

Efeitos de fontes de Silício e diferentes meios de cultura na propagação *in vitro* de orquídeas.

Rodrigues, Joyce Dória¹; Rodrigues, Filipe Almendagna¹; Villa, Fabíola²; Pasqual, Moacir³; Santos, Jean Carlos de Souza⁴; Silva, Andrieli Leão Pereira da⁴.

¹Aluna de graduação em Agronomia, UFLA, Lavras, MG, e-mail: filipealmendagna@yahoo.com.br;

²Doutoranda em Fitotecnia (DAG), UFLA, Lavras, MG, e-mail: fvilla2003@libero.it; ³Professor Adjunto do Departamento de Agricultura (DAG), UFLA, Lavras, MG, e-mail: mpasqual@ufla.br; ⁴Aluna de graduação em Agronomia, Cesur, Rondonópolis, MT, e-mail: andrielileao@hotmail.com.

INTRODUÇÃO

As orquídeas são conhecidas não só pela sua importância ornamental, mas também industrial. Ocorrem em quase todas as regiões da Terra, com exceção dos pólos e desertos, sendo mais freqüentes e exuberantes nos trópicos (Silva, 2003). Entre estes se localiza o Brasil, portador de um invejável banco de germoplasma, tornando-se também responsável pela sua preservação. O elevado número de espécies e híbridos tropicais possibilita variadas formas, cores e flores, exploradas comercialmente em todo mundo. Podem ser propagadas tanto por meio de sementes como vegetativamente, sendo que nesta última utiliza-se a cultura de tecidos onde se obtém uma grande quantidade de mudas em um curto espaço de tempo. Esta técnica tem sido utilizada, entre outras, para estudos de micropropagação e nutrição mineral (Arditti & Ernst, 1993).

Os meios nutritivos utilizados para a cultura de tecidos de plantas fornecem substâncias essenciais para o crescimento e controlam, em grande parte, o padrão de desenvolvimento *in vitro* (Caldas et al., 1998). No entanto, as exigências nutricionais para o crescimento ótimo de um tecido *in vitro* podem variar com a espécie e, mesmo na própria planta, explantes de diferentes partes podem requerer meios distintos para o crescimento satisfatório (Pasqual, 2001).

O silício (Si) é absorvido pelas plantas em grandes quantidades. Em muitas espécies os teores encontrados nos tecidos superam os de nitrogênio e potássio, nutrientes majoritários para as plantas, considerado um componente essencial, atualmente incluído como micronutriente. Depois do O₂, é o elemento mais abundante da crosta terrestre, sendo o maior componente de minerais do grupo dos silicatos. Ocorre em altos teores em solos minerais, principalmente na forma de silicatos (Malavolta et al., 1997).

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 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. A falta de informações sobre o uso de Si em orquídeas (*in vitro/ex vitro*) justificou o presente trabalho, que objetivou avaliar diferentes fontes de Si sobre características de crescimento e multiplicação *in vitro*.

MATERIAL E MÉTODOS

Plântulas de *Cattleya loddgesii*, obtidas através de germinação *in vitro* de sementes oriundas de auto-fecundação, foram submetidas à uniformização, em meio de cultura KC (Knudson C, 1946) modificado, durante três meses. Após este período, cada tubo de ensaio contendo uma plântula de aproximadamente 1,0 cm de comprimento, 15mL dos meios de cultivo; foi acrescido de silicato de sódio (0, 5, 10 e 20 mg L⁻¹), em todas as combinações possíveis. Os meios de cultura (MS, 1962; Knudson, 1946; WPM, Loyd & McCown, 1980 e DSD1, Silva & Doazan, 1995) tiveram seu pH ajustado para 5,8 ± 0,1 e solidificado com 5% de ágar antes do processo de autoclavagem a 121°C e 1 atm por 20 minutos. As culturas foram mantidas em sala de crescimento com irradiância em torno de 35 μmol.m⁻².s⁻¹, temperatura de 25±1°C e fotoperíodo de 16 horas diárias.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com 5 repetições e 20 plântulas por tratamento. Ao final de 120 dias foram avaliados número de folhas, número de brotos, número de raízes, comprimento médio de raízes e da parte aérea. Os dados quantitativos foram comparados por meio de regressão polinomial, empregando-se o Software Sisvar (Ferreira, 2000) e os dados qualitativos foram comparados por teste de médias Scott-Knott (1974).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Utilizando-se o teste F ao nível de 5% de probabilidade, verificou-se significância apenas para os meios de cultura estudados em relação ao número de brotos, comprimento da parte aérea, número de raízes e comprimento da maior raiz. Para o comprimento da maior raiz de *Cattleya loddgesii* observou-se significância para os meios de cultura e a fonte de silício separadamente. Não se verificou interação significativa para o número de folhas e peso da matéria fresca (Tabela 1).

Tabela 1. Análise de variância para as características número de folhas (NF), número de brotos (NB), comprimento da parte aérea (CPA), número de raízes (NR), comprimento da maior raiz (CMR) e peso da matéria fresca da parte aérea (PMFPA) de plântulas de *Cattleya loddgesii*. UFLA, Lavras, MG, 2007.

Fontes de variação	GL	Quadrados médios					
		NF	NB	CPA	NR	CMR	PMFPA
MC	3	9,347 ^{n.s.}	1,819*	5,4223*	8,6375*	17,625*	0,0258 ^{n.s.}
Silício	3	5,777 ^{n.s.}	0,2801 ^{n.s.}	0,6574 ^{n.s.}	0,7188 ^{n.s.}	1,739*	0,0195 ^{n.s.}
MC x silício	9	7,127 ^{n.s.}	0,6739 ^{n.s.}	0,238 ^{n.s.}	1,6375 ^{n.s.}	0,6319 ^{n.s.}	0,0115 ^{n.s.}
Resíduo	64	5,389	0,3686	0,3571	1,5841	0,5458	0,0181
Total	79						
CV (%)		29,33	33,69	24,03	29,69	24,78	51,85

* Significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F; MC = meio de cultura; n.s. = não significativo.

A variável número de folhas não apresentou significância para os fatores estudados, nem houve interação entre eles. Dessa forma, para a variável em questão não houve diferença entre os tratamentos (Tabela 1).

Para a variável número de brotos houve significância apenas para o fator meio de cultura. Pela Tabela 2, verifica-se que melhores resultados foram obtidos com os meios MS (2,07) seguido do Knudson (1,98) e do WPM (1,77). O meio DSD1 mostrou-se inferior (1,39) aos demais para esta variável.

Tabela 2. Número de brotos (NB), comprimento da parte aérea (CPA), número de raízes (NR) e comprimento da maior raiz (CMR) de plântulas de orquídea *in vitro* cultivadas em diferentes meios de cultivo. UFLA, Lavras, MG, 2007.

Meios de cultura	NB	CPA	NR	CMR
MS	2,07 a	1,74 b	3,40 b	1,58 b
Knudson	1,98 a	2,52 a	4,07 b	3,37 a
WPM	1,77 a	2,85 a	4,91 a	3,54 a
DSD1	1,39 b	2,84 a	4,58 a	3,44 a

Médias seguidas por letras iguais, não diferem entre si, pelo teste de Scott-Knott, ao nível de 5% de probabilidade.

Maior número de brotos foi obtido em meio MS. Em contrapartida, piores resultados para essa variável foram verificados no meio de cultivo DSD1, devido ao fato desse meio possuir baixa concentração de sais na sua composição (Krikorian, 1991). Segundo Pasqual

(2001), o aumento nas concentrações dos sais, principalmente amônio e nitrato, no meio MS, proporciona melhor crescimento de células e tecidos de plantas, tornando-se o meio de cultura mais utilizado em trabalhos com cultura de tecidos vegetais (Pasqual, 2001).

Maior comprimento da parte aérea foi observado em meios de cultura Knudson, seguido dos meios WPM e DSD1. Segundo George (1996), existe uma relação entre o número de brotos e seu tamanho e nessa relação quanto maior for o número de brotos, menor o tamanho dos mesmos.

Nos meios de cultivo WPM e DSD1 foram observados maior número de raízes. Rego-Oliveira & Faria (2005) estudando a influência de diferentes meios de cultura em duas espécies de orquídea (*Catasetum fimbriatum* e *Cyrtopodium paranaensis*) verificaram maior número de raízes em $\frac{1}{2}$ e $\frac{1}{4}$ do meio MS, respectivamente. 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, os macro e micronutrientes presente nos meios WPM e DSD1 contribuíram no aumento do número de raízes. Kanashiro (2005) também observou em bromélias (*Aechmea blanchetiana*) uma maior absorção de nutrientes em meio MS modificado, ocasionando um aumento no seu sistema radicular.

Os meios de cultura Knudson, WPM e DSD1 se destacaram no comprimento da maior raiz. Na Tabela 1 pode-se observar significância para o comprimento da maior raiz em relação à fonte de silício. Com incremento nas concentrações de silicato de sódio verificou-se aumento de forma quadrática no comprimento da maior raiz até certo ponto, sendo maior comprimento observado com 10 mg L^{-1} . Altas concentrações da fonte de silício (20 mg L^{-1}) empregada acarretaram em menor comprimento da maior raiz. Segundo Malavolta et al. (1997), todo nutriente em excesso, como nesse caso o sódio, provoca um desbalanço nutricional no sistema, ou seja, na plântula de orquídea e no meio de cultura.

Num substrato com deficiência de nutrientes; como é o caso dos meios WPM, DSD1 e Knudson, 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. Observou-se que a adição de 10 mg L^{-1} de silicato de sódio no meio de cultura influenciou o comprimento médio do sistema radicular desta maneira. Evidencia-se assim que, para promover o comprimento médio do sistema radicular, a adição de silicato de sódio até 10 mg L^{-1} no meio de cultivo é benéfica. Os benefícios do silício conferidos às plantas são devidos a sua contribuição para a estruturação da parede celular de raízes. Portanto, este elemento não tem papel metabólico definido nas plantas e sua ação, segundo Malavolta et al. (1997), provoca efeitos indiretos, os quais, no conjunto contribuem para uma maior produtividade.

O crescimento de plantas, órgãos, tecidos e células *in vitro* 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 limitam *in vivo* (Amaral, 2003).

Devido à falta de informações sobre a influência de fontes de silício e o emprego de diferentes meios de cultura na micropropagação de plântulas, principalmente de orquídeas; torna-se necessário à realização de trabalhos futuros, a fim de elucidar a real função do silício na estrutura da plântula.

CONCLUSÕES

Maior número de brotos foi verificado em meio de cultivo MS.

Em meio de cultura WPM foram observados melhores resultados para comprimento da parte aérea, número de raízes e comprimento médio de raízes de orquídea.

A adição de 10 mg L^{-1} de silício favoreceu o comprimento da maior raiz de *Cattleya loddgesii*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMARAL, A.F.C. **Comportamento *in vitro* de explantes de matrizes de cenoura (*Daucus carota* L.) tratadas com variáveis níveis de potássio.** Piracicaba, 2003. 103p. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo.

ARDITTI, J.; ERNEST, R. **Micropropagation of orchids.** New York: John Wiley, 1993. 682 p.

CALDAS, L. S.; HARIDASAN, P.; FERREIRA, M. E. **Meios nutritivos.** In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (Ed.). *Cultura de tecidos e transformações genéticas de plantas.* Brasília: EMBRAPA-SPI/EMBRAPA-CNPQ, 1998. p. 87-132.

FERREIRA, D.F. Análises estatísticas por meio do SISVAR para Windows versão 4.0. In: Reuniao anual da região brasileira da Sociedade Internacional de Biometria, 45., 2000, São Carlos, SP. **Anais...** São Carlos: UFSCAR, 2000. v.1. 258p. p.225.

GEORGE, E.F. **Plant Propagation by Tissue Culture**, part 1 - The Technology, 2 ed. Edington Limited, 1996, 1574p.

KANASHIRO, S. **Nitrogênio, fósforo, potássio, cálcio e o crescimento de plântulas de *Aechmea blanchetiana* (Baker) L.B. Smith *in vitro*.** 2005. 187p. Tese de Doutorado em Fitotecnia, ESALQ, Piracicaba.

KNUDSON, L. **A new nutrient solution for the germination of orchid seed.** American Orchid Society Bulletin, West Palm Beach, v.14, p.214- 217, 1946.

KRIKORIAN, A. D. Medios de cultivo: generalidades, composición y preparación. In: ROCA, W. M.; MROGINSKI, L. A. (Ed.). **Cultivo de tejidos en la agricultura: fundamentos e aplicaciones.** [S.l.: s.n.], 1991. p. 41-77.

LOYD, G; McCOWN, B. Commercially-feasible micropropagation of mountain laurel, *Kalmia latifolia*, by use of shoot-tip culture. **International Plant Propagation Society Proceedings**, Washington, v.30, p.421-427, 1980.

MAVOLTA, E.; VITTI, G.C.; OLIVEIRA, S.A de. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações.** 2.ed. Piracicaba: Potafos, 1997. 319p.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, 15:473-97, 1962.

PASQUAL, M. **Cultura de tecidos vegetais: tecnologia e aplicações: meios de cultura.** Lavras, UFLA/FAEPE, 2001. 74 p.

REGO-OLIVEIRA, L.V.; FARIA, R.T. *In vitro* propagation of Brazilian orchids using traditional culture media and commercial fertilizers formulation. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v.27, n.1, p. 1-5, 2005.

SILVA, A.L.; DOAZAN, J. P. Une méthode d'irradiation aux rayons gamma appliquée à des porte-greffes de Vigne *in vitro*. **Journal Int. Science of Vigne et Vin**, v. 29, p. 1-9, 1995.

SILVA, E.F. **Multiplicação e crescimento *in vitro* de orquídea *Brassiocattleya Pastoral x Laeliocattleya Amber Glow*.** Lavras: UFLA, 2003, 62p. (Dissertação - Mestrado em Fitotecnia).

PALAVRAS-CHAVE: silicato de sódio, meios de cultura, *Cattleya loddgesii*.