

Avaliação de uso da tecnologia de produção de sementes sintéticas para pimenta longa.

Jonny Everson Scherwinski Pereira¹; Rodrigo da Silva Guedes²; Frederico Henrique da Silva Costa³; Gottfried Critian Barbary Schmitz⁴

¹Embrapa Acre, C. Postal 321, 69908-970 Rio Branco-AC. E-mail: jonny@cpafac.embrapa.br; ²Mestrando do curso de pós-graduação em produção vegetal, UFAC, Rio Branco-AC; ³Mestrando em Fitotecnia, UFLA, Bolsista CNPq, 37200-000 Lavras-MG; ⁴Embrapa Acre, Bolsista DTI do CNPq.

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar o uso potencial da tecnologia de sementes sintéticas como alternativa à propagação *in vitro* de pimenta longa (*Piper hispidinervum* C. DC.). Para tanto, a influência da constituição da cápsula sobre formação, germinação e desenvolvimento *in vitro* de unidades encapsuláveis foi estudada. Sementes pré-germinadas com 21 dias de cultivo em meio de cultura de MS foram utilizadas como material de encapsulamento. A concentração de alginato de sódio utilizada na matriz de encapsulamento foi de 1,5% e a esta consistência se testou água, MS 1/2, MS 3/4 e MS pleno, associado ou não ao carvão ativado (3 g.L⁻¹) como elementos nutricionais da cápsula. As variáveis respostas avaliadas foram: taxa de germinação e crescimento das plântulas, durante 30 dias. O delineamento foi inteiramente casualizado, com cinco repetições e dez unidades encapsuláveis por parcela. Verificou-se que o emprego de um endosperma sintético constituído por 75% dos sais e vitaminas de MS, acrescido de carvão ativado (3 g.L⁻¹) promove os melhores resultados na germinação de sementes sintéticas de pimenta longa aos 30 dias da semeadura.

Palavras-chave: *Piper hispidinervum*; unidades encapsuláveis; alginato de sódio.

ABSTRACT – Evaluation of the technology use of synthetic seeds to long pepper.

The objective of present work was to evaluate the potential use of synthetic seeds technology as alternative to *in vitro* propagation of long pepper (*Piper hispidinervum* C. DC.). It was studied the influence of capsule constitution on formation, germination and development of *in vitro* encapsulated units. Long pepper pre-germinated seeds with 21 days of cultivation in MS medium were used as material to encapsulation. The concentration of sodium alginate used in the encapsulation matrix was 1,5% and to this consistency it was tested water, MS 1/2, MS 3/4 and MS at full concentration, associated or not with active charcoal (3 g.L⁻¹), as nutritional elements of the capsule. After encapsulation, cultures were maintained in a growth room at 25 ± 2°C with a photoperiod of 16 h at 30 µmol.m⁻²s⁻¹, where germination rate and growth of the plantlets were evaluated for a month. A completely randomized design was used with five replicate and

ten encapsulated units by replicate. It was verified that the employment of a synthetic endosperm constituted by MS 3/4, added of active charcoal (3 g.L^{-1}), promotes the best results to the germination of synthetic seeds of long pepper.

Keywords: *Piper hispidinervum*; encapsulated units; sodium alginate.

INTRODUÇÃO

A pimenta longa (*Piper hispidinervum* C. D.C.), planta pertencente à família Piperaceae, de ocorrência natural na vegetação secundária de Regiões da Amazônia, tem despertado o interesse de empresários do ramo de fitoquímicos, pelo elevado teor de safrol obtido em seu óleo essencial (Wadt, 2001). Contudo, apesar de sua relevância, poucos são os estudos acerca desta espécie (Sá & Pimentel, 2001; Sousa et al., 2001), evidenciando assim a necessidade de pesquisas sobre métodos mais eficientes de propagação, conservação, melhoramento vegetal e síntese de safrol.

Uma tecnologia que vem se revelando como importante ferramenta em trabalhos de micropropagação e conservação *in vitro* de germoplasma é a de produção de sementes sintéticas. Além de permitir a manutenção da identidade genética do material vegetal e a rápida multiplicação dos propágulos, a técnica facilita a troca de germoplasma entre instituições de pesquisa, além de ser uma importante alternativa para a conservação de genótipos desejáveis a baixos custos sob condições *in vitro* (Maruyama et al., 1997; Nassar, 2003).

Este trabalho objetivou avaliar a possibilidade de uso da tecnologia de sementes sintéticas como ferramenta alternativa à produção *in vitro* de propágulos de pimenta longa (*Piper hispidinervum* C. DC.). Para tanto, a influência da composição da matriz de encapsulamento no desenvolvimento *in vitro* de sementes sintéticas a partir de sementes pré-germinadas foi avaliado.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Cultura de Tecidos de Plantas da Embrapa Acre, Rio Branco, AC. Como material vegetal usado para o encapsulamento, utilizaram-se sementes pré-germinadas de pimenta longa com 21 dias de cultivo em meio de cultura básico de MS (Murashige e Skoog, 1962), acrescido de 30 g.L^{-1} de sacarose e solidificado com 6 g.L^{-1} de ágar.

Uma vez selecionadas, as plântulas foram misturadas à matriz de alginato de sódio (1,5%) e com o auxílio de uma pipeta automática e ponteira autoclavada (ajustada para $350 \text{ }\mu\text{L}$), foram individualmente resgatadas e gotejadas em solução de $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$

(50mM), permanecendo por 20 minutos para complexação. Em seguida, as unidades encapsuláveis foram submetidas a três lavagens em água destilada e esterilizada. Uma vez obtidas as cápsulas com o material no seu interior, procedeu-se a imersão das cápsulas em solução de KNO_3 (100mM) por 20 minutos para a descomplexação. Após este período, as cápsulas passaram por nova lavagem em água destilada e esterilizada, sendo então semeadas sobre 40 mL de meio de MS para germinação e desenvolvimento. Os tratamentos consistiram da influência da constituição da cápsula (água, MS 1/2, MS 3/4 e MS pleno), associado à adição ou não de carvão ativado (3g.L^{-1}). O delineamento estatístico empregado foi inteiramente casualizado, em fatorial 2×4 , sendo cada tratamento representado por cinco repetições com 10 unidades encapsuladas por parcela. Quinzenalmente foi avaliada a germinação e altura das plântulas por um período de 30 dias.

As culturas foram mantidas em sala de crescimento à temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, fotoperíodo de 16 horas e radiação luminosa de $30 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$. Os dados obtidos foram analisados com o emprego do programa estatístico SANEST (Zonta & machado, 1984) e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Dados expressos em percentagem (x) foram transformados segundo arco seno $(x/100)^{0.5}$

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A adição de concentrações mais elevadas do meio MS (3/4 e pleno) na matriz de encapsulamento proporcionou os maiores percentuais de germinação. Para os tratamentos onde se utilizou o meio MS nas concentrações 1/2 e 3/4, o acréscimo de carvão ativado (3g.L^{-1}) à matriz de alginato promoveu resultados significativamente superiores no percentual de germinação. Observou-se ainda que em relação à época de avaliação, o maior percentual médio de germinação foi obtido aos 30 dias da semeadura, independente da constituição e adição de carvão ativado a matriz de alginato.

Castillo et al. (1998) observaram que a frequência de regeneração dos embriões encapsulados foi favorecida quando se utilizou MS 1/2 na matriz de alginato, com 77,5% de germinação dos embriões. Efeito benéfico do carvão ativado foi verificado por Sandoval & Guerra (2002) sobre o percentual de conversão e vigor das unidades encapsuláveis de *Musa* sp. Outro efeito importante promovido pela adição de carvão ativado a matriz de alginato é o incremento na respiração dos explantes encapsulados e a adsorção de aglomerados de nutrientes que são gradativamente liberados para o explante, favorecendo assim o desenvolvimento dos cultivos (Saiprasad, 2001). Em relação à altura das plântulas germinadas a partir de unidades encapsuladas de pimenta longa, nenhuma

diferença estatística foi observada entre os tratamentos empregados. Diferenças significativas quanto à altura de plântulas só foram verificadas quanto à época de avaliação, tendo sido a maior altura média das plântulas (0,7 cm) aos 30 dias. Assim, conclui-se que o emprego de um endosperma sintético constituído por 75% dos sais e vitaminas de MS, acrescido de carvão ativado (3 g.L⁻¹) promove os melhores resultados na germinação de sementes sintéticas de *Piper hispidinervum*.

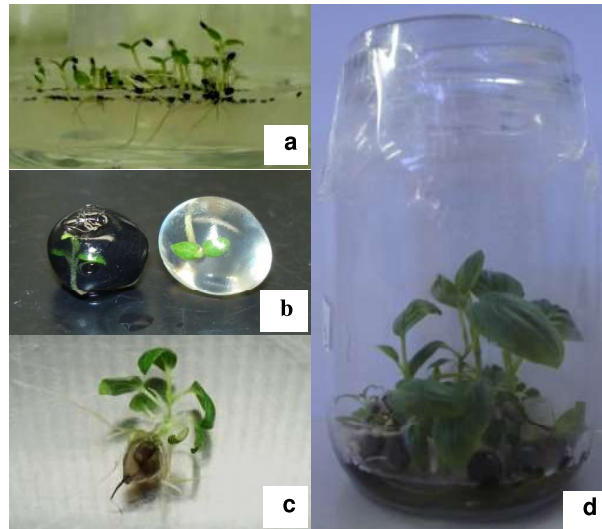


Figura 1. Aspecto da produção de sementes sintéticas de pimenta longa: a) sementes pré-germinadas com 21 dias utilizadas como material para o encapsulamento; b) plântulas pré-germinadas encapsuladas; c) plântula germinada através da matriz de encapsulamento após 30 dias; e) plantas germinadas após 60 dias de cultivo em meio de MS prontas para serem repicadas.

LITERATURA CITADA

- CASTILLO, B.; SMITH, M.A.L.; YADAVA, U.L. Plant regeneration from encapsulated somatic embryos of *Carica papaya* L. *Plant Cell Reports*, v.17, p.172-176, 1998.
- MARUYAMA, E.; KINOSHITA, I.; ISHII, K.; OHBA, K.; SAITO, A. Germoplasm conservation of the tropical forest trees, *Cedrela odorata* L., *Guazuma crinita* Mart., and *Jacaranda mimosaeifolia* D. Don., by shoot tip encapsulation in calcium-alginate and storage at 12-25°C. *Plant Cell Reports*, v.16, p.393-396, 1997.
- NASSAR, A.H. Slow growth storage of encapsulated germplasm of *Coffea arabica* L. *International Journal of Agriculture & Biology*, v.5, n.4, 2003.
- SÁ, C.P. de & PIMENTEL, F.A. *Viabilidade financeira da exploração da Pimenta longa em sistemas de cultivo racional e extrativismo no Acre*. Rio Branco: Embrapa Acre, Dez./2001. 2p. (Comunicado Técnico, n. 136).
- SAIPRASAD, G.V.S. Artificial seeds and their application. *Resonance*, p.39-47, 2001.
- SANDOVAL, E.Y.; GUERRA, M.P. Encapsulamento de Microbrotos de Bananeira Cv. Grand Naine. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 17, 2002, Belém, *Anais...*, Jaboticabal: Sociedade Brasileira de Fruticultura, 2002. CD-ROM. 5p.
- SOUSA, M. DE M. M.; LÊDO, F. J. DA S.; PIMENTEL, F. A. Efeito da adubação e do calcário na produção de matéria seca e de óleo essencial de pimenta longa. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 36, n. 3, p. 405-409, 2001.
- WADT, L.H. DE O. *Estrutura genética de populações naturais de pimenta longa* (*Piper hispidinervum* C. DC.), visando seu uso e conservação. 2001. 95 p. Tese, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba.