

## Fontes de silício na micropropagação de orquídea do grupo *Cattleya*

Joyce Doria Rodrigues Soares\*, Moacir Pasqual, Filipe Almendagna Rodrigues, Fabiola Villa e Aparecida Gomes de Araujo

Departamento de Agricultura, Universidade Federal de Lavras, Cx. Postal 3037, 37200-000, Lavras, Minas Gerais, Brasil.

\*Autor para correspondência. E-mail: joycerodrigues01@yahoo.com.br

**RESUMO.** O objetivo deste trabalho foi determinar a fonte de silício que proporcione melhor crescimento em plântulas de *Cattleya loddigesii*. Plântulas oriundas de sementes germinadas *in vitro* com aproximadamente 1,0 cm de comprimento foram inoculadas em tubos de ensaio contendo 15 mL de meio de cultura Knudson C modificado, acrescido de silicato de sódio (0, 5, 10 e 20 mg L<sup>-1</sup>) e silicato de potássio (0, 5, 10 e 20 mL L<sup>-1</sup>), em todas as combinações possíveis. O meio de cultura teve seu pH ajustado para 5,8 ± 0,1 e solidificado com 5 g L<sup>-1</sup> de ágar antes do processo de autoclavagem a 121°C e 1 atm por 20 min. O cultivo foi mantido em sala de crescimento com irradiância de 35 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>, temperatura de 25 ± 1°C e fotoperíodo de 16h. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em esquema fatorial, com cinco repetições e 20 plântulas por tratamento. Plântulas de *C. loddigesii* apresentam maior crescimento (número de raízes, comprimento da parte aérea e de raízes) em meio de cultura Knudson C modificado adicionado de 5 mL L<sup>-1</sup> de silicato de potássio e de 20 mg L<sup>-1</sup> de silicato de sódio. Maior número de brotos é verificado com a adição de 5 mL L<sup>-1</sup> de silicato de potássio em meio Knudson C modificado, na ausência de silicato de sódio.

**Palavras-chave:** *Cattleya loddigesii*, meio de cultura, Orchidaceae, cultura de tecidos.

### **ABSTRACT. Silicon sources in the micropropagation of the *Cattleya* group orchid.**

The purpose of this study was to determine the silicon source that provides better growth of *Cattleya loddigesii* orchid plants. Seedlings from seeds germinated *in vitro* with approximately 1.0 cm in length were inoculated in tubes containing 15 mL of modified Knudson C culture medium, added with sodium silicate (0, 5, 10 and 20 mg L<sup>-1</sup>) and potassium silicate (0, 5, 10 and 20 mL L<sup>-1</sup>), in all possible combinations. The culture medium had its pH adjusted to 5.8 ± 0.1 and solidified with 5 g L<sup>-1</sup> of agar before the sterilization process at 121°C and 1 atm for 20 minutes. The cultures were maintained in a growth room with irradiance around 35 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>, temperature of 25±1°C and photoperiod of 16 hours. The experimental design was completely randomized in a factorial scheme with 5 replications and 20 seedlings per treatment. Seedlings of *C. loddigesii* presented better growth (number of roots, length of the aerial part and of roots) in the modified Knudson C culture medium added with 5 mL L<sup>-1</sup> of potassium silicate and 20 mg L<sup>-1</sup> of sodium silicate. A larger number of shoots is observed with the addition of 5 mL L<sup>-1</sup> potassium silicate in culture medium, in the absence of sodium silicate.

**Keywords:** *Cattleya loddigesii*, culture medium, Orchidaceae, tissue culture.

### **Introdução**

As orquídeas são conhecidas não só pela sua importância ornamental, mas também industrial. O elevado número de espécies e híbridos tropicais possibilita variadas formas, cores e flores, exploradas comercialmente em todo mundo. O gênero *Cattleya*, de ocorrência natural no Brasil (PAULA; SILVA, 2001), é bastante popular e atinge altos preços no mercado interno e externo, procurado por colecionadores, orquidófilos, decoradores de ambiente e apreciadores.

Essas espécies podem ser propagadas tanto por meio de sementes como vegetativamente, e se utiliza

a cultura de tecidos para a obtenção de grande quantidade de mudas em curto espaço de tempo e esta técnica tem sido utilizada para estudos de propagação *in vitro*, fitopatologia e nutrição mineral (SOARES et al., 2008). Segundo Lone et al. (2008), a propagação *in vitro* de orquídeas via sementes possibilita maior aproveitamento das sementes, pois favorece a germinação de grande parte delas.

O silício (Si) é absorvido pelas plantas em grandes quantidades. Em muitas espécies os teores encontrados nos tecidos superam os de nitrogênio e potássio, considerados um componente essencial, atualmente incluído como micronutriente (BRASIL,

2004). Depois do  $O_2$ , é o elemento mais abundante da crosta terrestre, sendo o maior componente de minerais do grupo dos silicatos (CAMARGO et al., 2007).

A sílica solúvel tem sido pouco estudada, principalmente pelo fato do silício não ser elemento essencial às plantas. Entretanto, inúmeros trabalhos em campo têm demonstrado o efeito benéfico da sua utilização em diversas culturas. A sua função estrutural na parede celular pode elevar os conteúdos de hemicelulose e lignina, aumentando a rigidez da célula. A ação benéfica do silício tem sido associada a diversos efeitos indiretos como aumento da eficiência da capacidade fotossintética, redução da transpiração e aumento da resistência mecânica das células (CAMARGO et al., 2007).

Vários produtos à base de Si têm sido testados em trabalhos com diferentes culturas, como por exemplo, silicato de sódio em cafeeiro (BOTELHO et al., 2005), sílica gel em alface (LUZ et al., 2006), silício em arroz irrigado por aspersão (REIS et al., 2008), silicato de cálcio em arroz de sequeiro (BARBOSA FILHO et al., 2001), silicato de potássio em orquídea e alface (SOARES et al., 2008; RESENDE et al., 2005) etc. No entanto, a sua utilização *in vitro* pouco tem sido estudada, sendo assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de fontes de silício (Si) sobre características de crescimento e multiplicação *in vitro* de *Cattleya loddigesii*.

## Material e métodos

O trabalho foi conduzido no Laboratório de Cultura de Tecidos do Departamento de Agricultura, da Universidade Federal de Lavras, no município de Lavras, região Sul do Estado de Minas Gerais, a 918 m de altitude, latitude  $21^{\circ}14'S$  e longitude  $45^{\circ}00'GRW$ . Segundo a classificação climática de Köppen, o clima regional é do tipo Cwa, com características Cwb, apresentando duas estações definidas: seca, com temperaturas mais baixas de abril a setembro, e chuvosa, com temperaturas mais elevadas, de outubro a março. O experimento foi realizado entre os meses de janeiro e maio de 2008.

Plântulas de *Cattleya loddigesii* 'Tipo', obtidas por meio de germinação *in vitro* de sementes oriundas de autofecundação, foram transferidas para meio de cultura Knudson C (KNUDSON, 1946) modificado em  $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$  (de 0,331 para 6,62  $mg L^{-1}$ ),  $H_3BO_3$  (de 0,056 para 1,4  $mg L^{-1}$ ) e  $MnSO_4 \cdot H_2O$  (de 7,5 para 15  $mg L^{-1}$ ) permanecendo por três meses para uniformização. Após este período, cada plântula de aproximadamente 1,0 cm de comprimento foi inoculada em um tubo de

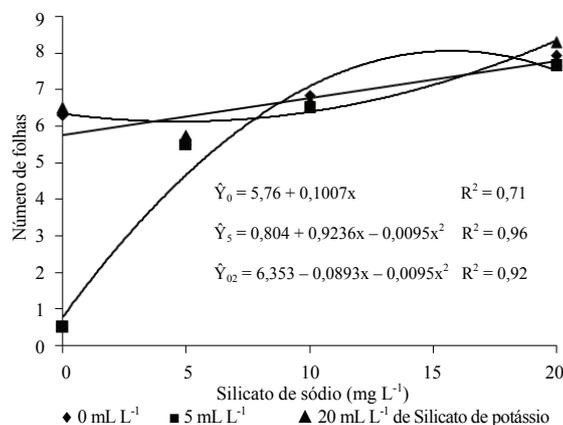
ensaio (25 x 150 mm) contendo 15 mL do mesmo meio de cultura KC acrescido de silicato de sódio (0, 5, 10 e 20  $mg L^{-1}$ ) e silicato de potássio (0, 5, 10 e 20  $mL L^{-1}$ ), em todas as combinações possíveis. O meio de cultura teve seu pH ajustado para  $5,8 \pm 0,1$  e foi solidificado com 5  $g L^{-1}$  de ágar antes da autoclavagem a  $121^{\circ}C$  e 1 atm por 20 min. As culturas foram mantidas em sala de crescimento com irradiância em torno de  $35 \mu mol m^{-2} s^{-1}$ , temperatura de  $25 \pm 1^{\circ}C$  e fotoperíodo de 16h.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em esquema fatorial  $4 \times 4$ , com cinco repetições e 20 plântulas por tratamento. Ao final de 120 dias foram avaliados número de folhas, os brotos e as raízes, comprimento de raízes e da parte aérea e peso da massa fresca de plântulas. Os dados foram comparados por meio de regressão polinomial, empregando-se o Software SISVAR (FERREIRA, 2000).

## Resultados e discussão

Houve interação significativa entre as duas fontes de silício para número de folhas, brotos e raízes e comprimento de raízes e da parte aérea.

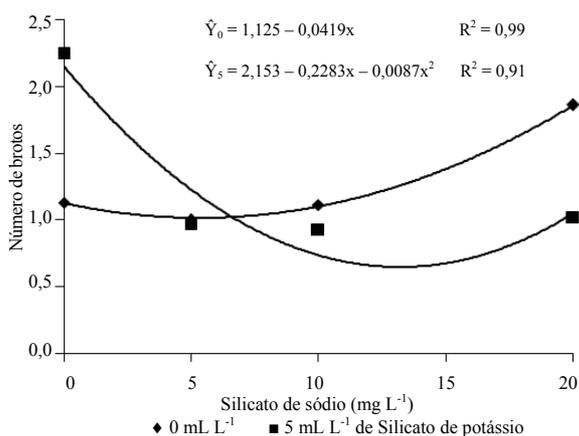
Com incremento nas concentrações de silicato de sódio, verificou-se aumento de forma quadrática no número de folhas, em 5 e 20  $mL L^{-1}$  de silicato de potássio (Figura 1). Na ausência dessa fonte de silício, o aumento foi linear. Maior número de folhas (8,37) foi obtido com a utilização de 20  $mg L^{-1}$  de silicato de sódio e 20  $mL L^{-1}$  de silicato de potássio. Apresentando uma tendência que maior número de folhas poderia ocorrer em concentrações acima de 20  $mg L^{-1}$  de silicato de sódio. Resultados semelhantes para número de folhas foram observados com silicato de sódio associado a 5 e 20  $mL L^{-1}$  de silicato de potássio.



**Figura 1.** Número de folhas em plântulas de *Cattleya loddigesii*, cultivadas *in vitro*, em meio de cultura Knudson C, com diferentes concentrações de silicato de sódio e silicato de potássio.

O meio Knudson C possui altas concentrações de potássio e baixas de sódio em sua formulação, quando comparado com o meio MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962) o que justifica o fato de que o acréscimo de outras fontes de sódio tenha aumentado o número de folhas nas plântulas de orquídea. Resultados semelhantes foram observados em folhas de amoreira preta (*Rubus* spp.), cultivadas *in vitro*, onde esse número aumentou com o incremento das concentrações de potássio, adicionadas ao meio de cultura MS modificado (VILLA et al., 2008). Rodrigues et al. (2008) também verificou que a relação folha/haste de crisântemo apresentou efeito linear decrescente para as concentrações de silício (metassilicato de potássio), em solução de fertirrigação.

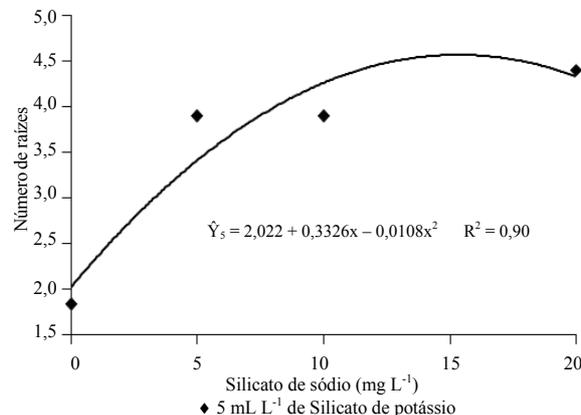
Melhores resultados na multiplicação de brotos de *Cattleya loddigesii* foram observados na ausência e na presença de 5 mL L<sup>-1</sup> de silicato de potássio em meio de cultura Knudson C modificado (Figura 2). Com incremento nas concentrações de silicato de sódio na ausência de potássio, houve aumento do número de brotos, atingindo um máximo com 20 mg L<sup>-1</sup>. Por outro lado, com 5 mL L<sup>-1</sup> de silicato de potássio obteve-se maior número de brotos na ausência de silicato de sódio. Segundo Malavolta (2006), todo nutriente em excesso, como nesse caso o sódio, provoca desbalanço nutricional no sistema.



**Figura 2.** Número de brotos em plântulas de *Cattleya loddigesii*, cultivadas *in vitro*, em meio de cultura Knudson C, com diferentes concentrações de silicato de sódio e silicato de potássio.

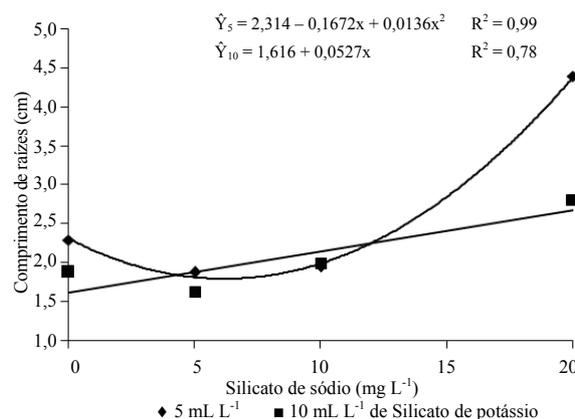
Houve formação de raízes em todos os tratamentos que continham as duas fontes de silício e também no tratamento-controle. Em função da análise de variância, verificou-se interação entre os fatores (Figura 3). Entretanto, por meio do teste F, constatou-se que houve significância apenas para a concentração de 5 mL L<sup>-1</sup> de silicato de potássio. Maior número (4,6) foi obtido com a concentração de 15 mg L<sup>-1</sup> de silicato de sódio, verificando

acréscimo de forma quadrática no número de raízes formadas até a concentração mais alta de silicato de sódio. Quando se aumenta a quantidade de raízes formadas *in vitro*, aumenta-se também a área de contato raiz/substrato, refletindo em maior absorção dos nutrientes. Desta forma, o sódio, potássio e/ou silício contribuíram para o aumento do número de raízes. Villa et al. (2008) também observou em amoreira preta (*Rubus* spp.) maior absorção de nutrientes em meio MS modificado, ocasionando aumento no seu sistema radicular.



**Figura 3.** Número de raízes em plântulas de *Cattleya loddigesii*, cultivadas *in vitro*, em meio de cultura Knudson C, com diferentes concentrações de silicato de sódio e silicato de potássio.

Para o comprimento de raízes houve significância apenas para 5 e 10 mL L<sup>-1</sup> de silicato de potássio. Verificaram-se melhores respostas (4,4 cm) com a adição de 20 mg L<sup>-1</sup> de silicato de sódio e 5 mg L<sup>-1</sup> de silicato de potássio ao meio Knudson C (Figura 4).



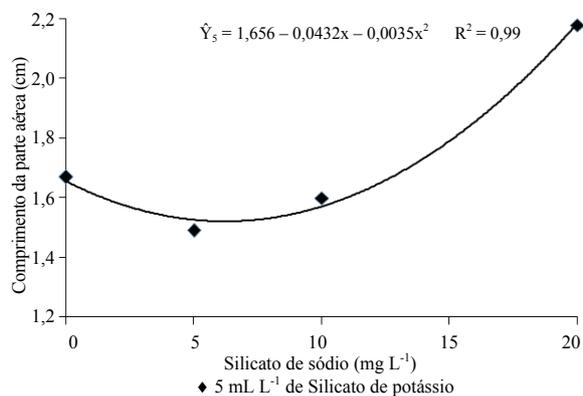
**Figura 4.** Comprimento de raízes em plântulas de *Cattleya loddigesii*, cultivadas *in vitro*, em meio de cultura Knudson C, com diferentes concentrações de silicato de sódio e silicato de potássio.

Num substrato com deficiência de nutrientes como é o caso do meio Knudson C, aumentar o comprimento das raízes é uma maneira da plântula

buscar os nutrientes necessários ao seu desenvolvimento, mesmo que isto implique em gasto de reservas. Evidencia-se, assim, que para promover o comprimento médio do sistema radicular, a adição de fontes de silício no meio Knudson C é benéfica.

Os benefícios do silício conferidos às plantas são pela sua contribuição para a estruturação da parede celular de raízes e folhas. Portanto, este elemento não tem papel metabólico definido nas plantas e sua ação, segundo Malavolta (2006), provoca efeitos indiretos, os quais, no conjunto contribuem para maior produtividade.

Na Figura 5, observa-se que com o aumento das concentrações de silicato de sódio há decréscimo de forma quadrática no comprimento das plântulas de orquídea até 5 mg L<sup>-1</sup>, e a partir desse ponto houve incremento até a concentração de 20 mg L<sup>-1</sup>.

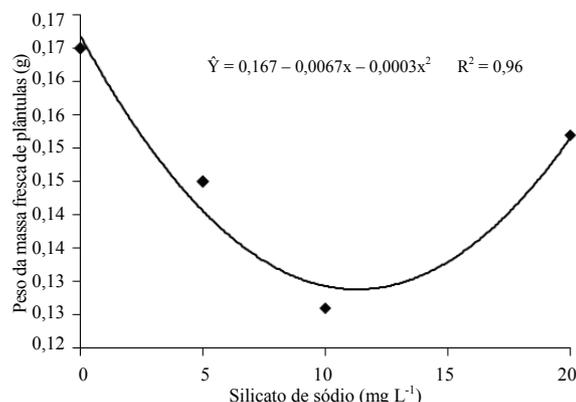


**Figura 5.** Comprimento médio de parte aérea em plântulas de *Cattleya loddigesii*, cultivadas *in vitro*, em meio de cultura Knudson C, com diferentes concentrações de silicato de sódio e silicato de potássio.

Zhou (1995) verificou aumento de tamanho das folhas de *Phalaenopsis*, com concentrações de 0,1 - 1,0 mg L<sup>-1</sup> de silicato de cálcio acrescidas ao meio de cultura VW (VACIN; WENT, 1964) modificado. O crescimento *in vitro* de plantas, órgãos, tecidos e células depende do desenvolvimento de meios de cultura otimizados para a perfeita interação de componentes essenciais como fontes de carbono e nutrientes minerais. Os fatores que limitam esse crescimento *in vitro* são similares àqueles que o limitam *in vivo* (BORGATTO et al., 2002).

Os maiores valores para crescimento de plântulas tratadas com silício sugerem que além dos efeitos benéficos do Si em reter água (TRENHOLM et al., 2004) é aumentar a eficiência na fase de aclimatização, o Si poderia estar envolvido no metabolismo de parede celular e melhorar a capacidade das células da parede em expandir, e consequentemente, aumentar o alargamento da célula (GUNES et al., 2007).

Para peso da massa fresca de plântulas, verifica-se na Tabela 1 que houve significância apenas para o fator silicato de sódio. Observa-se, na Figura 6, que o maior peso (0,165) de plântulas de orquídea ocorreu na ausência dessa fonte no meio de cultura.



**Figura 6.** Peso da massa fresca de plântulas de *Cattleya loddigesii*, cultivadas *in vitro*, em meio de cultura Knudson C, com diferentes concentrações de silicato de sódio.

Romero-Aranda et al. (2006) verificou aumento no peso da massa fresca de plantas de tomate em meio salino contendo NaCl, pela influência de silicato de potássio em solução nutritiva. Por falta de informações sobre a influência de fontes de silício na micropropagação de plântulas, principalmente em orquídeas, tornam-se necessários trabalhos futuros, a fim de elucidar a real função do silício na estrutura da plântula.

## Conclusão

Plântulas de *C. loddigesii* apresentam maior crescimento (número de raízes, comprimento da parte aérea e de raízes) em meio de cultura Knudson C modificado acrescido de 5 mL L<sup>-1</sup> de silicato de potássio e de 20 mg L<sup>-1</sup> de silicato de sódio. Maior número de brotos é verificado com a adição de 5 mL L<sup>-1</sup> de silicato de potássio adicionado ao meio de cultura, na ausência de silicato de sódio.

## Referências

- BARBOSA FILHO, M. P.; SNYDER, G. H.; FAGERIA, N. K.; DATNOFF, L. E.; SILVA, O. F. Silicato de cálcio como fonte de silício para o arroz de sequeiro. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 25, n. 2, p. 325-330, 2001.
- BORGATTO, F.; DIAS, C. T. S.; AMARAL, A. F. C.; MELO, M. Calcium, potassium and magnesium treatment of *Chrysanthemum morifolium* cv. "bi time" and callogenesis *in vitro* **Scientia Agricola**, v. 59, n. 4, p. 689-693, 2002.

- BOTELHO, D. M. S.; POZZA, E. A.; POZZA, A. A. A.; CARVALHO, J. G.; BOTELHO, C. E.; SOUZA, P. E. Intensidade da cercosporiose em mudas de café em função de fontes e doses de silício. **Fitopatologia Brasileira**, v. 30, n. 6, p. 582-588, 2005.
- BRASIL. Decreto-lei nº 2.954, de 14 de janeiro de 2004. Aprova o regulamento da lei nº 6894 de 16 de janeiro de 1980, que dispõe sobre a inspeção e fiscalização da produção e do comércio de fertilizantes, corretivos, inoculantes ou biofertilizantes destinados à agricultura e da outras providências. **Normas jurídicas**. Brasília, 2004. (DEG 004954, p. 27).
- CAMARGO, M. S.; KORNDÖRFER, G. H.; PEREIRA, H. S. Solubilidade do silício em solos: influência do calcário e ácido silícico aplicados. **Bragantia**, v. 66, n. 4, p. 637-647, 2007.
- FERREIRA, D. F. **Sisvar 4.3**: sistema de análise estatística. Lavras: UFLA; DEX, 2000. (Software).
- GUNES, A.; INAL, A.; BAGCI, E. G.; COBAN, S. Silicon-mediated changes on some physiological and enzymatic parameters symptomatic of oxidative stress in barley grown in sodic-B toxic soil. **Journal of Plant Physiology**, v. 164, n. 6, p. 807-811, 2007.
- KNUDSON, L. A new nutrient solution for the germination of orchid seed. **American Orchid Society Bulletin**, v. 14, n. 1, p. 214-217, 1946.
- LONE, A. B.; BARBOSA, C. M.; TAKAHASHI, L. S. A.; FARIA, R. T. Aclimatização de *Cattleya* (Orchidaceae), em substratos alternativos ao xaxim e ao esfagno. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 30, n. 4, p. 465-469, 2008.
- LUZ, J. M. Q.; GUIMARÃES, S. T. M. R.; KORNDÖRFER, G. H. Produção hidropônica de alface em solução nutritiva com e sem silício. **Horticultura Brasileira**, v. 24, n. 3, p. 295-300, 2006.
- MALAVOLTA, E. **Manual de nutrição mineral de plantas**. 1. ed. Piracicaba: Potafós, 2006.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, v. 3, n. 15, p. 473-97, 1962.
- PAULA, C. C.; SILVA, H. M. P. **Cultivo prático de orquídeas**. 2. ed. Viçosa: UFV, 2001.
- REIS, M. A.; ARF, O.; SILVA, M. G.; SÁ, M. E.; BUZETTI, S. Aplicação de silício em arroz de terras altas irrigado por aspersão. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 30, n. 1, p. 37-43, 2008.
- RESENDE, G. M.; YURI, J. E.; MOTA, J. H.; RODRIGUES JÚNIOR, J. C.; SOUZA, R. J.; CARVALHO, J. G. Produção de alface americana em função de doses e épocas de aplicação de Supa Potássio®. **Horticultura Brasileira**, v. 23, n. 2, p. 174-178, 2005.
- RODRIGUES, T. M.; RODRIGUES, C. R.; PAIVA, R.; FAQUIN, V.; PAIVA, P. D. O.; PAIVA, L. V. Níveis de potássio em fertirrigação interferindo no crescimento/desenvolvimento e qualidade do crisântemo. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 32, n. 4, p. 1168-1175, 2008.
- ROMERO-ARANDA, M.; JURADO, O.; CUARTETO, J. Silicon alleviates the deleterious salt effect on tomato plant growth by improving plant water status. **Journal of Plant Physiology**, v. 163, n. 8, p. 847-855, 2006.
- SOARES, J. D. R.; PASQUAL, M.; RODRIGUES, F. A.; VILLA, F.; CARVALHO, J. G. Adubação com silício via foliar na aclimatização de um híbrido de orquídea. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 32, n. 1, p. 626-629, 2008.
- TRENHOLM, L. E.; DATNOFF, L. E.; NAGATA, R. T. Influence of silicon on drought and shade tolerance of St. Augustinegrass. **Horttechnology**, v. 14, n. 4, p. 487-490, 2004.
- VACIN, E. T.; WENT, F. W. pH changes in nutrient solutions. **Botanical Gazette**, Chicago, v. 110, p. 605-613, 1964.
- VILLA, F.; PASQUAL, M.; PIO, L. A. S.; TEODORO, G. S.; MIYATA, L. Y. Cloreto de potássio e fosfato de sódio na multiplicação *in vitro* de amoreira preta cv. tupy. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 32, n. 1, p. 37-41, 2008.
- ZHOU, T. S. The detection of the accumulation of silicon in *Phalaenopsis* (Orchidaceae). **Annals of Botany**, v. 75, n. 1, p. 605-607, 1995.

Received on February 4, 2009.

Accepted on July 15, 2009.

License information: This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.