

Efeito do silício na micropropagação de cana-de-açúcar (variedade RB966928)

Effect of silicon on the micropropagation of sugarcane (variety RB966928)

Letícia Yuri Matsunaga

ORCID: <https://orcid.org/0009-0001-0537-9190>
Universidade Federal da Grande Dourados, Brasil
E-mail: leticia.matsunaga041@academico.ufgd.edu.br

Rodrigo Kelson Silva Rezende

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6245-5906>
Universidade Federal da Grande Dourados, Brasil
E-mail: rkelson@ufgd.edu.br

Nathalia Banhara dos Santos

ORCID: <https://orcid.org/0009-0009-8108-0535>
Universidade Federal da Grande Dourados, Brasil
E-mail: nathalia.santos706@academico.ufgd.edu.br

Maílson Vieira Jesus

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0752-9081>
Centro Universitário da Grande Dourados, Brasil
E-mail: mvjagro@gmail.com

RESUMO

O silício utilizado na micropropagação pode ser acumulado na cutícula das folhas, permitindo proteção às plantas, aumento da capacidade fotossintética, redução de perda de água e, ainda, promove maior crescimento. Objetivou-se avaliar o efeito do silício na micropropagação de cana-de-açúcar (variedade RB966928). Perfilhos com 5 cm de comprimento, de plantas cultivadas *in vitro*, foram submetidos a dois tipos de sistemas de cultivo: meio sólido e biorreator de imersão temporária (B.I.T.), suplementando o meio de cultura com diferentes fontes (silicato de cálcio e silicato de sódio) e concentrações de silício (0,0; 1,0 e 2,0 g L⁻¹). Após 45 dias, avaliou-se o número de perfilhos (NP), comprimento da parte aérea (CPA), massa fresca (MF) e massa seca (MS). Para a micropropagação convencional de cana-de-açúcar (variedade RB966928), recomenda-se a suplementação do meio de cultura com 1,0 g L⁻¹ de silicato de sódio para a obtenção de plantas com maiores MF e MS. Para a micropropagação em B.I.T, recomenda-se o meio de cultura suplementado com 1,0 g L⁻¹ de silicato de cálcio para maior perfilhamento, 1,0 g L⁻¹ de silicato de sódio para obtenção de plantas com maior CPA e 2,0 g L⁻¹ de silicato de cálcio para obtenção de plantas com maior MF.

Palavras-chave: Cultivo *in vitro*; Mudas; *Saccharum officinarum* L.

ABSTRACT

Silicon used in micropropagation can accumulate in the leaf cuticle, providing protection to plants, increasing photosynthetic capacity, reducing water loss, and promoting greater growth. The aim of this study was to evaluate the effect of silicon on the micropropagation of sugarcane (variety RB966928). Shoots, 5 cm in length, from in vitro-cultured plants, were subjected to two types of cultivation systems: solid medium and temporary immersion bioreactor (T.I.B.), with culture medium supplemented with different sources (calcium silicate and sodium silicate) and silicon concentrations (0.0, 1.0, and 2.0 g L⁻¹). After 45 days, the number of shoots (NS), shoot length (SL), fresh weight (FW), and dry weight (DW) were evaluated. For the conventional micropropagation of sugarcane (variety RB966928), it is recommended to supplement the culture medium with 1.0 g L⁻¹ of sodium silicate to obtain plants with higher FW and DW. For micropropagation in T.I.B., it is recommended to use culture medium supplemented with 1.0 g L⁻¹ of calcium silicate for increased tillering, 1.0 g L⁻¹ of sodium silicate to obtain plants with greater SL, and 2.0 g L⁻¹ of calcium silicate to obtain plants with higher FW.

Keywords: *In vitro* cultivation; Seedlings; *Saccharum officinarum* L.

INTRODUÇÃO

Com o aumento do consumo sucroenergético, a cana-de-açúcar (*Saccharum spp.*) está entre as culturas de maior importância no Brasil, que é um dos maiores produtores e exportadores mundiais de açúcar (VIAN, 2022), e graças ao melhoramento genético e desenvolvimento de novas cultivares adaptadas às diversas regiões canavieiras, o desenvolvimento desta atividade econômica continua em constante expansão (FRANCA, 2016).

Em programas de melhoramento genético da cana-de-açúcar, há necessidade, sob determinadas circunstâncias, de se multiplicar o material selecionado com rapidez. A micropropagação é uma alternativa ao processo convencional de propagação vegetativa por meio de colmos. A propagação de plantas das diferentes variedades desta espécie tem sido obtida rotineiramente através das técnicas de propagação *in vitro* (KAUR e SANDHU, 2015).

A micropropagação é atualmente usada para a multiplicação de novas variedades em muitos países produtores de cana-de-açúcar. Essa técnica proporciona meios de alta produção com mudas uniformes, livre de doenças e com velocidade substancialmente mais rápida do que o convencional (SAWANT et al., 2014).

Uma das etapas da micropropagação é a aclimatização, sendo considerada uma etapa crítica, pois está relacionada à passagem da fase *in vitro* para a casa de vegetação. A aclimatização é afetada basicamente pelos fatores de estresse hídrico, fotossíntese, absorção de nutrientes e fitossanidade. Dessa forma, torna-se necessário que as

plântulas mantidas em sala de crescimento (durante o cultivo *in vitro*) não sintam os efeitos dessa transferência, apresentando boas condições para o seu melhor desenvolvimento.

O silício (Si) é o segundo elemento de maior abundância na superfície terrestre (MARAFON, 2013), mas não é considerado um elemento essencial para as plantas. Na cultura da cana-de-açúcar, é um elemento de grande absorção (DEMATTÊ et al., 2011) e seu uso 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 promove um maior crescimento (EPSTEIN, 1999).

O Si tem sido usado para melhorar a morfologia e a fisiologia das plantas cultivadas *in vitro*, submetidas à estresses abióticos e bióticos, como por exemplo em orquídea (*Dendrobium moniliforme* L.) (DUAN et al., 2013), sorgo (*Sorghum bicolor* L.) (YIN et al., 2016) e tomate (*Lycopersicon esculentum* L.) (MUNEER e JEONG, 2015). A concentração ideal de Si necessária para o crescimento e desenvolvimento das plantas varia entre genótipos dentro da mesma espécie (LIM et al., 2012; TALUKDAR, et al., 2019).

Nesse contexto, torna-se importante desenvolver trabalhos utilizando-se o silício em protocolos de micropropagação de cana-de-açúcar.

Objetivou-se avaliar o efeito do silício na micropropagação de cana-de-açúcar (variedade RB966928).

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado no Laboratório de Biotecnologia Vegetal do Centro de Biotecnologia e Melhoramento Genético da Cana-de-Açúcar (CBMGCA), localizado na Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), Dourados-MS.

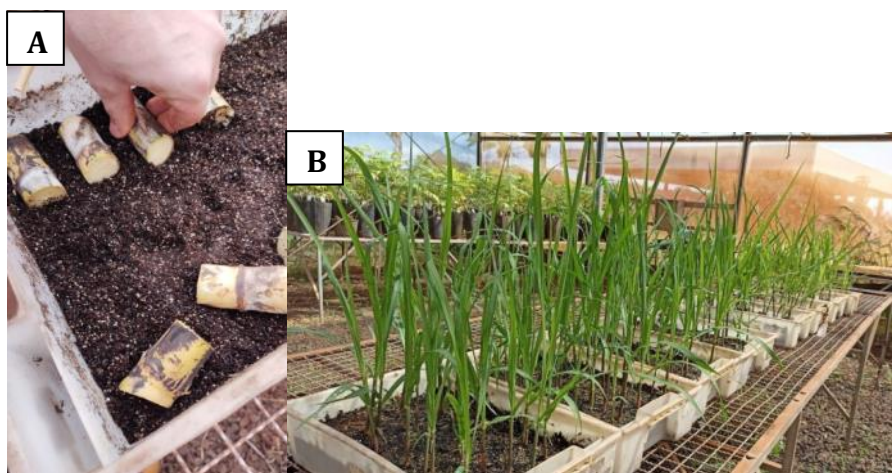
Iniciou-se com o plantio dos toletes de cana-de-açúcar (variedade RB966928), em bandejas contendo o substrato Carolina Soil[®], sendo mantidas em casa de vegetação com irrigação controlada por um período de 40 dias (Figura 1).

Posteriormente, foi realizado o procedimento da retirada dos palmitos (folhas imaturas) com aproximadamente 5 cm de comprimento. Estes, passaram pelo processo de descontaminação utilizando-se álcool etílico 70% (v/v) por 1 minuto, hipoclorito de sódio 2,5% (v/v) por 20 minutos, seguido de três lavagens com água destilada

autoclavada. Em câmara de fluxo laminar e com auxílio do estereomicroscópio, os meristemas foram extraídos e isolados em placas de Petri.

Os meristemas foram inoculados em 20 frascos (1 meristema/frasco) contendo 40 mL de meio de cultura MS (MURASHIGE E SKOOG, 1962), suplementado com 30,0 g L⁻¹ de sacarose ; 7,0 g L⁻¹ de ágar; 0,2 mg L⁻¹ de benzilaminopurina (BAP) e 0,1 mg L⁻¹ de cinetina (KIN). Após a inoculação, os frascos contendo os meristemas foram mantidos em sala de crescimento, no escuro e temperatura de 25±2° C, por uma semana. Posteriormente, os frascos foram mantidos em fotoperíodo de 16 horas (43 μmol m⁻² s⁻¹) e mesma temperatura. Após 45 dias, realizou-se a repicagem para a multiplicação dos perfilhos de cana-de-açúcar.

Figura 1. Plantio dos mini-toletes (A) e plantas matrizes de cana-de-açúcar (variedade RB966928) após 40 dias em casa de vegetação (B).



Logo após a fase de multiplicação, os perfilhos (com aproximadamente 5 cm de comprimento) foram submetidos a dois tipos de sistemas de cultivo: o sistema convencional (meio sólido) e o sistema com biorreator de imersão temporária (B.I.T.) (Figura 2).

Para o sistema convencional, utilizou-se o meio MS padrão sólido (com 7,0 mg L⁻¹ de ágar) suplementado com 30 g L⁻¹ de sacarose; 1,0 mg L⁻¹ de cinetina (KIN); 0,13 mg L⁻¹ de ácido indolacético (AIA); 0,2 mg L⁻¹ de ácido giberélico (GA₃); 0,05 g L⁻¹ de ácido cítrico; 0,05 g L⁻¹ de ácido ascórbico e diferentes fontes e concentrações de silício (tabela 1). Para cada tratamento, foram utilizados 12 frascos (3 perfilhos/frasco) contendo 70 mL de meio de cultivo/frasco.

Para o B.I.T., utilizou-se o meio MS padrão líquido, suplementado com 30 g L⁻¹ de sacarose; 1,0 mg L⁻¹ de cinetina (KIN); 0,13 mg L⁻¹ de ácido indolacético (AIA); 0,2 mg L⁻¹ de ácido giberélico (GA₃); 0,05 g L⁻¹ de ácido cítrico; 0,05 g L⁻¹ de ácido ascórbico e diferentes fontes e concentrações de silício (tabela 1). Para cada tratamento, foram utilizados dois frascos (7 perfilhos/frasco) contendo 200 mL de meio de cultivo/frasco.

O B.I.T. foi programado para promover ciclos de aeração a cada 2 horas por 15 minutos.

Figura 2. Perfilhos de cana-de-açúcar (variedade RB966928) cultivados em biorreator de imersão temporária (A) e em meio sólido (B).

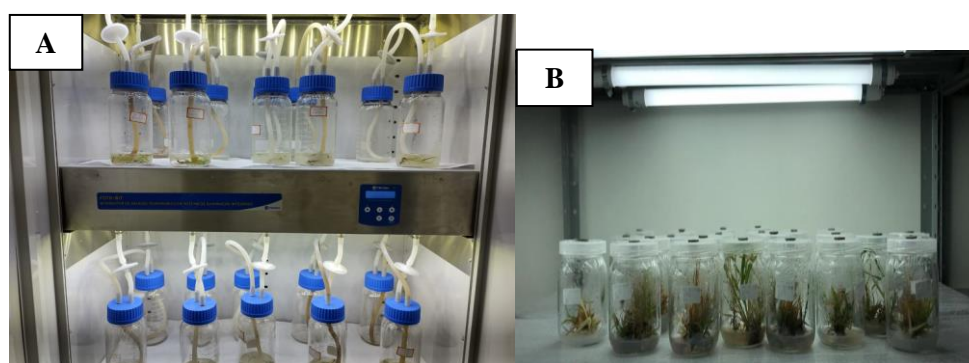


Tabela 1: Tratamentos aplicados para avaliar o efeito do silício na micropropagação de cana-de-açúcar (variedade RB966928).

Tratamentos	Concentração (g L ⁻¹)	Fonte de silício
T0	0,0	-
T1	1,0	Silicato de cálcio
T2	2,0	Silicato de cálcio
T3	1,0	Silicato de sódio
T4	2,0	Silicato de sódio

Os dois sistemas de micropropagação permaneceram sob condições controladas a 25±2°C e fotoperíodo de 16 horas (43 μmol m⁻² s⁻¹) durante 45 dias. As variáveis analisadas foram: número de perfilhos, comprimento da parte aérea, massa fresca e massa seca.

Os dados foram submetidos à análise de ocorrência de outliers. Uma vez identificados, estes foram substituídos pela média dos respectivos tratamentos. Posteriormente, foram realizados os testes de pressupostos da ANOVA, normalidade e homogeneidade de variâncias utilizando-se o programa estatístico Jamovi 2.3.26 (THE JAMOVI PROJECT, 2022). Por fim, as médias foram submetidas à ANOVA utilizando-se o programa estatístico SISVAR 5.6 (FERREIRA, 2011) e comparadas pelo Teste Tukey, ambos a 5% e 1% de probabilidade.

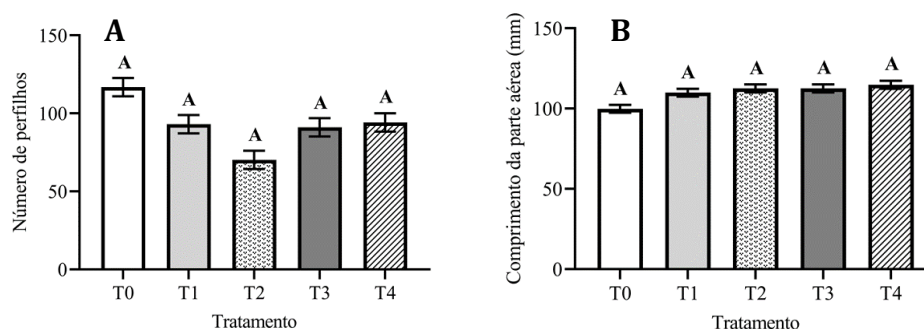
RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com base nos dados analisados na figura 3 (A e B), o número de perfilhos e o comprimento da parte aérea não foram estatisticamente significativos, considerando-se o sistema convencional.

Para a massa fresca, a análise de variância apresentou resultados significativos, sendo as maiores médias observadas nos tratamentos T3 e T4 (10,2 g e 10,8 g respectivamente) (Figura 4A).

Para a massa seca, os tratamentos T3 e T4 também apresentaram as maiores médias (0,85 g e 0,89 g, respectivamente) (Figura 4B). Entretanto, levando em conta o fator econômico, o tratamento 3 seria o mais viável, pois em comparação com o tratamento 4, recebe menor suplementação de silicato de sódio.

Figura 3. Número de perfilhos (A) e comprimento da parte aérea (B) de plantas de cana-de-açúcar (variedade RB966928), cultivadas em meio sólido. T0: controle; T1: 1,0 g L⁻¹ de silicato de cálcio; T2: 2,0 g L⁻¹ de silicato de cálcio; T3: 1,0 g L⁻¹ de silicato de sódio e T4: 2,0 g L⁻¹ de silicato de sódio.



Para o B.I.T, as variáveis número de perfilhos e comprimento da parte aérea foram significativas. A maior média (244,9 perfilhos) foi obtida no tratamento T1 (Figura 5A), enquanto que para a variável comprimento da parte aérea, a maior media obtida (147,7 mm) foi observada no tratamento T3 (Figura 5B).

Figura 4. Massa fresca (A) e massa seca (B) de plantas de cana-de-açúcar (variedade RB966928), cultivadas em meio sólido. T0: controle; T1: 1,0 g L⁻¹ de silicato de cálcio; T2: 2,0 g L⁻¹ de silicato de cálcio; T3: 1,0 g L⁻¹ de silicato de sódio e T4: 2,0 g L⁻¹ de silicato de sódio.

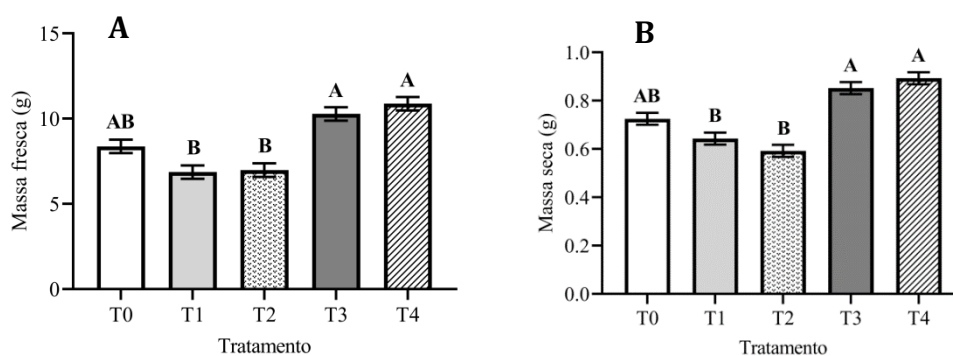
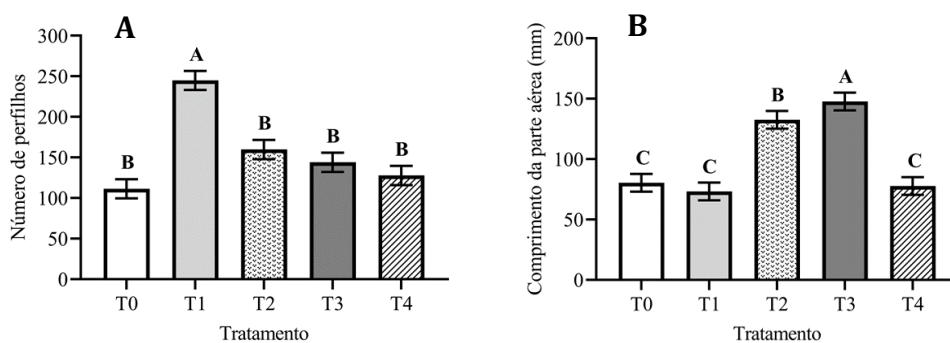


Figura 5. Número de perfilhos (A) e comprimento da parte aérea (B) de plantas de cana-de-açúcar (variedade RB966928), cultivadas em biorreator de imersão temporária. T0: controle; T1: 1,0 g L⁻¹ de silicato de cálcio; T2: 2,0 g L⁻¹ de silicato de cálcio; T3: 1,0 g L⁻¹ de silicato de sódio e T4: 2,0 g L⁻¹ de silicato de sódio.

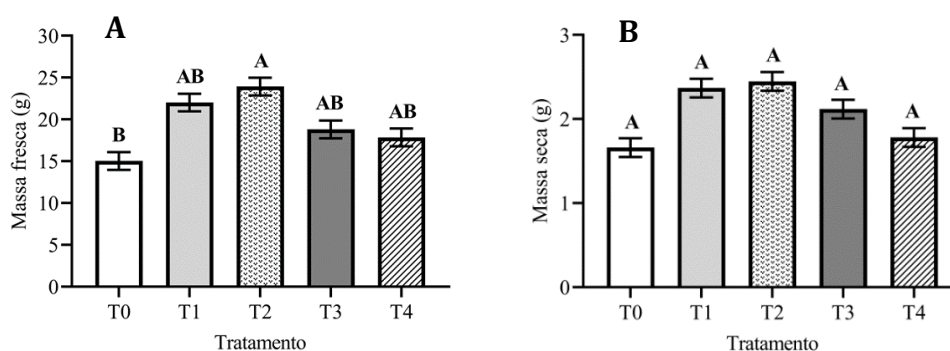


Quanto à massa fresca, o tratamento T2 apresentou a maior média (23,9 g), seguido dos tratamentos T1 (22,0 g), T3 (18,8 g) e T4 (17,8 g), conforme demonstra a figura 6A.

Em relação à massa seca, não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos (Figura 6B).

O presente estudo demonstra o efeito benéfico do Si durante a micropropagação de cana de açúcar (variedade RB966928) em meio sólido e em B.I.T. Contudo, não foi possível determinar a melhor fonte e concentração de Si que apresente sempre os melhores resultados para todas as variáveis analisadas.

Figura 6. Massa fresca (A) e massa seca (B) de plantas de cana-de-açúcar (variedade RB966928), cultivadas em biorreator de imersão temporária. T0: controle; T1: 1,0 g L⁻¹ de silicato de cálcio; T2: 2,0 g L⁻¹ de silicato de cálcio; T3: 1,0 g L⁻¹ de silicato de sódio e T4: 2,0 g L⁻¹ de silicato de sódio.



García-Merino et al. (2023), trabalhando com duas variedades de cana-de-açúcar (CP 72-2086 e MEX 69-290) cultivadas *in vitro*, verificaram que 10,0 mg L⁻¹ de silicato de sódio propiciou um aumento das características morfofisiológicas (número e comprimento de brotos e raízes, número de folhas, massas fresca e seca, teor de clorofila e índice estomático) das plantas, e que essas respostas dependem da variedade utilizada.

O Si contribui para aumentar a biomassa e a regeneração de brotos porque influencia na fotossíntese (WANG et al., 2019).

Silva (2007), ao estudar diferentes fontes e concentrações de silício no cultivo *in vitro* de gérbera, recomenda a utilização do meio MS com concentração salina de 50%, suplementado com 1,0 g L⁻¹ de silicato de cálcio, visando a indução de brotos, folhas e raízes e com 1,0 g L⁻¹ de silicato de potássio para a obtenção de plantas com maior altura.

Asmar et al. (2013) estudaram as características morfofisiológicas de bananeiras 'Grande Naine' aclimatizadas em resposta a utilização de silício *in vitro* e concluíram que ocorreram maiores diâmetros do pseudocaule, aumento de massa fresca e seca de parte aérea e massa fresca de raiz. Maior massa seca de raiz foi registrada apenas com a

utilização de silicato de sódio. Além disso, ressaltou a importância no aumento da espessura cuticular da planta ao passar por um processo de aclimatização.

Estes resultados estão de acordo com Malavolta (2006), afirmando que o silício aumenta o diâmetro dos caules, refletindo assim, em maiores massas fresca e seca de parte aérea.

Braga et al. (2009) visando estudar as características anatômicas de mudas de morangueiro utilizaram $1,0 \text{ g L}^{-1}$ de diferentes fontes de silício (silicato de sódio, silicato de cálcio e silicato de potássio) e observaram que o silicato de sódio promove o aumento de matéria fresca e seca em propágulos, aumento da espessura dos tecidos do limbo foliar e da deposição de cera epicuticular.

Os resultados obtidos nessa pesquisa demonstram os benefícios do Si na micropropagação de cana-de-açúcar (variedade RB966928), possibilitando que novos trabalhos sejam desenvolvidos com outras variedades.

CONCLUSÃO

Para a micropropagação convencional de cana-de-açúcar (variedade RB966928), recomenda-se a suplementação do meio de cultura com $1,0 \text{ g L}^{-1}$ de silicato de sódio para a obtenção de plantas com maior massa fresca e massa seca.

Na micropropagação de cana-de-açúcar (variedade RB966928) em biorreator de imersão temporária, recomenda-se a utilização de $1,0 \text{ g L}^{-1}$ de silicato de cálcio para a obtenção de maior perfilhamento, $1,0 \text{ g L}^{-1}$ de silicato de sódio para plantas com maior comprimento de parte aérea e $2,0 \text{ g L}^{-1}$ de silicato de cálcio para obtenção de plantas com maior massa fresca.

REFERÊNCIAS

ASMAR, S. A.; PASQUAL, M.; ARAUJO, A. G.; SILVA, R. A. L.; RODRIGUES, F. A.; PIO, L. A. S. Características morfofisiológicas de bananeiras ‘Grande Naine’ aclimatizadas em resposta a utilização de silício *in vitro*. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 34, n. 1, p. 73-82, jan./fev. 2013.

BRAGA, F. T. B.; NUNES, C. F.; FAVERO, A. C.; PASQUAL, M.; CARVALHO, J. G.; CASTRO, E. M. 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.

- DEMATTE, J. L. I.; PAGGIARO, C. M.; BELTRAME, J. A.; RIBEIRO, S. S. Uso de silicatos em cana-de-açúcar. **Informações Agronômicas**, v. 133, p. 7-12, 2011.
- DUAN, X., TANG, M., WANG, W. Effects of silicon on physiology and biochemistry of *Dendrobium moniliforme* plantlets under cold stress. **Agricultural Biotechnology**, v. 2, n. 3, p. 18, 2013.
- EPSTEIN, E. Silicon. **Annual Review of Plant physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 50, p. 641-664, 1999.
- FERREIRA, D. F. Sisvar 5.6: um sistema computacional de análise estatística. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n. 6, Nov./Dez., 2011.
- FRANCA, M. A. **Micropropagação de cana-de-açúcar cultivar RB966928**. Curitiba, 2016.
- GARCÍA-MERINO, G. F.; RAMÍREZ-MOSQUEDA, M. A.; AGUILAR-RIVERA, N.; HIDALGO-CONTRERAS, J. V.; BURCHI, G.; LEYVA-OVALLE, O. R. Increase of the morpho-physiological responses of sugarcane plants in vitro (*Saccharum* spp. hybrids) using sodium silicate. **South African Journal of Botany**, v. 162, p. 193-200, 2023.
- KAUR, A.; SANDHU, J. S. High throughput *in vitro* micropropagation of sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) from spindle leaf roll segments: Cost analysis for agribusiness industry. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 120, n. 1, p. 339-350, 2015.
- LIM, M. Y.; LEE, E. J.; JANA, S.; SIVANESAN, I.; JEONG, B. R. Effect of potassium silicate on growth and leaf epidermal characteristics of begonia and pansy grown in vitro. **Korean Journal of Horticultural Science and Technology**, v. 30, n. 5, p. 579-585, 2012.
- MALAVOLTA, E. **Manual de nutrição mineral de plantas**. São Paulo: Editora Agronômica Ceres, 2006. 638 p.
- MARAFON, A. C. **Benefícios do silício para a cana-de-açúcar**. 2013.
- MUNEER, S., JEONG, B. R. Proteomic analysis of salt-stress responsive proteins in roots of tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) plants towards silicon efficiency. **Plant Growth Regulation**, v. 77, p. 133-146, 2015.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A. Revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 15, n. 3, p. 473-497, 1962.
- SAWANT, R. A.; TAWAR, P. N.; METI, N. T.; RANJEKAR, P. K. Role of sugarcane micropropagation for production of quality seed. **International Journal of Recent Biotechnology**, v. 2, n. 4, p. 34-41, 2014.

SILVA, D. P. C. **Meios de cultura e fontes de silício no desenvolvimento *in vitro* de gébera**. 2007. 84 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Fisiologia Vegetal) - Universidade Federal de Lavras. Lavras, MG.

TALUKDAR, P.; HARTLEY, S. E.; TRAVIS, A. J.; PRICE, A. H.; NORTON, G. J. Genotypic differences in shoot silicon concentration and the impact on grain arsenic concentration in rice. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, v. 182, n. 2, p. 265-276, 2019.

THE JAMOVI PROJECT (2022). **Jamovi** (Version 2.3.26) [Computer Software]. Retrieved from <https://www.jamovi.org>.

VIAN, C. E. F. **Cana - Mercado**. Embrapa Agência de Informação Tecnológica, 2022. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/agencia-de-informacao-tecnologica/cultivos/cana/pre-producao/socioeconomia/mercado>>. Acesso em 20 set. 2023.

WANG, Y.; ZHANG, B.; JIANG, D.; CHEN, G. Silicon improves photosynthetic performance by optimizing thylakoid membrane protein components in rice under drought stress. **Environmental and Experimental Botany**, v. 158, p. 117-124, 2019.

YIN, L.; WANG, S.; TANAKA, K.; FUJIHARA, S.; ITAI, A.; DEN, X.; ZHANG, S. Silicon-mediated changes in polyamines participate in silicon-induced salt tolerance in *Sorghum bicolor* L. **Plant, Cell & Environment**, v. 39, n. 2, p. 245-258, 2016.