequenas frutas. Crescimento. Ultraestrutura.

Abstract

The objective of this work was to evaluate the effect of different doses of silicon acid on the *in vitro* development of physalis. Nodal segments of seedlings established *in vitro*, were inoculated in MS culture medium with different doses of silicic acid (0.0; 1.0; 2.0 and 4.0 g L⁻¹). The completely randomized design, with 10 repetitions per treatment, each repetition composed of a bottle with three explants. After 30 days, the phytotechnical characteristics (shoot length, root length, stem diameter, number of leaves and number of shoots) and ultrastructural characterization were evaluated. The presence of silicon acid in the culture medium provided an improvement in the leaf structures of seedlings of physalis (*Physalis peruviana*).

Keywords: Physalis peruviana. Silicic acid. Small fruits. Growth. Ultrastructure.

¹⁻ Departamento de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Norte – UFRN – Macaíba/RN – Brasil.

^{2*}- Departamento de Fitotecnia, Universidade Federal do Ceará – UFC – Fortaleza/CE – Brasil. E-mail: gabriellen@gmail.com.

³⁻ Departamento de Agricultura, Universidade Federal de Lavras – UFLA – Lavras/MG – Brasil.

Introdução

Physalis peruviana L., popularmente conhecido como fisális, é um semiarbusto pertencente à família Solanaceae, originária do Peru (FISCHER et al., 2014). Dentre as muitas espécies do gênero, algumas apresentam potencial de exploração agronômica, por seus compostos nutricionais e medicinais, relatados há tempos na cultura popular e, mais recentemente, por pesquisadores de inúmeras instituições (SILVA et al., 2013).

Essa fruta é bastante popular no Norte e Nordeste (RODRIGUES et al., 2009), e seu cultivo é uma alternativa para a economia agrícola, possuindo boas perspectivas de comercialização no mercado nacional e internacional, devido ao elevado conteúdo nutracêutico (VELASQUEZ et al., 2007).

Devido ao seu caráter anual, há uma demanda contínua de mudas para renovação das áreas de cultivo de fisális, sendo, portanto, a obtenção de mudas de alta qualidade uma importante fase para a implantação e sucesso na produção desta espécie (SILVA et al., 2016). Assim, a propagação *in vitro* apresenta-se como uma técnica alternativa na obtenção de mudas. A modalidade da cultura de tecidos vegetais é bem difundida e concentra-se na produção comercial de plantas, possibilitando sua multiplicação rápida, mantendo a identidade genética do material propagado, com elevada qualidade fitossanitária e em períodos de tempo e espaço reduzidos (FUZITANI; NOMURA, 2004).

Além disso, um aspecto importante a se considerar na cultura de tecidos vegetais, é a composição do meio de cultura. Plantas cultivadas *in vitro*, apresentam exigências nutricionais específicas para o desenvolvimento satisfatório dos explantes. Os meios de cultura podem ser modificados para atender as necessidades das espécies cultivadas *in vitro*, com relação aos minerais, vitaminas e fontes de energia (BRAGA et al., 2009). Desta forma, o silício, embora não seja um elemento essencial para as plantas, é considerado um elemento benéfico para várias culturas, pois pode promover o aumento do conteúdo de hemicelulose e lignina e, consequentemente, a rigidez na parede celular, elevando as taxas de sobrevivência e a produção de biomassa das plantas (CAMARGO et al., 2007; FAUTEAUX et al., 2005).

Sivanesan et al (2013) relataram que diferentes concentrações de silício promoveram aumento de matéria seca na parte aérea de crisântemo (*Dendranthema grandiflorum*) cultivada a campo. A adição de silício no meio de cultivo *in vitro* produziu características favoráveis na anatomia foliar de plântulas de orquídea (*Brassavola perrinii*) (SOARES et al., 2012). A utilização de silício no meio de cultura melhorou a qualidade das plântulas, através de uma maior absorção de nutrientes em antúrio (*Anthurium andraeanum*) (DIAS et al., 2017).

No presente trabalho objetivou-se avaliar o efeito de diferentes concentrações de ácido silícico (H₄SiO₄) no crescimento e desenvolvimento *in vitro* de fisális (*Physalis Peruviana*).

Material e métodos

O experimento foi realizado no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais da Universidade Federal de Lavras, Minas Gerais. Foram utilizados como explantes, segmentos nodais de plântulas de fisális (*Physallis peruviana*) contidos na coleção *in vitro* do laboratório.

Os segmentos nodais de aproximadamente 3 cm, contendo uma gema, foram inoculados em tubos de ensaio com 12,5 ml de meio de cultura MS (MURASHIGE & SKOOG, 1962), com 0,1 mg.L⁻¹ de ácido naftalenoacético (ANA) e ácido silícico (H₄SiO₄) nas seguintes concentrações 0,0; 1,0; 2,0 e 4,0 g.L⁻¹, onde foram aferidos a pH 5,7 \pm 0,1 e autoclavados a 125° C por 25 min a 1,2

atm. O experimento foi mantido em sala de crescimento com fotoperíodo de 16 h e temperatura de $25 \pm 1^{\circ}$ C. Após 30 dias, foram avaliadas as seguintes características:

<u>Características fitotécnicas</u>: comprimento de parte aérea (cm), comprimento de raiz (cm), diâmetro de caule (mm), número de folhas e número de brotações, as quais foram realizadas com o auxílio de uma régua graduada e paquímetro digital.

<u>Características ultraestruturais:</u> três fragmentos de folhas de três plantas diferentes, foram fixados em solução Karnovsky (KARNOVSKY, 1965), pós-fixados em solução de tetróxido de ósmio 1%, desidratadas em soluções de concentrações crescentes de acetona e submetidas à secagem no aparelho de ponto crítico (BAL-TEC) (ROBARDS, 1978). As amostras secas foram montadas em 'stubs' de alumínio e metalizadas com ouro em *Sputtering* (BAL-TEC). As amostras foram observadas em microscópio eletrônico de varredura (MEV) (LEO, modelo EVO 40 XVP), segundo protocolo de Alves e Perina (2012), foram observados a qualidade dos estômatos e tricomas foliares.

Foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado, com quatro tratamentos e dez repetições, sendo cada repetição formada de três plantas. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade e análise de regressão, utilizando-se o programa estatístico SISVAR 5.3 (FERREIRA, 2011).

Resultados e discussão

Em relação às características fitotécnicas, as plântulas sob condições de ausência (controle) ou presença de silício (1,0; 2,0 e 4,0 g.L⁻¹), não apresentaram diferença estatística para o comprimento de parte aérea, número de folhas e número de brotações (Tabela 1). Embora as diferentes doses de silício tenham afetado o crescimento *in vitro* de fisális (*P. peruviana*), as plântulas apresentaram-se vigorosas em todos os tratamentos. Já para Soares et al. (2008), obtiveram resultados significativos com utilização de silicato de sódio em meio de cultura, para número de folhas e comprimento médio da parte aérea em um híbrido de orquídea (*Hadrolaelia lobatta* x *Hadrolaelia purpurata aço*).

Tabela 1 - Características fitotécnicas de plântulas de fisális (*Physalis peruviana*) cultivadas aos 30 dias *in vitro* com ácido silícico (H₄SiO₄).

Doses de silício (g.L ⁻¹)	Comprimento parte aérea (cm)	Número de folhas	Número de brotações
1,0	8,56 a	4,00 a	1,00 a
2,0	9,01 a	4,00 a	0,80 a
4,0	9,23 a	5,00 a	1,00 a

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade; CV (%) = 42,81.

Sivanesan e Park (2014) apontam que o silício é benéfico para as plântulas durante a cultura *in vitro*, e também pode melhorar a sua produtividade. Além disso, este nutriente pode minimizar vários tipos de estresse, incluindo desequilíbrio nutricional (MARTINS et al., 2018). Outro fator que influencia na resposta ao silício é a espécie. Existe diferença na acumulação do silício entre espécies e tem sido atribuída às diferenças na habilidade de absorção do elemento pelas raízes (MA; YAMAJI, 2006). Como exemplo, em contraste com o presente estudo, Sivanesan e Jeong (2014),

observaram que a adição de silício ao meio de cultura promoveu a regeneração de brotos de ajuga (*Ajuga multiflora*), e que esta foi causada pela alteração da atividade de enzimas antioxidantes.

Para aspectos fitotécnicos, o controle foi mais eficiente na espessura do diâmetro do caule nas plântulas, ocorrendo um decréscimo até a dose de 2,0 g. L^{-1} (ponto mínimo \approx 3,06 g. L^{-1}) de ácido silícico, sendo nesta dose aproximadamente 1,32 mm (Figura 1), e posteriormente, um pequeno aumento do diâmetro do caule na dose de 4,0 g. L^{-1} .

Para o comprimento da raiz, o controle se mostrou eficiente no desenvolvimento, ocorrendo um decréscimo até a dose de 2,0 g. L^{-1} (ponto mínimo $\approx 2,31$ g. L^{-1}) de ácido silícico, e elevação até a dose de 4,0 g. L^{-1} . Essa análise foi realizada com o comprimento da maior raiz, desta forma, todos os tratamentos apresentaram quantidades numerosas de raízes durante seu desenvolvimento *in vitro*. Soares et al. (2008), ao utilizarem silicato de sódio em um híbrido de orquídea (*Hadrolaelia lobatta* x *Hadrolaelia purpurata aço*), também obtiveram resultados semelhantes para comprimento da maior raiz, percebendo um decréscimo até a concentração de 1,5 mg. L^{-1} , e um aumento a partir da concentração de 2,0 mg. L^{-1} .

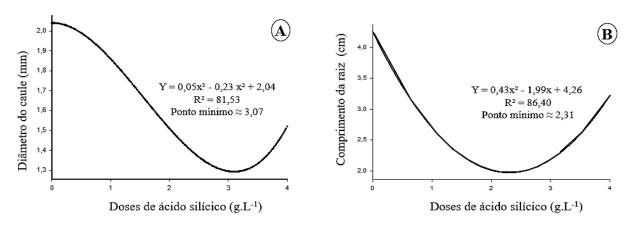


Figura 1 - Gráficos de regressão para A) diâmetro do caule, B) comprimento da raiz em diferentes doses de silício (0,0; 1,0; 2,0 e 4,0 g.L⁻¹) de plântulas de fisális (*Physalis peruviana*) em meio de cultura.

Na análise ultraestrutural por microscopia de varredura da parte adaxial da folha cultivada sob diferentes concentrações de silício, pode-se observar a presença de estruturas que provavelmente de acúmulo de silício, e também os estômatos fechados com células guardas mais turgidas (Figura 2B, C e D), nos tratamentos com presença de silício. Para Dias et al. (2014), ao trabalharem com silicato de sódio em plântulas de antúrio (*Anthurium adreaenum* cv. Rubi), perceberam que o diâmetro dos estômatos aumentou conforme a dose de silício (0,5; 1,0 e 2,0 mg L⁻¹) utilizada no meio de cultura. Segundo Silva (2007), a presença desse elemento acumulado nas paredes das células, tornam a planta mais resistentes a ação de patógenos e insetos, além de diminuir a taxa de transpiração e consequentemente a perda excessiva de água. Essa característica é importante pois aumenta a taxa de sobrevivência de mudas micropropagadas no processo de aclimatização, etapa crucial na propagação *in vitro*, onde a principal causa de morte das plântulas nessa etapa, é em virtude da perda de água, associados a baixa funcionalidade dos estômatos e fina camada de cera na cutícula (BRAGA et al., 2009).

Em relação aos tricomas, pode-se observar que nos tratamentos onde o silício foi utilizado, os tricomas apresentaram-se aparentemente mais rígidos (Figura 2F, G e H) e bem formados quando comparados ao tratamento controle (Figura 2E). Isso pode ser explicado pelo fato de que, segundo Marin (2003), o benefício do silício para as plantas podem ser diretos, como o melhor

desenvolvimento estrutural dos órgãos das plantas, e os indiretos, como o aumento da taxa fotossintética, em virtude dessas estruturas mais bem formadas, como os estômatos (Figura 2A, B, C e D).

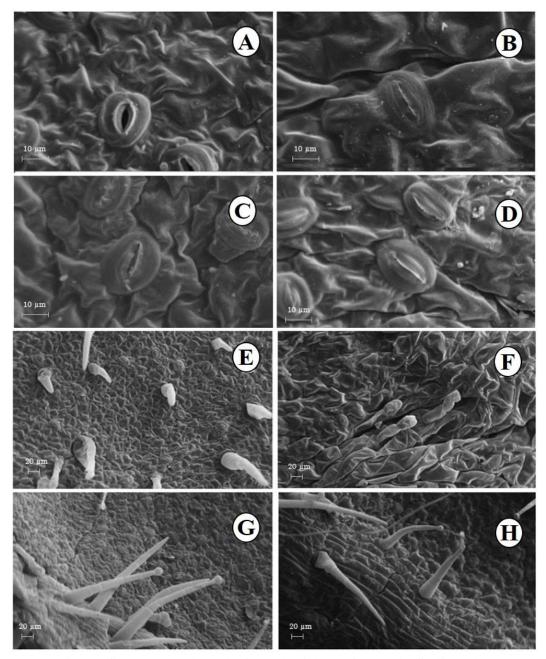


Figura 2 - Eletromicrografias de varredura da face abaxial em folhas de fisális (*Physallis peruviana*) cultivadas *in vitro* em diferentes dosagens de silício: A e E) controle; B e F) 1,0 g.L⁻¹; C e G) 2,0 g.L⁻¹ e D e H) 4,0 g.L⁻¹.

O silício é um elemento que pode trazer vários efeitos positivos para as plantas, como redução do estresse hídrico através da redução da transpiração, aumento na eficiência da fotossíntese por manter as folhas mais eretas e rígidas, que levam a uma melhor intercepção da luz, e aumento na resistência a pragas e doenças (CARVALHO-ZANÃO et al., 2012). A maior parte do silício é incorporada na parede celular, principalmente nas células da epiderme, estômatos e tricomas, ou depositada juntamente a outros elementos, originando depósitos amorfos chamados de fitólitos ou sílica biogênica (MITANI; YAMAJI, 2006). Segundo Castro et al. (2009), os tricomas

podem ser utilizados como forma de evitar a transpiração excessiva, sendo que para isso eles oferecem uma barreira contra ventos que podem diminuir a umidade na superfície foliar e assim provocar o aumento da transpiração. Outra forma de diminuição da transpiração por intermédio dos tricomas é a reflexão da radiação solar que pode aumentar a temperatura foliar. A grande cobertura por tricomas bem como a presença de substâncias químicas nos tricomas glandulares são também características que, aliadas a características presentes em outros órgãos dos vegetais, classificam a planta com invasiva (LIMA et al. 2009).

A morfologia das plântulas de fisális não foram modificadas significativamente na adição de silício ao meio de cultura, mas proporcionou modificações microscópicas em suas estruturas foliares, como estômatos e tricomas. Em razão da falta de informações sobre a influência de silício na propagação *in vitro*, principalmente de fisális, torna-se necessário, a realização de mais pesquisas para elucidar a real função do silício, na estrutura da plântula.

Conclusão

A presença de ácido silícico (H₄SiO₄) no meio de cultura, proporcionou a melhoria de estruturas foliares de plântulas de fisális (*Physalis peruviana*).

Agradecimentos

À CAPES e ao CNPQ pela concessão das bolsas de estudos e ao Laboratório de Microscopia Eletrônica (LME) da Universidade Federal de Lavras (UFLA) pelo espaço e materiais cedidos para desenvolvimento desse trabalho.

Referências bibliográficas

ALVES, E.; PERINA, F. J. Apostila do curso introdutório à microscopia eletrônica de varredura e microanálise de raios-X. Lavras: UFLA/FAEPE, 2012, 63p.

BRAGA, F. T.; NUNES, C. F.; FAVERO, A. C.; PASQUAL, M.; CARVALHO, J. G.; CASTRO, E. M. Anatomical characteristics of the strawberry seedlings micropropagated using different sources of silicon. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 44, p. 128-132, 2009.

CAMARGO, M. S.; KORNDÖRFER, G. H.; PEREIRA, H. S. Solubilidade do silício em solos: influência do calcário e ácido silícico aplicados. **Bragantia**, Campinas, v. 66, n. 4, p. 637-647, 2007.

CARVALHO-ZANÃO, M. P.; ZANÃO JÚNIOR, L. A.; BARBOSA, J. G.; GROSSI, J. A. S.; ÁVILA, V. T. Yield and shelf life of chrysanthemum in response to the silicon application. **Horticultura Brasileira**, v. 30, p. 403-408, 2012.

CASTRO, E. M.; PEREIRA, F. J. E PAIVA, R. Histologia Vegetal: estrutura e função de órgãos vegetativos. Lavras: UFLA, 2009, 234p.

DIAS, G. M. G.; SOARES, J. D. R.; PASQUAL, M.; SILVA, R. A. L.; RODRIGUES, L. C. A.; PEREIRA, F. J.; CASTRO, E. M. Photosynthesis and leaf anatomy of Anthurium cv. Rubi plantlets cultured *in vitro* under different silicon (Si) concentrations. **Australian Journal Crop Sciense**, v. 8, p. 1160-1167, 2014.

DIAS, G. D. M. G.; SOARES, J. D. R.; RIBEIRO, S. F.; MARTINS, A. D.; PASQUAL, M.; ALVES, E. Morphological and physiological characteristics *in vitro* anthurium plantlets exposed to silicon. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 17, n. 1, p. 18-24, 2017.

FERREIRA, D. F. Sisvar: um sistema computacional de análise estatística. **Ciência e Agrotecnologia**. [online], v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011. http://dx.doi.org/10.1590/S1413-70542011000600001

FAUTEAUX, F.; BÉMUS-BOREL, W.; MEZIES, J.G.; BÉLANGER, R.R. Silicon and plant disease resistance against pathogenic fungi. **FEMS Microbiology Letters**, v. 249, p. 1-6, 2005.

FISCHER, G.; ALMANZA-MERCHÁN, P. J.; MIRANDA, D. Importancia y cultivo de la uchuva (*Physalis peruviana* L.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 36, n. 1, p. 1-15, 2014.

FUZITANI, E. J.; NOMURA, E. S. Produção de mudas *in vitro*. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, Campinas, v. 10, n. 1/2, p. 14-17, 2004.

KARNOVSKY, M. J. A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolality for use in electron-microscopy. **Journal of Cell Biology**, v. 27, p. 137-138, 1965.

LIMA, V. F. G. A. P.; SOUZA, I. L.; FERREIRA, M. S.; HUGENSCHIMIDT, R. I. C.; SILVA, V. S. Estudo anatômico da folha de duas espécies de Solanaceae ocorrentes no Núcleo Cabuçu (Guarulhos, SP). **Revista do Instituto Florestal**, v. 21, p. 117-129, 2009.

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

MARTINS, A. D.; MARTINS, J. P. R.; BATISTA, L. A; DIAS, G. M.G., ALMEIDA, M. O., PASQUAL, M.; SANTOS, H. O. DOS. Morpho-physiological changes in *Billbergia zebrina* due to the use of silicates *in vitro*. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 90, n. 4, p. 3449-3462, 2018. https://doi.org/10.1590/0001-3765201820170518

MARIN, J. A. High survival rates during acclimatization of micropropagated fruit tree rootstocks by increasing exposures to low relative humidity. **Acta Horticulturae**, v. 616, n. 1, p. 139-142, 2003.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, v. 15, n. 43, p. 473-497, 1962.

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, p. 343-444, 1978.

RODRIGUES, E.; ROCKENBACH, I. I.; CATANEO, C.; GONZAGA, L. V.; CHAVES, E. S.; FETT, R. Minerals and essential fatty acids of the exotic fruit Physalis peruviana L. Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas, v. 29, n. 3, p. 642-645, 2009.

SILVA, D. P. Meios de cultura e fontes de silício no desenvolvimento *in vitro* de gérbera. 84p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2007.

SILVA, D.; VILLA, F.; BARP, F.; ROTILI, M.; STUMM, D. Conservação pós-colheita de fisális e desempenho produtivo em condições edafoclimáticas de Minas Gerais. **Revista Ceres**, v. 60, n. 6, p. 826-832, 2013.

SILVA, D.F.; PIO, R.; SOARES, J.D.R.; NOGUEIRA, P.V.N.; PECHE, P.M.; VILLA, F. The production of Physalis spp. seedlings grown under different-colored shade nets. **Acta Scientiarum - Agronomy**, v. 38, n. 2, p. 257-263, 2016.

SIVANESAN, I.; SON, M. S.; SONG, J. Y.; JEONG, B. R. Silicon supply through the subirrigation system affects growth of three chrysanthemum cultivars. **Horticulture, Environment and Biotechnology**, v. 54, p. 14-19, 2013.

SIVANESAN, I.; JEONG, B. R. Silicon Promotes Adventitious Shoot Regeneration and Enhances Salinity Tolerance of *Ajuga multiflora* Bunge by Altering Activity of Antioxidant Enzyme. **The Scientific World Journal**, v. 2014, 521703, 2014. https://doi.org/10.1155/2014/521703

Rev. Agr. Acad., v.3, n.5, Set/Out (2020)

SIVANESAN, I.; PARK, S. W. The role of silicone in plant tissue culture. **Frontiers in Plant Science**, v. 5, a571, p. 1-4, 2014. doi: https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00571

SOARES, J. D. R..; PASQUAL, M.; RODRIGUES, F. A.; VILLA, F.; DE CARVALHO, J. G. Adubação com silício via foliar na aclimatização de um híbrido de orquídea. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 32, n. 2, p. 626-629, 2008.

SOARES, J. D. R.; PASQUAL, M.; DE ARAUJO, A. G., DE CASTRO, E. M.; PEREIRA, F. J.; BRAGA, F. T. Leaf anatomy of orchids micropropagated with different silicon concentrations. **Acta Scientiarum - Agronomy**, v. 34, n. 4, p. 413-421, 2012. https://doi.org/10.4025/actasciagron.v34i4.15062

VELASQUEZ, H. J. C.; GIRALDO, O. H. B.; ARANGO, S. S. P. Estudio preliminar de la resistência mecánica a la fractura y fuerza de firmeza para fruta de uchuva (*Physalis peruviana* L.). **Revista Facultad Nacional de Agronomía**, Medellín, v. 60, n. 1, p. 3785-3796, 2007.