



MICROPROPAGAÇÃO DE *Catasetum macrocarpum* (Orchidaceae) EM BIORREATOR DE IMERSÃO TEMPORÁRIA: efeito da concentração de sacarose em meio de cultura

Suzanne A. da SILVA¹; Carlos H. C. JÚNIOR²; Wellington B. MAROTA³; Maria G. TEIXEIRA⁴

RESUMO

A utilização de biorreatores de imersão temporária (BIT) na micropopulação de orquídeas oferece uma alternativa promissora ao cultivo tradicional em meio semissólido (SS). O presente estudo teve como objetivo avaliar o efeito da concentração de sacarose no meio de cultura no desenvolvimento de *Catasetum macrocarpum* em BIT, em comparação com o cultivo convencional em meio SS. Foram testadas duas concentrações de sacarose (15 e 30 g L⁻¹). Foram avaliados o crescimento das plantas, teores de pigmentos fotossintéticos e sobrevivência na aclimatização. Os resultados demonstraram superioridade do sistema BIT nas avaliações de crescimento, índice estomático e teor de clorofila, além de maior sobrevivência na aclimatização. Este estudo é relevante para aprimorar técnicas de cultivo de orquídeas em larga escala e sua conservação.

Palavras-chave:

Cultivo *in vitro*; Fonte de carbono; Orquídea; Sistema mixotrófico.

1. INTRODUÇÃO

Muitos estudos comprovam as vantagens do cultivo de várias espécies de plantas em biorreatores de imersão temporária (BIT) sobre o sistema convencional de cultivo *in vitro* com meio semissólido (SS), como relatam Mirzabe *et al.*, (2022) em sua revisão. O curto tempo de imersão e a exposição mais prolongada da cultura ao ar reduzem os efeitos prejudiciais da hiperidridicidade e da asfixia, proporcionando à planta condições ideais para a absorção eficiente de nutrientes sob o menor contato com líquidos. Recentemente, inúmeras pesquisas vêm sendo feitas utilizando este sistema de cultivo *in vitro* para melhorar o protocolo de micropopulação de plantas de interesse ambiental e comercial (Baltazar-Bernal; Mora-González; Ramírez-Mosqueda, 2024; Lambardi *et al.*, 2015; Mancilla-Álvarez *et al.*, 2024; Souza *et al.*, 2020; Vendrame; Xu; Beleski, 2023).

As orquídeas são as plantas ornamentais mais comercializadas, pois são muito apreciadas pela população no mundo todo. Em 2020, apesar dos desafios da pandemia e da valorização do dólar, o Brasil importou mais de US\$ 20 milhões dessas plantas. As mudas de orquídeas dominaram as importações do setor, representando 98% do valor total, conforme informações do Ministério da Economia (Confederação da Agricultura e Pecuária do Brasil, 2024).

¹Bolsista PIBIC, IFSULDEMINAS – Campus Machado. E-mail: suzanneandradedasilva@gmail.com.

²Discente de Engenharia Agronômica, IFSULDEMINAS – Campus Machado. E-mail: carlos.correa@alunos.ifsuldeminas.edu.br.

³Coorientador, IFSULDEMINAS – Campus Machado. E-mail: wellington.marota@ifsuldeminas.edu.br.

⁴Orientadora, IFSULDEMINAS – Campus Machado. E-mail: maria.teixeira@ifsuldeminas.edu.br.

Catasetum macrocarpum é uma orquídea normalmente epífita ou terrícola (Machnicki-Reis et al., 2015), nativa da América do Sul. Está classificada como espécie em perigo de ser extinta no apêndice II da Cites (Convenção sobre Comércio Internacional das Espécies da Flora e Fauna Selvagens em Perigo de Extinção) (Ministério do Meio Ambiente, 2022). O preço desta orquídea no mercado varia de 50 a 70 reais⁵.

Dado o exposto, fica evidente a importância do desenvolvimento de pesquisas com a micropropagação de *C. macrocarpum* usando o BIT.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi desenvolvido no Laboratório de Biotecnologia do IFSULDEMINAS - *Campus* Machado, entre os meses de junho de 2024 e maio de 2025. Para o experimento, o fruto de *Catasetum macrocarpum* foi desinfestado com álcool 70% por 2 min e hipoclorito de sódio com tween 20 por 15 min e enxaguado com água destilada autoclavada. Em câmara de fluxo laminar, o fruto foi aberto e as sementes depositadas em frascos contendo MS, 3 % de sacarose e 1 g L⁻¹ de carvão ativado. Os frascos permaneceram em sala de crescimento cerca de 60 dias.

As plântulas provenientes da germinação foram pesadas (cerca de 5 g) e transferidos para BIT contendo meio MS (Murashige; Skoog, 1962) com vitaminas, inositol e glicina. Foram testados 2 concentrações de sacarose (15 e 30 g L⁻¹). Com tempo de imersão de 3 min. O intervalo de imersão foi de 4 horas. Foram 3 biorreatores para cada tratamento.

Com a finalidade de comparação, plântulas de *C. macrocarpum* também foram pesadas (cerca de 1 g) e cultivadas em frascos com meio MS semissólido suplementado com 15 g L⁻¹ ou 30 g L⁻¹ de sacarose, vitaminas MS, glicina e 6 g L⁻¹ de ágar. Foram 10 frascos para cada concentração de sacarose.

Todos os meios foram ajustados para pH 5,7 e todas as culturas mantidas por 60 dias em sala de crescimento a 25°C e fotoperíodo de 16 h de luz. O delineamento foi inteiramente casualizado, em fatorial 2x2 (2 sistemas de cultivo x duas concentrações de sacarose).

Para análise da taxa de incremento de massa, as plantas foram pesadas após os 60 dias de incubação, sendo então feita a diferença entre massa final e massa inicial. O cálculo do índice estomático foi feito utilizando a fórmula de Cutter (1986).

A análise de pigmentos fotossintéticos foi conforme metodologia de Barbosa; Scopel; Vieira (2008) e calculou-se os teores de clorofilas e carotenoides conforme Witham, Blaydes e Devlin (1971) e Lichtenthaler e Wellburn (1983), respectivamente. Para avaliar a aclimatização, 10 plantas de cada frasco do BIT e do SS foram transferidas para bandejas contendo casca de *Pinus*. Após 30

⁵ Informação retirada dos sites <<https://www.seidel.com.br/produto/catasetum-macrocarpum>>, <<https://www.orquideasdobresca.com.br/produtos/catasetum-macrocarpum>> e <<https://www.orquidariosantabarbara.com/loja/produto/catasetum-macrocarpum>>.

dias foi avaliada a porcentagem de plantas sobreviventes. Os dados obtidos através das análises foram avaliados no software Sisvar (Ferreira, 2019). Foi feito teste de ANOVA e para analisar a diferença entre as médias foi feito o teste de Tukey a 5%.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em comparação com o SS, as plantas cultivadas em BIT apresentaram maior incremento de massa (Fig. 1A). O tratamento com 30 g L⁻¹ de sacarose proporcionou maior comprimento das plantas (Fig. 1B).

Quanto à análise dos estômatos, o maior índice estomático (IE) foi das plantas cultivadas em BIT com meio contendo 15 g L⁻¹ de sacarose (Figura 1C).

As plantas cultivadas em BIT apresentaram porcentagem de sobrevivência superior na aclimatização (Fig. 1D). Segundo Pérez-Alonso *et al.* (2012), a eficiência das trocas gasosas e melhor absorção de nutrientes de plantas micropagadas em BIT proporcionam melhor crescimento, o que pode levar a uma maior adaptação à aclimatização.

As análises dos pigmentos mostraram que o teor de clorofitas totais foi maior nas plantas cultivadas em BIT com 30 g L⁻¹ (Figura 1E e 1F).

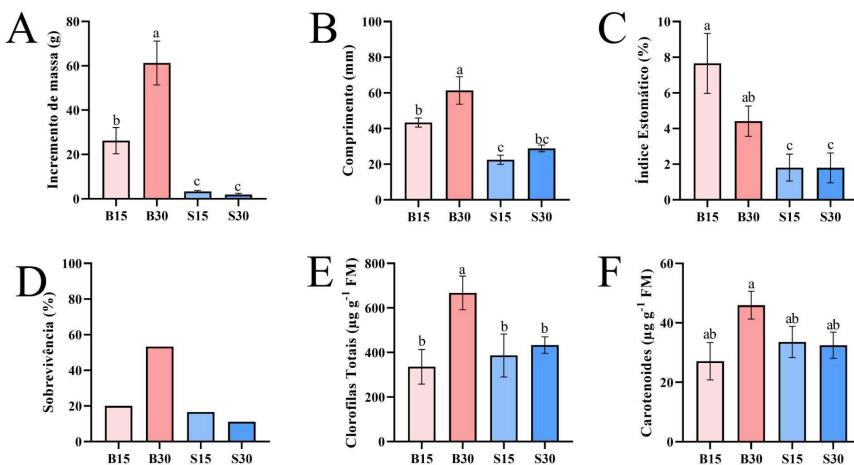


Figura 1: Análises comparativas de *Catassetum macrocarpum* cultivada em sistema de Biorreator de Imersão Temporária (BIT) e meio semissólido (SS) com duas concentrações de sacarose (15 e 30 g L⁻¹). Crescimento (A, B), Aclimatização (D) e respostas fisiológicas (C, E, F). B15: BIT contendo meio com 15 g L⁻¹ de sacarose; B30: BIT contendo meio com 30 g L⁻¹ de sacarose; S15: SS contendo meio com 15 g L⁻¹ de sacarose; S30: SS contendo meio com 30 g L⁻¹ de sacarose.

4. CONCLUSÃO

A micropropagação de *C. macrocarpum* em um sistema BIT apresenta-se como uma técnica superior ao método convencional de propagação em meio semissólido, sendo a abordagem com 30 g L⁻¹ de sacarose em meio de cultura ainda mais significativa para as respostas fisiológicas.

REFERÊNCIAS

BALTAZAR-BERNAL, O.; MORA-GONZÁLEZ, E. G.; RAMÍREZ-MOSQUEDA, M. A. Orchid Micropropagation Using Temporary Immersion Systems: A Review. In: **Micropropagation Methods in Temporary Immersion Systems**. New York: Springer, 2024. p. 227-244.

BARBOSA, J. M.; SCOPEL, E.; VIEIRA, E. L. Análise quantitativa de pigmentos fotossintéticos em folhas de diferentes idades de plantas jovens de *Copaifera langsdorffii* Desf. (Leguminosae-Caesalpinoideae) sob condições de viveiro. **Revista Árvore**, v. 32, n. 4, p. 619-625, 2008.

CONFEDERAÇÃO DA AGRICULTURA E PECUÁRIA DO BRASIL. **Mercado de flores do Brasil chama atenção de outros países**. Brasília, DF: CNA, 2024. Disponível em: <https://www.xataka.com.mx/servicios/ahora-ya-podemos-buscar-post-específicos-en-facebook>. Acesso em: 29 jul. 2025.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer analysis system to fixed effects split plot type designs. **Revista Brasileira de Biometria**, v. 37, n. 4, p. 529-535, 2019.

GOVAERTS, R. H. et al. **World Checklist of Orchidaceae**. [S. l.]: Royal Botanic Gardens Kew, 2016. Disponível em: <http://apps.kew.org/wcsp>. Acesso em: 16 abr. 2024.

LAMBARDI, M. et al. Improvement of shoot proliferation by liquid culture in temporary immersion. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON PRODUCTION AND ESTABLISHMENT OF MICROPROPAGATED PLANTS, 6., 2015, Sanremo. **Anais** [...]. Sanremo: ISHS, 2015.

MACHNICKI-REIS, M. M. et al. O gênero *Catasetum* Rich. ex Kunth (Orchidaceae, Catasetinae) no Estado do Paraná, Brasil. **Hoehnea**, São Paulo, v. 42, n. 1, p. 185-194, jan. 2015.

MANCILLA-ÁLVAREZ, E. et al. Temporary immersion systems induce photomixotrophism during in vitro propagation of agave Tobalá. **3 Biotech**, v. 14, n. 3, p. 1-9, 2024.

MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE. **Atualização dos Anexos da Convenção sobre o Comércio Internacional de Espécies Ameaçadas de Fauna e Flora Selvagens (CITES)**. Brasília, DF: MMA, 2022. (Anexo à Portaria nº 18.169, de 30 de janeiro de 2024).

MIRZABE, A. H. et al. Temporary immersion systems (TISs): a comprehensive review. **Journal of Biotechnology**, v. 357, p. 56-83, 2022.

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

NIEMENAK, N.; NOAH, A. M.; OMOKOLO, D. N. Micropropagation of cocoyam (*Xanthosoma sagittifolium* L. Schott) in temporary immersion bioreactor. **Plant Biotechnology Reports**, v. 7, n. 4, p. 383-390, 2013.

PÉREZ-ALONSO, N. et al. Morphological and physiological response of proliferating shoots of teak to temporary immersion and BA treatments. **Trees - Structure and Function**, v. 26, n. 4, p. 1195-1204, 2012. Disponível em: <https://digibuo.uniovi.es/dspace/bitstream/handle/10651/7636/Morphological.pdf>. Acesso em: 29 Jul. 2025.

ROCHA, D. I.; PAIVA, R.; NICIOLI, P. M.; REIS, M. V. Temporary immersion bioreactors as a biotechnological tool for the production of secondary metabolites of medicinal plants: A review. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 42, p. 102353, 2022.

TEIXEIRA DA SILVA, J. A.; DOBRÁNSZKI, J. The application of temporary immersion systems to the micropropagation of the Orchidaceae family. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)**, v. 146, p. 237-260, 2021.

VENDRAME, W. A.; XU, J.; BELESKI, D. G. Micropropagation of *Brassavola nodosa* (L.) Lindl. using SETIST™ bioreactor. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 153, n. 1, p. 67-76, 2023.