Fontes de potássio no crescimento *in vitro* de plantas de orquídea Cattleya loddigesii

Potassium sources of Cattleya loddigesii plants in vitro growth

Milene Alves de Figueiredo^I Moacir Pasqual^{II} Aparecida Gomes de Araujo^{II} Keize Pereira Junqueira^{III} Flávia Carvalho Santos^{II} Vantuil Antônio Rodrigues^{II}

- NOTA -

RESUMO

Plantas de Cattleya loddigesii com 1,0-1,5cm de comprimento, oriundas de sementes germinadas in vitro, foram inoculadas nos tratamentos, os quais consistiram da adição de diferentes concentrações de cloreto e sulfato de potássio (ambos a 0, 125, 250, 375 e 500mg L-1) ao meio Knudson C, em todas as combinações possíveis, acrescido de 2g L-1 de carvão ativado e 150g L-1 de polpa de banana "Nanica". O meio teve seu pH ajustado para 5,8±0,1 e foi solidificado com 5g L⁻¹ de ágar antes da autoclavagem a 121°C por 20 minutos. Após a inoculação, as culturas foram mantidas por 90 dias em sala de crescimento com irradiância em torno de 35µmol m² s-1, temperatura de 25±1°C e fotoperíodo de 16 horas. A combinação de 500mg L-1 de KCl com 500mg L-1 de K,SO, promoveu maior crescimento in vitro em plantas de Cattleya loddigesii, exceto no comprimento de raízes, que se apresentou melhor com 500mg L-1 de KCl na ausência de K,SO;

Palavras-chave: Orchidaceae, cultura de tecidos, cloreto de potássio, sulfato de potássio.

ABSTRACT

Cattleya loddigesii preceding seedlings (with 1.0-1.5cm) of in vitro germinated seeds were used as explants. The treatments consisted of the addition of different potassium chloride concentrations (0; 125; 250; 375 e 500mg L^{-1}) and potassium sulphate (0; 125; 250; 375 e 500mg L^{-1}), in the Knudson C medium, in all possible combinations, an addition of 2g L^{-1} activated coal, 150g L^{-1} and banana 'Nanica' pulp. The medium had the pH set to 5.8 ± 0.1 and was solidified with agar 5g L^{-1} before the sterilization at 121°C for 20 minutes. After the inoculation, the cultures were maintained in the growth room with irradiancy around 35μ mol m^{-2} s⁻¹ in, 25 ± 1 °C temperature and 16-hour photoperiod for 90 days. The combination of KCl 500mg L^{-1} with K_2SO_4 500mg L^{-1} promotes good in vitro growth in Cattleya loddigesii seedlings, except

length of roots who if comported better with KCl500 mg L^{-1} in absence of K_2SO_2 .

Key words: Orchidaceae, tissue culture, potassium chloride, potassium sulphate.

O cultivo *in vitro* de células e tecidos tem sido excelente alternativa a ser empregada para a propagação das orquidáceas, pois apresenta vantagens únicas sobre os métodos convencionais de propagação, como multiplicação rápida e obtenção de grande número de plantas com alta qualidade genética e fitossanitária.

Os elementos minerais exigidos em maiores quantidades para o crescimento de plantas são incluídos nos meios nutritivos nas formas de sais inorgânicos, podendo o potássio ser adicionado como componente de suplementos orgânicos. O potássio é absorvido pelas plantas na forma de K⁺ e é usualmente o catiônico mais abundante nas células vegetais. Seu principal papel é o de ativador de numerosas enzimas.

Outro papel proposto para o potássio e que o liga indiretamente à fotossíntese é o de promoção da translocação dos assimilados das folhas. Esses íons são transportados rapidamente através das membranas das células e duas de suas principais funções são regular o pH e o equilíbrio osmótico dentro das células. Neste contexto, possuem um papel similar em tecidos cultivados *in vitro*, porém os mecanismos usuais de transporte podem não ocorrer. A deficiência de potássio no meio de cultura conduz, segundo alguns autores, à

¹Departamento de Biologia, Setor de Fisiologia Vegetal, Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras, MG, Brasil. E-mail: migueiredo@yahoo.com.br. Autor para correspondência.

^{II}Departamento de Agricultura, UFLA, Lavras, MG, Brasil.

^{III}Universidade de Brasília (UNB), Brasília, DF, Brasil.

256 Figueiredo et al.

hiperidricidade e ao decréscimo na taxa de absorção de fosfato (PASQUAL, 2001).

O potássio entra como íon acompanhante do nitrato, fosfato ou, em alguns casos, do cloreto e enxofre (CALDAS et al., 1998). Quando o cloro é o ânion acompanhante, na forma de KCl, eles são absorvidos em quantidades equivalentes ao potássio. Entretanto, quando se utiliza o enxofre como acompanhante, na forma de K₂SO₄, tem-se maior ativação de enzimas proteolíticas e síntese de vitaminas.

Pode haver injúrias por sais em plantas ornamentais em concentrações acima de 0,2-0,7% na solução nutritiva. Em geral, plantas ornamentais que têm alta exigência de nutrientes são menos sensíveis a salinidade (ZEHLER et al., 1986). Esta preocupação levou à realização deste trabalho, que objetiva estudar os efeitos de diferentes concentrações de cloreto e sulfato de potássio no crescimento *in vitro* de plantas de orquídea *Cattleya loddigesii*.

Foram utilizadas plantas de orquídea *Cattleya loddigesii* oriundas de sementes germinadas *in vitro*, com 1 a 1,5cm de comprimento e contendo raízes pequenas (±0,5cm). Os tratamentos consistiram da adição de diferentes concentrações de cloreto e sulfato de potássio (ambos a 0, 125, 250, 375 e 500mg L⁻¹) ao meio KNUDSON C (1946), em todas as combinações possíveis, acrescido de 2g L⁻¹ de carvão ativado e 150g L⁻¹ de polpa de banana "Nanica".

O meio teve seu pH ajustado para 5.8 ± 0.1 e foi solidificado com 5g L $^{-1}$ de ágar antes do processo de autoclavagem a 121° C e 1.1atm, por 20 minutos. Após o resfriamento, os frascos de vidro com capacidade para 250cm^3 e contendo 60mL de meio de cultura foram levados à câmara de fluxo laminar, onde foi feita a inoculação das plantas, sob condições assépticas. Após a inoculação, os frascos foram mantidos por 90 dias em sala de crescimento com irradiância em torno de $35\mu\text{mol}$ m 2 s $^-$ 1, temperatura de $25\pm1^{\circ}$ C e fotoperíodo de 16 horas. A seguir, o experimento foi avaliado mediante o número e comprimentos de raízes (cm), altura da parte aérea (cm) e massa seca (g) de plantas.

A análise de variância foi realizada utilizando o procedimento GLM do software estatístico SAS® (SAS, 1990), por meio do método dos quadrados mínimos ponderados pelo inverso das variâncias de cada tratamento, uma vez que estes apresentaram heterogeneidade de variâncias.

Pela análise de variância, verificou-se que houve interação significativa dos fatores para todas as variáveis testadas. Pelo teste F, após realização do desdobramento, verificou-se que as concentrações de K₂SO₄ combinadas com 500mg L⁻¹ de KCl foram significantes para número de raízes e altura da parte aérea. Os parâmetros comprimento de raízes e massa

seca apresentaram significância entre concentrações de K₂SO₄ combinadas com 250 e 500mg L⁻¹ de KCl.

A figura 1A representa o número de raízes em plantas de Cattleya loddigesii nas concentrações estudadas de K₂SO₄ e 500mg L⁻¹ de KCl. Derivando-se a equação, pode-se chegar ao valor de 202,76mg L⁻¹ de K₂SO₄ como ponto de mínima, ou seja, a partir dessa concentração houve aumento crescente do número de raízes (4.33) até a dose máxima utilizada (500mg L⁻¹), o que leva a inferir-se que o efeito estimulante do K₂SO₄ continuaria em concentrações superiores. O maior comprimento de raízes (3,12cm) foi obtido com 500mg L⁻¹ de KCl e na ausência de K₂SO₄ (Figura 1B). Já na concentração de 250mg L-1 de KCl, a melhor dose de K₂SO₄ a ser empregada foi 218,87mg L⁻¹. A partir desse ponto, houve decréscimo no crescimento de raízes. Essa tendência, provavelmente, indica o efeito tóxico do excesso de K₂SO₄ na planta.

A absorção de um dado nutriente pode ser influenciada por outro. Por exemplo, a presença do íon K⁺ tem efeito de inibição competitiva entre os íons Mg⁺² e Ca⁺² (MALAVOLTA et al. 1997). KANASHIRO (2005) verificou correlação linear entre o aumento nas concentrações de potássio e o consumo de nitrato pelas células, promovendo um maior incremento nas características fitotécnicas em plantas de bromélias.

NUNES et al. (2005), testando concentrações de nitrato de cálcio e cloreto de potássio na micropropagação do porta-enxerto de videira "Kobber", conseguiram maior número de raízes e comprimento mais alto da parte aérea com a utilização de $1.000 \, \mathrm{mg} \, \mathrm{L}^{-1}$ de KCl e $500 \, \mathrm{mg} \, \mathrm{L}^{-1}$ de nitrato de cálcio.

A dose de 177,8mg L⁻¹ de K₂SO₄ foi evidenciada como ponto de mínima para altura da parte aérea na concentração de 500mg L⁻¹ de KCl (Figura 1C) registrando-se um aumento da variável com a elevação da concentração de K₂SO₄ até 500mg L⁻¹, deduzindo-se que o efeito estimulante do K₂SO₄ poderia continuar em concentrações mais altas. Estes resultados discordam de JUNQUEIRA et al. (2003), que, estudando o crescimento *in vitro* de crisântemo, obtiveram maior comprimento da parte aérea com baixas concentrações de nitrato de cálcio combinado com altas concentrações de cloreto de potássio (1000mg L⁻¹).

Melhores resultados para a variável massa seca de plantas (Figura 1D) foram obtidos com a utilização de 500mg L^{-1} , tanto de KCl como de $K_2 \text{SO}_4$. A concentração de 250mg L^{-1} KCl combinada com a dose de 312mg L^{-1} de $K_2 \text{SO}_4$ (ponto de máxima) proporcionou melhores respostas para a variável. A partir desse ponto, houve queda na massa seca de plantas, o que pode ser devido ao efeito tóxico de altas concentrações de sulfato de potássio no meio.

O fator nutricional depende do fluxo de densidade ou da quantidade de nutrientes utilizados

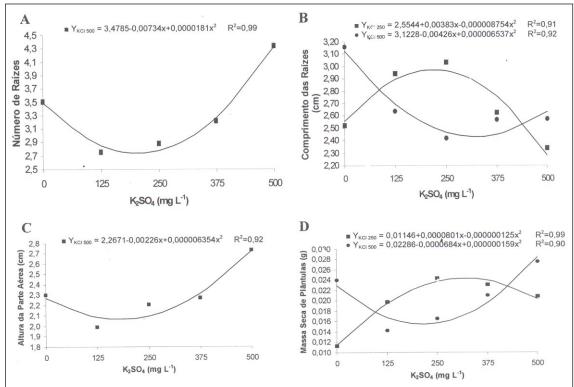


Figura 1 - (A) Número de raízes em diferentes concentrações de K₂SO₄ e 500mg L⁻¹ KCl. (B) Comprimento (cm) de raízes em diferentes concentrações de K₂SO₄ e KCl a 250 e 500mg L⁻¹. (C) Altura (cm) da parte aérea em diferentes concentrações de K₂SO₄ e 500mg L⁻¹ KCl. (D) Massa seca (g) em diferentes concentrações de K₂SO₄ e KCl a 250 e 500mg L⁻¹ em plantas de *Cattleya loddigesii*.

por unidade de tempo e unidade de área. A absorção de nutrientes minerais é afetada pela constituição do meio de cultura, pela composição do tecido da planta e pelo ambiente de cultura (WILLIANS, 1991), fatores que poderiam prognosticar e/ou predizer a adequada composição do meio nutritivo baseada nas análises de tecidos de plantas crescidas *in vitro*. A combinação de KCl com K₂SO₄, ambos na concentração de 500mg L⁻¹, promoveu maior crescimento *in vitro* em plantas de *Cattleya loddigesii*, exceto no comprimento de raízes, que se apresentou melhor com 500mg L⁻¹ de KCl na ausência de K₂SO₄

REFERÊNCIAS

CALDAS, L.S. et al. Meios nutritivos. In: TORRES, A.C. et al. Cultura de tecidos e transformação genética de plantas. Brasília: Embrapa-SPI/Embrapa-CNPH, 1998. V.1, p.87-132.

JUNQUEIRA, K.P. et al. Crescimento *in vitro* de crisântemo: efeito do nitrato de cálcio [Ca (NO₃)₂.4H₂O e cloreto de potássio (KCl). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FLORICULTURA E PLANTAS ORNAMENTAIS, 14., CONGRESSO BRASILEIRO DE CULTURA DE TECIDOS DE PLANTAS, 2003, Lavras. **Anais...** Lavras: UFLA/FAEPE, 2003. p.197.

KANASHIRO, S. Nitrogênio, fósforo, potássio, cálcio e o crescimento de plântulas de Aechmea blanchatiana

(Baker) L.B. Smith *in vitro*. 2005. 187f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo.

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.

MALAVOLTA, E. et al. **Avaliação do estado nutricional das plantas:** princípios e aplicações. 2.ed. Piracicaba: Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fosfato, 1997 319n

NUNES et al. Efeito de nitrato de cálcio e cloreto de potássio na multiplicação *in vitro* de porta-enxerto de 'Kobber' In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 45; CONGRESSO BRASILEIRO DE FLORICULTURA E PLANTAS ORNAMENTAIS, 15.; CONGRESSO BRASILEIRO DE CULTURA DE TECIDOS DE PLANTAS, 2., 2005, Fortaleza. **Anais...** Fortaleza: Horticultura Brasileira, 2005. p.598.

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

SAS INSTITUTE SAS/ STAT. SAS/GLM. Software: usage and reference version 6.12. Cary, 1990. 501p.

WILLIANS, R.R. Factors determining mineral uptake *in vitro*. **Acta Horticulturae**, Wageningen, v.289, p.165-166, 1991.

ZEHLER, E. et al. Sulfato de potássio e Cloreto de potássio: sua influência na produção e na qualidade das plantas cultivadas. Campinas: Fundação Cargill, 1986. 11 p.