



VIABILIDADE DA TECNOLOGIA DE SEMENTES SINTÉTICAS PARA CONSERVAÇÃO *IN VITRO* DE PLÂNTULAS DE PIMENTA LONGA (*Piper hispidinervum*)

Resumo: Dentre os diversos usos dos recursos genéticos vegetais destacam-se as plantas produtoras de óleos essenciais. A tecnologia de sementes sintéticas representa importante ferramenta no estabelecimento de protocolos eficientes de micropropagação. O sucesso da propagação através de sementes sintéticas é altamente influenciado pela composição utilizada na formação da cápsula. Este trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar o potencial do uso desta tecnologia para a produção de propágulos e conservação *in vitro* de Pimenta longa (*Piper hispidinervum*) testando a influência da temperatura na conservação e viabilidade destas sementes. Sementes pré-germinadas foram imersas na matriz de alginato de sódio 2,5% associado ao meio MS50% e individualmente resgatadas e gotejadas em solução de cloreto de cálcio, na qual permaneceram por 25 minutos para ocorrer a complexação e armazenadas em diferentes temperaturas, onde permaneceram no escuro por 30 dias. Após este tempo ocorreu a descomplexação em solução de nitrato de potássio. Após 45 dias de cultivo em meio MS ocorreu emergência de 35% das plântulas que estavam na sala de crescimento a temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, neste tratamento também ocorreu a contaminação por fungos em 25% das sementes sintéticas e a oxidação em 16% delas, nos demais tratamentos não foram observadas emergências. São necessários mais estudos sobre a composição da matriz de encapsulamento para viabilizar a conservação *in vitro* de sementes sintéticas desta espécie.

Palavras-chave: conservação *in situ*, pimenta longa, *Piper hispidinervum*, sementes sintética

Introdução

Dentre os diversos usos dos recursos genéticos vegetais destacam-se as plantas produtoras de óleos essenciais. A espécie conhecida como pimenta longa (*Piper hispidinervum*), nativa do Acre, desponta como alternativa econômica social tanto para os agricultores tradicionais como para os extrativistas que dispõem de áreas desmatadas. O óleo essencial desta espécie apresenta alto teor de safrol importante metabólito secundário usado pela indústria química.

A tecnologia de sementes sintéticas representa importante ferramenta no estabelecimento de protocolos eficientes de micropropagação massal, tendo sido reportada com sucesso em várias espécies vegetais, entre as quais se destacam *Coffea arabica* cv. Acauã (PINTO et al., 2010) e de espécies florestais como eucalipto e mogno (HUNG & TRUEMAN, 2012). O objetivo deste trabalho foi de



avaliar o potencial do uso da tecnologia de sementes sintéticas como ferramenta alternativa para a produção de propágulos e conservação *in vitro* de Pimenta longa (*Piper hispidinervum*) testando a influência da temperatura na conservação e viabilidade destas sementes.

Material e Métodos

Este experimento foi conduzido no Laboratório de Morfogênese e Biologia Molecular da Embrapa Acre. Para obter o material vegetal para o encapsulamento foram utilizadas sementes de *Piper hispidinervum*, provenientes do banco de germoplasma da Embrapa Acre. Estas foram estabelecidas em meio de cultura MS, acrescido de 30 g.L⁻¹ de sacarose e solidificado com 6 g.L⁻¹ de Agar, foram utilizados como unidades encapsuláveis sementes pré-germinadas com 21 dias de cultivo *in vitro*, que foram extraídas do meio de cultura assepticamente em câmara de fluxo laminar e selecionadas visualmente com base no tamanho das plântulas (aproximadamente 0,5 mm). Após a extração as plântulas foram mantidas em placas de Petri com papel toalha umedecido com água destilada autoclavada. Posteriormente, as mesmas foram imersas na matriz de alginato de sódio 2,5% (SIGMA) associado ao meio MS 50% e individualmente resgatadas e gotejadas em solução de cloreto de cálcio (CaCl₂·2H₂O a 100 mM), na qual permaneceram por 25 minutos para ocorrer a complexação. Após lavagem em água destilada e autoclavada as sementes sintéticas foram armazenadas em frascos e separadas por tratamentos: T1 – temperatura 25±2°C (sala de crescimento); T2 temperatura 10±2 °C (BOD) e T3 - 4±2 °C (geladeira), onde permaneceram no escuro por 30 dias.

Após este tempo ocorreu a descomplexação em solução de nitrato de potássio (KNO₃ a 200 mM) por 20 minutos, seguida de lavagem em água destilada e autoclavada. As sementes sintéticas foram então colocadas em frascos de vidro contendo de meio de cultura MS. O material foi mantido em sala de crescimento à temperatura de 25 ± 2 °C, fotoperíodo de 16 h e intensidade luminosa de 30 μmol.m⁻².s⁻¹ por 45 dias, após este tempo foi realizada avaliação visual da porcentagem de emergência, contaminação por fungos e bactérias e oxidação. Utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado, sendo cada tratamento representado por oito repetições com quatro unidades encapsuladas por parcela.

Resultados e Discussão

No momento da descomplexação foi observado que as sementes sintéticas de todos os tratamentos apresentavam uma grande desidratação, no entanto, ao serem imersas na solução de KNO₃ (200 mM), as mesmas se hidrataram rapidamente e apresentaram as mesmas características de textura e estrutura apresentada no dia de sua formação. Na Figura 1 observa-se que ocorreu emergência em

somente 35% das plântulas que estavam no tratamento 1, observou-se a contaminação por fungos em 25% das sementes sintéticas e a oxidação em 16% delas, sendo que tanto a oxidação como a presença de fungos inviabilizaram a emergência das plântulas. Nos demais tratamentos não foram observadas emergências, sendo que no tratamento 2, foi observada contaminação por fungos e bactérias, já no tratamento 3 onde o material permaneceu em geladeira verificou-se 100% de oxidação. Pereira et al. (2008) foram os pioneiros no estudo de sementes sintéticas com esta planta, eles verificaram que a utilização do endosperma sintético constituído com meio MS contendo 100 ou 75% da concentração salina promoveu altas taxas de conversão das sementes sintéticas após 30 dias de semeadura em meio MS. Vale ressaltar, que a descomplexação ocorreu logo após a complexação.

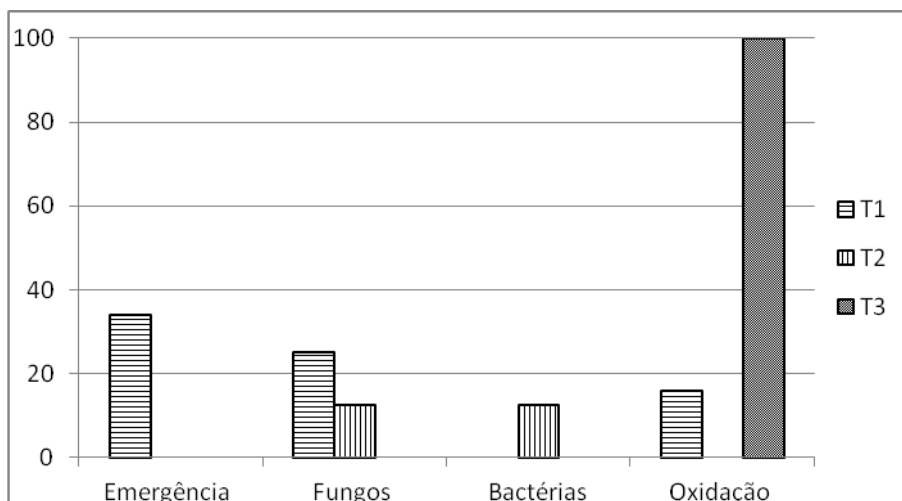


Figura 1 – Porcentagem de emergência, contaminação e oxidação em sementes sintéticas de plântulas de *P. hispidinervum*.

Pinto et al.(2010), trabalhando com gemas apicais de *Coffea arábica* cv. Acauã observaram que a composição da matriz de encapsulamento não afetou o desenvolvimento das sementes sintéticas nos seus estágios iniciais, sendo que a descomplexação foi realizada sequencialmente. Outros trabalhos têm relatado que a utilização de citocininas e auxinas na composição da matriz de encapsulamento têm favorecido a emergência das plântulas após diferentes períodos de armazenamento (HUNG & TRUEMAN, 2012; SINGH et al.; 2010). Pelo exposto, verifica-se a necessidade de mais estudos sobre a composição da matriz de encapsulamento para viabilizar a conservação em longo prazo desta espécie.



Conclusão

São necessários mais estudos sobre a composição da matriz de encapsulamento para viabilizar a conservação *in vitro* de sementes sintéticas desta espécie.

Agradecimentos

Os autores agradecem à Embrapa Acre (Projeto 02.09.3.02.00.06) e ao CNPq pelo apoio financeiro e ao CNPq pela bolsa de iniciação científica (PIBIC/UFAC).

Referências Bibliográficas

- HUNG, C. D.; TRUEMAN, S. J. Preservation of encapsulated shoot tips and nodes of the tropical hardwoods *CorymbiaturellianaxC. citriodora* and *Khayasenegalensis*. **Plant Cell Tiss Organ Cult.** v.109, p.341-352, 2012
- PEREIRA J.E.S.; GUEDES R.S.; COSTA F.H.S.; SCHMITZ G.C.D. Composição da matriz de encapsulamento na formação e conversão de sementes sintéticas de pimento-longa. **Horticultura Brasileira.** v.26, p.93-96, 2008.
- PINTO, M.S.; PAIVA, R.; VARGAS, D. P.; ARTUR, M. A. S.; NETTO, A. P. C.; PAIVA, L. V. Produção de sementes sintéticas a partir de gemas apicais de *Coffea arábica* L. cv. Acauã. In: **XIX Congresso de Pós-graduação da UFLA**, 2010, Lavras. Anais XIX Congresso de Pós Graduação da UFLA, 2010.
- SINGH, S.K; RAI, M.K.; ASTLANA, P.; SAHOO, L. Alginate-encapsulation of nodal segments for propagation, short-term conservation and germplasm exchange and distribution of *Ecliptaalba* (L.). **Act Physiol. Plant.** v.32, p.608-610, 2010.