



## CULTIVO de *Cattleya loddigesii* (ORCHIDACEAE) EM BIORREATOR DE IMERSÃO TEMPORÁRIA

Shacyne A. G. SARROZA<sup>1</sup>; Luiz M. P. MUNGO<sup>2</sup>; Wellington M. BARBOSA<sup>3</sup>; Tâmara P. de MORAIS<sup>4</sup>; Maria G. TEIXEIRA<sup>5</sup>

### RESUMO

A orquídea *Cattleya loddigesii* é bastante popular e comercialmente atraente por suas flores grandes e vistosas. É uma planta epífita nativa no Brasil e na Argentina. Coletas predatórias dessa espécie podem levá-la a extinção. A técnica de propagação *in vitro* de orquídeas tem tido sucesso para subsidiar o comércio de plantas ornamentais. Pesquisas na melhoria de protocolo de micropropagação, como uso de biorreator de imersão temporária (BIT), têm sido feitas. Deste modo, o presente estudo objetivou avaliar o desenvolvimento de *Cattleya loddigesii* em BIT, comparando com plantas cultivadas em meio semissólido. Para isso foram analisados os estômatos, os pigmentos fotossintéticos e a sobrevivência na aclimatização. As orquídeas cultivadas em meio semissólido apresentaram maior densidade e índice estomático quando comparadas com plantas crescidas em BIT. Não houve diferença entre os tratamentos quanto ao conteúdo de pigmentos fotossintéticos e sobrevivência após aclimatização.

**Palavras-chave:** Cultivo *in vitro*; Meio de cultura semissólido; Orquídea; Planta ameaçada de extinção.

### 1. INTRODUÇÃO

Muitas espécies de *Cattleya* estão ameaçadas de extinção (BRASIL, 2022) devido à contínua destruição de seu hábitat natural, somado ao comércio e coleta ilegais. A *Cattleya loddigesii* é uma orquídea nativa do Brasil (PABST; DUNGS, 1975) e já esteve na lista de espécies ameaçadas de extinção da flora do Estado de Minas Gerais (MENDONÇA; LINS, 2000) e em risco de extinção no Estado do Rio Grande do Sul (BAPTISTA; LONGHI-WAGNER, 1998).

O cultivo *in vitro* é uma importante técnica para conservação e reprodução de espécies ameaçadas (SULTANA et al., 2022). Avanços na biotecnologia têm ajudado a aprimorar essa técnica, por exemplo, o uso de biorreatores de imersão temporária (BIT). Estes equipamentos podem, por meio de uma melhor nutrição das plantas, produzir melhor rendimento que o cultivo em meio semissólido. Isso se deve também ao fato da melhor aeração causada pela imersão periódica, além de reduzir hiperhidricidade (OROZCO-ORTIZ et al., 2023).

Diante do contexto, este trabalho teve como objetivo avaliar plantas de *Cattleya loddigesii* cultivadas em BIT e compará-las com plantas crescidas em meio de cultura semissólido quanto aos

1. Graduando, Sault College, Sault Ste. Marie, Canadá; ssshacyne@gmail.com
2. Graduando, Laboratório de Biotecnologia, Instituto Federal do Sul de Minas Gerais - campus Machado, MG. luizmungo@gmail.com
3. Professor, Laboratório de Biotecnologia, Instituto Federal do Sul de Minas Gerais - campus Machado, MG. wellington.marota@ifsuldeminas.edu.br
4. Professora, Laboratório de Biotecnologia, Instituto Federal do Sul de Minas Gerais - campus Machado, MG. tamara.morais@ifsuldeminas.edu.br
5. Técnica de Laboratório, Laboratório de Biotecnologia, Instituto Federal do Sul de Minas Gerais - campus Machado, MG. maria.teixeira@ifsuldeminas.edu.br

estômatos, conteúdo de pigmentos fotossintéticos e sobrevivência na aclimatização.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

O meio para ambos os tratamentos foi suplementado com 30 g de sacarose e seu pH ajustado à 5,8. As culturas foram mantidas por 30 dias em sala de crescimento à 25 °C.

Foram feitas impressões paradérmicas da face abaxial das folhas utilizando cola instantânea universal. Foram 3 plantas de cada frasco ou BIT, 1 folha de cada planta e 3 campos visuais por folha.

A densidade estomática foi calculada pelo número de estômatos por unidade de área. Para o cálculo do índice estomático usou-se a fórmula de Cutter (1986).

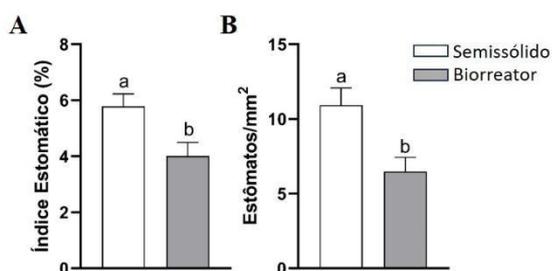
Teores de pigmentos fotossintéticos foram determinados usando folhas de 3 indivíduos por frasco ou BIT conforme método usado por BARBOSA et al., 2008. Calculou-se as clorofilas pelas equações propostas por Whitam, Blaydes e Devlin (1971) e os carotenoides conforme proposto por Lichtenthaler e Wellburn (1983).

Para a aclimatização, 10 plantas de cada frasco foram transferidas para bandejas contendo *Sfagnum* mais substrato comercial inerte. Após 30 dias foi avaliada a porcentagem de plantas sobreviventes.

Os dados obtidos foram avaliados no software Sisvar pelo teste de ANOVA e para analisar a diferença entre as médias foi realizado o teste de Tukey a 5%.

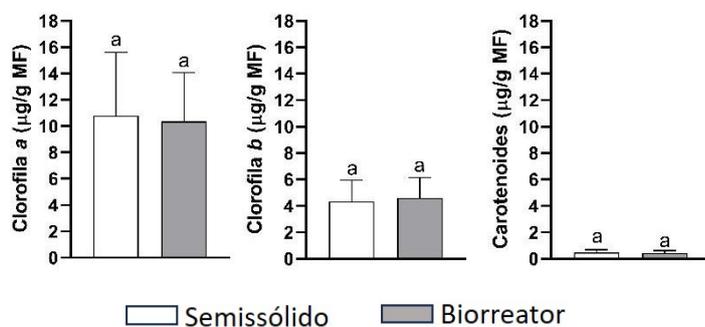
## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As plantas cultivadas em meio semissólido apresentaram maior índice e densidade estomática em relação as plantas cultivadas em BIT (Fig. 1). O alto índice estomático pode estar relacionado com a má funcionalidade dos estômatos de plantas crescidas em ambiente com alta umidade e sem troca gasosa com o ambiente. Outros trabalhos também relatam maior índice estomático em plantas cultivadas em meio semissólido quando comparadas com plantas cultivadas em BIT (SOLIS-ZANOTELLI et al., 2022; MANCILLA-ÁLVAREZ et al., 2021; MARTÍNEZ-ESTRADA et al., 2019).



**Figura 1:** Avaliação estomática na face abaxial de folhas de *Cattleya loddigesii* cultivada em biorreator e em meio de cultura semissólido. **A** – Índice estomático. **B** – Densidade estomática. Médias seguidas de letras iguais não diferem pelo teste de Tukey ( $P \geq 0,05$ ). Os valores são expressos como média  $\pm$  SEM.

Não houve diferença entre os conteúdos de pigmentos fotossintéticos em folhas de *Cattleya loddigesii* cultivada nos diferentes sistemas (Fig. 2). No entanto, segundo Mancilla-Álvarez et al. (2021), sistemas de imersão temporária, como BIT, promovem aumento da fotossíntese e da respiração, ambas causadas por um aumento na síntese de clorofila. No presente estudo, o fato de os conteúdos dos pigmentos fotossintéticos não apresentarem diferença nas plantas cultivadas nos diferentes sistemas pode estar relacionado ao maior índice e densidade estomática apresentados pelas plantas cultivadas em meio semissólido, pois a maior quantidade de estômato pode ter compensado a pouca funcionalidade dos estômatos. Muitos trabalhos relatam que estômatos de plantas cultivadas em sistema convencional de cultivo *in vitro*, ou seja, frasco sem ventilação, possuem baixa funcionalidade (FRITSCHER, PINHEIRO e GUERRA, 2022; MARTÍNEZ-ARROYO et al., 2023; PÉREZ et al., 2016).



**Figura 2:** Conteúdo de pigmentos fotossintéticos em *Cattleya loddigesii* cultivada em biorreator e em meio de cultura semissólido. **A** – Clorofila *a*. **B** – Clorofila *b*. **C** – Carotenoides. Médias seguidas de letras iguais não diferem pelo teste de Tukey ( $P \geq 0,05$ ). Os valores são expressos como média  $\pm$  SEM.

Após 30 dias de aclimatização, as plantas que foram cultivadas em meio semissólido apresentaram 100% de sobrevivência, enquanto as plantas cultivadas em BIT apresentaram 89%. Os diferentes sistemas de cultivo não afetaram a sobrevivência das plantas após aclimatização. Diferentemente do ocorrido no presente estudo, Kunakhonnuruk, Inthima e Kongbangkerd (2019) obtiveram maior taxa de sobrevivência em orquídeas da espécie *Epipactis flava* cultivadas em BIT quando compararam com plantas cultivadas em meio de cultura semissólido.

#### 4. CONCLUSÃO

*Cattleya loddigesii* cultivada em meio semissólido apresenta maior densidade e índice estomático quando comparada a plantas cultivadas em sistema de imersão temporária. Este fato não interferiu na produção de pigmentos fotossintéticos nem na sobrevivência da orquídea após aclimatização.

#### REFERÊNCIAS

BAPTISTA, L.R.M.; LONGHI-WAGNER, H.M. (Coord.). **Lista preliminar de espécies ameaçadas da flora do Rio Grande do Sul**. Porto Alegre. Sociedade de Botânica do Brasil, 1998. 72 p.

BARBOSA, J. Z.; SCOPEL, W.; VIEIRA, M. L. Procedimentos para extração de pigmentos fotossintetizantes em espécies frutíferas. **Evidência**, v. 8, n.1-2, p. 29-42. 2008.

BRASIL. **Ministério do Meio Ambiente**, Gabinete do Ministro. Portaria nº 148, de 7 de junho. Diário Oficial da União, 2022.

CUTTER, E.G. **Anatomia vegetal**. Parte I: células e tecidos. 2. ed. São Paulo: Roca, 1986.

FRITSCHÉ, Y.; PINHEIRO, M. V. M.; GUERRA, M. P. Light quality and natural ventilation have different effects on protocorm development and plantlet growth stages of the *in vitro* propagation of *Epidendrum fulgens* (Orchidaceae). **South African Journal of Botany**, v. 146, p. 864-874, 2022.

KUNAKHONNURUK, B.; INTHEMA, P.; KONGBANGKERD, A. *In vitro* propagation of rheophytic orchid *Epipactis flava* Seidenf - A comparison of semi-solid, continuous immersion and temporary immersion systems. **Biology**, v. 8, n. 4, p. 72, 2019.

LICHTENTHALER, H. K.; WELLBURN, A. R. Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. **Biochemical Society Transaction**. v. 11, n. 5, p. 591-592, 1983.

MANCILLA-ÁLVAREZ, E.; PÉREZ-SATO, J. A.; NÚÑEZ-PASTRANA, R.; SPINOSO-CASTILLO, J. L.; BELLO-BELLO, J. J. Comparison of different semi-automated bioreactors for *in vitro* propagation of taro (*Colocasia esculenta* L. Schott). **Plants**, v. 10, n. 5, p. 1010, 2021.

MARTÍNEZ -ESTRADA, E.; ISLAS-LUNA, B.; PÉREZ-SATO, J. A.; BELLO-BELLO, J. J. Temporary immersion improves *in vitro* multiplication and acclimatization of *Anthurium andreanum* Lind. **Scientia Horticulturae**, v. 249, p. 185-191, 2019.

MENDONÇA, M.P.; LINS, L.V. **Lista vermelha das espécies ameaçadas de extinção da flora de Minas Gerais**. Belo Horizonte: Fundação Biodiversitas, 2000.

OROZCO-ORTIZ, C.; SÁNCHEZ, L.; ARAYA-MATTEY, J.; VARGAS-SOLORZANO, I.; ARAYA-VALVERDE, E. BIT® bioreactor increases *in vitro* multiplication of quality shoots in sugarcane (*Saccharum* spp. variety LAICA 04-809). **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 152, n. 1, p. 115-128, 2023.

PABST, G.F.J.; DUNGS, F. 1977. Orchidaceae Brasilienses. v. 2. Kurt Schmersow, Hildesheim. PARLAK, S.; ERKEN, K. Effect of ultrasonic and vacuum treatments on the germination *Mantoglossum robertianum* (Loiseleur) p. *delforgei* (Orchidaceae) seeds under *in vitro* conditions. **Pakistan Journal of Botany**, v. 55, n. 5, p. 1729-1738, 2023.

PÉREZ, L. P.; MONTESINOS, Y. P.; OLMEDO, J. G.; RODRIGUEZ, R. B.; SÁNCHEZ, R. R.; MONTENEGRO, O. N.; GÓMEZ-KOSKY, R. Effect of phloroglucinol on rooting and *in vitro* acclimatization of papaya (*Carica papaya* L. var. Maradol Roja). **In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant**, v. 52, p. 196-203, 2016.

SULTANA, K. W.; DAS, S.; CHANDRA, I.; ROY, A. Efficient micropropagation of *Thunbergia coccinea* Wall. and genetic homogeneity assessment through RAPD and ISSR markers. **Scientific Reports**, v. 12, n. 1, p. 1683, 2022.