



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; Welington B. MAROTA³; Maria G. TEIXEIRA⁴

RESUMO

A utilização de biorreatores de imersão temporária (BIT) na micropropagação 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 hiperidricidade 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 micropropagação 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 Agrônoma, 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 micropropagadas em BIT proporcionam melhor crescimento, o que pode levar a uma maior adaptação à aclimatização.

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

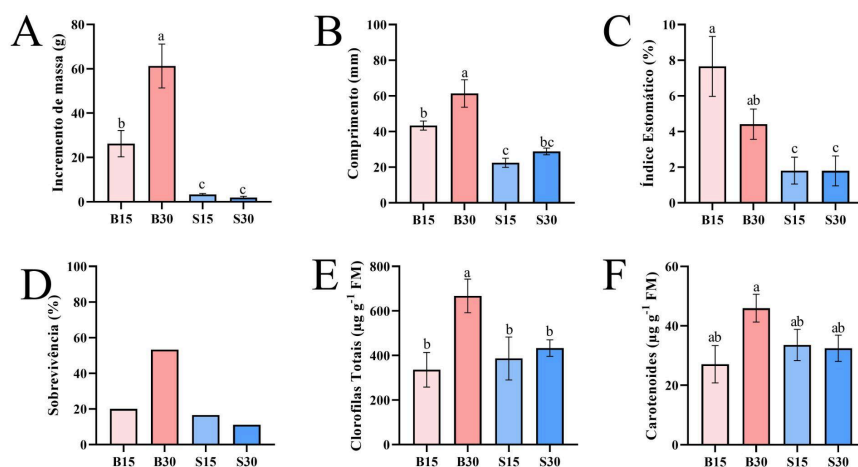


Figura 1: Análises comparativas de *Catasetum macrocarpum* cultivada em sistema de Biorreator de Imersão Temporária (BIT) e meio semissólido (SS) com duas concentrações de sacarose (15 e 30 g L⁻¹). Crescimento (A, B), Aclimatização (D) e respostas fisiológicas (C, E, F). B15: BIT contendo meio com 15 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-Caesalpinioideae) 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/servicios/ahora-ya-podemos-buscar-post-especificos-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.