

Produção de unidades encapsuláveis de pimenta longa a partir de sementes pré-germinadas.

Rodrigo da Silva Guedes¹; Frederico Henrique da Silva Costa²; Gottfried Critian Barbary Schmitz³; Jonny Everson Scherwinski Pereira⁴

¹Mestrando do curso de Pós-Graduação em Produção Vegetal, UFAC, Rio Branco, AC; ²Mestrando em Fitotecnia, UFLA, Bolsista CNPq, 37.200-000 Lavras, MG; ³Embrapa Acre, Bolsista DTI do CNPq; ⁴Embrapa Acre, C. Postal 321, 69908-970 Rio Branco-AC. E-mail: jonny@cpafac.embrapa.br;

RESUMO

O objetivo do trabalho foi avaliar a influência de características físicas e nutricionais da matriz de encapsulamento na produção de sementes sintéticas de pimenta longa. Sementes germinadas de pimenta longa foram utilizadas como material de encapsulamento. Em dois experimentos, a influência da constituição (água ou MS) e da consistência da cápsula (alginato de sódio a 1% ou 2%), e do tempo de complexação (10, 20 e 30 minutos) em KNO₃ e da abertura das cápsulas foram avaliados. Após encapsulados, os materiais foram transferidos para frascos com meio de MS e mantidos em sala de crescimento, onde quinzenalmente foi avaliada a taxa de germinação e crescimento das plântulas encapsuladas. Verificou-se que o emprego de um endosperma artificial composto por 1% de alginato de sódio em meio de MS é o tratamento que promove os melhores resultados para a conversão e posterior crescimento de plantas oriundas de sementes sintéticas aos 30 dias da semeadura em meio MS sólido, independentemente do tempo de complexação utilizado.

Palavras-chave: *Piper hispidinervum*; sementes artificiais; alginato de sódio; tempo de complexação.

ABSTRACT – Production of encapsulated units of long pepper from pre-germinated seeds

Abstract - This work objectived to evaluate physical and nutritional characteristics of the matrix of encapsulation during the production of synthetic seeds of long pepper. Germinated seeds of long pepper were used as vegetative material to the encapsulation. In two experiments, the influence of the constitution (water or MS) and consistency of the capsule (sodium alginate at 1% or 2%), time of complexation in KNO₃ (10, 20 and 30 minutes) and opening of the capsules were evaluated. After encapsulated, the materials were transferred to flasks with MS medium and maintained in a growth room, where were evaluated the germination and growth rates of the encapsulated plantlets. It was verified that the use of an artificial endosperm composed by 1% of sodium alginate in MS medium is the treatment that promotes the best results for the conversion and posterior growth of

plants originating from synthetic seeds after 30 days of culture in solid MS medium, independently of the time used to complexation.

Keywords: *Piper hispidinervum*; synseeds; sodium alginate; complexation time.

INTRODUÇÃO

A *Piper hispidinervum* C. DC., popularmente conhecida como pimenta longa, é uma planta arbustiva aromática, de cujas folhas e ramos finos se obtêm um óleo essencial rico em safrol, um importante metabólito secundário que nos últimos anos tem despertado interesse das indústrias de cosméticos e bioinseticidas (Wadt, 2001).

Nesse contexto, pela sua importância, a aplicação de técnicas biotecnológicas parece de fundamental importância à espécie. Dentre estas técnicas, a tecnologia de sementes sintéticas representa uma importante ferramenta no estabelecimento de protocolos eficientes de micropropagação massal, tendo sido reportada com sucesso para várias espécies vegetais (Soneji et al., 2002; Hassaneim et al., 2005). O uso e aprimoramento da técnica se justificam pelo baixo custo, rápida multiplicação dos propágulos, facilidade no transporte e troca de germoplasma e conservação de genótipos sob condições *in vitro* (Saiprasad, 2001). Apesar de todo potencial da técnica, são relativamente poucos os estudos acerca do tipo de explante, constituição e consistência da cápsula, condições de cultivo e armazenamento das unidades encapsuláveis.

O objetivo do trabalho foi avaliar a influência de características físicas e nutricionais da matriz de encapsulamento na produção de sementes sintéticas de pimenta longa.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Cultura de Tecidos de Plantas da Embrapa Acre, Rio Branco, AC. Para o encapsulamento, utilizaram-se sementes pré-germinadas de *Piper hispidinerviium* com 21 dias de cultivo *in vitro* em meio básico de MS (Murashige e Skoog, 1962), acrescido de 30 g.L⁻¹ de sacarose e 6 g.L⁻¹ de ágar.

Após seleção das plântulas, estas foram misturadas à matriz de alginato de sódio e com o auxílio de uma pipeta automática e ponteira autoclavada (ajustada para 350 µL), foram individualmente resgatadas e gotejadas em solução de CaCl₂.2H₂O (50mM), permanecendo por período determinado de acordo com os experimentos. Posteriormente a fase de complexação, as unidades encapsuláveis foram submetidas a três lavagens em água destilada e esterilizada. Uma vez obtidas as unidades encapsuladas, procedeu-se à imersão das mesmas em solução de KNO₃ (100mM) por 20 minutos para a descomplexação, realizando-se logo após nova lavagem das cápsulas em água destilada e esterilizada e, finalmente a semeadura das mesmas sobre 40 mL de meio de MS.

No primeiro experimento, a influência da constituição (água ou MS), associado à consistência da cápsula (alginato de sódio Synth[®] a 1% ou 2%) foram estudados. O tempo de complexação empregado foi de 15 minutos. As avaliações da germinação e altura das plântulas foram realizadas aos quinze e aos trinta dias da sementeira *in vitro*. No segundo experimento, estudou-se a constituição (água ou MS pleno) e consistência da cápsula (alginato de sódio Synth[®] a 1% ou 2%), associados ao tempo de complexação (10, 20 e 30 minutos). Decorrido trinta dias da sementeira *in vitro* procedeu-se a avaliação da percentagem de germinação e altura das plântulas.

O delineamento estatístico empregado em ambos os experimentos foi inteiramente casualizado, com cinco repetições e 10 unidades encapsuladas por parcela. As culturas foram mantidas em sala de crescimento à temperatura de 25 ± 2 °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

Experimento 1. A introdução de meio MS à matriz de alginato de sódio (1%) proporcionou os melhores resultados para o percentual de sementes sintéticas germinadas *in vitro*. Em relação ao fator época de avaliação, observou-se que os maiores valores para o percentual de germinação ocorreu aos 30 dias da sementeira, com uma média de 79,1%, independentemente da constituição e dureza de cápsula. Para altura de plântulas, diferenças significativas foram verificadas apenas com o emprego de alginato a 1%, aos 30 dias da sementeira, o que foi atribuído a maior facilidade de germinação dos explantes obtidas sob esta condição, contribuindo para o rápido estabelecimento das plântulas sobre o meio de cultivo, absorção de nutrientes e, conseqüente, desenvolvimento.

Experimento 2. Maiores percentuais de germinação (média de 99,8%) foram observados com a adição de meio MS a matriz de encapsulamento quando associado à 1% de alginato, aos 30 dias da sementeira. Em relação ao efeito do tempo de complexação sobre a altura das plântulas formadas, observou-se que, apesar de não haver diferenças estatísticas quanto à constituição da cápsula, houve pequena redução da altura das plântulas com o aumento do tempo de complexação, quando se utilizou alginato a 1%. Por outro lado, plantas mais altas foram obtidas em alginato a 1% na matriz de alginato. De acordo com Patel et al. (2000), a resistência e dureza da cápsula são um dos principais fatores a serem considerados durante o processo de encapsulamento, pois

exercerem influência decisiva na taxa de conversão das unidades encapsuláveis, sendo este último aspecto um dos fatores limitantes no uso prático desta ferramenta (Adriani et al., 2000).

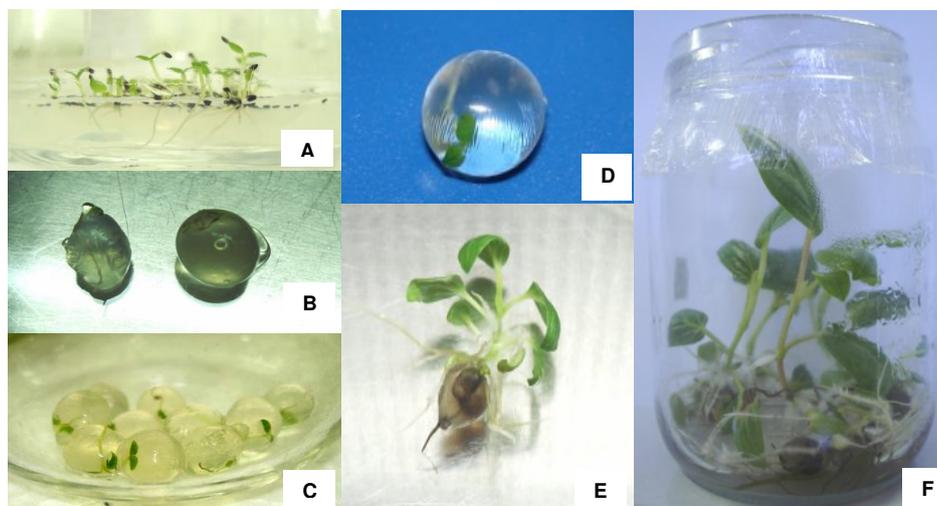


Figura 1. Aspecto da produção de sementes sintéticas de pimenta longa: A) sementes pré-germinadas com 21 dias utilizadas como material para o encapsulamento; B) aspecto de sementes pré-germinadas encapsuladas em diferentes concentrações de 1% e 2% de alginato de cálcio; C-D) aspecto das plântula pré-germinadas encapsuladas; E-F) plantas germinadas após 30 e 60 dias de cultivo em meio de MS, prontas para serem repicadas.

LITERATURA CITADA

- ADRIANI, M.; PICCIONI, E.; STANDARD, A. Effect of different treatments on the conversion of 'Hayward' kiwifruit synthetic seeds to whole plants following encapsulation of *in vitro*-derived buds. *Journal of Crop and Horticultural Science*, v.28, p.59-67, 2000.
- HASSANEIN, A.M.; IBRAHIEM, I.A.; GALAL, A.A.; SALEM, J.M.M. Micro-propagation factors essential for massal production of synthetic seeds in banana. *Journal of Plant Biotechnology*, v.7, n.3, p.1-7, 2005.
- PATEL, A.V.; PUSCH, I.; MIX-WAGNER, G.; VORLOP, K.D. A novel encapsulation technique for the production of artificial seeds. *Plant Cell Reports*, v.19, p.868-874, 2000.
- SAIPRASAD, G.V.S. Artificial seeds and their application. *Resonance*, p.39-47, 2001.
- SONEJI, J.R.; RAO, P.S.; MHATRE, M. Germination of synthetic seeds of pineapple (*Ananas comosus* L. Merr.) *Plant Cell Reports*, v.20, p.891-894, 2002.
- 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.
- ZONTA, E.P.; MACHADO, A.A. *Sanest - Sistema de Análise Estatística para microcomputadores*. Pelotas: UFPel, SEI, 1984. 138 p.