

LAVÍNIA BARBOSA OLIVEIRA

**SUPLEMENTAÇÃO DO SILÍCIO NA EMBRIOGÊNESE SOMÁTICA DE PALMA
DE ÓLEO (*Elaeis guineensis* JACQ) E SUA REPERCUSSÃO NO
ESTABELECIMENTO DAS MUDAS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento, para a obtenção do título de *Magister Scientiae*.

Orientador: Sérgio Yoshimitsu Motoike

Coorientador: Sebastião Martins Filho

**VIÇOSA - MINAS GERAIS
2022**

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Campus Viçosa**

T

O48s
2022

Oliveira, Lavínia Barbosa, 1997-

Suplementação do silício na embriogênese somática de palma de óleo (*Elaeis guineensis* Jacq) e sua repercussão no estabelecimento das mudas / Lavínia Barbosa Oliveira. – Viçosa, MG, 2022.

1 dissertação eletrônica (58 f.): il. (algumas color.).

Inclui apêndice.

Orientador: Sérgio Yoshimitsu Motoike.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa, Departamento de Agronomia, 2022.

Referências bibliográficas: f. 41-51.

DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2022.079>

Modo de acesso: World Wide Web.

1. Palmeira oleaginosa - Melhoramento genético.
2. Arecaceae. 3. Silicato. I. Motoike, Sérgio Yoshimitsu, 1967-.
II. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de
Agronomia. Programa de Pós-Graduação em Genética e
Melhoramento. III. Título.

CDD 22. ed. 633.8512


LAVÍNIA BARBOSA OLIVEIRA

**SUPLEMENTAÇÃO DO SILÍCIO NA EMBRIOGÊNESE SOMÁTICA DE PALMA
DE ÓLEO (*Elaeis guineensis* JACQ) E SUA REPERCUSSÃO NO
ESTABELECIMENTO DAS MUDAS**

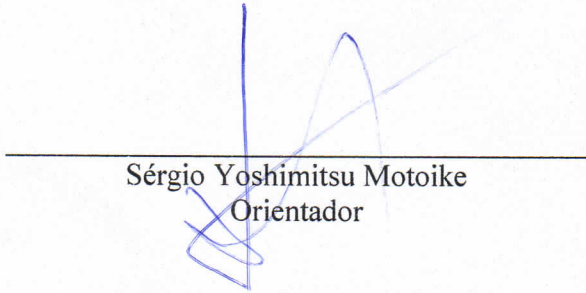
Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento, para a obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 02 de fevereiro de 2022.

Assentimento:



Lavínia Barbosa Oliveira
Autora



Sérgio Yoshimitsu Motoike
Orientador

A Deus e a minha família.

Dedico

AGRADECIMENTOS

A Deus por me guiar, amparar e amar de forma incondicional.

Aos meus pais Azenaldo Dionizio de Oliveira e Maria Eni Barbosa Oliveira e ao meu irmão Moisés Barbosa Oliveira pelo amor e incentivo, por acreditarem nos meus sonhos e encorajar-me a realiza-los. Aos meus familiares que mesmo distantes torceram e incentivaram essa conquista.

A Dimy Karter Oliveira Sales pelo amor, incentivo, compreensão e pela cumplicidade, sua presença mesmo que distante tornou esse processo mais leve.

Ao meu Orientador Sérgio Yoshimitsu Motoike pela confiança, pelo apoio, pelas palavras de motivação e ensinamentos.

Ao coorientador Sebastião Martins Filhos pelos ensinamentos e apoio.

Ao Prof. Edgard Augusto de Toledo Picoli pela disposição, apoio e ensinamentos.

A pesquisadora D. Sc. Kacilda Naomi Kuki pela disposição de ajudar e pelas valiosas sugestões.

Ao Guilherme Mendes de Almeida Carvalho por servir de inspiração, manter a parceria e pelas contribuições como membro da banca.

Ao Prof. Diego Ismael Rocha pelo incentivo, pelas considerações e apoio.

Ao profissional e amigo Alessandro de Paula Silva pelo incentivo, carinho e disposição para me ouvir.

Aos amigos de vida Camila, Cleidiane, Genivaldo, Franciele, Otniel e Raydson, pelo incentivo, apoio e por manter a amizade mesmo que distante.

Aos colegas do Laboratório de Cultura de Células e Tecidos Vegetais Elizete, Fernanda, Geís, João Carlos, Lucas, Silvia, Vanessa e Wassali pela companhia. Ao Técnico de Laboratório Francisco pela grande ajuda. A colaboradora Elaine Rocha pela amizade, ensinamentos, humildade e paciência, sem o seu auxílio, o sucesso não chegaria tão rápido.

Ao Laboratório de Biotecnologia Vegetal em especial a Técnica Andressa pela ajuda. E ao Laboratório de Anatomia Vegetal em nome da Elienai pelo suporte.

Ao GenMelhor por proporcionar propagação de conhecimento e network.

A Universidade Federal de Viçosa e ao Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento pela oportunidade de formação.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos e a AGROPALMA pelo apoio financeiro.

“Por vezes sentimos que aquilo que fazemos não é senão uma gota de água no mar.

Mas o mar seria menor se lhe faltasse uma gota.”

Madre Teresa de Calcutá

BIOGRAFIA

Lavínia Barbosa Oliveira, filha de Azenaldo Dionizio de Oliveira e Maria Eni Barbosa Oliveira. Irmã de Moisés Barbosa Oliveira. Nasceu no dia 28 de fevereiro de 1997, em Taiobeiras, Minas Gerais – Brasil. Ingressou em 2012 no curso Técnico em Informática concomitante ao Ensino Médio no Instituto Federal do Norte de Minas Gerais (IFNMG - *Campus Salinas*) e no ano de 2015 no curso de Engenharia Florestal onde graduou bacharela em Engenharia Florestal em 2020. No mesmo ano ingressou no Mestrado em Genética e Melhoramento na Universidade Federal de Viçosa (UFV), submetendo-se a defesa de dissertação em 02 de fevereiro de 2022.

RESUMO

OLIVEIRA, Lavínia Barbosa, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2022. **Suplementação do silício na embriogênese somática de palma de óleo (*Elaeis guineensis* Jacq), e sua repercussão no estabelecimento das mudas.** Orientador: Sérgio Yoshimitsu Motoike. Coorientador: Sebastião Martins Filho.

A palma de óleo ou palma africana (*Elaeis guineensis* Jacq), conhecida dentre as espécies oleaginosas mais produtivas do mundo, vem sendo cultivada há mais de um século nas regiões tropicais úmidas do globo. No Brasil, a dendecultura ocupa uma área aproximada de 232 mil hectares produzindo cerca de 500 mil toneladas/ano de óleo de palma, o mais consumido no mundo. Embora o cultivo da palma de óleo seja amplamente difundido, a multiplicação em larga escala de genótipos superiores representa um desafio. Em geral as mudas são obtidas por via seminífera e, mesmo que oriundas de genótipos melhorados apresentam alta heterozigose, resultando em desuniformidade de produção. Diante disso, o cultivo *in vitro* passa a ser ferramenta essencial para propagação massal de genótipos elites da espécie. No entanto, ainda existem lacunas a serem preenchidas para tornar os protocolos de micropropagação mais eficientes, como prescrições que assegurem a íntegra regeneração de embriões somáticos. O uso de silicatos em cultura de tecidos tem resultado em efeitos positivos no que tange os caracteres morfológicos, anatômicos e fisiológicos das plantas, contudo as respostas biológicas a este mineral são dose e genótipo-dependente. Assim o presente trabalho teve como objetivo avaliar a influência do silício suplementado em meio de regeneração e germinação do processo de embriogênese somática do genótipo elite AM37. O estudo foi realizado em três etapas do processo de clonagem: a) Regeneração e maturação dos embriões somáticos; b) Germinação dos embriões somáticos e obtenção de plântulas; e c) Aclimação *ex-situ* das plântulas. Nas duas primeiras etapas os meios de cultivo foram suplementados com quatro doses do silicato de cálcio (CaSiO_3) ($0,0 \text{ g L}^{-1}$, $0,5 \text{ g L}^{-1}$, $1,0 \text{ g L}^{-1}$ e $1,5 \text{ g L}^{-1}$). Na terceira etapa, as plantas resultantes das etapas anteriores foram transplantadas e acondicionadas em casa de vegetação. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado (DIC) composto de quatro tratamentos e n repetições por etapa e os dados foram submetidos à análise de regressão. No fim da primeira etapa o número médio de embriões formados foi quantificado tendo como dose ideal $0,63 \text{ g L}^{-1}$ de CaSiO_3 . Na segunda etapa o número de embriões germinados foi quantificado demonstrando decréscimo à medida

que se aumentou as doses de CaSiO_3 , mas não houve alteração nos caracteres morfométricos das plântulas. As diferentes doses de CaSiO_3 modificam a espessura da parede celular face abaxial e da epiderme face abaxial tendo como dose ideal respectivamente $0,91 \text{ g L}^{-1}$ e $0,47 \text{ g L}^{-1}$. O aumento das doses de CaSiO_3 causou redução na quantidade de cera epicuticular nos tecidos foliares, mas na etapa de aclimação as diferentes doses de CaSiO_3 não interferiram na taxa de sobrevivência das mudas bem como nos seus caracteres morfométricos. Assim, as mudas obtidas pelos diversos tratamentos apresentam a mesma qualidade. Diante da intenção de suplementação do meio com silicato de cálcio, indica-se utilizar concentrações entre $0,5$ e $1,0 \text{ g L}^{-1}$ sendo estas intermediárias para as variáveis com interferência positiva.

Palavras-chave: Melhoria. Arecaceae. Oleaginosa. Silicato.

ABSTRACT

OLIVEIRA, Lavínia Barbosa, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, February, 2022. **Suplementação do silício na embriogênese somática de palma de óleo (*Elaeis guineensis* Jacq), e sua repercussão no estabelecimento das mudas.** Adviser: Sérgio Yoshimitsu Motoike. Co-adviser: Sebastião Martins Filho.

The oil palm or African palm (*Elaeis guineenses* Jacq), known among the most productive oilseed species in the world, has been cultivated for over a century in the humid tropical regions of the globe. In Brazil, oil palm cultivation occupies an area of approximately 232 thousand hectares, producing about 500 thousand tons/year of palm oil, the most consumed oil in the world. Although oil palm cultivation is widely spread, large-scale multiplication of superior genotypes represents a challenge. In general the seedlings are obtained through seminiferous propagation, and even if they come from improved genotypes they present high heterozygosity, resulting in production inhomogeneity. Therefore, in vitro cultivation becomes an essential tool for mass propagation of elite genotypes of the species. However, there are still gaps to be filled in order to make micropropagation protocols more efficient, such as prescriptions that ensure the complete regeneration of somatic embryos. The use of silicate in tissue culture has resulted in positive effects on morphological, anatomical and physiological characters of the plants, but the biological responses to this mineral are dose and genotype-dependent. Thus the present work aimed to evaluate the influence of silicon supplemented in the medium of regeneration and germination of the process of somatic embryogenesis of the elite genotype AM37. The study was performed in three stages of the cloning process: a) Regeneration and maturation of somatic embryos; b) Germination of somatic embryos and obtaining seedlings; and c) Ex-situ acclimation of seedlings. In the first two stages, the culture media were supplemented with four doses of calcium silicate (CaSiO_3) (0.0 g L^{-1} , 0.5 g L^{-1} , 1.0 g L^{-1} and 1.5 g L^{-1}). In the third stage, the plants resulting from the previous stages were transplanted and conditioned in a greenhouse. The experiment was conducted in an entirely randomized design (DIC) composed of four treatments and n replicates per stage and the data were submitted to regression analysis. At the end of the first stage the average number of embryos formed was quantified with an ideal dose of 0.63 g L^{-1} of CaSiO_3 . In the second stage the number of germinated embryos was quantified showing a decrease as the dose of CaSiO_3 increased, but there was no change in the morphometric

characters of the seedlings. The different doses of CaSiO_3 modified the thickness of the abaxial cell wall and of the abaxial epidermis, with the ideal doses being 0.91 g L^{-1} and 0.47 g L^{-1} , respectively. The increase in the amount of CaSiO_3 caused a reduction in the amount of epicuticular wax in the leaf tissues, but in the stage of acclimation the different doses of CaSiO_3 did not interfere in the survival rate of the seedlings as well as in their morphometric characters. Thus, the seedlings obtained by the different treatments present the same quality. With the intention of supplementing the medium with calcium silicate, it is recommended to use concentrations between 0.5 and 1.0 g L^{-1} , which are intermediate for the variables with positive interference.

Keywords: Breeding. Arecaceae. Oleaginosa. Silicate.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1.** Regeneração/maturação de embriões somáticos. Da esquerda para a direita – Massas pró-embriogênicas inoculadas - Desenvolvimento dos embriões somáticos no 22º dia de incubação - Embriões somáticos formados no 45º dia. A-C: 0,0 g L⁻¹ Silicato de cálcio; D-F: 0,5 g L⁻¹ Silicato de cálcio; G-I: 1,0 g L⁻¹ Silicato de cálcio; J-L: 1,5 g L⁻¹ Silicato de cálcio. M: Estimativa do número médio de embriões somáticos de palma de óleo formados após 45 dias em meio de regeneração Y3 suplementados com as diferentes doses de Silicato de Cálcio.29
- Figura 2.** A-D: Início do processo de germinação. E-H: Embriões germinados. I: Estimativa do número médio de embriões germinados aos 20 dias de cultivo em meio C4 suplementado com diferentes doses de silicato de cálcio.30
- Figura 3.** A-D: Plântulas após 40 dias em meio C4 suplementado com diferentes doses de silicato de cálcio. E: Número médio de plântulas formadas no final da primeira repicagem. F: Número médio de plântulas formadas no final da segunda repicagem após 30 dias em meio M4 suplementado com diferentes doses de silicato de cálcio. (Gráficos com os respectivos intervalos de confiança a 95% de confiabilidade).31
- Figura 4.** A-D: Plântulas no início da segunda repicagem. E-H: Plântulas completas no final da etapa de germinação. I: Quantidade média de massa fresca em plântulas no final da etapa de germinação em meio M4 suplementado com diferentes doses de silicato de cálcio. J: Quantidade média de massa seca em plântulas no final da etapa de germinação em meio M4 suplementado com diferentes doses de silicato de cálcio. K: Comprimento total médio das plântulas no final da etapa de germinação em meio M4 suplementado com diferentes doses de silicato de cálcio. L: Índice de qualidade de Dickson. (Gráficos com os respectivos intervalos de confiança a 95% de confiabilidade).32
- Figura 5.** Cortes anatômicos transversais de folhas de dendê oriundos dos respectivos tratamentos – A: 0,0 g L⁻¹ Silicato de cálcio; B: 0,5 g L⁻¹ Silicato de cálcio; C: 1,0 g L⁻¹ Silicato de cálcio; D: 1,5 g L⁻¹ Silicato de cálcio. E: Espessura média da parede celular face abaxial e adaxial. F: Espessura média do mesofilo (Gráfico com os respectivos intervalos de confiança a 95% de confiabilidade). G: Espessura média da epiderme face adaxial (Gráfico com os respectivos intervalos de confiança a 95% de confiabilidade). H: Espessura média da epiderme face abaxial. I: Deposição de cera epicuticular em folhas de plântulas de dendê. ...34

Figura 6. A-D: Mudanças de palma de óleo no final do processo de aclimação. E: Quantidade média de massa fresca em mudas no final da etapa de aclimação. F: Quantidade média de massa seca em mudas no final da etapa de aclimação. G: Comprimento médio total das mudas no final da etapa de aclimação. H: Avaliação da qualidade das mudas pelo método de Dickson. (Gráficos com os respectivos intervalos de confiança a 95% de confiabilidade).36

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Formulação dos diferentes meios de cultivo <i>in vitro</i> utilizados nas etapas de regeneração e germinação de embriões somáticos do genótipo elite de dendê AM37.	25
Tabela 2. Componentes suplementados em meio nas respectivas etapas.....	25
Tabela 3. Tratamentos e suas respectivas doses de Silicato de Cálcio (CaSiO ₃).	26
Tabela 4. Taxa de sobrevivências das mudas.	35

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	15
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	16
2.1 Aspectos gerais de <i>Elaeis guineenses</i>	17
2.2 Usos e importância.....	18
2.3 O cultivo <i>in vitro</i> da palma de óleo.....	19
2.4 Silício: Importância e aplicação no cultivo <i>in vitro</i>	21
3. OBJETIVOS.....	22
4. MATERIAIS E MÉTODOS	23
4.1 Regeneração/maturação de embriões somáticos.....	23
4.2 Germinação de embriões somáticos e obtenção de plântulas	23
4.3 Aclimação	26
4.4 Microscopia de luz e análise micromorfológica	26
4.5 Quantificação de cera epicuticular.....	27
4.6 Delineamento e análise estatística	28
5. RESULTADOS	28
5.1 Regeneração/maturação de embriões somáticos.....	28
5.2 Germinação dos embriões somáticos e obtenção de plântulas	29
5.3 Microscopia de luz e análise micromorfológica.....	33
5.4 Quantificação de cera epicuticular.....	33
5.5 Avaliações após aclimação	35
6. DISCUSSÃO.....	36
6.1 Regeneração/maturação de embriões somáticos.....	36
6.2 Germinação de embriões somáticos e morfometria.....	37
6.3 Microscopia de luz e análises micromorfológicas.....	38
6.4 Deposição de cera epicuticular	39
6.5 Avaliações após aclimação	40
7. CONCLUSÕES.....	40
8. CONSIDERAÇÕES FINAIS	41
9. REFERÊNCIAS	41
10. APÊNDICE	51

1. INTRODUÇÃO

De origem africana, *Elaeis guineensis* (Jacq) é conhecida mundialmente como palma de óleo e localmente como dendê. Pertencente à família Arecaceae, esta palmeira arbórea e oleaginosa é cultivada em regiões tropicais úmidas da África, Ásia e América (MUKHERJEE e SOVACOOOL, 2014; JOUANNIC et al., 2011; VALOIS, 1997). A espécie caracteriza-se como uma das mais produtivas de óleo vegetal do mundo, podendo atingir cerca de 5 a 7 toneladas de óleo por hectare/ano (HANSEN et al., 2015; WAHID et al., 2005). Seu óleo é o mais demandado pelo mercado, sendo amplamente utilizado nos setores industriais de alimentos, fármacos e cosméticos além de ter potencial para produção de biocombustíveis (USDA, 2021; SANTANA, et al, 2013; MULLER, 1980).

Atualmente a produção mundial do óleo de palma é de 76,3 milhões de toneladas, oriundos principalmente de cultivos em países do Sudeste Asiático, África Equatorial e América Tropical (USDA, 2021). O Brasil ocupa a nona posição, produzindo 550 mil toneladas de óleo procedente dos plantios existentes no Norte amazônico e numa estreita faixa do litoral baiano. O estado do Pará - considerado o maior produtor nacional de óleo de Palma - apresenta área total plantada de cerca de 200.000 ha, onde são produzidos 3,2 milhões de toneladas de cacho de fruto fresco, gerando 82% do total de óleo produzido no país (SEDAP, 2021).

Dada à importância agroeconômica mundial da palmeira, programas de melhoramento genético para a espécie vêm ocorrendo há décadas. Entretanto, mesmo os genótipos melhorados podem apresentar limitada produção de sementes, baixa taxa de germinação e produção de plantas desuniformes, em parte devido à alta hererozigose manifestada pelos genitores que são plantas alógamas (JOUANNIC et al., 2011; MARTINE et al., 2009). Além disso, por ser uma espécie de crescimento monopodial, sem perfilhamento, a multiplicação vegetativa por meios convencionais torna-se impraticável (GOMES et al., 2015; BARCELOS et al., 2015; MONTOYA et al., 2014; CHANPRASERT et al., 2012; FERREIRA et al., 2012).

Diante desses desafios, o cultivo *in vitro* de materiais genéticos superiores é uma alternativa viável para produzir, em larga escala, clones de plantas com as mesmas características do material genético selecionado. Esta metodologia permite uniformidade, sanidade e elevada produtividade de mudas, num curto período de tempo e espaço se comparado a viveiros tradicionais (SOH et al., 2011; SCHERWINSKI-PEREIRA et al., 2007;

CARVALHO e ARAÚJO, 2007). Portanto, a embriogênese somática - células haplóides ou somáticas induzidas a passarem por estádios embriogênicos até a planta completa - é a técnica ideal para se obter clones de genótipos superiores de palma de óleo. As aplicações da metodologia com as palmeiras se dão de forma indireta, onde o explante passa pela fase intermediária de calo e posteriormente origina embriões somáticos (CORRÊA, 2016; OOI et al., 2013; PALANYANDY et al., 2013; CARVALHO, 2009; KONAN et al., 2006; GUERRA et al., 1999; REINERT, 1958).

A maturação é considerada uma etapa fundamental no desenvolvimento do embrião e para a subsequente germinação e desenvolvimento da plântula (QUEIROZ, 2017). O sucesso da produção massal de mudas, via embriogênese somática, decorre do número de embriões maduros e regenerados adequadamente, devendo esses apresentar boa qualidade morfológica, e acúmulo suficiente de reservas para germinar e nutrir as plantas em formação (VON ARNOLD et al., 2002).

Apesar dos numerosos estudos sobre embriogênese somática em palma de óleo a citar Balzon (2017), Queiroz (2017), Bartos (2016), Gomes et al., (2015), Corrêa (2015), Balzon (2013) entre outros, ainda existem várias lacunas que impedem o sucesso pleno deste tipo de propagação. Os estímulos exógenos para que ocorra a germinação adequada dos embriões somáticos e posterior desenvolvimento de plantas saudáveis são multifatoriais e incluem dosagens e tipos apropriados de: reguladores de crescimento, fonte de carboidrato, vitaminas e nutrientes minerais; o pH e a osmolaridade do meio.

Embora não essencial, o silício é um mineral apontado como capaz de estimular a embriogênese somática e condicionar o aumento na produção, crescimento e longevidade de calos (SIVANESAN e JEONG, 2014). Nos estágios iniciais de desenvolvimento, este elemento pode melhorar as características morfológicas, anatômicas e fisiológicas da plântula, aumentando sua tolerância a baixas temperaturas, salinidade e reduzindo a incidência de hiperhidricidade (SIVANESAN E PARK, 2014). Em estudos com cultivo *in vitro* de banana, por exemplo, o uso do silício estimulou um aumento no teor de clorofila, no ganho de biomassa e no comprimento dos brotos (ASMAR et al. 2011). Portanto, é possível que a suplementação de silício no meio de cultura possa ter um impacto positivo na embriogênese somática da palma de óleo, originando plântulas completas e mudas mais saudáveis.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Aspectos gerais de *Elaeis guineenses*

Popularmente conhecido como dendê, e mundialmente como palma de óleo, *Elaeis guineenses* é uma espécie diploide pertencente à classe das monocotiledôneas, ordem Arecales, família Areaceae e gênero *Elaeis*. De origem Africana, a espécie é comumente cultivada em regiões tropicais úmidas na África, Ásia e América (CORLEY e TINKER, 2016; BASIRON, 2007). No Brasil, a palmeira foi introduzida no século XVI, durante o período escravocrata, quando, numa estreita faixa do litoral baiano, originou os dendenzais subspontâneos, persistente nos dias atuais. Posteriormente, foi levado à região Amazônica, onde as exigências edafoclimáticas ao seu cultivo foram atendidas permitindo o estabelecimento da dendeicultura comercial (FURLAN et al., 2006; BASTOS et al., 2001; VALOIS, 1997; MULLER et al., 1992; CRONQUIST, 1981).

O dendezeiro com seu caule ereto e sem ramificações (estipe) pode atingir 20 m de altura. Seu sistema radicular é do tipo fasciculado, donde as raízes ativas são encontradas entre 20 e 60 cm próxima a planta. Suas folhas são pinadas, medindo de 5 a 7 m, composta de pecíolo e ráquis central que suporta os folíolos. É uma espécie alógama, de característica monoica, tendo formação da inflorescência masculina e feminina na mesma planta. As inflorescências são espádices compostas por espigas protegidas por brácteas fibrosas, denominadas espatas. Polinizada principalmente por organismos entomófilos tais como *Elaeidobius kamerunicus*, *Elaeidobius subvittatus* (espécies africanas) e por *Mystrops costaricensis* espécie americana. (CORLEY e TINKER, 2016; GONÇALVES, 2001; GENTY et al., 1986; FERWERDA, 1975).

Os cachos frutíferos, que atingem a maturidade a 5-6 meses a partir da polinização, pesam ~ 20 kg, e contém em média 1500 frutos do tipo drupa séssil. Os frutos oblongos têm 2 a 5 cm de comprimento e 3 a 30 g de peso. Eles são classificados em três tipos: dura, tenera e pisífera que apresentam como principal característica comercial a espessura do endocarpo. Os frutos dura e pisífera são de origem homocigótica e o tenera é heterocigótico, obtido por meio do cruzamento de uma planta dura (progênie feminina) com uma planta pisífera (progênie masculina). O tenera além de ser um bom produtor de inflorescência feminina, apresenta alta produtividade anual, chegando a produzir 10-12 cachos, o que lhe torna o mais recomendando aos plantios comerciais (CORLEY e TINKER, 2016; GOMES JUNIOR et al., 2010; BARCELOS, 2000).

A principal forma de propagação da palma de óleo ocorre de forma sexuada, por sementes. Além de ser um processo lento, a germinação das sementes resulta em progênies

altamente heterogêneas e plantios desuniformes, em virtude da elevada heterozigose apresentada pelos genitores, mesmo que estes sejam plantas-elites (LORENZI et al. 2016; VIÉGAS e MÜLLER, 2010; CARVALHO, 2009; BARCELOS, et al., 2000). Tais fatores abriram oportunidade para o uso de técnicas mais eficazes para produção de mudas de qualidade, como a propagação *in vitro*. Neste processo de clonagem, o material genético selecionado pode ser propagado em larga escala e curto período de tempo, retendo as características genéticas desejáveis que condicionará populações uniformes com produtividade contínua no decorrer do ano (CORRÊA et al., 2015; KHAW, NG e DREW, 1998).

2.2 Usos e importância

O principal produto extraído do dendê é o óleo, sua produtividade pode chegar de 5 a 7 toneladas/ hectare/ano, o que a classifica como a oleaginosa de maior produtividade no planeta (SEDAP, 2020; HANSEN et al., 2015; WAHID et al., 2005). Seu ciclo econômico produtivo inicia-se aos três anos, atinge a plenitude de produção aos oito e estendendo-se até os 25 anos, produzindo o ano todo sem problemas de safras estacionais. O óleo pode ser extraído da polpa (Azeite de Dendê) e da amêndoa (Azeite de Palmiste), tendo ambos um amplo uso comercial, incluindo alimentício, industrial e medicinal (FEROLDI, 2014; SANTANA, et al, 2013; MULLER, 1980). Além de ter potencial para produção de biocombustíveis, sendo opção para substituição parcial do diesel de petróleo. Sua densidade energética possibilita explorá-lo como energia alternativa e renovável. Os resíduos resultantes do processamento dos frutos podem ser utilizados como fonte de energia térmica ou elétrica para a própria unidade industrial ou para uso em comunidades rurais. Os demais subprodutos, como os cachos vazios podem servir de adubo orgânico rico em potássio para lavouras de subsistência (BRAZILIO, 2018; MATOS, 2009; SLUSZZ e MACHADO, 2006).

A demanda crescente do mercado mundial por óleos vegetais, e em especial da palma de óleo, exerce uma grande pressão para se elevar a produção desta cultura. A expansão das áreas produtivas agrega tanto a mudança do uso da terra, como a substituição de formações vegetacionais nativas por pomares da palmeira, trazendo impactos sócios-ambientais negativos (SOUSA, et al., 2020), portanto, indesejável. Uma das melhores estratégias para incrementar a produção de óleo de dendê é justamente a seleção e cultivo de plantas-elites. Neste contexto de urgência mercadológica e necessidade de práticas agrícolas mais sustentáveis, a cultura de tecidos pode garantir, num curto espaço de tempo, o estabelecimento de dendezaís eficientemente produtivos.

2.3 O cultivo *in vitro* da palma de óleo

Embora a palma de óleo seja cultivada em várias partes do mundo, ainda existem dificuldades em multiplicar genótipos superiores por meio de sementes. Por ser uma espécie alógama, os plantios seminais são heterogêneos, o que impossibilita a uniformidade da produção e a perpetuação de características selecionadas de indivíduos de alto valor genético, em ciclos de seleção precoce nos programas de melhoramento (JOUANNIC et al., 2011; SCHERWINSKI-PEREIRA et al., 2007; JUAN et al., 1989).

O cultivo *in vitro* de clones elite da espécie é uma alternativa para tal premissa, por possibilitar cultivar clones das mais diversas condições ambientais, tolerantes a pragas e doenças, bem como otimizar tempo e espaço nos programas de melhoramento. Além disso, permite a regeneração em larga escala de plantas geneticamente idênticas a matriz sem destruí-la garantindo uniformidade e produtividade aos plantios (NEVES, 2018; SOH et al., 2011; BAJAJ, 1995). Nessa técnica de propagação assexuada, cultivam-se células, tecidos ou órgãos vegetais, denominados de explante, em meio nutritivo com assepsia, luminosidade e temperatura controladas. A regeneração *in vitro* é firmada na totipotência, que consiste na potencialidade que as células vegetais possuem em multiplicar e organizar-se em tecidos e em seguida plantas completas (ANDRADE et al., 2002; TORRES et al., 2000).

Dentre as técnicas de propagação *in vitro*, a embriogênese somática tem sido o principal método utilizado. Neste, células somáticas condicionadas a diferentes estágios embrionários se multiplicam e desenvolvem embriões somáticos que, semelhantemente aos embriões zigóticos, apresentam estrutura bipolar, sistema vascular fechado, sem conexão com os tecidos adjacentes e regeneram-se constituindo plantas completas (GUERRA, et al., 1999; DODEMAN et al., 1997). A indução da embriogênese somática pode ser feita de forma direta quando o embrião somático provém do explante ou indireta quando é formado por calos, após um longo período de diferenciação (CARVALHO et al., 2006 ; FEHÉR et al., 2003; ANDRADE et al., 2002). A forma indireta da embriogênese somática tem sido a mais descrita nos protocolos de propagação clonal da palma de óleo (QUEIROZ, 2017; CORRÊA, 2015; OOI et al., 2013; PALANYANDY et al., 2013; CARVALHO, 2009).

O processo de indução da embriogênese relaciona-se com alterações no padrão de expressão gênica dos explantes, com reprogramação das células que estão envolvidas no processo embriogênico, bem como é influenciado pela fonte de explante, meio de cultivo, concentrações dos reguladores de crescimento e pelo genótipo (ELMEER, 2013; VIÑAS e JIMÉNEZ, 2001; MERKLE et al., 1995). Os meios mais utilizados nos protocolos de

embriogênese da palma de óleo são MS (MURASHIGE e SKOOG, 1962) e Y3 (EEUWENS, 1978) suplementados com reguladores de crescimento, os quais exercem sua ação por reconhecimento de receptores específicos, presentes em células responsivas, que traduzem os sinais hormonais em eventos bioquímicos e fisiológicos na planta (FEHÉR et al., 2003; JIMÉNEZ, 2001).

Os principais reguladores envolvidos na divisão celular e diferenciação de tecidos e atualmente empregados em embriogênese somática são as auxinas e citocininas. O uso das auxinas se destaca nos processo de embriogênese da espécie, os principais responsáveis pelo crescimento celular mais utilizados são: o ácido naftalenoacético (ANA), o 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D) e o ácido 4-amino-3,5,6-tricloro-picolínico (Picloram) (QUEIROZ, 2017; BARTOS, 2016; CUEVA-AGILA et al., 2016; CORRÊA, 2015; GUEYE et al., 2009; CARVALHO, 2009; PANDOLFINI et al., 2007; SALDANHA et al., 2006; EKE et al., 2005; LEDO et al., 2002).

Os fatores genéticos são primordiais na determinação do nível de resposta *in vitro*. Lejajak-Levanic et al., (2015) explica que indivíduos de uma mesma espécie podem apresentar respostas significativamente diferentes mesmo quando cultivados em condições iguais, pois diferentes genótipos apresentam diferentes potenciais de adsorção e metabolização dos compostos do meio nutritivo. Jiménez (2005) ressalta que as diferenças genotípicas observadas também estão associadas às variações no conteúdo de hormônios endógenos presentes nos diferentes genótipos, promovendo, assim, respostas morfogênicas distintas. Os principais estudos relacionando a influência do genótipo na capacidade embriogênica de espécies da família Arecaeae são aqueles pertinentes à palma de óleo, trabalhos como os de Corrêa, (2015), Sané et al., (2012), Silva et al., (2012), Paim Pinto et al., (2011), Sanputawong e Te-chato, (2011), Thawaro e Te-chato, (2009) e Henry et al., (1994).

Induzida a embriogênese com auxílio dos reguladores de crescimento, os calos primários e embriogênicos são transferidos para a fase de multiplicação. Nesta, os níveis dos reguladores são reduzidos proporcionando a diferenciação dos embriões somáticos por meio de estímulos fisiológicos, bioquímicos e ambientais que interrompem os ciclos repetitivos de divisão celular da fase anterior (SILVA et al., 2012; TOUCHET et al., 1991). À semelhança da etapa anterior, essa diferenciação é influenciada principalmente pelas concentrações dos reguladores de crescimento e pelo genótipo da espécie (MARBUN, 2015; TARMIZI et al., 2008).

Embriões diferenciados são usualmente maturados/regenerados em meios de cultura livres de reguladores de crescimento. Essa fase é considerada fundamental para o

desenvolvimento do embrião e para a subsequente germinação e desenvolvimento da plântula. Diante das inúmeras tentativas de desenvolver protocolos de embriogênese para a palma de óleo, nota-se uma demanda de esforços para aperfeiçoar as fases finais dos protocolos, principalmente na fase de maturação, devido à baixa taxa de germinação e conversão desses embriões em plantas completas (GOMES et al., 2016; GOMES et al., 2015; CHANDRA et al., 2010). Finalizadas essas etapas, a planta formada sai do ambiente asséptico para o ambiente externo, normalmente casa de vegetação onde passa por adaptação gradativa, para crescer e se desenvolver (QUEIROZ, 2017; ARA et al., 2000).

2.4 Silício: Importância e aplicação no cultivo *in vitro*

O silício (Si) é o segundo mineral mais abundante no solo e na crosta terrestre, atrás apenas do oxigênio. Não é considerado essencial por não fazer parte de reações necessárias para a sobrevivência da planta, não ser um elemento insubstituível nem condicionar efeito direto no seu crescimento e desenvolvimento. Apesar disso, várias plantas o acumulam (CARVALHO et al., 2013; EPSTEIN, 1999).

Os monômeros de silício (H_4SiO_4) absorvidos pelas plantas acumulam-se no retículo endoplasmático, nas paredes celulares e nos espaços intercelulares, como sílica amorfa hidratada ($SiO_2.nH_2O$) (TAIZ, et al., 2017). A dupla camada cutícula-sílica formada na parede celular funciona como barreira protetora acarretando a diminuição da perda de água da planta pela evapotranspiração. Proporciona endurecimento da parede celular dificultando o ataque de insetos, fungos e bactérias. Aumento na rigidez das folhas, das bainhas foliares e do colmo tornando-os mais ereto melhorando assim a arquitetura das plantas o que permite redução do sombreamento, e conseqüentemente maior absorção de luz e maior taxa fotossintética. (RODRIGUES; FIDÉLIS; TAVARES, 2017; FREITAS et al., 2011; BRAGA et al., 2009; CHIBA et al., 2009; LIANG et al., 2007; DATNOFF et al., 2007; EPSTEIN, 2001).

No cultivo *in vitro*, o sucesso no desenvolvimento dos explantes está diretamente ligado à composição dos meios de cultura, sendo que os nutrientes inorgânicos são necessários por favorecer o crescimento e a morfogênese de células, tecidos e órgãos dos explantes. O Si pode proporcionar tais contribuições às plantas cultivadas *in vitro*, a depender da espécie, do genótipo e da concentração utilizada para suplementar o meio (ABO e REDA, 2014; REED et al., 2013; MALAVOLTA, 1980).

A adição do Si no meio de cultivo *in vitro* pode estimular a organogênese, a embriogênese somática e condiciona o aumento na produção, crescimento e longevidade de calos, a regeneração do caule e a indução de raízes (SIVANESAN e JEONG, 2014). Ainda,

melhora as características morfológicas, anatômicas e fisiológicas da plântula, aumenta a tolerância a baixas temperaturas, salinidade e reduz a incidência de hiperhidricidade (SIVANESAN E PARK, 2014).

Abo e Reda, (2014) avaliaram a ação de diferentes fontes de Si na embriogênese somática e regeneração de tamareira (*Phoenix dactylifera* L.). Eles observaram que a presença do mineral condicionou maior formação de calos e de embriões somáticos, aumento no peso fresco e seco dos embriões bem como redução das taxas de oxidações e dos níveis de hiperhidricidade. Além disso, proporcionou maior percentual de embriões germinados. Máthé et al (2012) ao estudar os efeitos do Si no crescimento e desenvolvimento de calos embriogênicos de junco (*Phragmites australis* (Cav.)), observaram que os Si condicionou a formação de calos e favoreceu o desenvolvimento das raízes.

Estudos avaliando a suplementação de silício em meios de cultivo da palma de óleo são ausentes na literatura. Diante do seu potencial benéfico na cultura de tecidos, sua aplicação em protocolos de cultivo dessa espécie pode estimular o aumento do número de embriões formados e germinados, no percentual de plântulas formadas, bem como a melhor formação de suas estruturas primordiais.

3. OBJETIVOS

Diante do exposto o presente trabalho teve como objetivo estudar a influência do silício suplementado em meio de cultivo nas fases de regeneração, germinação de embriões somáticos do genótipo elite AM37 de *Elaeis guineenses* e sua repercussão no estabelecimento das mudas em casa de vegetação.

Para tanto, foi estimado os efeitos da suplementação do silício na embriogênese somática do dendê por meio da:

Quantificação dos embriões somáticos formados após a etapa de regeneração;

Quantificação dos embriões germinados e do número de plântulas obtidas.

Avaliação de características biométricas, da qualidade das plântulas, da deposição de cera epicuticular nas folhas das plântulas originadas e da micromorfometria.

Avaliação biométrica da taxa de sobrevivência e índice de qualidade das mudas após transplante e estabelecimento em casa de vegetação.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Cultura de Células e Tecidos Vegetais do setor de Fruticultura, Departamento de Agronomia da Universidade Federal de Viçosa (UFV), Minas Gerais, Brasil. Para execução do experimento foram utilizados como explantes os calos embriogênicos mantidos em meio de multiplicação segundo técnica adaptada de Corrêa et al. (2015). Os calos embriogênicos são oriundos de folíolos imaturos do genótipo elite AM37, selecionado pelo programa de melhoramento genético de palma de óleo do convênio DAA/UFV - Agropalma S.A., localizada no Estado do Pará/ Brasil.

O estudo focou especificamente em três etapas sequenciais do processo de clonagem: a) Regeneração/maturação dos embriões somáticos; b) Germinação dos embriões somáticos e obtenção de plântulas; e c) Aclimação das mudas em casa de vegetação. Os diferentes meios de cultivo utilizados foram igualmente autoclavados por 20 min a 121 °C a 1,5 atm e vertidos nos recipientes adequados. A sala de cultivo/crescimento foi mantida a $28 \pm 1^\circ\text{C}$ e a oferta de luz variou de acordo com a etapa.

4.1 Regeneração/maturação de embriões somáticos

Os calos embriogênicos pré-estabelecidos foram transferidos para o meio de regeneração/ maturação. O meio básico era composto por sais e vitaminas Y3 (Tabela 1), suplementado com os componentes da Tabela 2. Nesse foi acrescido quatro doses diferentes de Silicato de cálcio (CaSiO_3) compondo quatro tratamentos (Tabela 3) com 6 repetições de cada um. O meio foi disposto em placas de Petri de poliestireno com 90 x 15 mm de dimensão. Em cada placa foi vertido 30 ml do meio supracitado. Foram transferidas para cada placa três massas pro-embriogênicas de $\sim 2\text{mm}^3$, após inoculação, essas foram incubadas na ausência de luz em sala de cultivo por 45 dias. Finalizado este período, foi quantificado o número de embriões somáticos formados em cada tratamento tendo como critério embriões que apresentavam estruturas granulares translúcidas como proposto por Carvalho (2009).

4.2 Germinação de embriões somáticos e obtenção de plântulas

Os embriões somáticos obtidos na etapa anterior compuseram um teste de germinação em que os mesmos foram transferidos para meio de germinação composto por sais e vitaminas do meio C4 desenvolvido no Laboratório de Cultura de Células e Tecidos Vegetais da UFV (Tabela 1), suplementado com os componentes da tabela 2. Nesse foi acrescido

quatro doses diferentes de Silicato de cálcio (CaSiO_3) compondo quatro tratamentos (Tabela 3) com 7 repetições de cada um. O meio foi disposto em frascos de vidro de 300 ml, em cada um foi vertido 40 ml de meio supracitado. Foram transferidos para cada frasco 9 embriões. Após a inoculação dos embriões, os frascos foram mantidos em sala de crescimento com fotoperíodo de 16 horas/dia e irradiância de $\pm 30 \mu\text{mol} (\text{m}^2)^{-1} \cdot \text{S}^{-1}$ provida por lâmpadas tubulares de LED (18 W, Arapeva Iluminação LED) por 20 dias. Finalizado este período, o número de embriões germinados – determinado pelo alongamento do primórdio foliar - foi quantificado e o material foi submetido ao primeiro ciclo de repicagem para obtenção de plântulas inteiras.

Repicagem 1

Os embriões germinados foram repicados para meio de germinação composto por sais e vitaminas do meio C4 desenvolvido no Laboratório de Cultura de Células e Tecidos Vegetais da UFV (Tabela 1), suplementado com os componentes da Tabela 2. Nesse foi acrescido quatro doses diferentes de Silicato de cálcio (CaSiO_3) compondo quatro tratamentos (Tabela 3) com 7 repetições de cada um. O meio foi disposto em frascos de vidro de 300 ml, em cada um foi vertido 40 ml de meio básico supracitado. Foram transferidas para cada frasco em média 14 embriões. Após a inoculação dos embriões os frascos foram mantidos em sala de crescimento com fotoperíodo de 16 h dia⁻¹ e irradiância de $\pm 30 \mu\text{mol} (\text{m}^2)^{-1} \cdot \text{S}^{-1}$ provida por lâmpadas tubulares de LED (18 W, Arapeva Iluminação LED) por 40 dias. Finalizado este período o número de plântulas obtidas – com parte aérea contendo ao menos uma folha completa e primórdio radicular - foi quantificado e o material passou pelo segundo ciclo de repicagem.

Repicagem 2

As plântulas obtidas anteriormente foram repicadas para meio de germinação composto por sais e vitaminas do meio M4 (modificação do meio Y3 desenvolvido no Laboratório de Cultura de Células e Tecidos Vegetais da UFV) (Tabela 1), suplementado com os componentes da tabela 2. Nesse foi acrescido quatro doses diferentes de Silicato de cálcio (CaSiO_3) compondo quatro tratamentos (Tabela 3). O meio foi disposto em tubos de ensaio (25x150 mm), em cada um foi vertido 10 ml de meio supracitado. Em cada tubo foi adicionado uma plântula. Após a inoculação, os tubos foram mantidos em sala de crescimento com fotoperíodo de 16 horas/dia e irradiância de $\pm 30 \mu\text{mol} (\text{m}^2)^{-1} \cdot \text{S}^{-1}$ provida por lâmpadas tubulares de LED (18 W, Arapeva Iluminação LED) por 30 dias.

Findado este período foi avaliado o número de plântulas desenvolvidas em cada tratamento. Uma parte das plântulas foi destinada às avaliações de (a) comprimento total (cm), da parte aérea (cm) e do sistema radicular (cm) mensurados com auxílio de uma régua; (b) diâmetro do coleto (mm) com o auxílio de um paquímetro digital; (c) Massa fresca (g) e massa seca (g) - após secagem por 72 h em estufa a 65 °C - em balança de precisão; (d) índice de qualidade das plântulas avaliado seguindo metodologia de Dickson, (1960) (Equação 1).

$$\text{Equação 1. IQD} = \frac{\text{MST(g)}}{\frac{\text{H(cm)}}{\text{D(mm)}} + \frac{\text{MSPA(g)}}{\text{MSR(g)}}}$$

Em que: MST- Matéria seca total (g), H-Altura da parte aérea (cm), D- Diâmetro do coleto (mm), MSPA- Matéria seca da parte aérea (g) e MSR- Massa seca da raiz (g).

Tabela 1. Formulação dos diferentes meios de cultivo *in vitro* utilizados nas etapas de regeneração e germinação de embriões somáticos do genótipo elite de dendê AM37.

Componentes	Meios de cultivo <i>in vitro</i> (concentrações mg L ⁻¹)		
	Y3	C4	M4
Macronutrientes			
KNO ₃	2020	2581	2020
NH ₄ CL	535	-	-
NaH ₂ PO ₄ .2H ₂ O	312	713	312
CaCl ₂ .2H ₂ O	294	-	-
KCl	1492	786	1492
MgCl ₂ .6H ₂ O	247	1275	247
MgSO ₄ .7H ₂ O	-	387	-
NH ₄ NO ₃	-	1021	800
CaNO ₃ .4H ₂ O	-	-	472
Micronutrientes			
Fe ₂ SO ₄ .7H ₂ O	13,9	24,3	24,3
Na ₂ EDTA	37,2	33,5	33,5
MnSO ₄ .4H ₂ O	11,2	2,3	11,2
KI	8,3	1,7	8,3
ZnSO ₄ .7H ₂ O	7,2	2,8	7,2
H ₃ BO ₃	3,1	5,0	3,1
CoCl ₂ .6H ₂ O	0,24	0,24	0,24
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0,24	0,24	0,24
CuSO ₄ .5H ₂ O	0,25	1,2	0,25
NiCl ₂ .6H ₂ O	0,024	0,24	0,024
Vitaminas			
Ácido Nicotínico	100	100	100
Piridoxina	100	100	100
Tiamina	100	1000	100

Tabela 2. Componentes suplementados em meio nas respectivas etapas.

Componentes	Maturação	Germinação		
		Início	Repicagem 1	Repicagem 2
Sacarose (g L ⁻¹)	30	30	30	30
Asparagina (mg L ⁻¹)	100	169	169	10

Arginina (mg L ⁻¹)	100	139	139	574
Myo-inositol (mg L ⁻¹)	100	300	200	566
Glutamina (mg L ⁻¹)	100	186	186	685
Caseína (mg L ⁻¹)	1	-	-	-
Prolina (mg L ⁻¹)	-	294	294	100
Metionina (mg L ⁻¹)	-	169	-	100
Carvão ativado (g L ⁻¹)	3	-	-	-
Phytigel (g L ⁻¹)	2,5	2,5	2,5	2,5
Putrecina µM	1000	1000	1000	1000
ANA µM	-	0,54	0,54	0,54
Ph	5,7 ± 0,1	5,7 ± 0,1	5,7 ± 0,1	5,7 ± 0,1

Tabela 3. Tratamentos e suas respectivas doses de Silicato de Cálcio (CaSiO₃).

Tratamentos	Dose CaSiO ₃ (g L ⁻¹)
T0	0,0
T1	0,5
T2	1,0
T3	1,5

4.3 Aclimação

Plântulas de dendê obtidas após o fim da repicagem 2 na etapa 3.2, independentemente do tratamento imposto, foram transferidas para tubetes (180 cm³) com substrato constituído por 50% de casca de coco e 50% de areia. Elas foram mantidas em casa de vegetação coberta com manta termo-refletores (Aluminet®) com 50% de restrição de luz, temperatura controlada variando entre 30 a 35°C e humidade de 90%. Após o trigésimo dia de transplante, foi fornecido semanalmente a cada muda 10 mL de solução nutritiva composta por 0,5g L⁻¹ de cloreto de potássio, 0,3g L⁻¹ de sulfato de magnésio e 0,3g L⁻¹ uréia.

Após 120 dias de aclimação, foi avaliado (a) o número de plantas sobreviventes, (a) comprimento total (cm), da parte aérea (cm) e do sistema radicular (cm) mensurados com auxílio de uma régua; (b) diâmetro do coleto (mm) com o auxílio de um paquímetro digital; (c) Massa fresca (g) e massa seca (d) - após secagem por 72 h em estufa a 65 °C - em balança de precisão; (e) a qualidade da muda através do índice de Dickson (Equação 1).

4.4 Microscopia de luz e análise micromorfológica

Após 120 dias em etapa de germinação foi realizado, no Laboratório de Anatomia Vegetal do Departamento de Biologia Vegetal da UFV, o estudo anatômico de folhas das plântulas de dendê.

Para o estudo histológico, foram coletados fragmentos foliares da parte central de três plântulas de dendê por tratamento. As amostras foram fixadas em FAA (formaldeído, ácido acético, etanol 50%, 1:1:18, volume:volume) por 48 h, e posteriormente foram desidratadas

em série etanólica e incluídas em 2-hidroxietil-metacrilato (Historesin, Leica, Heidelberg, Alemanha). As secções transversais (5µm de espessura) foram obtidas em micrótomo rotativo de avanço automático (RM2155, Leica Microsystems Inc., Deerfield, EUA), coradas com azul de toluidina 0,05% pH 4,4 (O'BRIEN et al., 1964) e montadas com resina sintética (Permount, Fisher Scientific, Pittsburgh, EUA).

As imagens das análises histológicas foram obtidas em câmera fotográfica digital (AxioCam HRc, Zeiss, Göttinger, Alemanha) e microcomputador com o programa de captura de imagens Axion Vision acoplados a um microscópio deluz (AX-70 TRF, Olympus Optical, Tokyo, Japão). Para a análise micromorfométrica, seis imagens foram obtidas por tratamento, nas quais foi medida a espessura da parede celular (face adaxial + face abaxial), espessura do mesofilo, espessura da epiderme face adaxial e abaxial. Dez medidas de cada parâmetro por imagem foram tomadas utilizando o software Image J, totalizando 960 medições.

4.5 Quantificação de cera epicuticular

Após 120 dias em etapa de germinação, plântulas oriundas da repicagem 2 foram submetidas a metodologia de quantificação de cera epicuticular adaptado de Viana, et al. (2010). As folhas principais de 12 plântulas correspondentes a cada um dos quatro tratamentos foram cortadas a altura do pecíolo e digitalizadas em impressora multifuncional HP DeskJet Ink Advantage série 5520 e as imagens foram utilizadas para obtenção da área foliar em medidor de área foliar implementado pelo software Windias 2.0.

No Laboratório de Biotecnologia e Melhoramento Vegetal do Departamento de Agronomia da UFV, as folhas foram distribuídas em amostras compostas por três unidades compondo 4 repetições por tratamento. As amostras foram introduzidas separadamente por repetição em béquer de 100 ml contendo 30 ml de clorofórmio por 30 s, agitando-se levemente. As soluções obtidas (cera mais clorofórmio) foram filtradas em papel filtro e transferidas para béquer de 50 ml onde foram evaporados em chapa aquecedora a 80 °C até atingir volume de 10 ml. Em seguida este volume da solução foi transferido para tubo de ensaio de 25 ml com peso conhecido (determinado em balança de precisão com 4 casas decimais). Em banho maria a 85°C o restante do clorofórmio foi evaporado até restar apenas o resíduo sólido (cera). A quantidade de cera foi expressa pela quantidade de cera por unidade de área foliar ($\mu\text{g cm}^{-2}$).

4.6 Delineamento e análise estatística

Em todas as etapas, o experimento foi conduzido em um delineamento inteiramente casualizado (DIC) com quatro tratamentos e n repetições, totalizando m unidades experimentais, a depender da quantidade de material disponível para cada etapa. Os dados que apresentaram comportamento quadrático tiveram a dose ideal determinada pela primeira derivada da função ajustada. Todos os dados coletados foram avaliados com o auxílio do software R (R Development Core Team, 2021) por meio da análise de regressão.

5. RESULTADOS

5.1 Regeneração/maturação de embriões somáticos

As massas pró-embriogênicas oriundas de meio de multiplicação, após 45 dias em meio de regeneração/maturação se transformaram em embriões somáticos. A quantidade de embriões somáticos obtidos variou em função da dose de Silicato de Cálcio utilizada. Observou-se um efeito quadrático das doses utilizadas sobre o número de embriões somáticos formados. Pela equação ajustada a dose que proporcionou maior formação de embriões somáticos foi de $0,63 \text{ g L}^{-1}$ de CaSiO_3 , proporcionando a formação média de 138 embriões somáticos por massas pró-embriogênicas de $\sim 2\text{mm}^3$ (Figura 1-M).

Os embriões somáticos formados nos tratamentos com $0,0 \text{ g L}^{-1}$ (Figura 1-C) e $0,5 \text{ g L}^{-1}$ Silicato de cálcio (Figura 1-F) apresentaram coloração translúcida. Aderidos uns aos outros, visualmente estavam bem desenvolvidos e robustos com extremidade pontiaguda bem definida. Já os embriões formados nos tratamentos com $1,0 \text{ g L}^{-1}$ (Figura 1-I) e $1,5 \text{ g L}^{-1}$ Silicato de cálcio (Figura 1-L) apresentavam tecidos com coloração amarelada e embriões ainda com estrutura globular. Nesses houve também a formação de estruturas globulares maiores com aspecto esponjoso onde não houve a diferenciação em embriões somáticos como pode ser observado na Figura 1-I.

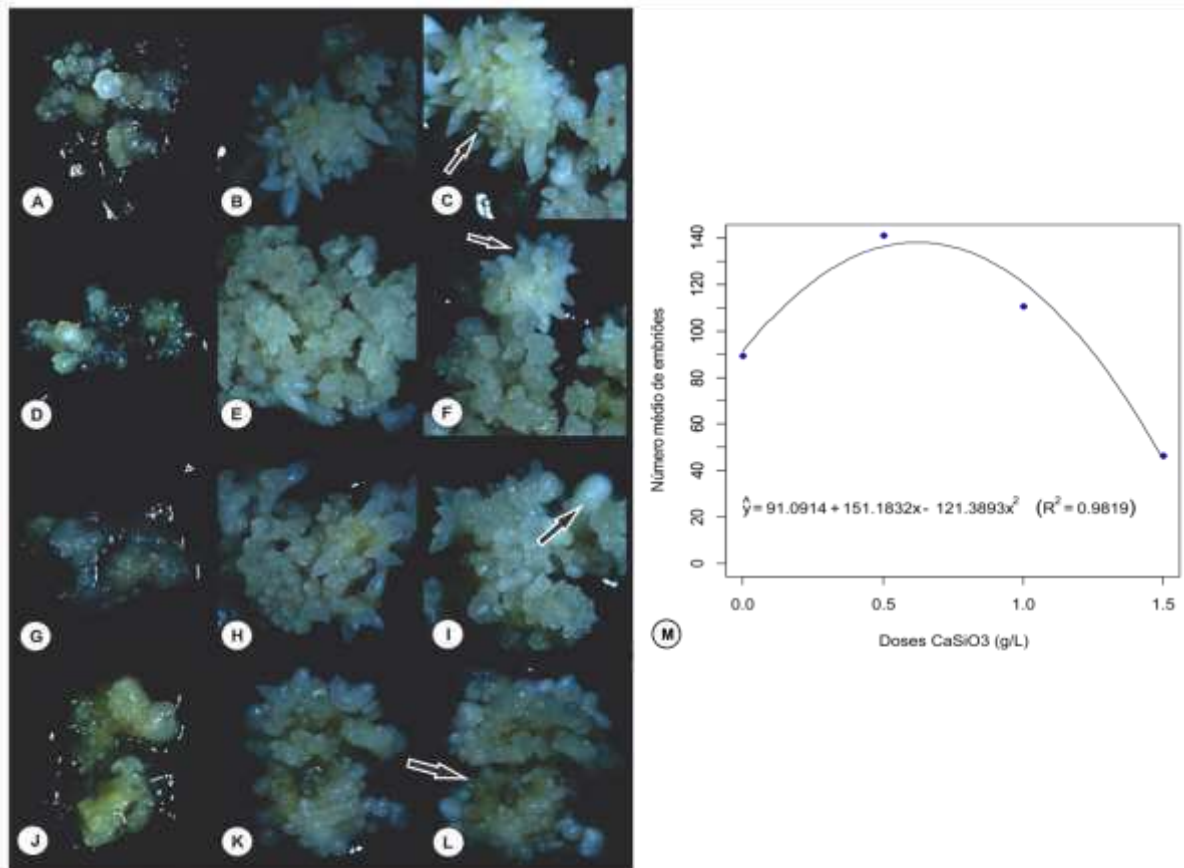


Figura 1. Regeneração/maturação de embriões somáticos. Da esquerda para a direita – Massas pró-embriogênicas inoculadas - Desenvolvimento dos embriões somáticos no 22º dia de incubação - Embriões somáticos formados no 45º dia. A-C: 0,0 g L⁻¹ Silicato de cálcio; D-F: 0,5 g L⁻¹ Silicato de cálcio; G-I: 1,0 g L⁻¹ Silicato de cálcio; J-L: 1,5 g L⁻¹ Silicato de cálcio. M: Estimativa do número médio de embriões somáticos de palma de óleo formados após 45 dias em meio de regeneração Y3 suplementados com as diferentes doses de Silicato de Cálcio.

5.2 Germinação dos embriões somáticos e obtenção de plântulas

O processo de germinação iniciou-se aos 7 dias de cultivo com o alongamento dos embriões (Figura 2 A-D). Aos 20 dias de cultivo os embriões germinados foram quantificados e em seguida submetidos ao processo de primeira repicagem (Figura 2 E-H). O número de embriões germinados variou em função da dose de silicato de cálcio. Observou-se um efeito linear das concentrações sobre o número de embriões germinados (Figura 2-I). O número de embriões germinados diminuiu com o aumento das doses de silicato de cálcio. Pela equação ajustada é possível notar que o maior número de embriões germinados se deu no meio sem o silicato de cálcio.

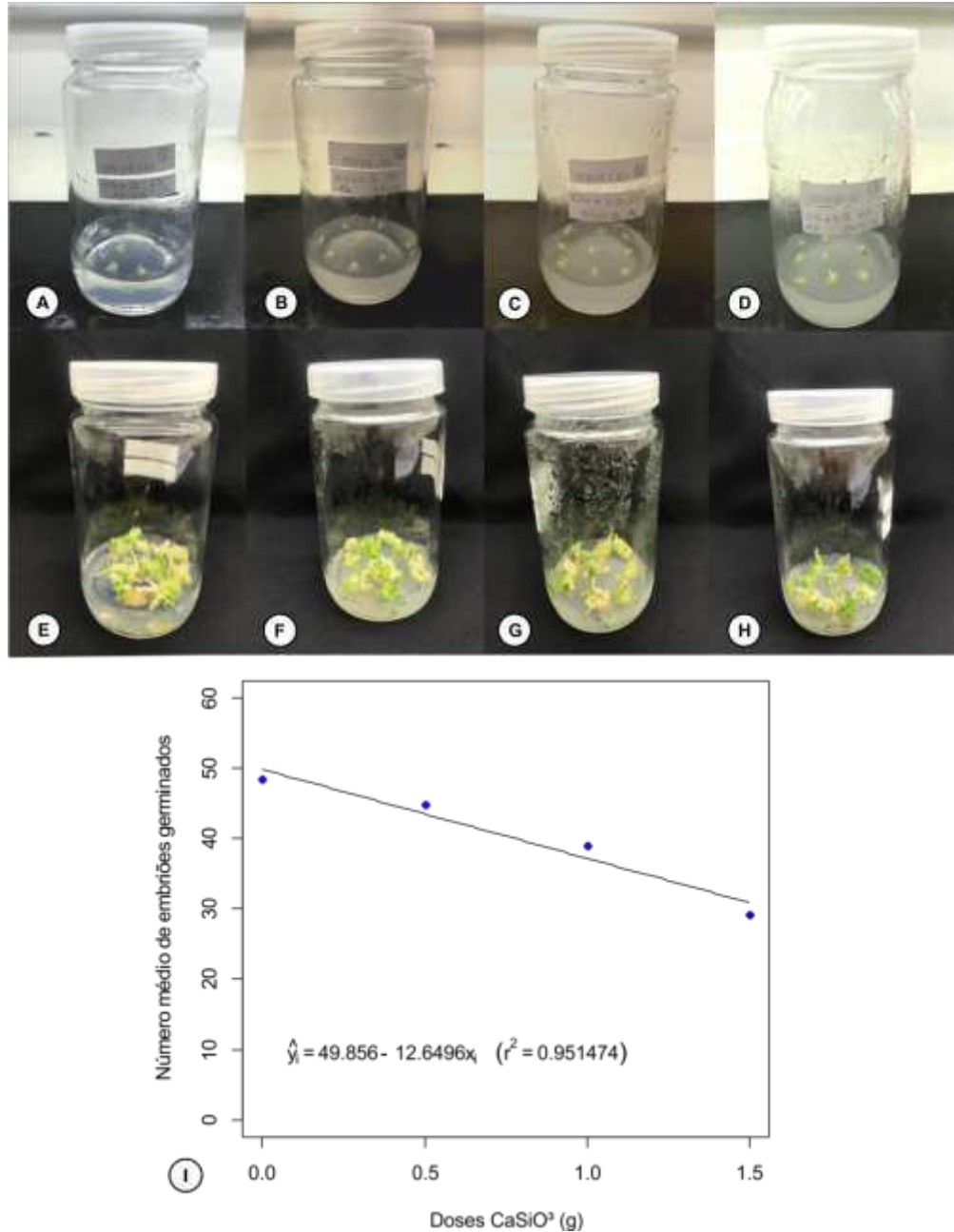


Figura 2. A-D: Início do processo de germinação. E-H: Embriões germinados. I: Estimativa do número médio de embriões germinados aos 20 dias de cultivo em meio C4 suplementado com diferentes doses de silicato de cálcio.

Após 40 dias em meio C4 (Figura 3 A-D) o número de plântulas formadas foi quantificado. As diferentes doses de silicato de cálcio proporcionaram resultados semelhantes quanto à formação das plântulas, como poder ser observado na Figura 3-E, resultando em efeitos imperceptíveis. As plântulas obtidas no final da primeira repicagem se mantiveram em desenvolvimento na segunda (Figura 4 A-D), sem alterar a quantidade (escalar) (Figura 3 F).

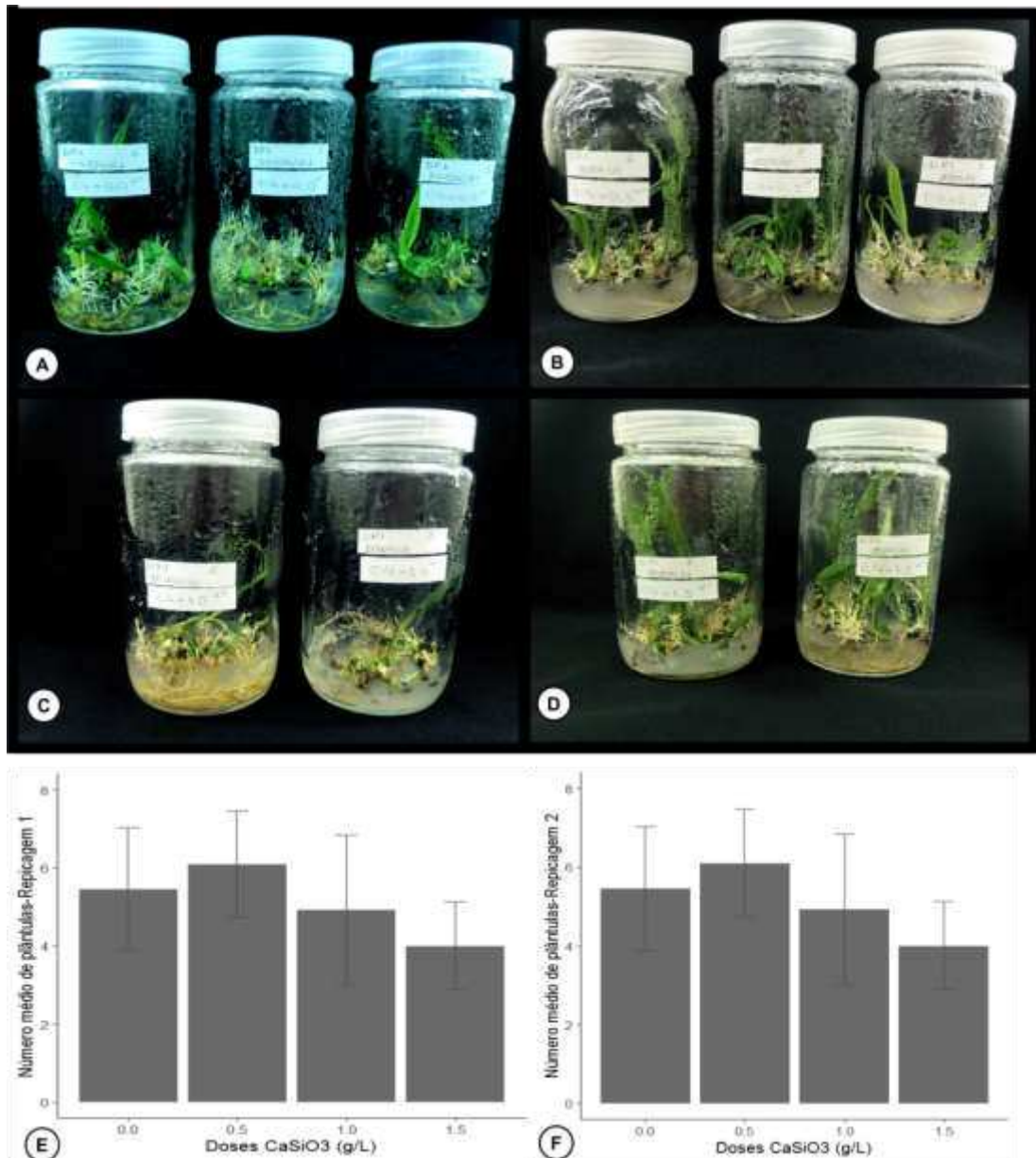


Figura 3. A-D: Plântulas após 40 dias em meio C4 suplementado com diferentes doses de silicato de cálcio. E: Número médio de plântulas formadas no final da primeira replicagem. F: Número médio de plântulas formadas no final da segunda replicagem após 30 dias em meio M4 suplementado com diferentes doses de silicato de cálcio. (Gráficos com os respectivos intervalos de confiança a 95% de confiabilidade).

Avaliações biométricas

No final do processo de germinação, as plântulas resultantes apresentaram-se com sistema radicular e parte aérea bem formada (Figura 4-E-H). Em seguida essas foram submetidas a avaliações biométricas considerando a variável massa fresca, massa seca da parte aérea e do sistema radicular e comprimento. As médias encontradas para todas essas variáveis não apresentaram diferenças significativas (Figura 4 I-K), portanto as doses de

silicato de cálcio resultaram em um efeito, aparentemente, imperceptível, no desenvolvimento das plântulas.

Índice de qualidade de Dickson

De posse dos dados correspondentes a massa fresca e seca da parte aérea e do sistema radicular, comprimento das plântulas e diâmetro do coleto, foi possível avaliar a qualidade das plântulas formadas. A similaridade entre os valores encontrados indicou que as plântulas formadas apresentam a mesma qualidade morfológica (Figura 4-L).

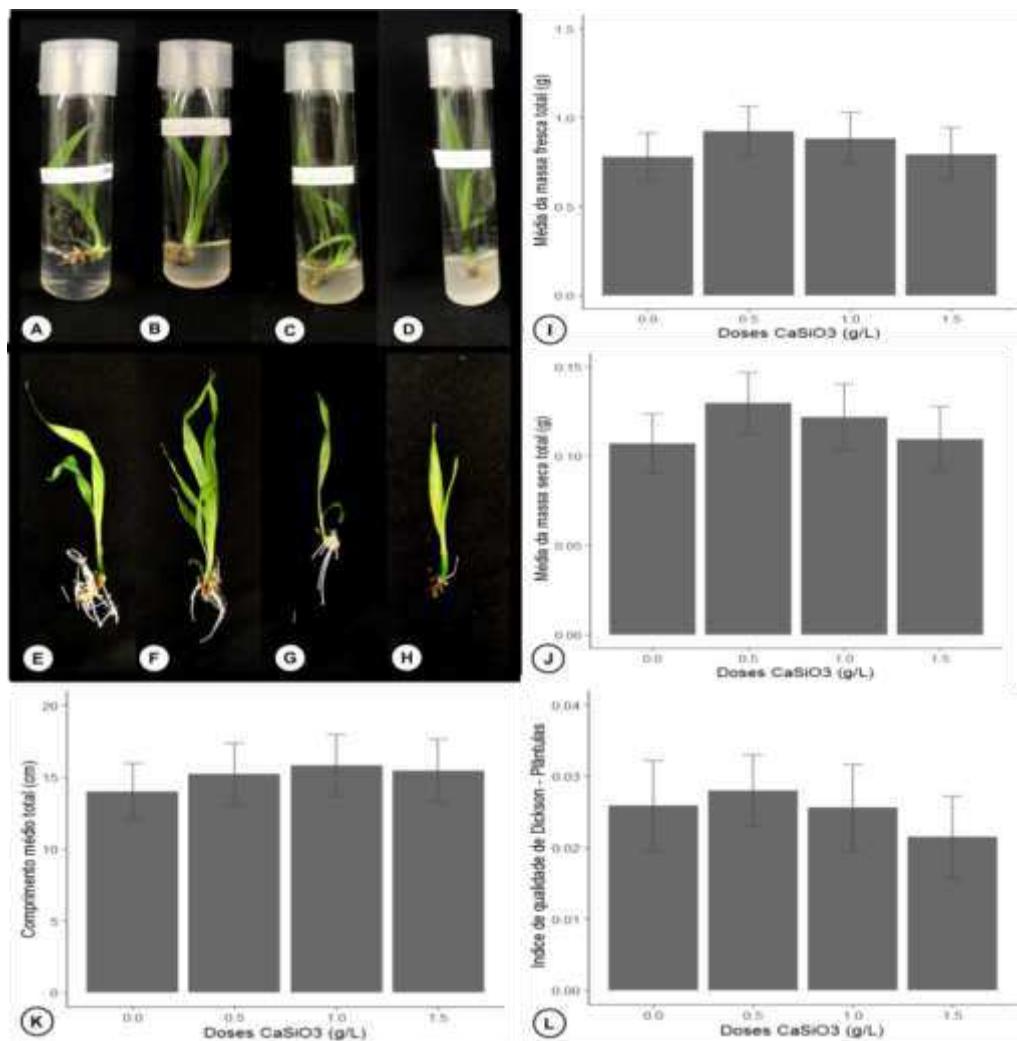


Figura 4. A-D: Plântulas no início da segunda repicagem. E-H: Plântulas completas no final da etapa de germinação. I: Quantidade média de massa fresca em plântulas no final da etapa de germinação em meio M4 suplementado com diferentes doses de silicato de cálcio. J: Quantidade média de massa seca em plântulas no final da etapa de germinação em meio M4 suplementado com diferentes doses de silicato de cálcio. K: Comprimento total médio das plântulas no final da etapa de germinação em meio M4 suplementado com diferentes doses de silicato de cálcio. L: Índice de qualidade de Dickson. (Gráficos com os respectivos intervalos de confiança a 95% de confiabilidade).

5.3 Microscopia de luz e análise micromorfométrica

As fotografias dos cortes transversais das folhas de plântulas de dendê obtidas em meio com diferentes doses do silicato de cálcio apresentaram folhas com as mesmas características anatômicas: Epiderme unisseriada anfiestomática (presença de estômatos nas duas faces da epiderme) e mesofilo homogêneo composto por 5 a 6 camadas de células do parênquima, com idioblastos dispersos por todo o mesófilo (Figura 5 A-D).

Após realização das análises micromorfométricas foi possível observar que a espessura da parede celular face adaxial apresentou-se similar entre os diferentes tratamentos (Figura 5-E). Já a espessura da parede celular face abaxial das folhas de dendê sofreu influência das diferentes doses de silicato de cálcio utilizadas. Observou-se um comportamento quadrático da função ajustada em que a dose que condiciona maior espessura de parede é de $0,91 \text{ g L}^{-1}$ de CaSiO_3 , proporcionando uma espessura média máxima de $1,91 \mu\text{m}$ (Figura 5-F).

A espessura do mesofilo não diferiu entre os tratamentos (Figura 5-G), assim como a espessura da epiderme face adaxial (Figura 5-H) indicando que as diferentes doses de silicato de cálcio apresentaram resultado semelhante em seu desenvolvimento. Já a epiderme abaxial sofreu influência das diferentes doses de silicato de cálcio, a função ajustada demonstrou comportamento quadrático tendo como dose ideal $0,47 \text{ g L}^{-1}$ de CaSiO_3 proporcionando uma espessura da epiderme face abaxial média máxima de $9,13 \mu\text{m}$ (Figura 5-I).

5.4 Quantificação de cera epicuticular

A deposição de cera epicuticular em folhas de palma de óleo aos 120 dias em etapa de germinação em meios suplementados com diferentes doses de silicato de cálcio apresentou variação. Pela função ajustada a maior quantidade de cera encontra-se em folhas de plântulas desenvolvidas em meio sem o silicato de cálcio (Figura 6).

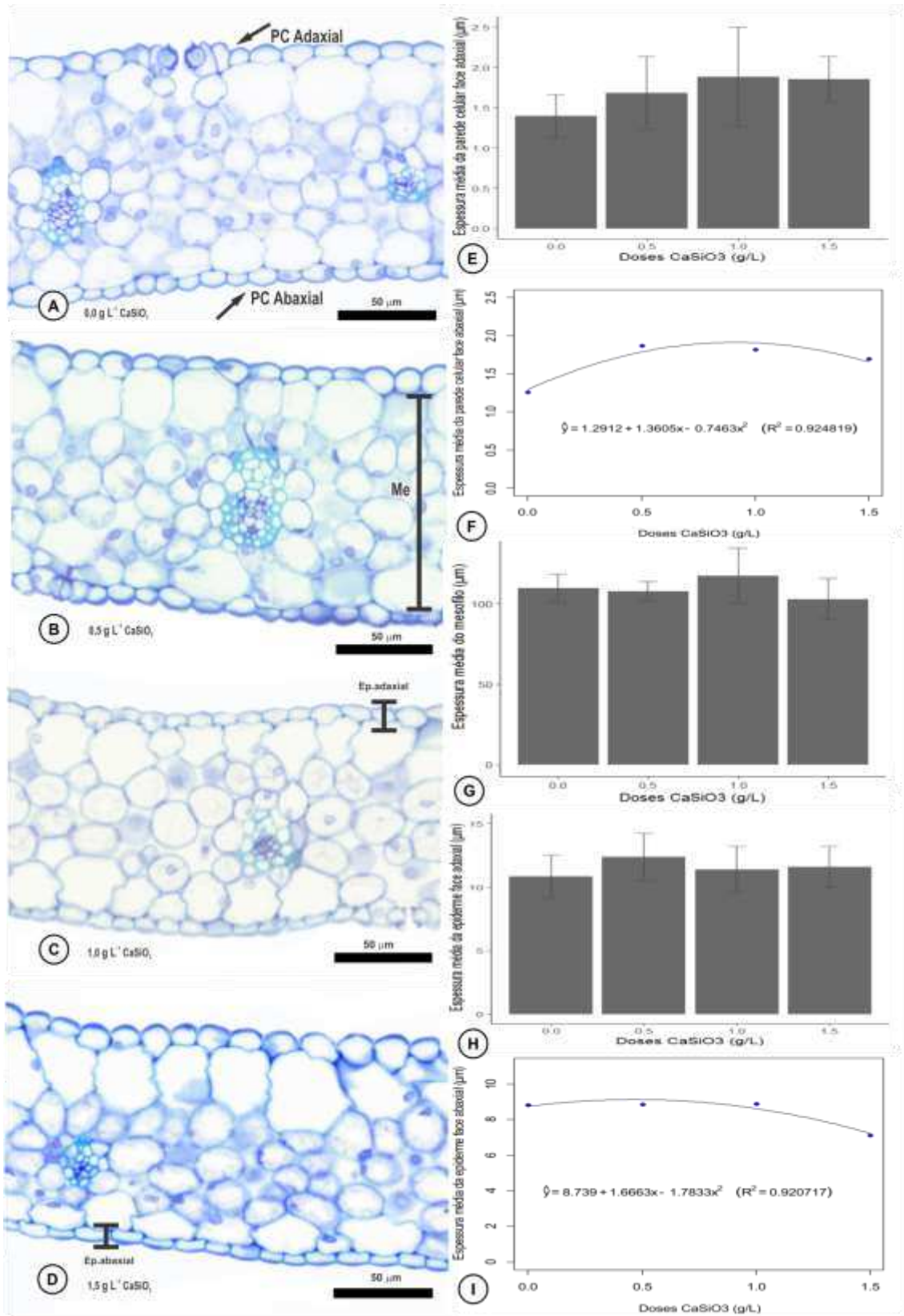


Figura 5. Cortes anômicos transversais de folhas de dendê oriundos dos respectivos tratamentos – A: 0,0 g L^{-1} Silicato de cálcio; B: 0,5 g L^{-1} Silicato de cálcio; C: 1,0 g L^{-1} Silicato de cálcio; D: 1,5 g L^{-1} Silicato de cálcio. E: Espessura média da parede celular face abaxial e adaxial. F: Espessura média do mesofilo (Gráfico com os respectivos intervalos de confiança a 95% de confiabilidade). G: Espessura média da epiderme face adaxial (Gráfico

com os respectivos intervalos de confiança a 95% de confiabilidade). H: Espessura média da epiderme face abaxial. I: Deposição de cera epicuticular em folhas de plântulas de dendê.

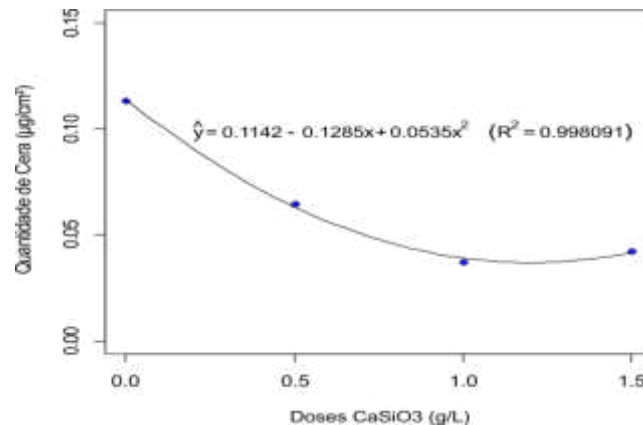


Figura 6. Quantidade de cera epicuticular nas folhas de plântulas de dendê oriundos dos respectivos tratamentos: 0,0 g L⁻¹ Silicato de cálcio; 0,5 g L⁻¹ Silicato de cálcio; 1,0 g L⁻¹ Silicato de cálcio; 1,5 g L⁻¹ Silicato de cálcio.

5.5 Avaliações após aclimação

Após 120 dias em casa de vegetação o percentual de mudas sobreviventes foi determinado (Tabela 4). Observou-se que não há diferença significativa entre os percentuais encontrados indicando que as diferentes doses de silicato de cálcio contribuíram de forma semelhante na sobrevivência das plântulas nesta etapa de aclimação.

Tabela 4. Taxa de sobrevivências das mudas.

Tratamentos	Sobrevivência das mudas (%)
T0	84
T1	92
T2	80
T3	88

As mudas sobreviventes (Figura 7A-D) foram submetidas a avaliações biométricas considerando a variável comprimento, massa fresca e massa seca da parte aérea e do sistema radicular. A média encontrada para todas essas variáveis não apresentaram diferenças significativas. Neste caso, as diferentes doses do silicato de cálcio, aparentemente, não interferem no desenvolvimento das mudas (Figura 7 E-G).

Índice de qualidade de Dickson

De posse dos dados correspondentes a massa fresca e seca da parte aérea e do sistema radicular, comprimento das mudas e diâmetro do coleto, foi possível avaliar a qualidade das

mudas formadas. Observou-se que os valores obtidos são semelhantes, indicando que as mudas estabelecidas apresentam a mesma qualidade morfológica (Figura 7 H).

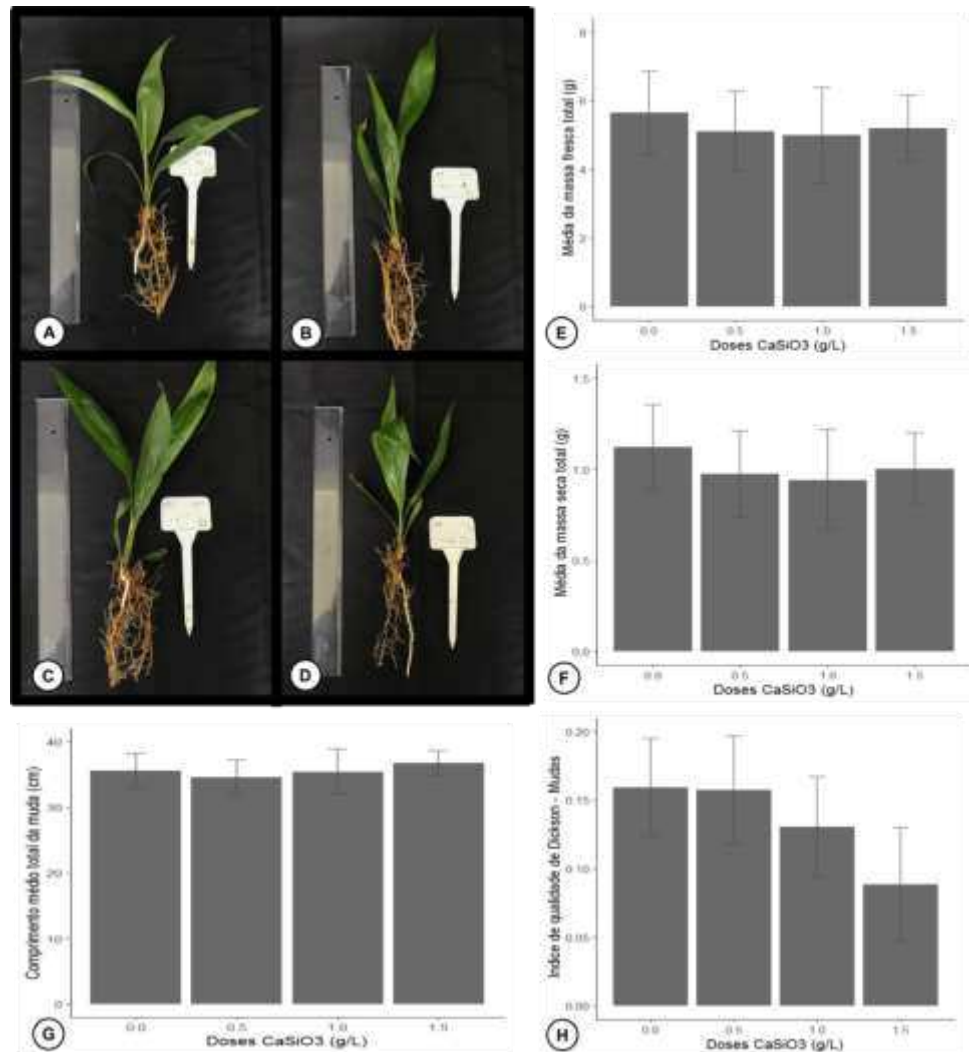


Figura 7. A-D: Mudanças de palma de óleo no final do processo de aclimação. E: Quantidade média de massa fresca em mudas no final da etapa de aclimação. F: Quantidade média de massa seca em mudas no final da etapa de aclimação. G: Comprimento médio total das mudas no final da etapa de aclimação. H: Avaliação da qualidade das mudas pelo método de Dickson. (Gráficos com os respectivos intervalos de confiança a 95% de confiabilidade).

6. DISCUSSÃO

6.1 Regeneração/maturação de embriões somáticos

Devida à importância econômica que a palma de óleo apresenta, os estudos que visem sua propagação em larga escala são de grande relevância e vem sendo executados de forma contínua. Apesar da constância nesses estudos, ainda existem lacunas que impedem o sucesso

pleno da sua propagação, principalmente nas etapas finais de maturação e germinação dos embriões somáticos (CHANDRA et al. 2010; VON ARNOLD et al., 2002; GOMES et al., 2015; GOMES et al., 2016).

Os resultados deste trabalho foram significativos quanto ao número de embriões somáticos formados. Trabalhos como o de Abo e Reda, (2014) que avaliou diferentes fontes de Si na embriogênese somática e regeneração de tamareira (*Phoenix dactylifera* L.) e o de Máthé et al., (2012) que estudou os efeitos do Si no crescimento e desenvolvimento de calos embriogênicos de junco (*Phragmites australis*), também apresentaram resultados significativos.

Apesar de esses trabalhos apresentarem doses menores e fontes distintas a este, observou-se o aumento no número de embriões somáticos formados. Outra similaridade se deu no comportamento da curva obtida pela função ajustada, em que a partir da dose máxima ideal obtida nota-se uma diminuição da formação de embriões.

6.2 Germinação de embriões somáticos e morfometria

Houve diminuição do número de embriões germinados à medida que as doses de silicato de cálcio foram aumentadas. A redução da germinação dos embriões em meio com doses maiores pode ser explicada pela capacidade excessiva do silício de inibir a absorção de metais ou elementos benéficos como o ferro, comprometendo assim o desenvolvimento da plântula (COOKE E LEISHMAN, 2011).

Apesar dessa redução, nas etapas seguintes houve uma estagnação, e o número de plântulas formadas se manteve igual dentre os tratamentos. As avaliações de altura, massa seca e massa fresca apresentaram resultados similares para as diferentes doses do silicato de cálcio. Resultados contrários a este foram apresentados no estudo de Braga, et al., (2009) com micropropagação de morango em meio suplementado com diferentes fontes de silício, encontrando diferença significativa para a massa fresca e seca dos propágulos originários em meio suplementado com Na_2SiO_3 . Silva (2007) relata que o comprimento dos brotos de gérbera foi significativamente beneficiado com a dose de $1,0 \text{ g L}^{-1}$ silicato de potássio.

Asmar, et al., (2011), ao micropropagarem banana maçã em meio de cultivo suplementado com diferentes fontes de silício observaram que a avaliação das características pertinentes a parte aérea apresentava diferença em meio suplementado com Na_2SiO_3 . Entretanto não encontrou diferença nas características pertinentes a raiz, tendo similaridade com o resultado encontrado neste trabalho. Assim como Lazzarine (2020) ao avaliar as características filotécnicas de *Fisalis peruviana* L.) cultivadas *in vitro*, onde as

diferentes doses de ácido silícico não afetaram o comprimento da parte aérea, nem o número de brotações. As diferenças apresentadas dentre estes trabalhos podem ser explicadas pelo fato do crescimento de plântulas, órgãos, tecidos e células *in vitro* serem dependentes dos meios de cultura e da espécie estudada. Portanto há a necessidade de se aperfeiçoar o meio, incluindo o tipo de fonte de silicato, para cada espécie de forma a encontrar uma perfeita interação dos seus componentes (BRAGA, 2009).

A similaridade entre as características de altura, massa seca e massa fresca refletiram na análise de qualidade das plântulas avaliadas pelo método de Dickson. É importante salientar que quanto maior os valores do IQD maior será a qualidade da plântula obtida e que os resultados variam em função da espécie, material genético, condições de cultivo e da idade em que é feita a avaliação (GOMES et al., 2013; GASPARIN et al., 2014).

Notou-se que não houve diferença na qualidade das plântulas dentre os tratamentos, isso se deu pelo fato do método considerar o equilíbrio da distribuição da biomassa na planta, utilizando os parâmetros morfológicos de altura, diâmetro e biomassas (FONSECA et al., 2002; AZEVEDO et al., 2010).

6.3 Microscopia de luz e análises micromorfológicas

O silício é um elemento considerado pouco móvel no interior da planta. Sua translocação ocorre das raízes para as folhas via transpiração. Absorvido na forma de ácido monossilícico é depositado na forma de sílica nos espaços extracelulares e nas paredes da epiderme, por serem locais de alta evapotranspiração (SAMUELS et al., 1991; DATNOFF & KORNDÖRFER, 2001).

Diante da análise micromorfológica da lâmina foliar de dendê foi possível verificar que a espessura da parede sofreu alterações significativas quando submetida às diferentes doses de silicato de cálcio. Comumente a absorção do CaSiO_3 e deposição de sílica resultam em mudanças anatômicas nos tecidos vegetais, como células epidérmicas com a parede celular mais espessa acarretando melhor arquitetura às plantas, aumento da capacidade fotossintética e resistência aos patógenos elevando a taxa de sobrevivência durante o processo de aclimatização (ZAMBOLIM et al., 2012; ZAMBOLIM e ZANÃO JÚNIOR, 2012; Silva, 2007) que é um fator importante para o sucesso da cultura de tecidos (BARBOZA et al., 2006; SILVA et al., 2008).

Assim como na parede, a espessura da epiderme face abaxial também sofreu efeito significativo. Observou-se um comportamento de aumento até a dose ideal seguido do decréscimo na espessura das mesmas. Silva, (2007) em seu estudo onde cultivou gérbera *in*

in vitro em diferentes fontes de silício, ao realizar as análises micromorfométricas observou que a espessura da epiderme não sofreu alteração em função das diferentes doses de silício utilizadas, seu resultado foi parcialmente similar ao encontrado neste estudo.

Não houve diferença significativa para a espessura do mesofilo neste estudo, isso pode estar atrelado à ausência de diferença na massa foliar (seca e fresca). Essa relação foi apontada por Adatia e Besford (1986) em um trabalho com pepino em que a adição de fontes de silício em meio de cultivo alterou a espessura do mesofilo de suas folhas e condicionou maior massa foliar (seca e fresca). Parte dos resultados encontrados no estudo de Braga (2009) corrobora com este uma vez que suas análises micromorfométricas apontaram efeito significativo das diferentes fontes de silício nas espessuras da epiderme face adaxial e abaxial bem como do mesofilo da espécie.

6.4 Deposição de cera epicuticular

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). As plantas cultivadas *in vitro* se destacam por ter cerosidade deficiente, condicionando a formação da camada de cera muito delgada, principalmente pela deficiência de luz nas salas de crescimento (Asmar et al., 2011).

As diferentes doses do CaSiO_3 interferiram significativamente na quantidade de cera por área foliar das plântulas de dendê. Entretanto, notou-se que a quantidade de cera diminuiu à medida que se aumentou as doses de silicato. Comportamento contrário a este foi observado por Braga, (2009) em estudo com quantificação de cera epicuticular em tecido foliar de morangueiro cultivado *in vitro* em meio suplementado com diferentes fontes de silício.

A maior deposição de cera em plantas cultivadas *in vitro* é importante. Esse acúmulo condiciona a formação de uma barreira protetora que auxilia na regulação da perda de água por evapotranspiração, auxiliando na aclimação (SILVA, 2007) uma vez que na maioria das vezes, a morte das plantas se deve, principalmente, à perda excessiva de água devido à alta temperatura e à luminosidade na casa de vegetação (Asmar et al., 2011).

Apesar da diminuição na quantidade de cera, o estabelecimento das plântulas na etapa de aclimação foi semelhante entre os tratamentos. Isso pode ter acontecido pela possibilidade de ocorrer alterações estruturais nas plântulas em etapa de aclimação, como a correção da deficiência de cera. Trabalhos como o de Asmar et al., (2011), e Müller e Weberling (1994) relataram que a camada de cera se tornou gradualmente espessa e mais

bem distribuída em folhas de bananeira formadas *ex vitro*, ao contrário do que ocorre em folhas *in vitro*.

6.5 Avaliações após aclimação

O efeito residual do silício utilizado nas etapas de germinação da palma de óleo não afetou significativamente o comprimento, a massa fresca e seca das mudas obtidas. Como a qualidade das mudas está atrelada a essas variáveis, não houve diferença significativa nos resultados obtidos com a aplicação de silício assim como foi observada na avaliação da qualidade das plântulas.

Mesmo que a transição de ambiente *in vitro* para casa de vegetação condiciona altas taxas de mortalidade por perda de água ocasionada pela baixa funcionalidade dos estômatos e delgada camada de cera epicuticular que as plântulas costumam apresentar (SILVA, 2007), a taxa de sobrevivência da palma de óleo foi semelhante entre os diferentes tratamentos. As plântulas oriundas de doses distintas apresentaram taxa de sobrevivência média de 86%.

Resultado similar foi encontrado por Silva (2007), em seus tratamentos com diferentes fontes de silício, a taxa de sobrevivência das mudas de gérbera foi similar com média de 82%. E Mantovani, (2020) ao avaliar a sobrevivência das plântulas de orquídea (*Cymbidium atropurpureo*) após etapa de aclimação observou que as concentrações de silício na forma de nanossílica, mistura de silicato de potássio e silicato de sódio apresentaram resultados similares para a porcentagem de sobrevivência. Já na forma de ácido monossílico houve uma diminuição linear da porcentagem à medida que aumentou suas concentrações.

7. CONCLUSÕES

O uso do silicato de cálcio provocou alteração do número de embriões formados na etapa de regeneração/maturação dos embriões somáticos. A dose que condiciona a maior formação de embriões é de $0,63\text{g L}^{-1}$.

Altos teores de silicato de cálcio condicionam redução da germinação, mas mantém similares os caracteres morfométricos das plântulas.

As diferentes doses de silicato de cálcio modificam a espessura da parede celular e da epiderme face abaxial tendo como dose ideal respectivamente $0,91\text{g L}^{-1}$ e $0,47\text{g L}^{-1}$.

O aumento das doses de silicato de cálcio reduz a quantidade de cera epicuticular nos tecidos foliares das plântulas.

A taxa de sobrevivência das plântulas e os caracteres morfométricos das mudas no final da etapa de aclimação apresentam-se similares.

As mudas obtidas pelos diversos tratamentos apresentam a mesma qualidade.

Diante da intenção de suplementação do meio com silicato de cálcio, indica-se utilizar concentrações entre 0,5 e 1,0 g L⁻¹ sendo estas intermediárias para as variáveis com interferência positiva.

8. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O uso do silício pode ser um componente importante para outros genótipos, considerando os relatos de avaliação do Si na regeneração *in vitro* e que o estudo foi desenvolvido para uma variedade elite (AM37). A similaridade apresentada em diversas variáveis avaliadas neste genótipo elite pode manifestar efeito positivo para variedades testadas em um genótipo recalcitrante.

9. REFERÊNCIAS

- ABO, E.F.; REDA, E. Effect of silicon on somatic embryogenesis and shoot regeneration of dry date palm (*Phoenix dactylifera* L.) Cv bartamuda. **Egyptian J. Desert Res.**, v. 64, p. 65-82, 2014.
- 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
- ALQUINI, Y.; BONA, C.; BOERGER, M. R. T.; COSTA, C. G.; BARROS, C. F. Epiderme. In: APPEZZATODA- GLÓRIA, B.; CARMELLO-GUERREIRO, S. M. *Anatomia vegetal*. Viçosa, MG: UFV. p. 87-108, 2006.
- ANDRADE, S. R. M. **Princípios da Cultura de Tecidos Vegetais**. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento – Documentos / Embrapa Cerrados. 1. ed. Planaltina-DF. n. 58, 16 p, 2002.
- ARA, H.; JAISWAL, V.S. **Synthetic seed: Prospects and limitations**. Curr. Sci. v. 78, p. 1438-1444, 2000.
- ASMAR, S.A.; PASQUAL, M.; RODRIGUES, F.A.; ARAUJOA, G.D.; PIO, L.A.S.; SILVA, S.D.O. Fontes de silício no desenvolvimento de mudas micropropagadas de bananeira 'Maçã'. **Cienc.Rural**, v. 41: p. 1127–113, 2011.
- AZEVEDO, I. M. G.; ALENCAR, R. M.; BARBOSA, A. P.; ALMEIDA, N. O. Estudo do crescimento e qualidade de mudas de marupá (*Simarouba amara* Aubl) em viveiro. **Acta Amazônica**, v. 40, n. 1, p. 57-164, 2010.

BAJAJ, Y.P.S. Somatic embryogenesis and synthetic seed. *Biotechnology in agriculture and forestry*, **Springer- Verlag**, v.30, p. 472, 1995.

BALZON, T.A. Aperfeiçoamento da embriogênese somática, reprodução e análise molecular de retrocruzamentos interespecíficos em palma de óleo (*Elaeis spp.*). 143p. Tese (Doutorado em Biodiversidade e Biotecnologia)- Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2017.

BALZON, T.A.; GOMES, L. Z.; SCHERWINSKY-PEREIRA, J.E. New approaches to improve the efficiency of somatic embryogenesis in oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) from mature zygotic embryos. *In Vitro Cell Development Biology Plant*. v. 49, p. 41-50, 2013.

BARBOZA, S.B.S.C.; GRACIANO-RIBEIRO, D.; TEIXEIRA, J.B.; PORTES, T.A.; SOUZA, L.A.C. Anatomia foliar de plantas micropropagadas de abacaxi. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.41, p.185-194, 2006.

BARCELOS, E. ; NUNES C. D. M.; CUNHA, R.N.V. Melhoramento genético e produção de sementes comerciais de dendezeiro. In: Viégas, I.J.M.; Müller, A.A. (Ed.) **A cultura do dendezeiro na Amazônia Brasileira**. Belém: Embrapa Amazônia Oriental/Manaus: Embrapa Amazônia Ocidental, p. 145-174, 2000.

BARCELOS, E.; RIOS, S. A.; CUNHA, R. N. V.; LOPES, R.; MOTOIKE, S. Y.; BABIYCHUK, E.; SKIRYCH, A.; KUSHNIR, S. Oil palm natural diversity and the potential for yield improvement. **Frontiers in Plant Science**, v. 6, p.190, 2015.

BARTOS, P.M.C. Aprimoramento da embriogênese somática de dendezeiro (*Elaeis guineensis* Jacq.), a partir de folhas de plantas adultas: Influência do genótipo e caracterização morfoanatômica e bioquímica. 178p. Tese (Doutorado) - Universidade de Brasília, Brasília, 2016.

BASIRON, Y. Palm oil production through sustainable plantations. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 109, n. 4, p. 289-295, 2007.

BASTOS, T. X.; MÜLLER, A. A.; PACHECO, N. A.; SAMPAIO, M. N.; ASSAD, E. D.; MARQUES, A. F. S. Zoneamento de riscos climáticos para a cultura do dendezeiro no estado do Pará. **Revista Brasileira de Agrometeorologia**, v. 9, n. 3, p. 564-570, 2001.

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.

BRAGA, F. T., RAFAEL, G. C., VALENTE, T. T. C., NUNES, C. F., PASQUAL, M. (2008) Fontes e concentrações de silício na multiplicação *in vitro* de abacaxizeiro cv. Iac Gomo de Mel". In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 20. Vitória. Anais Vitória: INCAPER, 2008.

BRAZILIO, M.; BISTACHIO, N. J.; PERINA, V.C. S.; NASCIMENTO, D. D. Revisão: O Dendezeiro (*Elaeis guineensis* Jacq.). **Bioenergia em revista: diálogos**, v. 2, n. 1, p.27-45, 2012.

CARVALHO, J. M. F. C.; ARAÚJO, S. de S. Aplicação do Cultivo de Embrião Zigótico ou Imaturo, no Melhoramento Vegetal. Campina Grande, PB: Embrapa Algodão, 2007.

CARVALHO, J.; LIMA, M.; AIRES, P.; VIDAL, M.; PIMENTEL, N. Embriogênese Somática. Campina Grande. (Embrapa Algodão. Documentos, 152). v.35, 2006.

- CARVALHO, M. Embriogênese somática a partir de folhas imaturas e flores desenvolvidas *in vitro* de dendezeiro (*Elaeis guineensis* Jacq.). 86p. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. 2009.
- CARVALHO, P. R.; FARIAS R.T.; FONSECA, I.C.B.; JUNIOR, O.A. Efeito do silício na qualidade de flores de *Dendrobium nobile* (Orchidaceae). *Semina: Ciências Agrárias*, v. 34, n. 4, p. 1615–1622, 2013.
- CHANDRA, S.; BANDOPADHYAY, R.; KUMAR, V.; CHANDRA, R. Acclimatization of tissue cultured plantlets: from laboratory to land. *Biotechnology Letters*, v.32, p.1199–1205, 2010.
- CHANPRASERT, W.; MYINT, T.; SRIKUL, S.; WONGSRI, O. Effects of neonicotinoid and method of breaking dormancy on seed germination and seedling vigour of oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.). **Journal of Oil Palm Research**, v.24, p.1227-1234, 2012.
- CHIBA, Y.; MITANI, N.; YAMAJI, N.; MA, J. F. HvLsi1 is a silicon influx transporter in barley. **The Plant Journal**, London, v. 57, n. 5, p. 810–818, 2009.
- COOKE, J.; LEISHMAN, M. (2011). Silicon concentration and leaf longevity: Is silicon a player in the leaf dry mass spectrum? *Functional Ecology*. 25. 1181-1188. 10.1111/j.1365-2435.2011.01880.x.
- CORLEY, R. H. V; TINKER, P. B. H. **The oil palm**. Blackwell Science Ltd. 5a ed. Oxford. p. 592, 2016
- CORLEY, R. V. H.; BARRET, J. N.; JONES, L. H. Vegetative propagation of oil palm via tissue culture. **Oil Palm News**, v.22, p.2-7, 1977.
- CORRÊA, T. R.; MOTOIKE, S. Y.; ANDRADE, A. P. S.; COSER, S. M.; QUEIROZ, V.; GRANJA, M. M. C.; CAETANO, D. D. N.; PEÑA, C. N. M.; PICOLI, E. A.T. Accelerated *in vitro* propagation of elite oil palm genotypes (*Elaeis guineensis* Jacq.) by substituting cytokinin with putrescine. **African Journal of Biotechnology**, v.15, p. 2767-2775, 2016.
- CORRÊA, T. R; MOTOIKE, S. Y.; COSER, S. M.; SILVEIRA, G; RESENDE, M. D. V., CHIA, G. S. Estimation of genetic parameters for *in vitro* oil palm characteristics (*Elaeis guineensis* Jacq.) and selection of genotypes for cloning capacity and oil yield. **Industrial Crops and Products**, v. 77, p. 1033-1038, 2015.
- CRONQUIST A. **An integrated system of classification of flowering plants**. Columbia University Press. 1981.
- CUEVA-AGILA, A. Y.; MEDINA, J.; CONCIA, L.; CELLA, R. Effects of plant growth regulator, auxin polar transport inhibitors on somatic embryogenesis and CmSERK gene expression in *Cattleya maxima* (Lindl.). **In Somatic Embryogenesis in Ornamentals and Its Applications**, p. 255-267, 2016.
- DATNOFF L.E., RODRIGUES F.A., SEEBOLD K.W. (2007) Silicon and Plant Disease. In *Mineral Nutrition and Plant Disease*, pp. 233–246. Eds L.E. Datnoff, W.H. Elmer, D.M. Huber. St. Paul, MN, USA: APS Press.
- DATNOFF, L. E., SNYDER, G. H.; KORNDORFER, G. H. (Ed.) **Silicon in agriculture**. Elsevier Science, p. 17-39, 2001.

- DICKSON, A. et al. Quality appraisal of white spruce and white pine seedling stock in nurseries. *Forest Chronicle*, v.36, p.10-13, 1960.
- DODEMAN, V. L.; DUCREUX, G.; KREIS, M. Zygotic embryogenesis versus somatic embryogenesis. **Journal of Experimental Botany**, v. 48, p. 1493-1509, 1997.
- DUDITS, D.; BOGRE, L.; GYORGYEY, J. Molecular and cellular approaches to the analysis of plant embryo development from somatic cell *in vitro*. *Journal of Cell Science*, v.99, p.473-482, 1991.
- EEUWENS, C. J. Mineral requirements for growth and callus initiation of tissue explants excised from mature coconut palms (*Cocos nucifera*) and cultured *in vitro*. **Physiologia Plantarum**. v.36, p.23-28. 1978.
- EKE, C. R., AKOMEAH, P.; ASEMOTA, O. Somatic embryogenesis in date palm (*Phoenix dactylifera* L.) from apical meristem tissues from 'Zebia' and 'Loko' andraces. **African Journal of Biotechnology**, v. 4, p. 244-246, 2005.
- ELMEER, K. E. S. Factors regulating somatic embryogenesis in plants. In: ASLAM, J.; SRIVASTAVA, P. S.; SHARMA, M. P. (Eds.) **Somatic embryogenesis and gene expression**. New Delhi: Narosa Publishing House, p.56-81, 2013.
- EPSTEIN, E. Silicon in plants: Facts vs. concepts. In: DATNOFF, L. E.; SNYDER, G. H.; KORNDÖRFER, G. H. (Eds.) *Silicon in agriculture*. Amsterdam: **Elsevier Science**, p. 1-15, 2001.
- EPSTEIN, E. Silicon. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, Palo Alto, v. 50, p.641-664. 1999.
- FEHÉR A.; PASTERNAK, T. P.; DUDITS, D. Transition of somatic plant cells to an embryogenic state. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 74, p. 201-228, 2003.
- FEROLDI, M.; CREMONEZ, P.A.; ESTEVAM, A. Dendê: do cultivo da palma á produção de biodiesel. **Revista Monografias Ambientais**. V.13, n.5, Santa Maria, 2014.
- FERREIRA, C. B. B.; LOPES, M. T. G., LOPES, R.; CUNHA, R. N. V.; MOREIRA, D. A.; ARROS, W. S.; MATIELLO, R. R. Molecular genetic diversity of oil palm progenies. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.47, p.378-384, 2012.
- FERWERDA, J.D. Ecophysiology of the African oil palm. In: Alvim, P. de. (Coord.). **Ecophysiology of tropical crops**. Ilhéus: Ceplac v. 2, p. 1-49, 1975.
- FONSECA, E. P.; VALERI, S. V.; MIGLIORANZA, E.; FONSECA, N. A. N.; COUTO, L. Padrão de Qualidade de mudas de *Trema micrantha* (L.) Blume., produzidas sob diferentes períodos de sombreamento. **Revista Árvore**, v. 26, n. 4, p. 515 - 523, 2002.
- FREITAS, L. B.; COELHO, E.M.; MAIA, S.C.M.; SILVA, T.R.B. Adubação foliar com silício na cultura do milho. **Revista Ceres**. v. 58, n. 2, p. 262-267, 2011.
- FURLAN Jr., J. et al. BIODIESEL: Porque tem que ser dendê. 2006, EMBRAPA, 1 ed. Belém, PA.

- GASPARIN, E. *et al.* Influência do substrato e do volume de recipiente na qualidade das mudas de *Cabralea canjerana* (Vell.) Mart. em viveiro e no campo. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 24, n. 3, p. 553-563, 2014.
- GENTY P, GARZON A, LUCHINE F, DELVARE G. Polinización entomófila de la palma-africana em América Tropical. **Oléagineux**, v. 41, n.3, p. 99-112, 1986.
- GOMES JUNIOR, R, A.; BARRA, V. R.; CUNHA, R. N. V.; LOPES, R.; LIMA, W. Produção de sementes e mudas de palma de óleo. In: GOMES JUNIOR, R. A. (Ed.). **Bases técnicas para a cultura da palma de óleo integrado na unidade produtiva da agricultura familiar**. Belém/PA: Embrapa Amazônia Oriental, p. 13-22, 2010.
- GOMES, D. R. *et al.* Lodo de esgoto como substrato para a produção de mudas de *Tectona grandis* L. **Cerne**, Lavras, v. 19, n. 1, p. 123-131, 2013.
- GOMES, H. T.; BARTOS, P. M. C.; BALZON, T. A.; SCHERWINSKI-PEREIRA, J. E. Regeneration of somatic embryos of oil palm (*Elaeis guineensis*) using temporary immersion bioreactors. **Industrial Crops and Products**, v.89, p.244-249, 2016.
- GOMES, H. T.; BARTOS, P. M. C.; SCHERWINSKI-PEREIRA, J. E. Optimizing rooting and survival of oil palm (*Elaeis guineensis*) plantlets derived from somatic embryos. **In Vitro Cellular and Developmental Biology - Plant**, v.51, p.111-117, 2015.
- GONÇALVES, A.C.R. Dendezeiro (*Elaeis guineensis* Jacq.). In: Castro, P.R.C, Kluge RA. (Coord.) **Ecofisiologia de culturas extrativas: cana-de-açúcar, seringueira, coqueiro, dendezeiro e oliveira**. Cosmópolis: Stoller do Brasil, p. 95-112, 2001.
- GUERRA, M. P.; TORRES, A. C.; TEIXEIRA, J. B. Embriogênese somática e sementes sintéticas. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (ads.). Culturas de tecidos e Transformação Genética de Plantas. Brasília, **Embrapa-CBAB**. v.2, p.533-568, 1999.
- GUEYE, B.; MORCILLO, F.; COLLIN, M.; GARGANI, D.; OVERVOORDE, P.; ABERLENC-BERTOSSI, F.; VERDEIL, J. L. Acquisition of callogenic capacity in date palm leaf tissues in response to 2, 4-D treatment. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v.99, p.35-45, 2009.
- HANSEN, S.B.; PADFIELD, R.; SYAYUTI, K.; EVERS, S.; ZAKARIAH, Z.; MASTURA, S. Trends in global palm oil sustainability research. **Journal of Cleaner Production**, v.100, p.140-149, 2015.
- HENRY, Y.; VAIN, P.; DE BUYSER, J. Genetic analysis of in vitro plant tissue culture responses and regeneration capacities. **Euphytica**, v.79, p.45-58, 1994.
- JIMÉNEZ, V. M. Involvement of plant hormones and plant growth regulators on in vitro somatic embryogenesis. **Plant Growth Regulation**, v.47, p.91-110, 2005.
- JIMÉNEZ, V. M. Regulation of *in vitro* somatic embryogenesis with emphasis on the role of endogenous hormones. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v.13, p.196-223, 2001.
- JOUANNIC, S.; ARGOUT, X.; LECHAUVE, F.; FIZAMES, C.; BORGEL, A.; MORCILLO, F.; ABERLENC-BERTOSSI, F.; DUVAL, Y.; TREGGAR, J. Analysis of expressed sequence tags from oil palm (*Elaeis guineensis*). **FEBS Lett** v.579, p.2709–2714, 2005.

- JOUANNIC, S.; ARGOUT, X.; LECHAUVE, F.; FIZAMES, C.; BORGEL, A.; MORCILLO, F.; ABERLENC-BERTOSSI, F.; DUVAL, Y.; TREGGAR, J. Analysis of expressed sequence tags from oil palm (*Elaeis guineensis*). *FEBS Lett* v.579, p.2709–2714, 2005.
- JUAN, A; RODRIGUES, A. Produção de embriões em dendê a partir de cultura de embriões imaturos. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 1, p. 119-120. 1989.
- KHAW C.H.; NG S.K.; DREW R.A. Performance of commercial scale clonal oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) plantings in Malaysia. In: **International Symposium on Biotechnology of Tropical and Subtropical Species Part 2 461**, p. 251-258, 1998.
- KONAN, K. E.; DURAND-GASSELIN, T.; KOUADIO, Y. J.; FLORI, A.; RIVAL, A.; DUVAL, Y.; PANNETIER, C. *In Vitro* conservation of oil palm somatic embryos for 20 years on a hormone-free culture medium: characteristics of the embryogenic cultures, derived plantlets and adult palms. **Plant Cell Reports**, v.29, p.1-13, 2010.
- KONAN, K.E.; Duran-Gasselin, T.; Kouadio, Y.J.; Rival, A. A modeling approach of the *in vitro* of palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) somatic embryos. **Plant Cell Tissue and Organ Culture**. v. 84, p. 99-112, 2006.
- KORNDÖRFER, G.H. Elementos benéficos. In: FERNANDES, M.S. **Nutrição mineral de plantas**. Viçosa, MG: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2006. Cap.14, p.355-370.
- LAZZRINI, L.E.S.; DIAS, G.M.G.; SILVA, S.T.; DÓRIA, J.; PASQUAL, M. Silício no desenvolvimento *in vitro* de *Fisalis*. **Revista Agrária Acadêmica**. V.3, n. 5, 2020.
- LEDO, A. D. A. S.; LAMEIRA, O. A.; BENBADIS, A. K.; DE MENEZES, I. C.; DE OLIVEIRA, M. D. S. O.; FILHO, S. M. Somatic embryogenesis from zygotic embryos of *Euterpe oleracea* Mart. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 24, p. 601-603, 2002.
- LELJAK-LEVANIĆ, D.; MIHALJEVIĆ, S.; BAUER, N. Somatic and zygotic embryos share common developmental features at the onset of plant embryogenesis. **Acta Physiologiae Plantarum**, v.37, p.1-14, 2015.
- LIANG Y, SUN W, ZHU Y-G, CHRISTIE P. Mechanisms of silicon-mediated alleviation of abiotic stresses in higher plants: a review. *Environ Pollut*, v. 147, p. 422–428, 2007.
- LORENZI, H.; SOUZA, H.; COSTA, J. T. M.; et al. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. Instituto Plantarum, Nova Odessa. 2016. 352p.
- MALAVOLTA, E. Elementos de nutrição mineral de plantas. Piracicaba: Ceres, 1980. 215p.
- MANTOVANI, C. Avaliação do ácido salicílico exógeno e fontes e doses de silício no cultivo *in vitro* e na aclimatização de orquídeas epífitas. 53p. Tese (Doutorado Produção Vegetal) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Jaboticabal, SP. 2020.
- MARBUN, C. L. M.; TORUAN-MATHIUSA, N.; REFLINIA; UTOMOA, C.; LIWANG, T. Micropropagation of embryogenic callus of oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) using temporary immersion system. **Procedia Chemistry**, v.14, p.122-129, 2015.

- MARTINE, B.M.; LAURENT, K.K.; PIERRE, B.J.; EUGÈNE, K.K.; HILAIRE, K.T.; JUSTIN, K.Y. Effect of storage and heat treatments on the germination of oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) seed. *African Journal of Agricultural Research*, v.4, p.931-937, 2009.
- MATHE, C.; MOSOLYGO, A.; SURANYI, G.; BEKE, A.; DEMETER, Z.; TOTH, V. R., HAMVAS, M. (2012). Genotype and explants-type dependent morphogenesis and silicon response of common reed (*Phragmites australis*) tissue cultures. *Aquatic Botany*, v. 97, p. 57-63. <https://doi.org/10.1016/j.aquabot.2011.11.005>
- MATOS, P. N. Fauna do Solo, Fungos Micorrízicos Arbusculares e Bactérias Diazotróficas em Áreas de Mineração de Bauxita no Noroeste do Pará Revegetadas com Dendê. Seropédica, RJ: Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 2009.
- MERKLE, S. A.; PARROTT, W. A.; FLINN, B. S. Morphogenic aspects of somatic embryogenesis. In: THORPE, T.A. (Ed.). *In vitro* embryogenesis in plants. **Dordrecht: Kluwer Academic**, p.155-203, 1995.
- MONTOYA, C.; COCHARD, B.; FLORI, A.; CROS, D.; LOPES, R.; CUELLAR, T.; ESPEOUT, S.; SYAPUTRA, I.; VILLENEUVE, P.; PINA, M.; RITTER, E.; LEROY, T.; BILLOTTE, N. Genetic Architecture of Palm Oil Fatty Acid Composition in Cultivated Oil Palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) Compared to Its Wild Relative *E. oleifera* (H.B.K) Cortés. **Plos One**, v. 9, p. 95412-95412, 2014.
- MUKHERJEE, I.; SOVACOOOL, B.K. Palm oil-based biofuels and sustainability in southeast Asia: A review of Indonesia, Malaysia, and Thailand. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v.37, p.1-12, 2014.
- MÜLLER, A. A. A. Cultura do dendê. Belém. Centro de Pesquisa Agropecuária do Trópico Úmido, EMBRAPA-CPATU, Miscelânea. n. p. 524. 1980.
- MÜLLER, A. A.; ALVES, R. M.; CELESTINO FILHO, P.; BOTELHO, S. M.; SOUZA, L.A.; TRINDADE, D. R. **Curso sobre a cultura do dendezeiro (*Elaeis guineensis* Jacq.)**. Belém, 1992. 55p.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bio-assays with tobacco tissues cultures. **Physiologia Plantarum**, v.15, p. 473-497,1962.
- 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 em invernadero. *Bioagro*, La Prata, v. 12, n. 3, p. 75-80, 2000.
- OOI, S.E.; NOVAK, O.; DOLEZAL, K.; ISHAK, Z.; ONG-ABDULLAH, M.O. 2013. Cytokinin Differences in *In Vitro* Cultures and Inflorescences from Normal and Mantled oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.). *Journal of Plant Growth Regulation*. V. 1, p. 10, 2013.
- PAIM PINTO, D. L. P.; ALMEIDA, A. M. R.; RÊGO, M. M.; SILVA, M. L.; OLIVEIRA, E. J.; OTONI W. C. Somatic embryogenesis from mature zygotic embryos of comercial passionfruit (*Passiflora edulis* Sims) genotypes. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 107, p. 521-530, 2011.

- PALANYANDY, S.R.; Suranthran, P.; Gantait, S.; Sinniah, U.R.; Subramaniam, S.; Abdul Aziz, M.; Alwee, S.S.R.A.; Roowi, S.A. *In vitro* developmental study of oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) polyembryoids from cell suspension using scanning electron microscopy. **Acta Physiology Plant Journal**. V. 35, p. 1727–1733, 2013.
- PANDOLFINI, T.; MOLESINI, B; SPENA, A. Molecular dissection of the role of auxin in fruit initiation. **Trends in Plant Science**, v. 12, p. 237-238, 2007.
- POZZA, E. A.; POZZA, A. A. A.; BOTELHO, D. M. S. Silicon in plant disease control. **Revista Ceres**, v. 62, n. 3, p. 323-331, 2015.
- QUEIROZ, V. Regeneração, maturação e germinação in vitro de embriões somáticos em palma de óleo (*Elaeis guineensis* Jacq.).33f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Viçosa – Departamento de Fitotecnia, Viçosa, 2017.
- R DEVELOPMENT CORE TEAM. R: a language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, Version 4.1.24 (01-11-2021). Disponível em: <http://www.R-project.org>
- REED, B. M., WADA, S., DENOMA, J., AND NIEDZ, R. P. (2013). Mineral nutrition influences physiological responses of pear *in vitro*. **In Vitro Cell. Dev.Biol. Plant**, v. 49, p. 699–709. doi: 10.1007/s11627-013-9556-2
- REINERT, J. Morphogenese und ihre kontrolle an geweberkulturen aus karotten. **Naturwissenschaften**, v.45, p.344-345, 1958.RIVAL, A.; ABERLENC, F.; MORCILLO, F.; TREGGAR, J.; VERDEIL, J. L.; DUVAL, Y. Scaling-up in vitro clonal propagation through somatic embryogenesis: the case of oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.). **Plant Tissue Culture and Biotechnology**, v.3, p.74-82, 1997.
- RODRIGUES, L. U.; FIDÉLIS, R. R.; TAVARES, T. C. O. Silício e microrganismos antagonistas no controle de Fusarium sp. na soja. **Brazilian Journal of Applied Technology for Agricultural Science**, v. 10, n. 3, p. 47–55, 2017.
- SAHEB, M.; HANAFI, M.M.; SITI, N.O.R.; AKMAR, A, RAFIIMY, AZIZI P, TENGOUA F, NURUL MAYZAITUL AZWA J, SHABANIMOFRAD M (2015) Importance of silicon and mechanisms of biosilica formation in plants. *BioMed Res Int* 2015:16
- SALDANHA, C. W.; MARTINS-CORDER, M. P.; STEINMACHER, D. A.; GUERRA, M. P. *In vitro* morphogenesis in zygotic embryos and leaf sheaths of *Euterpe edulis* Martius (Arecaceae). *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, v. 6, p. 228-235, 2006.
- SAMUELS, A.L., GLASS, A.D.M., EHRET, D.L. & MENZIES, J.G. Mobility and deposition of silicon in cucumber plants. **Plant, Cell and Environment**, v. 4, p. 485-492. 1991.
- 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.
- SANÉ, D.; BERTOSSI, F. A.; DIATTA, L. I. D.; GUÈYE B.; DAHER, A.; SAGNA, M.; DUVAL, Y.; BORGEL, A. Influence of Growth Regulators on Callogenesis and Somatic Embryo Development in Date Palm (*Phoenix dactylifera* L.) Sahelian Cultivars. **The Scientific World Journal**, Article ID 837395, 2012.

SANPUTAWONG, S.; TE-CHATO, S. Analysis of somaclonal variation of callus, somatic embryo and plant regeneration of in vitro oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.). **Journal of Agricultural Technology**, v. 7, p. 531-545, 2011.

SANTANA, M.C.C.B.; MACHADO, B.A.S.; FIGUEIREDO, T.V.B.; NUNES, I.L.; DRUZIAN, J.I. Dendê e seu potencial de uso: uma prospecção tecnológica. *Cadernos de prospecção*. v.6, n.4, p.516-525, 2013.

SCHERWINSKI-PEREIRA, J. E.; GUEDES, R. S., SILVA, T. L.; FERMINO, J. P.; COSTA, F. S. Somatic embryogenesis and plant regeneration from oil palm thin cell layer. *In Vitro Cellular and Development Biology*, v.46, p.378-385, 2010.

SCHERWINSKI-PEREIRA, J.E.; MACIEL, S.A; SILVA, T.L.; GUEDES, R.; FERMINO, J.R.; P.C.P. Indução da embriogênese somática em dendezeiro (*Elaeis guineensis* Jacq) a partir de estruturas foliares e potencial de indução utilizando discos apicais de plantas jovens. 16º Congresso Brasileiro de Floricultura e Plantas Ornamentais/3º Congresso Brasileiro de Cultura de Tecidos de Plantas/1º Simpósio de Plantas Ornamentais Nativas. p. 837-840. 2007.

SECRETARIA DE ESTADO DE DESENVOLVIMENTO AGROPECUÁRIO E DA PESCA (SEDAP)- Estado do Pará. Disponível em: <http://www.sedap.pa.gov.br/content/dend%C3%AA>. Acesso em maio de 2021.

SILVA, A.B. da; PASQUAL, M.; CASTRO, E.M. de; MIYATA, L.Y.; MELO, L.A. de; BRAGA, F.T. Luz natural na micropropagação do abacaxizeiro (*Ananas comosus* L. Merr). **Interciência**, v.33, p.839-843, 2008.

SILVA, D.P.C. Meios de cultura e fontes de silício no desenvolvimento in vitro de gérbera. 98p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2007.

SILVA, R. C.; LUIS, Z. G.; SCHERWINSKI-PEREIRA, J. E. Differential responses to somatic embryogenesis of different genotypes of Brazilian oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.). **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v.111, p.59–67, 2012.

SIVANESAN, I. PARK, S.W. The role of silicon in plant tissue culture. *Plant Sci*. 2014

SIVANESAN, I.; JEONG, B.R. (2014). Silicon promotes adventitious shoot regeneration and enhances salinity tolerance of *Ajuga multiflora* Bunge by altering activity of antioxidant enzyme. *Sci. World J*. 2014, 10 doi: 10.1155/2014/521703

SLUSZZ, T.; MACHADO, J. A. D. Características das potenciais culturas matérias-primas do biodiesel e sua adoção pela agricultura familiar. An. 6. Enc. Energ. Meio Rural. 2006.

SOH, A. C.; WONG, G.; TAN, C. C.; CHEW, P. S.; CHONG, S. P.; HO, Y. W.; WONG, C. K.; CHOO, C. N.; NOR-AZURA, H.; KUMAR, K. Commercial-scale propagation and planting of elite oil palm clones: research and development towards realization. **Journal of Oil Palm Research**, v.23, p.935-952, 2011.

SOUSA, J.A.P.; LOPES, E.R.N.; SOUZA, J.C.; LOURENÇO, R.W. Mudanças de uso da terra e estimativas de emissões antrópicas de CO₂ em bacia hidrográfica. **Sociedade e natureza**. V.32. p.262-278. Uberlândia, MG. 2020.

SOUZA JÚNIOR, S. F. DE; ANDRADE, A. L DE; ALMEIDA, P. S. G., MARCÍLIO, H. C.; FOLMAN, R.; BEZERRA, F. F.; VILALBA, R.; SCHERER, S. Acúmulo de silício em folhas

de bananeira (*Musa* sp.). In: Congresso Brasileiro de Fruticultura, 20 e Annual Meeting the Interamerican Society for Tropical Horticulture, 54, 2008, Vitória. Anais... Vitória: SBF, 2010.

TAIZ, L. et al. Fisiologia vegetal. 6.ed. Porto Alegre: Artmed, 2017. 888p.

TARMIZI, A. H.; SAMSAUL, K. R.; ZAITON, R.; ROSLI, M. Y. Multiplication of oil palm liquid cultures in bioreactors. Journal of Oil Palm Research Special Issue on Malaysia-MIT Biotechnology Partnership Programme, v.1, p.44-50, 2008.

THAWARO S.; TE-CHATO S. Effect of genotypes and auxins on callus formation from mature zygotic embryos of hybrid oil palms. **Journal of Agricultural Technology**, v. 5, p. 167-177, 2009.

TORRES, A. C.; FERREIRA, A. T.; SÁ, F. G.; BUSO, J. A.; CALDAS, L. S.; NASCIMENTO, A. S.; BRÍGIDO, M. M.; ROMANO, E. **Glossário de biotecnologia vegetal**. Brasília: Embrapa Hortaliças, 2000. 128 p.

TOUCHET, B. D.; DUVAL, Y.; PANNETIER, C. Plant regeneration from embryogenic suspension culture of oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq). **Plant Cell Reports**. v.10, p.529-532, 1991.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE (USDA)- **National agricultural statistics service**, 2021. Disponível em <https://ipad.fas.usda.gov/cropexplorer/cropview/commodityView.aspx?cropid=4243000>. Acesso em maio de 2021.

VACULÍK M, LUX A, LUXOVÁ M, TANIMOTO E, LICHTSCHEIDL I (2009) Silicon mitigates cadmium inhibitory effects in young maize plants. **Environ Exp Bot**, v. 67, p. 52-58

VALOIS, A. C. C. Possibilidades da cultura do dendê na Amazônia. Brasília: Embrapa-Cernagen, Comunicado Técnico, v.19. 1997.

VIANA, R.G.; TUFFI SANTOS, L.D.; DEMUNER, A.J.; FERREIRA, F.A.; FERREIRA, L.R.; FERREIRA, E.A.; MACHADO, A.F.L.; SANTOS, M.V. Quantification and Chemical Composition of Epicuticular Wax of Eucalyptus Leaves. *Planta Daninha*, Viçosa-MG, v. 28, n. 4, p. 753-758, 2010.

VIÉGAS I. J. M.; MÜLLER, A. A. **A cultura do dendezeiro na Amazônia brasileira**. Embrapa. 2010. 374p.

VIÑAS, M.; JIMÉNEZ, V. M. Factores que influyen en la embriogénesis somática *in vitro* de palmas (Arecaceae). **Revista Colombiana de Biotecnología**, v. 8, p. 229-242, 2011.

VON ARNOLD, S., SABALA, I., BOZHOKOV, P., DYACHOK, J., FILONOVA, L. Developmental pathways of somatic embryogenesis. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 2002. v.69, 233-249 p.

WAHID, M. B.; ABDULLAH, S. N. A.; HENSON, I. E. Oil Palm - Achievements and Potential. **Plant Production Science**, v.8, p.288-297, 2005.

ZAMBOLIM, L.; ZANÃO JÚNIOR, L. A. Elementos benéficos envolvidos na indução da resistência de plantas a doenças. In: ZAMBOLIM, L.; VENTURA, J. A.; ZANÃO JÚNIOR,

L. A. **Efeito da nutrição mineral no controle de doenças de plantas**. Minas Gerais: UFV, 2012. p. 237-251.

ZAMBOLIM, L.; ZANÃO JÚNIOR, L. A.; VENTURA, J. A. Mecanismos de ação de silício na redução de doenças de plantas. In: **Efeito da nutrição mineral no controle de doenças de plantas**. Minas Gerais: UFV, 2012. p. 253-285.

ZHOU, T. S. The detection of the accumulation of silicon in *Phalaenopsis* (Orchidaceae). *Annals of Botany*, London, v. 75, n. 6, p. 605-607, 1995.

10. APÊNDICE

Regeneração/ maturação

- Número médio de embriões formados na etapa de regeneração/maturação

Modelo Quadrático

Coeficientes	Estimativa	Erro Padrão	Teste t	valor.p
b0	91.0914	10.8433	8.4007	0.0000
b1	151.1832	37.8961	3.9894	0.0010
b2	-121.3893	23.8974	-5.0796	0.0001

$$\hat{y}_i = 91,0914 + 151,1832 * x_i - 121,3893 * x_i^2 \quad (* \text{ p-valor} < 0,001)$$

$$R^2 = 0,9819$$

Dose ideal: 0.6227205 Produção máxima: 138.1638

Análise de variância do modelo quadrático

FV	GL	SQ	QM	Fc	valor.p
Efeito linear	1	8657.2880	8657.2880	11.8500	0.0031
Efeito quadrático	1	18852.6000	18852.6000	25.8000	< 0.0001
Desvios de Regressão	1	504.6977	504.6977	0.6900	0.4174
Resíduos	17	12421.1200	730.6541		

Germinação

- Número médio de embriões germinados

Modelo linear

Coeficientes	Estimativa	Erro Padrão	Teste t	valor.p
b0	49.8560	3.7362	13.3440	0.0000

b1	-3.2151	-3.2151	-3.2151	0.0037
-----------	---------	---------	---------	--------

$$\hat{y}_i = 49,8560 - 3,2151x_i \quad (* \text{ p-valor} < 0,0037)$$

$$R^2 = 0,951474$$

Análise de variância do modelo linear

FV	GL	SQ	QM	Fc	valor.p
Efeito linear	1	1398.6890	1398.6890	10.34	< 0.0037
Desvios de Regressão	2	71.3348	35.6674	0.26	0.77048
Resíduos	24	3247.4050	135.3085		

- **Número médio de plântulas no final das repicagem 1 e 2**

Quadro da análise de variância

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr > Fc
Tratamento	3	40.51	13.5029	1.5679	0.2058
Resíduo	64	551.18	8.6122		
Total	67	591.69			

$$CV = 56,21\%$$

Segundo o teste F as médias não podem ser consideradas diferentes

Tratamentos	Dose de CaSiO ₃	Médias
T0	0.0	5.444444
T1	0.5	6.095238
T2	1.0	4.928571
T3	1.5	4.000000

Avaliações biométricas das plântulas

- **Média da massa fresca total**

Quadro da análise de variância

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr > Fc
Tratamento	3	0.3631	0.12102	1.0042	0.39446
Resíduo	96	11.5688	0.12051		
Total	99	11.9319			

$$CV = 41,18\%$$

Segundo o teste F as médias não podem ser consideradas diferentes

Tratamentos	Dose de CaSiO ₃	Médias
T0	0.0	0.77748
T1	0.5	0.92180
T2	1.0	0.88072
T3	1.5	0.79204

- Média da massa seca total

Quadro da análise de variância

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr > Fc
Tratamento	3	0.008429	0.0028095	1.5357	0.21023
Resíduo	96	0.175629	0.0018295		
Total	99	0.184057			

CV= 36,61%

Segundo o teste F as médias não podem ser consideradas diferentes

Tratamentos	Dose de CaSiO ₃	Médias
T0	0.0	0.10692
T1	0.5	0.12944
T2	1.0	0.12168
T3	1.5	0.10932

- Comprimento médio total

Quadro da análise de variância

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr > Fc
Tratamento	3	48.26	16.087	0.60949	0.61045
Resíduo	96	2533.80	26.394		
Total	99	2582.06			

CV= 33,98%

Segundo o teste F as médias não podem ser consideradas diferentes

Tratamentos	Dose de CaSiO ₃	Médias
T0	0.0	13.98
T1	0.5	15.22
T2	1.0	15.84
T3	1.5	15.44

- Índice de qualidade de Dickson

Quadro da análise de variância

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr > Fc
Tratamento	3	0.000577	0.00019235	1.0615	0.36923
Resíduo	96	0.017396	0.00018121		
Total	99	0.017973			

CV= 53,4 %

Segundo o teste F as médias não podem ser consideradas diferentes

Tratamentos	Dose de CaSiO ₃	Médias
T0	0.0	0.02585372
T1	0.5	0.02801284
T2	1.0	0.02558824
T3	1.5	0.02138008

Análises micromorfométricas

- **Espessura média da parede Celular face abaxial**
- Modelo quadrático

Coefficientes	Estimativa	Erro Padrão	Teste t	valor.p
b0	1.2912	0.0896	14.4192	0.0000
b1	1.3605	0.2932	4.6407	0.0002
b2	-0.7463	0.1945	-3.8370	0.0012

- $\hat{y}_i = 1.2912 + 1.3605 \cdot x_i - 0.7463 \cdot x_i^2$ (* p-valor < 0.00121)
- $R^2 = 0.924819$
- Dose ideal: 0,91 g L⁻¹ Espessura máxima: 1,91µm
- Análise de variância do modelo quadrático

FV	GL	SQ	QM	Fc	valor.p
Efeito linear	1	0.5263	0.5263	10.41	0.00469
Efeito quadrático	1	0.7446	0.7446	14.72	< 0.00121
Desvios de Regressão	1	0.1033	0.1033	2.04	0.17005
Resíduos	18	0.9104	0.0506		

- **Espessura média da parede Celular face adaxial**
- Quadro da análise de variância

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr > Fc
Tratamento	3	0.8883	0.29611	1.7684	0.18559
Resíduo	20	3.3490	0.16745		
Total	23	4.2373			

- CV= 24,06 %
- Segundo o teste F as médias não podem ser consideradas diferentes

Tratamentos	Dose de CaSiO ₃	Médias
T0	0.0	1.394650
T1	0.5	1.679483
T2	1.0	1.877800
T3	1.5	1.850950

- **Espessura média do mesofilo**

Quadro da análise de variância

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr > Fc
Tratamento	3	661.8	220.59	1.7021	0.19872
Resíduo	20	2592.1	129.60		
Total	23	3253.9			

CV= 10,41%

Segundo o teste F as médias não podem ser consideradas diferentes

Tratamentos	Dose de CaSiO ₃	Médias
T0	0.0	109.6767
T1	0.5	107.8100
T2	1.0	117.3500
T3	1.5	102.7300

- **Espessura média da epiderme adaxial**

Quadro da análise de variância

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr > Fc
Tratamento	3	7.280	2.4265	0.87486	0.47064
Resíduo	20	55.473	2.7736		
Total	23	62.753			

CV= 14,43%

Segundo o teste F as médias não podem ser consideradas diferentes

Tratamentos	Dose de CaSiO ₃	Médias
T0	0.0	10.82667
T1	0.5	12.36500
T2	1.0	11.39333
T3	1.5	11.58833

- **Espessura média da epiderme abaxial**

Modelo quadrático

Coefficientes	Estimativa	Erro Padrão	Teste t	valor.p
b0	8.7390	0.4939	17.6954	0.0000
b1	1.6663	1.5862	1.0505	0.3060
b2	-1.7833	1.0134	-1.7598	0.0937

$$\hat{y}_i = 8.7390 + 1.6663 \cdot x_i - 1.7833 \cdot x_i^2 \quad (* \text{ p-valor} < 0.09373)$$

$$R^2 = 0,920717$$

Dose ideal: 0,47 g L⁻¹ Espessura máxima: 9,13 µm

Análise de variância do modelo quadrático

FV	GL	SQ	QM	Fc	valor.p
Efeito linear	1	7.6306	7.6306	4.95	0.0377
Efeito quadrático	1	4.7704	4.7704	3.1	< 0.09373
Desvios de Regressão	1	1.0678	1.0678	0.69	0.4149
Resíduos	20	30.8079	1.5404		

- **Quantidade de cera epicuticular**

Modelo quadrático

Coefficientes	Estimativa	Erro Padrão	Teste t	valor.p
b0	0.1142	0.0065	17.5511	0.0000
b1	-0.1285	0.0209	-6.1519	0.00005
b2	0.0535	0.0134	4.0085	0.0017

$$\hat{y}_i = 0.1142 - 0.1285 \cdot x_i + 0.0535 \cdot x_i^2 \quad (* \text{ p-valor} < 0.00173)$$

$$R^2 = 0,998091$$

Dose ideal: 0.0 Deposição máxima: 0,1135800 µg/cm²

Análise de variância do modelo quadrático

FV	GL	SQ	QM	Fc	valor.p
Efeito linear	1	0.0117	0.0117	65.39	0.0000
Efeito quadrático	1	0.0029	0.0029	16.07	< 0.00173
Desvios de Regressão	1	0.00003	0.00003	0.16	0.7
Resíduos	12	0.0021	0.0002		

Avaliações biométricas das mudas

- **Média da massa fresca total**

Quadro da análise de variância

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr > Fc
Tratamento	3	5.14	1.7134	0.24738	0.86298
Resíduo	82	567.94	6.9261		
Total	85	573.08			

CV= 50,29%

Segundo o teste F as médias não podem ser consideradas diferentes

Tratamentos	Dose de CaSiO₃	Médias
T0	0.0	5.643810
T1	0.5	5.108261
T2	1.0	4.987500
T3	1.5	5.194364

- **Média da massa seca total**

Quadro da análise de variância

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr > Fc
Tratamento	3	0.01308	0.0043613	0.54476	0.65305
Resíduo	82	0.65648	0.0080058		
Total	85	0.66956			

CV= 60,27%

Segundo o teste F as médias não podem ser consideradas diferentes

Tratamentos	Dose de CaSiO₃	Médias
T0	0.0	0.1699524
T1	0.5	0.1419130
T2	1.0	0.1387500
T3	1.5	0.1436364

- **Comprimento médio total**

Quadro da análise de variância

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr > Fc
Tratamento	3	54.62	18.206	0.51436	0.67353
Resíduo	82	2902.43	35.396		
Total	85	2957.05			

CV= 16,73%

Segundo o teste F as médias não podem ser consideradas diferentes

Tratamentos	Dose de CaSiO₃	Médias
T0	0.0	35.57143
T1	0.5	34.53261
T2	1.0	35.42500
T3	1.5	36.72727

- **Índice de qualidade de Dickson**

Quadro da análise de variância

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr > Fc
Tratamento	3	0.01308	0.0043613	0.54476	0.65305
Resíduo	82	0.65648	0.0080058		
Total	85	0.66956			

CV= 60,27%

Segundo o teste F as médias não podem ser consideradas diferentes

Tratamentos	Dose de CaSiO₃	Médias
T0	0.0	0.1699524
T1	0.5	0.1419130
T2	1.0	0.1387500
T3	1.5	0.1436364