

## SILICATO DE CÁLCIO NO DESENVOLVIMENTO *IN VITRO* DE *Cattleya loddigesii* LINDLEY

Guilherme Augusto Cito Alves<sup>1</sup>, Douglas Junior Bertoncelli<sup>1</sup>, Gustavo Henrique Freiria<sup>1</sup>, Felipe Favoretto Furlan<sup>1</sup>, Ana Beatryz Prenzier Suzuki<sup>1</sup>, André Prechlack Barbosa<sup>1</sup>, Vanessa Stagani<sup>2</sup> e Ricardo Tadeu de Faria<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Doutorando do programa de pós graduação em agronomia da Universidade Estadual de Londrina, Bolsista Capes. Londrina – PR. E-mail: guilhermecito@hotmail.com, dj\_bertoncelli@hotmail.com, gustavo-freiria@hotmail.com, ffavorettofurlan@gmail.com, ana.suzuki@live.com, andreprechlack@hotmail.com.

<sup>2</sup> Professora do Instituto Federal do Paraná (IFPR), Campus Ivaiporã. Ivaiporã – PR. E-mail: vanessa.stegani@ifpr.edu.br

<sup>3</sup>Professor do curso de agronomia da Universidade Estadual de Londrina, Bolsista produtividade CNPq. Londrina – PR. E-mail: faria@uel.br

*RESUMO: Dentre as espécies de orquídeas a Cattleya loddigesii destaca-se por apresentar flores de diferentes cores e tamanhos, que permanecem viáveis por longo período. As alterações nos meios de cultura são importantes, e visam melhorar a qualidade das mudas para a fase da aclimatização além de melhoria do crescimento no período in vitro. Objetivou-se avaliar o crescimento in vitro de Cattleya loddigesii Lindley em diferentes concentrações de silicato de cálcio. Utilizou-se o produto comercial Agrosilício Plus<sup>®</sup>, sendo os tratamentos constituídos das concentrações 0,0; 0,5; 1,0; 1,5 e 2,0 g L<sup>-1</sup> de silicato de cálcio acrescidos ao meio de cultura MS. Aos 200 dias, foram avaliadas: área foliar, número de folhas, altura, massa fresca, massa seca e teor de água da parte aérea, comprimento, massa fresca, massa seca e teor de água das raízes. O delineamento foi o inteiramente casualizado com doze repetições. Os resultados foram submetidos a análise de variância e regressão linear, a 5% de significância. A variável número de folhas não apresentou diferença significativa entre os tratamentos. Para as demais variáveis observou-se decréscimo decorrente do aumento da concentração de silicato de cálcio. As concentrações de silicato de cálcio não favoreceram o desenvolvimento in vitro de Cattleya loddigesii.*

*PALAVRAS-CHAVE: Adubação mineral, Micropropagação, Orquídea*

## **IN VITRO DEVELOPMENT OF *CATTLEYA LODDIGESII* LINDLEY IN CALCIUM SILICATE**

*ABSTRACT: Among the species of orchids the Cattleya loddigesii stands out for good number of flowers, of different sizes, which remain viable for long periods. As far as crop measures are concerned, the quality of the evolutionary conditions of the period is not in vitro. Aimed to evaluate the in vitro development of Cattleya loddigesii Lindley in concentrations of calcium silicate. Was used the Agrosilício Plus<sup>®</sup> commercial product, and the treatments consisting of the concentration 0.0; 0.5; 1.0; 1.5 and 2.0 g L<sup>-1</sup> calcium silicate add to MS culture medium. To 200 days, were evaluated: leaf area, leaf number, plant height, fresh mass, dry mass and water content of shoots, average length, fresh mass, dry mass and water content of the roots. The design was completely randomized with twelve repetitions. The results were subjected to analysis*

*of variance and linear regression, 5% significance. The variable numbers of leaves showed no significant difference between treatments. For the other variables, there was a decrease due to increased concentration of calcium silicate. The concentrations of calcium silicate do not favor development in vitro Cattleya loddigesii.*

*KEYWORDS: Mineral fertilizer, Micropropagation, Orchid*

## INTRODUÇÃO

As orquídeas destacam-se como importante planta ornamental e medicinal, de grande interesse econômico e ecológico (Galdiano Júnior et al., 2013), com cerca de 800 gêneros e 25 mil espécies já descritas (Roberts e Dixon, 2008). Dentre estas, destaca-se a *Cattleya loddigesii*, pois apresenta bom número de flores, de diferentes tamanhos, que permanecem viáveis por longo período (Moraes et al. 2009).

O cultivo *in vitro* de células e tecidos, nas últimas três décadas, tem sido utilizado tanto para a propagação de orquídeas quanto para estudar aspectos fisiológicos relacionados ao seu desenvolvimento (Suzuki et al., 2010). No entanto, a falta de conhecimento leva os produtores de orquídeas a empregarem meios de cultivo complexos, com diversos nutrientes, vitaminas e reguladores de crescimento, elevando os custos de propagação (Ventura et al., 2002). Estudos realizados por Stancato et al. (2001), demonstram a possibilidade da diminuição dos custos de cultivo *in vitro* pela simplificação dos meios de cultura atuais, principalmente pelo emprego de fertilizantes como base de meios de cultura, visando produção de orquídeas em larga escala.

Plantas propagadas *in vitro* podem ser beneficiadas pela adição de silício (Si) no meio de cultura, pois este nutriente aumenta o teor de hemicelulose e lignina, conseqüentemente aumenta a rigidez da parede celular (Camargo et al., 2007). Segundo Epstein (2001), o Si pode aumentar os níveis de clorofila nas folhas e a tolerância das plantas às estresses ambientais, favorecendo a aclimatização de mudas micropropagadas.

Fisiologicamente o Si tem demonstrado efeito benéfico sobre o aumento da produção de diversas culturas, pois este interfere na arquitetura e favorece a fotossíntese, ao proporcionar folhas mais eretas com maior eficiência fotossintética (Gomes et al., 2008).

As principais fontes de Si são os silicatos e sílicas amorfas extraídas de fósseis de diatomáceas, sendo estas as principais produtoras de sílica biogênica, tanto em relação à quantidade de material sintetizado quanto à variedade de estruturas (Hildebrand, 2003).

Desta forma, objetivou-se avaliar o crescimento *in vitro* de *Cattleya loddigesii* Lindley

em diferentes concentrações de silicato de cálcio acrescidos ao meio de cultura.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no laboratório, localizado a 23°19'42" S, 51°12'11" O, e altitude de 594 m. As plântulas de *Cattleya loddigesii* foram obtidas a partir de sementes germinadas *in vitro* em meio de cultura MS (Murashige e Skoog 1962), modificado com a metade da concentração de macronutrientes.

Noventa dias após a semeadura, as plântulas foram subcultivadas em mesmo meio de cultura, com a metade da concentração dos macronutrientes, acrescido de silicato de cálcio (Agrosilício Plus<sup>®</sup>: 25% Ca, 6% Mg e 10,5% Si) nas concentrações 0,0; 0,5; 1,0; 1,5; e 2,0 g L<sup>-1</sup>.

A base dos meios foi constituída de 30 g L<sup>-1</sup> de sacarose, 1 g L<sup>-1</sup> de carvão ativado e 7 g L<sup>-1</sup> de ágar, com pH ajustado para 5,8 ( $\pm 0,2$ ) antes da adição do ágar. Frascos de vidro de 250 mL receberam 50 mL do meio de cultura e foram devidamente autoclavados à temperatura de 120 °C e pressão de 1,05 Kg cm<sup>-2</sup>, durante trinta minutos. Após o cultivo das plântulas no meio de cultura, os frascos foram mantidos em sala de crescimento à temperatura de 25 °C ( $\pm 2$  °C) sob fotoperíodo de 16 horas de luz.

Aos 200 dias após o cultivo, foram avaliadas as seguintes características fitométricas: a) área foliar: as folhas foram dispostas sobre escâner e digitalizadas. A determinação da área foliar foi realizada com auxílio do software ImageJ, e expressa em mm<sup>2</sup>; b) número de folhas c) altura da parte aérea: mensurada do colo da planta até a extremidade superior da maior folha, expressa em cm; d) massa fresca da parte aérea: expressa em gramas; e) massa seca da parte aérea: após secagem em estufa de ventilação forçada a 60°C, até massa constante, expressa em gramas; f) teor de água da parte aérea: obtido pela diferença entre massa fresca e seca da parte aérea, expresso em porcentagem; g) comprimento do sistema radicular: mensurado do colo da planta até a extremidade de todas as raízes, expresso em cm; h) massa fresca de raízes: expressa em gramas; i) massa seca de raízes: após secagem em estufa de ventilação forçada a 60°C, até massa constante, expressa em gramas; j) teor de água das raízes: obtido pela diferença entre a massa fresca e seca do sistema radicular, expresso em porcentagem.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, sendo cinco tratamentos compostos por doze repetições. Cada repetição foi formada por cinco plântulas. A análise de

variância foi conduzida aplicando-se o teste F, quando significativo foi submetido a análise de regressão linear a 5% de significância, utilizando o programa ASSISTAT.

## RESULTADOS E DISCUSSÕES

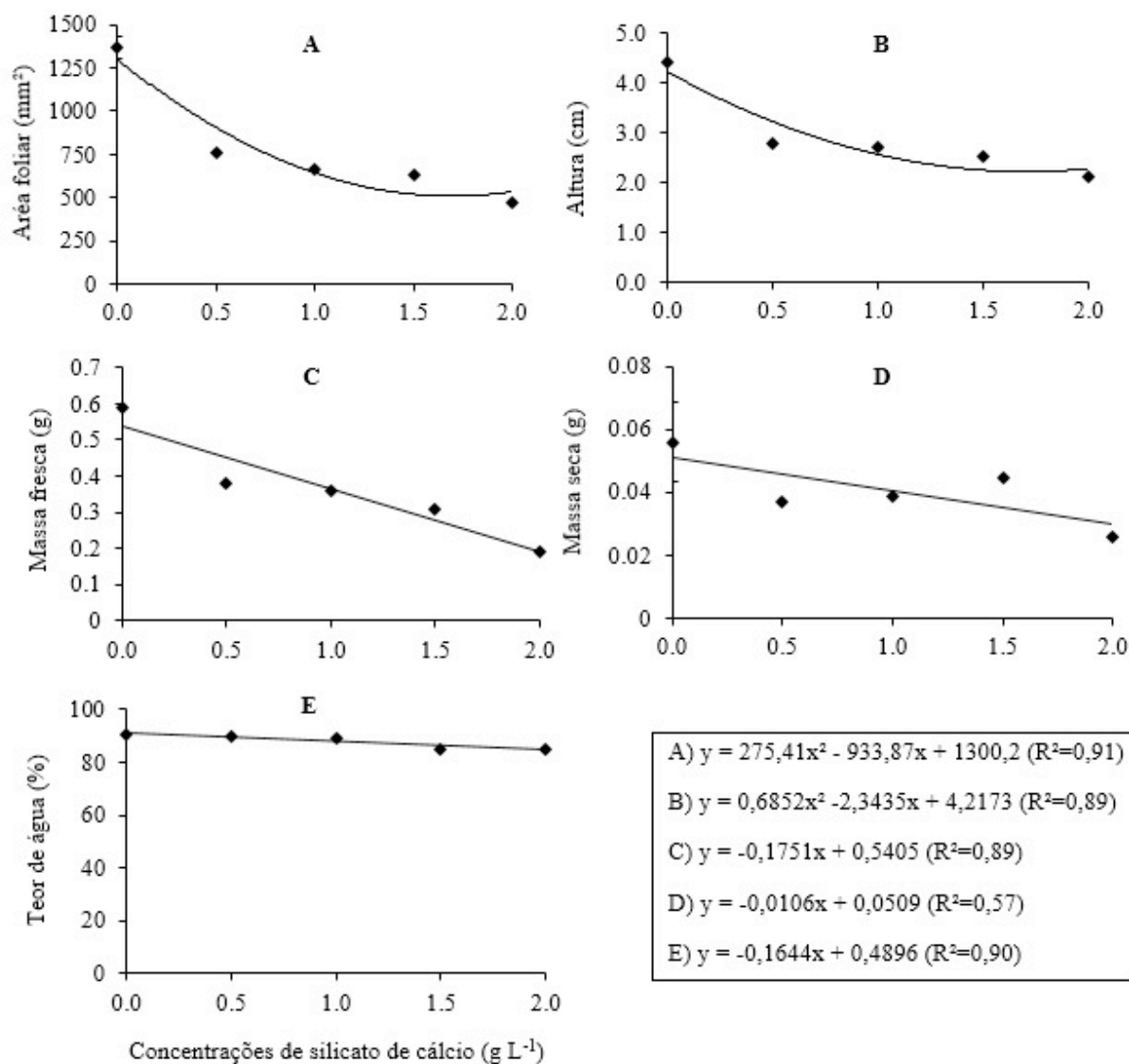
Para a característica número de folhas não observou-se diferença estatística significativa entre as doses de silicato de cálcio testadas. Resultado semelhante foi observado por Asmar et al. (2011), trabalhando com silicato de cálcio no crescimento de bananeira *in vitro*, não encontraram diferença significativa para número de folhas. Colombo et al. (2016) também não observou interferência do Si no número de folhas.

Com o aumento das concentrações de silicato de cálcio observou-se redução na área foliar (Figura 1A) e da altura da parte aérea (Figura 1B). Alves et al. (2016) não observaram diferença estatística entre as doses de silicato de potássio adicionado ao meio de cultura, para as variáveis área foliar e altura de parte aérea.

Segundo Borgatto et al. (2002), tal resultado pode estar relacionado ao fato de o crescimento *in vitro* de plantas, órgãos, tecidos e/ou células depender da perfeita interação entre os componentes essenciais constituintes no meio de cultura, como fontes de carbono e nutrientes minerais, sendo estes fatores limitantes para o crescimento *in vitro*. Neste caso, a redução da área foliar observada com a aplicação do silicato de cálcio pode ser atribuída a uma interação desfavorável entre este e os demais componentes do meio.

O acúmulo de massa fresca (Figura 1C) e seca da parte aérea (Figura 1D), diminuíram linearmente com o aumento da concentração do silicato de cálcio. Resultado semelhante foram observados por Colombo et al. (2016), os quais obtiveram redução linear da massa fresca e seca da parte aérea de *Cattleya forbesii* com a elevação da concentração de Si no meio de cultura, indicando mudas menores com menos reservas, o que pode se tornar um problema na fase de aclimatização.

Conforme se elevou as concentrações de silicato de cálcio também houve um decréscimo no teor de água da parte aérea (Figura 1E), corroborando com os resultados obtidos por Braga et al. (2009), que observaram redução do conteúdo de água da parte aérea do morango na presença de silicato de cálcio em meio de cultura MS. Por outro lado, Soares et al. (2011), não observaram alteração na massa fresca de plântulas de *C. loddigesii* quando cultivadas em meio Knudson C com e sem adição de diferentes concentrações de silicato de potássio.

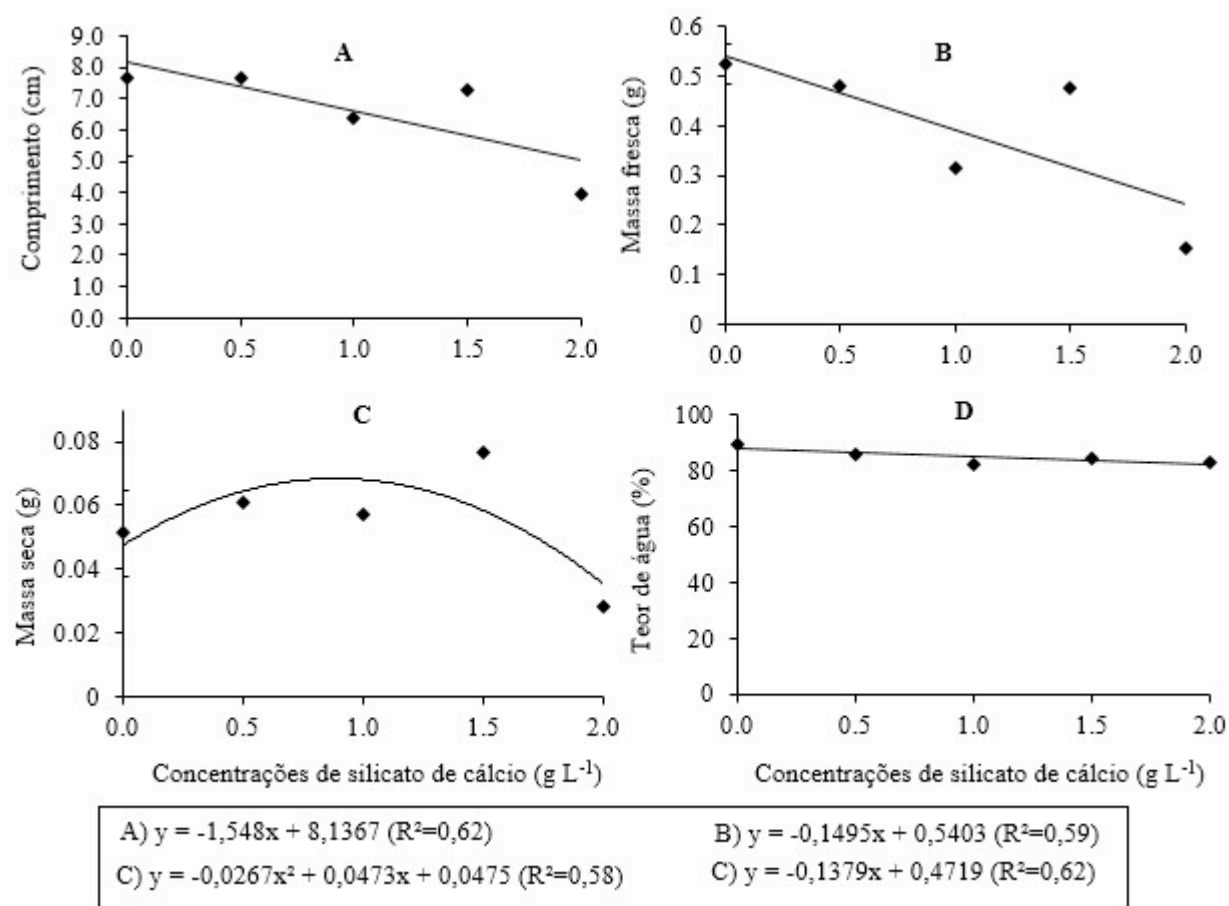


**Figura 1** - Características fitométricas da parte aérea de *Cattleya loddigesii* lindley em função das concentrações de silicato de cálcio em meio de cultura MS.

O aumento das concentrações de silicato de cálcio no meio de cultura proporcionou diminuição linear no comprimento (Figura 2A) e na massa fresca da raiz (Figura 2B). Alves et al. (2016) não observaram efeito do silicato de potássio no comprimento de raiz de *C. loddigesii*, porém houve redução no teor de água das raízes.

Essa diminuição no comprimento e massa de raiz pode estar relacionada ao fato de que todo nutriente absorvido em excesso pode provocar um desbalanço nutricional na planta, resultando em alteração no desenvolvimento vegetativo (Soares et al., 2008). Segundo Malavolta

et al. (1997), é necessário considerar os nutrientes como um todo, devido ao fato de haver interação entre os nutrientes tanto na absorção quanto nas reações celulares.



**Figura 2** - Características fitométricas do sistema radicular de *Cattleya loddigesii* lindley em função das concentrações de silicato de cálcio em meio de cultura MS.

Ao contrário das demais características, a massa seca da raiz apresentou elevação com o aumento da concentração de silicato de cálcio até a dose de  $1 \text{ g L}^{-1}$ , porém a partir desta houve redução do acúmulo de massa seca de raiz com a elevação da concentração (Figura 2C). Para a variável teor de água da raiz foi observado redução dos valores, com a elevação da concentração de silicato de cálcio, (Figura 2D).

Segundo Sommer et al. (2006) pode haver sorção de polímeros de Si na superfície de óxidos de Fe e Al, sendo a estabilidade desses polímeros aumentada em pH menor que 8,0 e na presença de cátions em solução, especialmente os cátions divalentes como Cu, Zn, Sr, Ca, Mg, Na e K. Considerando que alguns desses cátions estão presentes no meio de cultura, é possível

que a fonte de Si e as doses utilizadas, podem ter exercido efeito na disponibilidade dos cátions em solução, interferindo assim no potencial osmótico do meio, o que resultou em um menor acúmulo de água no sistema radicular, o qual está em contado direto com o mesmo (Alves et al., 2016).

De modo geral, as características área foliar, altura da planta, massas fresca e seca da parte aérea, teor de água da parte aérea e raiz, comprimento e massa fresca da raiz apresentaram redução do desempenho com adição de silício ao meio de cultura. Segundo Bognola et al. (2011), isto pode ser explicado pelas interações que o silício tem com os nutrientes do meio, de maneira a diminuir a disponibilidade e absorção dos mesmos pelas plantas.

### CONCLUSÕES

A utilização de silicato de cálcio no meio de cultura desfavoreceu o desenvolvimento *in vitro* de *Cattleya loddigesii* Lindley.

### REFERÊNCIAS

- ALVES, G. A. C.; CAMPOS, F. R.; BERTONCELLI, D. J.; FURLAN, F. F.; FREIRIA, G. H.; FARIA, R. T. Desenvolvimento de *Cattleya loddigesii* Lindley *in vitro* com doses de silicato de potássio. **Revista Agropecuária Técnica**, Paraíba, v.37, n.1, p. 81-87, 2016.
- ASMAR, S. A.; PASQUAL, M.; RODRIGUES, F. A.; ARAUJO, S. G.; PIO, L. A. S.; SILVA, S. O. Fontes de silício no desenvolvimento de plântulas de bananeira ‘Maçã’ micropropagadas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.41, n.7, p.1127-1131, 2011.
- BOGNOLA, I. A.; CLASEN, L. A.; FRANCISCON, L.; GAVA, J. L.; DEDECEK, R. A.; SILVA, F. M. da. Aplicação de silicatos de cálcio e de potássio e o crescimento de mudas de *Eucalyptus grandis*. **Pesquisa Florestal Brasileira**, Colombo, v.31, n.66, p.83-92. 2011.
- BORGATTO, F.; DIAS, C. T. DOS. S.; AMARAL, A. F. C.; MELO, M. Calcium, potassium and magnesium treatment of *Chrysanthemum morifolium* cv. “bi time” and callogenesis *in vitro*. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.59, n.4, p.689-693, 2002.
- BRAGA, F. T.; NUNES, C. F.; FAVERO, A. C.; PASQUAL, M.; CARVALHO, J. G.; CASTRO, E. M. Características anatômicas de mudas de morangueiro micropropagadas com diferentes fontes de silício. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.44, n.2, p.128-132, 2009.
- CAMARGO, M. S.; KORNDÖRFER, G. H.; PEREIRA, H. S. Solubilidade do silício em solos: influência do calcário e ácido silícico aplicados. **Bragantia**, Campinas, v. 66, n.4, p. 637-647, 2007.

COLOMBO, R. C.; FAVETTA, V.; FARIA, R. T.; ANDRADE, F. A.; MELEM, V. M. Response of *cattleya forbesii* orchid to increasing silicon concentrations in vitro. **Revista Caatinga**, Mossoró, v.29, n.1, p. 18 – 24, 2016.

EPSTEIN, E. Silicon in plants: facts vs concepts, in: DATNOFF, L. E.; SNYDER, G. H.; KORNDÖRFER, G. H. (eds.). **Silicon in agriculture**. The Netherlands: Elsevier Science, 2001. 403 p.

GALDIANO JÚNIOR, R. F.; MANTOVANI, I.; FARIA, R. T.; LEMOS, E. G. M. Concentrações de sacarose no desenvolvimento *in vitro* e na aclimatização de *Cattleya loddigesii* Lindley. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v.34, n.2, p.583-592, 2013.

GOMES, F. B.; MORAES, J. C.; SANTOS, C. D.; ANTUNES, C. S. Uso de silício como indutor de resistência em batata a *Myzus persicae* (Sulzer) (Hemiptera: Aphididae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v.37, n.2, p.185-190, 2008.

HILDEBRAND, M. Biological processing of nanostructured silica in diatoms. **Progress Organic Coatings**, Keystone, v.47, n.3, p.256-266, 2003.

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

MORAES, C. P. DIOGO, J. A.; PEDRON, N. P.; CANABRAVA, R. I.; MARTINI, G. A.; MARTELINE, M. A. Desenvolvimento *in vitro* de *Cattleya loddigesii* Lindley (Orchidaceae) utilizando fertilizantes comerciais. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v.7, n.1, p.67-69, 2009.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for a rapid growth and biossays with tabacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Wisconsin, v.15. n.3, p.473-497, 1962.

ROBERTS, D. L.; DIXON, K. W. Orchids. **Current Biologi**, Cambridge, n.1, v.8, p.325-329, 2008.

SOARES, J. D. R.; PASQUAL, M.; RODRIGUES, F. A.; VILLA, F.; ARAUJO, A. G. Fontes de silício na micropropagação de orquídea do grupo *Cattleya*. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v.33, n.3, p.503-507, 2011.

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**, Lavras, n.2, v.32, p.626-629, 2008.

SOMMER, M.; KACZOREK, D.; KUZYAKOV, Y.; BREUER, J. Silicon pools and fluxes in soils and landscapes: a review. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, Weinheim, v.169, n.3, p.310-329, 2006.



STANCATO, G. C.; BEMELMANS, P. F.; VEGRO, C. C. L. R. Produção de mudas de orquídeas a partir de sementes *in vitro* e sua viabilidade econômica: estudo de caso. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, Campinas, v.7, n.1, p.25-33, 2001.

SUZUKI, R. M.; ALMEIDA, V.; PESCADOR, R.; FERREIRA, W. M. Germinação e crescimento *in vitro* de *Cattleya bicolor* Lindley (Orchidaceae). **Hoehnea**, São Paulo, n.4, v.37, p.731-742, 2010.

VENTURA, G. M.; DIAS, J. M. M.; TEIXEIRA, L. S.; CARVALHOS, S. V.; MOTOIKE, Y.S.; NOVAIS, F. R.; CECON, R. P. Organogênese *in vitro* a partir de gemas apicais e axilares de plantas adultas de orquídeas do grupo *Cattleya*. **Revista Ceres**, Viçosa, v.47, n.286, p.613-628, 2002.