



Nitrato de prata e tiosulfato de prata como inibidores da ação do etileno em cultivo in vitro de *Annona glabra* L.

Silver nitrate and silver thiosulfate as inhibitors of the action of ethylene in vitro cultivation of *Annona glabra* L.

Ana Rosa de Oliveira Farias¹, Cibele Merched Gallo²,
José Dailson Silva de Oliveira³, Hilda Rafaella da Silva Santos⁴,
Leila de Paula Rezende⁵, Eurico Eduardo Pinto de Lemos⁶

¹ORCID: 0000-0002-1593-5293 Engenheira Agrônoma; Universidade Federal de Alagoas (UFAL); Rio Largo, Alagoas, BRAZIL. E-mail: arfarias2015@gmail.com;

²ORCID: 0000-0002-0157-8504 Professora; Faculdade São Vicente de Pão de Açúcar (FASVIPA), Pão de Açúcar, Alagoas, BRAZIL. E-mail: cibelegallo@hotmail.com;

³ORCID: 0000-0001-8395-2856 Estudante de pós-graduação em agronomia; Universidade Federal de Alagoas (UFAL); Rio Largo, Alagoas, BRAZIL, E-mail: dailsonoliveira00@gmail.com;

⁴ORCID: 0000-0003-3893-125X Engenheira Agrônoma; Universidade Federal de Alagoas (UFAL); Rio Largo, Alagoas, BRAZIL. E-mail: hildarafaella@gmail.com;

⁵ORCID: 0000-0002-9283-8745 Professora, Universidade Federal de Alagoas (UFAL); Rio Largo, Alagoas, BRAZIL. E-mail: leilarezende02@hotmail.com;

⁶ORCID: 0000-0002-0299-5676 Professor, Universidade Federal de Alagoas (UFAL); Rio Largo, Alagoas, BRAZIL. E-mail: eurico@ceca.ufal.br.

Todo o conteúdo expresso neste artigo é de inteira responsabilidade dos seus autores.

Recebido em: 16 de junho de 2020; Aceito em: 17 de julho de 2020; publicado em 10 de 10 de 2020. Copyright © Autor, 2020.

RESUMO: A *Annona glabra* L., espécie frutífera tropical pertencente à família Annonaceae, tem despertado o interesse por partes de pesquisadores devido a sua capacidade adaptativa a ambientes extremos, possuindo grande potencial como porta-enxerto para espécies do mesmo gênero. Uma das dificuldades relatadas na literatura na propagação sexuada dessa espécie, é a lentidão no processo germinativo, com acentuada desuniformidade. Métodos de propagação assexuada, como o cultivo in vitro, apresentam algumas limitações, dentre elas, o acúmulo de etileno no microambiente formado no interior do frasco, provocando abscisão foliar precoce nos explantes. Esse trabalho objetivou estudar dois inibidores da ação do etileno, nitrato de prata e tiosulfato de prata no cultivo in vitro de *Annona glabra* L. Os explantes foram obtidos de ramos vegetativos jovens de plantas matrizes com 3 anos de idade, cultivadas no viveiro do Laboratório de Biotecnologia Vegetal do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Alagoas. Os experimentos foram realizados em delineamento inteiramente casualizado, constituído de 4 tratamentos e 20 repetições. O meio de cultura utilizado nos dois experimentos foi o MS, suplementado com 30g L⁻¹ de sacarose e 7g L⁻¹ de ágar. As concentrações testadas foram: 0; 0,2; 2,0 e 20,0 µmol L⁻¹ de nitrato de prata e tiosulfato de prata respectivamente, adicionadas ao meio MS. O inibidor da ação do etileno, tiosulfato de prata, foi mais eficiente para reduzir a abscisão foliar precoce no estabelecimento in vitro da espécie em estudo.

PALAVRAS-CHAVE: Araticum-do-brejo, micropropagação, abscisão foliar.

ABSTRACT: *Annona glabra* L., a tropical fruit species belonging to the Annonaceae family, has attracted interest from researchers because of its adaptive capacity to extreme environments, having great potential as a rootstock for species of the same genus. One of the difficulties reported in the literature regarding the sexual propagation of this species is the slow germination process, with marked unevenness. Asexual propagation methods, such as in vitro cultivation, have some limitations, among them, the accumulation of ethylene in the microenvironment formed inside the flask, causing early leaf abscission in the explants. This work aimed to study two inhibitors of the action of ethylene, silver nitrate and silver thiosulfate on in vitro cultivation of *Annona glabra* L. The explants were obtained from young vegetative branches of 3-year-old mother plants grown in the nursery of Plant Biotechnology, Center for Agricultural Sciences, Federal University of Alagoas. The experiments were performed in a completely randomized design, consisting of 4 treatments and 20 replications. The culture medium used in both experiments was MS supplemented with 30g L⁻¹ sucrose and 7g L⁻¹ agar. The concentrations tested were: 0; 0.2; 2.0 and 20.0 µmol L⁻¹ of silver nitrate and silver thiosulfate respectively, added to MS medium. The ethylene action inhibitor, silver thiosulfate, was more efficient to reduce early leaf abscission in the in vitro establishment of the species under study.

KEYWORDS: Araticum-do-brejo, micropropagation, foliar abscission.

INTRODUÇÃO

Annona glabra L., espécie frutífera tropical pertencente à família Annonaceae e nativa de solos brasileiros, é uma árvore de pequeno porte, encontrada geralmente em áreas costeiras, popularmente conhecida como Araticum do brejo, Araticum liso, Araticum do mangue, Araticum bravo ou Araticunzeiro (BRAGA, 1976; SIEBRA, 2009).

Esta espécie destaca-se entre as anonáceas cultivadas, por apresentar características agrônômicas desejáveis, com potencial como porta-enxerto para outras espécies do mesmo táxon, como a gravioleira (*Annona muricata*) e a pinheira (*Annona squamosa*), devido a tolerância de seu sistema radicular a condições de excesso de umidade do solo, indicando capacidade adaptativa a condições adversas (BRAGA, 1976; CARVALHO et al., 2001).

Diversas pesquisas apontam também seu potencial alelopático (MATSUMOTO et al., 2010), fitofarmacológico, propriedades antibactericidas, antifúngicas, inseticidas e citotóxicas (PADMAJA et al., 1995).

Sabe-se, entretanto, que muitas espécies de anonáceas apresentam problemas na propagação sexuada, ocorrendo segregação genética em plantas heterozigóticas, longo período para a planta atingir a maturidade fisiológica (COSTA et al., 2014), e a lentidão no processo germinativo de sementes, com acentuada desuniformidade, o que sugere algum mecanismo de dormência regulando a germinação (CARVALHO et al., 2001).

O interesse por métodos de propagação assexuada de anonáceas tem crescido, a partir de técnicas como enxertia de *Annona muricata* L. (CARVALHO et al., 2000), enxertia precoce de *Annona squamosa* L. (LEMOS, 2014), estaquia em anonáceas (SCALOPPI JÚNIOR; MARTINS, 2014) e estaquia de *Annona squamosa* L., utilizando ácido indolbutírico (SALVADOR et al., 2014).

A micropropagação de anonáceas é uma excelente alternativa para a produção em larga escala desse material, todavia, uma das dificuldades relatadas por Lemos (2000), é o acúmulo de etileno nos tecidos confinados no ambiente de cultivo in vitro, provocando a abscisão foliar precoce dos explantes, prejudicando o vigor e o crescimento das brotações. Desta forma, o uso de inibidores da ação do etileno com íons de prata são uma alternativa para superar este obstáculo encontrado no cultivo in vitro, tendo em vista

que a prata impede a transdução de sinal para os componentes seguintes da cadeia de sinalização do etileno (TAIZ; ZEIGER 2016).

Em experimento in vitro com explantes de *Annona squamosa* L., o íon Ag^+ (Nitrato de Prata e Tiosulfato de Prata) foram eficientes no controle da abscisão foliar precoce dessa espécie, bloqueando a ação do etileno (LEMOS; BLAKE, 1994). Diante do exposto, o objetivo deste trabalho foi estudar o efeito desses dois inibidores da ação do etileno, no cultivo in vitro de *Annona glabra* L.

MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos no período de novembro de 2017 a julho de 2018, no Laboratório de Biotecnologia Vegetal do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Alagoas em Rio Largo-AL (9° 27' 57" S, 34° 50' 1" W e 127 m de altitude).

As plantas matrizes de *Annona glabra* L., com 3 anos de idade, utilizadas para obtenção do material vegetal, foram propagadas por sementes provenientes de Garça Torta-Maceió-AL, cultivadas em vasos e mantidas no viveiro do respectivo laboratório.

Inibição da ação do etileno utilizando Nitrato de Prata e Tiosulfato de Prata no cultivo in vitro de *Annona glabra* L.

Em ambos os experimentos, o material vegetal utilizado foi obtido de ramos vegetativos jovens de *Annona glabra* L., realizando-se em seguida a remoção de suas folhas. A desinfestação foi realizada em câmara de fluxo laminar, onde os segmentos caulinares com aproximadamente 10 cm foram imersos em álcool 70% por 1 minuto. Depois, foram imersos em hipoclorito de sódio 2% por 15 minutos e lavados, por 3 vezes, em água destilada e estéril.

Cada repetição foi representada por um explante, padronizado em torno de 3 cm e com uma gema axilar. Colocados em meio MS suplementado com 30g L⁻¹ de sacarose, 7g L⁻¹ de ágar, pH ajustado para 5,8 e autoclavagem a 121°C por 20 minutos. As concentrações testadas foram:

0; 0,2; 2,0 e 20,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de nitrato de prata e tiosulfato de prata respectivamente, adicionadas ao meio MS. Após inoculação, os explantes foram mantidos em sala de crescimento à $25 \pm 2^\circ\text{C}$, em fotoperíodo de 16 horas e densidade de fluxo luminoso de $36 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

Aos 30 dias, as variáveis foram avaliadas com o intuito de verificar a ação das concentrações dos inibidores adicionados ao meio de cultura, são elas: presença de brotações, número de brotações, comprimento de brotações, número de folhas verdes e/ou amarelas, presença de raiz e presença de oxidação.

Após a avaliação, o material foi transferido para meio de cultura MS, adicionado do inibidor e concentração que apresentou melhor resultado para o cultivo in vitro da espécie.

Delineamento experimental e análise estatística dos dados

Os experimentos foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado, constituído por 4 tratamentos e 20 repetições, sendo cada repetição constituída por um frasco contendo um explante. Os dados experimentais foram submetidos a análise de variância e as médias comparadas pelo teste F de Tukey à 5% de probabilidade, utilizando-se o software SISVAR (VANDERLEI, 2018).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Inibição da ação do etileno utilizando Nitrato de Prata (AgNO_3)

Após 30 dias, devido ao experimento ter sido realizado na etapa de estabelecimento in vitro, já era esperado que não houvesse números elevados nas variáveis analisadas, por se tratar da primeira etapa do cultivo in vitro. Desta forma, não foi verificada diferença significativa em todas variáveis analisadas, com destaque para as médias referentes a variável “número de folhas amarelas” a qual demonstra eficiência do inibidor na quase total ausência de folhas com senescência precoce (Tabela 1).

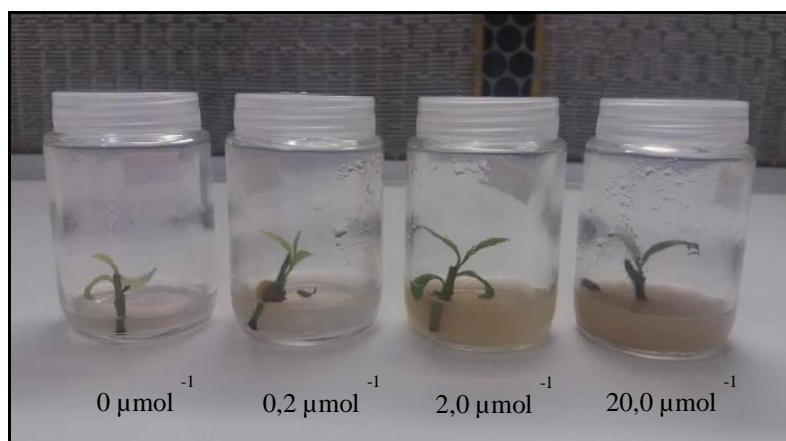
Tabela 1: Presença de brotações, comprimento de brotações, número de folhas verdes e amareladas de *Annona glabra* L., em diferentes concentrações do inibidor da ação do etileno nitrato de prata (AgNO_3), 30 dias após o estabelecimento.

CONCENTRAÇÃO DE AgNO_3 $\mu\text{mol L}^{-1}$	PRESENÇA DE BROTAÇÃO (%)	COMPRIMENTO DE BROTAÇÃO (cm)	NÚMERO DE FOLHAS VERDES	NÚMERO DE FOLHAS AMARELAS
0,0	80 a*	0,30 a	1,6 a	0,15 a
0,2	90 a	0,32 a	2,1 a	0,0 a
2,0	84 a	0,32 a	2,2 a	0,1 a
20,0	80 a	0,24 a	1,9 a	0,0 a

*Médias seguidas de letras iguais minúsculas na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

O uso de nitrato de prata como antagonista do etileno, tem sido relatado na literatura, pois inibe componentes da cadeia de sinalização deste hormônio (SAINÉ, 2013). Os íons Ag^+ alteram a capacidade dos receptores de se ligarem ao etileno (SRIDHAR et al., 2011) impedindo que, durante o cultivo in vitro, haja acúmulo deste gás e consequentemente o seu efeito no material vegetal utilizado. Apesar de não haver diferença significativa, visualmente foi possível observar que a presença de AgNO_3 no meio de cultura, na concentração de $2,0 \mu\text{mol L}^{-1}$, favoreceu no surgimento e permanência de folhas verdes (Figura 1).

Figura 1. Explantes de *Annona glabra* L., após 30 dias do cultivo in vitro com o inibidor da ação do etileno, nitrato de prata. CECA-UFAL, Rio Largo, AL.



Fonte: Cibele Merched Gallo.

Tecidos meristemáticos e regiões nodais geralmente apresentam uma produção mais elevada do etileno, observado durante a abscisão foliar, estimulado pela interação entre auxina e etileno. A auxina regula a expressão de um gene de uma ou mais isoformas da ACC (ácido 1-carboxílico -1- aminociclopropano), que codifica para uma enzima chave na biossíntese de etileno. O papel desempenhado pelo aumento de etileno dependente de auxina ainda não é claro, mas curiosamente, a biossíntese de auxinas e a sinalização de etileno são inibidas pela proteína CTR1 (SAINÉ, 2013). Tendo em vista que o material vegetal neste estudo foi proveniente de ramos vegetativos jovens, com uma gema axilar, há comprovadamente elevada produção do etileno no cultivo in vitro de *Annona glabra* L (LEMOS; BLAKE, 1994). Assim sendo, a coleta do material vegetal, seguida do processo de desinfestação e o estabelecimento in vitro, provavelmente promoveu maior estresse dos explantes e conseqüentemente maior produção de etileno no ambiente de cultivo in vitro de *Annona glabra* L.

No estudo acerca do controle da abscisão foliar e morfogênese in vitro em cultura de Angico (*Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan), a presença de nitrato de prata em meio de cultura promoveu maior número de gemas e brotações, embora esse inibidor tenha sido pouco eficiente no controle da abscisão foliar (NEPOMUCENO, 2007). Em Oliveira (*Olea europaea* L.), cultivar “Arbequina”, o uso de AgNO₃ ao meio de cultura, promoveu maior comprimento de brotações (DONINI et al, 2011). Em *Annona glabra* L., não houve diferença significativa na indução de brotações, embora tenha ocorrido alta percentagem, porém, baixo comprimento. Isso pode ser explicado devido ao trabalho ter sido realizado na etapa de estabelecimento in vitro.

O uso de nitrato de prata pode apresentar efeitos inibitórios na produção e função do etileno no cultivo in vitro, mas, é possível que as plantas adquiram alguma estratégia para aumentar a tolerância a este componente (TAHOORI, 2018). Dessa forma, observa-se que explantes de *Annona glabra* L. submetidos a concentrações de nitrato de prata, apresentaram um possível efeito inibitório da ação do etileno, porém, há necessidade de outras pesquisas com outras concentrações, para comprovação e obtenção de mais resultados.

Inibição da ação do etileno utilizando Tioossulfato de Prata (STS)

Aos 30 dias do estabelecimento in vitro de *Annona glabra* L., observou-se diferença estatística somente para a variável folhas amarelas a qual o tratamento controle e a menor concentração do inibidor (0,2 $\mu\text{mol L}^{-1}$) apresentaram maiores médias (0,73 e 0,26, respectivamente) (Tabela 2).

Tabela 2. Presença de brotações, comprimento de brotações, número de folhas verdes e amareladas de *Annona glabra* L., em diferentes concentrações do inibidor da ação do etileno tioossulfato de prata (STS), 30 dias após o estabelecimento.

CONCENTRAÇÃO DE STS $\mu\text{mol L}^{-1}$	PRESENÇA DE BROTAÇÃO (%)	COMPRIMENTO DE BROTAÇÃO (cm)	NÚMERO DE FOLHAS VERDES	NÚMERO DE FOLHAS AMARELAS
0,0	80 a*	0,22 a	1,9 a	0,73 b
0,2	86 a	0,16 a	2,1 a	0,26 b
2,0	86 a	0,25 a	2,6 a	0,0 a
20,0	86 a	0,26 a	2,0 a	0,0 a

*Médias seguidas por letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

As concentrações de 2,0 e 20,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de tioossulfato de prata foram os tratamentos mais eficientes para a reduzir o número de folhas amarelas (abscisão foliar), durante os 30 dias de cultivo in vitro de *Annona glabra* L. Em contraste, na ausência de STS e em sua menor concentração no meio de cultura, observou-se número significativo de folhas amarelas, provocado pelo acúmulo de etileno e possivelmente pela sua maior produção devido ao estresse gerado desde a coleta do material até o seu estabelecimento.

No cultivo in vitro, o etileno pode se acumular em grandes quantidades, influenciando no crescimento e desenvolvimento do explante, acelerando o processo de senescência foliar, o que é observado em algumas espécies da família Annonaceae. A via de transdução de sinal do etileno é bloqueada pelos íons de prata, substituindo os íons de cobre nos receptores de etileno, recurso bastante relatado (GUPTA, 2014; LEMOS; BLAKE, 1996).

Os resultados já obtidos com *Annona squamosa* L. e *Annona glabra* L. podem estar associados a maior mobilidade do STS nas plantas, apresentando menores problemas de fitotoxidez, com resultados superiores ao uso de nitrato de prata (VEEN; VAN DE GEIJN, 1978). O uso de tiosulfato de prata apresenta também ação protetora sobre o estresse oxidativo nos tecidos, promovendo atraso na senescência foliar (PIMENTA et al., 2013).

O etileno provoca inibição do crescimento das raízes, sendo estas consideradas um sistema de órgãos vitais das plantas devido a aquisição de água e nutrientes (SAINI et al., 2013). Foi possível observar após dois subcultivos do material proveniente do experimento com tiosulfato de prata que explantes de *Annona glabra* L. formaram raízes (Figura 2).

Figura 2. Explantes de *Annona glabra* L., enraizados após 90 dias de cultivo in vitro. CECA-UFAL, Rio Largo, AL.



Fonte: Ana Rosa de Oliveira Farias.

No crescimento in vitro do porta-enxerto de Macieira Morubakaido (*Malus domestica*), Medeiro (2002) verificou que a potencial inibição do mecanismo de ação do etileno não estimula a proliferação de brotações laterais quando submetida a diferentes concentrações de STS.

Diante do exposto, observa-se que explantes submetidos a concentrações de tiosulfato de prata, apresentam melhores resultados, devido a inibição da ação do etileno diminuindo a abscisão foliar precoce no cultivo in vitro de *Annona glabra* L.

CONCLUSÃO

O uso do inibidor da ação do etileno tiosulfato de prata (STS), é eficiente na fase de estabelecimento in vitro de *Annona glabra* L.

A adição do nitrato de prata no meio de cultura não influencia no cultivo in vitro de *Annona glabra* L.

REFERÊNCIAS

1. ANDRADE, S. R. M. *Princípios da cultura de tecidos vegetais*. Embrapa Cerrados- Documentos (INFOTECA-E), 2002.
2. BRAGA, R. *Plantas do Nordeste, especialmente do Ceará*. 3.ed. Mossoró: ESAM, 540 p. 1976. BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/biodiversidade/biodiversidade-brasileira>>. Acesso em: 20 mar. 2020.
3. CARVALHO, J.E.U.; RIBEIRO, M.A.C.; NASCIMENTO, W. M. O.; MULLER, C.N. *Enxertia da gravioleira (Annona muricata L.) em porta-enxertos dos gêneros Annona e Rollinia*. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, p.4, 2000. (Comunicado Técnico, 27).
4. CARVALHO, J. E. U.; NASCIMENTO, W. M. O.; MÜLLER, C. H. “Tolerância de sementes de Araticum-do-brejo (*Annona glabra* L.) ao dessecamento e ao congelamento”. *Revista Brasileira. Fruticultura*. Jaboticabal- SP, v. 23, n. I, p. 179-182, abril 2001.
5. COSTA, J. G. et al. *Recomendações técnicas para produção de sementes e mudas de Pinheira*. Embrapa Tabuleiros Costeiros-Artigo de divulgação na mídia (INFOTECA-E), 2014.
6. DONINI, L. P.; FIGUEIREDO, G. S.; SCHUCH, M. W. “Nitrato de prata e diferentes tipos de vedação na multiplicação in vitro de oliveira 'Arbequina'”. *Ciência Rural*, v. 41, n. 9, 2011.
7. FLORES, R. et al. “Otimização da micropropagação de *Pfaffia tuberosa* (Spreng.) Hicken”. *Ciência Rural*, 2006.

8. GASPAR, T. et al. "Concepts in plant stress physiology. Application to plant tissue cultures". *Plant Growth Regulation*, v. 37, n. 3, p. 263-285, 2002.
9. GUPTA, G. *Effects of Silver Nitrate and Silver Thiosulfate on Growth Characteristics of Micropropagated Potato (Solanum tuberosum L.) Plantlets and Regeneration Efficiency of the Explants*. Dissertação, 2014.
10. IQBAL, N. et al. "Ethylene role in plant growth, development and senescence: interaction with other phytohormones". *Frontiers in plant science*, v. 8, p. 475, 2017.
11. LEMOS, E. E. P.; BLAKE, J. "Leaf abscission in micropropagated sugar apple (*Annona squamosa* L.)". In: *Physiology, growth and development of plants in culture*, 1994. p. 227-233.
12. LEMOS, E. E. P.; BLAKE, J. "Control of leaf abscission in nodal cultures of *Annona squamosa* L". *Journal of Horticultural Science*, v. 71, n. 5, p. 721-728, 1996.
13. LEMOS, E. E. P. "Organogênese e micropropagação em anonáceas". In: *Workshop Sobre Avanços na Propagação de Plantas Lenhosas, 3.*, Lavras. Anais. Lavras: UFLA, p. 4-21. 2000.
14. LEMOS, E. E. P. "A produção de anonáceas no Brasil". *V Congresso Internacional & Encontro Brasileiro sobre Annonaceae: do gene à exportação*. v. 36, edição especial, e., p. 077-085, janeiro 2014.
15. MATSUMOTO, R. S. et al. "Potencial alelopático do extrato foliar de *Annona glabra* L. (Annonaceae)". *Acta Botanica Brasilica*, v. 24, n. 3, p. 631-635, 2010.
16. MEDEIRO, S. A. "Moduladores da biossíntese e do mecanismo de ação do etileno sobre o crescimento in vitro do porta-enxerto de macieira Marubakaido". *Scientia Agrária*, v. 3, n. 1, p. 122-122, 2002.
17. NEPOMUCENO, C. F. et al. "Controle da abscisão foliar e morfogênese in vitro em culturas de *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan var. cebil (Griseb) Altschul". *Revista Árvore*, v. 31, n. 5, p. 967-975, 2007.
18. PADMAJA, V.; THANKAMANY, V.; HARA, N.; FUJIMOTO, Y.; HISHAM, A. "Biological activities of *Annona glabra*". *Journal of Ethnopharmacology*, Clare, v. 48, n. 1, p. 21-24, 1995.

19. PIMENTA, M. R. et al. "Ethylene synthesis inhibition effects on oxidative stress and in vitro conservation of *Lippia filifolia* (Verbenaceae)". *Brazilian Journal of Biology*, v. 73, n. 3, p. 617-621, 2013.
20. SAINI, S. et al. "Auxin: a master regulator in plant root development". *Plant cell reports*, v. 32, n. 6, p. 741-757, 2013.
21. SALVADOR, T. L. et al. "Enraizamento de estacas de pinheira (*Annona squamosa* L.) com ácido indolbutírico". *Revista Brasileira de Fruticultura*, v. 36, p. 310-314, 2014.
22. SCALOPPI JR, E. J.; MARTINS, A. B. G. "Estaquia em Anonas". *Revista Brasileira de Fruticultura*, p. 147-156, 2014.
23. SIEBRA, Christian A. et al. "Potencial antiinflamatório de *Annona glabra*, Annonaceae". *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 19, n. 1A, p. 82-88, 2009.
24. SRIDHAR, T. M.; PREETHI, D.; NAIDU, C. V. *Effect of silver thiosulphate on In Vitro plant regeneration of Solanum nigrum (Linn.) - An important antiulcer medicinal plant*. Current Botany, 2011.
25. TAHOORI, F. et al. "Effects of silver nitrate (AgNO_3) on growth and anatomical structure of vegetative organs of liquorice (*Glycyrrhiza glabra* L.) under in vitro condition". *Plant Omics*, v. 11, n. 3, p. 153, 2018.
26. TAIZ, L.; ZEIGER, *Fisiologia Vegetal*. 6ª edição. Porto Alegre: Artmed, 888p. 2016
27. VANDERLEI, P. V. *Estatística experimental aplicada às Ciências Agrárias*. Editora UFV. 590p. 2018.
28. VEEN, H.; VAN DE GEIJN, S. C. "Mobility and ionic form of silver as related to longevity of cut carnations". *Planta*, v. 140, n. 1, p. 93-96, 1978.