

**PRODUÇÃO DE SEMENTES SINTÉTICAS A PARTIR DE GEMAS APICAIS DE *Coffea arabica* L. CV. ACAUÃ.**

MAÍSA DE SIQUEIRA PINTO<sup>1</sup>, RENATO PAIVA<sup>2</sup>, DAIANE PEIXOTO VARGAS<sup>3</sup>,  
MARIANA ALINE SILVA ARTUR<sup>4</sup>, ANTÔNIO PAULINO DA COSTA NETTO<sup>5</sup>, LUCIANO  
VILELA PAIVA<sup>6</sup>.

## RESUMO

A utilização de sementes sintéticas para a propagação de plantas é uma técnica com grande potencial capaz de produzir mudas em larga escala e para conservação *in vitro* de materiais genéticos. A composição da matriz de encapsulamento afeta grandemente o sucesso da micropropagação. Este trabalho foi realizado com o objetivo de testar a possibilidade de utilização de gemas apicais de *Coffea arabica* cv. Acauã na fabricação de sementes sintéticas e a composição ideal da cápsula de alginato para obtenção de maiores taxas de germinação. As sementes sintéticas iniciaram sua germinação aos 14 dias porém, após análises estatísticas, não foram observadas diferenças significativas para a variável germinação em nenhuma das semanas de avaliação. Não foi observada a ocorrência de oxidação dos ápices nem a formação de novos brotos até os 21 dias de cultivo. Desta forma torna-se desnecessário a utilização de meio de cultura na fabricação das cápsulas de alginato para a formação de sementes sintéticas de *Coffea arabica* cv. Acauã.

**Palavras-chaves:** Café, micropropagação, Alginato de sódio, Encapsulamento, Sementes artificiais.

## INTRODUÇÃO

A multiplicação de plantas através da cultura de tecidos é uma alternativa às tradicionais técnicas de propagação do café. Através da micropropagação é possível produzir mudas com relativa uniformidade, em um curto tempo e em larga escala, além de uma base genética mais estreita do que os métodos tradicionais. Várias técnicas *in vitro* têm sido consideradas para a propagação de café entre elas, a embriogênese somática, cultura de meristemas, cultura de gemas axilares e desenvolvimento de gemas adventícias (organogênese) (KUMAR et al., 2006).

A produção de sementes sintéticas atualmente vem se destacando como uma importante técnica para a micropropagação e conservação *in vitro* de várias espécies. Essa tecnologia permite a manutenção da identidade genética do material vegetal e a rápida multiplicação dos propágulos além de facilitar a troca de germoplasma entre instituições de pesquisa e a conservação de genótipos desejáveis a baixos custos sob condições *in vitro*. Além disso, permite o estabelecimento de propágulos diretamente no campo (MARUYAMA et al., 1997; NASSAR, 2003; PEREIRA et al., 2008).

A produção das sementes sintéticas acontece através do encapsulamento de embriões somáticos, gemas, ápices caulinares ou qualquer outro tecido meristemático que possua a capacidade de imitar uma semente e se converter a uma planta normal em condições *in vitro* ou *ex vitro*. Outra característica importante a ser considerada em uma semente sintética é a possibilidade de ser armazenada sem perder a viabilidade (RAI et al., 2009).

---

<sup>1</sup> Mestranda em Agronomia/Fisiologia Vegetal, DBI/ UFLA, maisa.ufla@hotmail.com

<sup>2</sup> Professor Associado, DBI/UFLA, renpaiva@dbi.ufla.br

<sup>3</sup> Pós-Doutoranda em Agronomia/Fisiologia Vegetal, DBI/UFLA, dvbio@hotmail.com

<sup>4</sup> Graduanda em Ciências Biológicas, DBI/UFLA, marianasartur@yahoo.com.br

<sup>5</sup> Professor Adjunto, UFG, apcnetto@yahoo.com.br

<sup>6</sup> Professor Associado, DQI/UFLA, luciano@dqi.ufla.br

O sucesso da propagação através de sementes sintéticas é altamente influenciado pela composição utilizada na formação da cápsula. Tanto o alginato de sódio quanto o cloreto de cálcio desempenham um importante papel na complexação e na qualidade da cápsula. A cápsula é a responsável pela proteção e a disponibilização de nutrientes para o explante. A disponibilização de nutrientes pela cápsula facilita o crescimento e sobrevivência do explante e possibilita sua germinação (SINGH et al., 2010).

O objetivo deste trabalho foi avaliar a influência da composição da matriz de encapsulamento para a formação e germinação de sementes sintéticas de *Coffea arabica* L. cv. Acauã.

### **MATERIAL E MÉTODOS**

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Cultura de Tecidos de Plantas, Setor de Fisiologia Vegetal, Departamento de Biologia da Universidade Federal de Lavras (UFLA).

Brotações de cafeeiro estabelecidas em meio de cultura MS (MURASHIGE & SKOOG, 1962) suplementado com 6 mg L<sup>-1</sup> de BAP e 3 mg L<sup>-1</sup> de GA<sub>3</sub> e acrescidos de 3% de sacarose e solidificado com 0,6% de ágar, de acordo com o protocolo estabelecido por Ribeiro et al. (2002), foram utilizados como fonte de explante.

Foram utilizados como unidades encapsuláveis gemas apicais extraídas assepticamente em câmara de fluxo laminar com o auxílio de bisturi. Após a extração as gemas foram mantidas em placas de Petri com papel toalha umedecido com água destilada autoclavada para evitar a desidratação. As gemas foram então misturadas à matriz de alginato de sódio 2,5% (SIGMA). Posteriormente, com o auxílio de uma pipeta automática com ponteira autoclavada (ajustada para 500 µL), as unidades encapsuláveis foram individualmente resgatadas e gotejadas em solução de CaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O (0,1 M), na qual permaneceram por 20 minutos para complexação. Em seguida, as sementes sintéticas, individualmente formadas por uma gema apical envolta na matriz de encapsulamento (Figura 1), foram submetidas a três lavagens em água destilada e esterilizada para a retirada do excesso de CaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O. Sequencialmente, as sementes artificiais foram imersas em solução de KNO<sub>3</sub> (100 mM) por 15 minutos para a descomplexação, sendo em seguida novamente lavadas em água destilada e esterilizada. As sementes foram então inoculadas em meio MS suplementado com 6 mg L<sup>-1</sup> de BAP e 3 mg L<sup>-1</sup> de GA<sub>3</sub> e acrescidos de 3% de sacarose e mantidas no escuro por 7 dias. Posteriormente, foram transferidas para sala de crescimento sob irradiância de 43 µmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>, fotoperíodo de 16 horas e temperatura de 25±2°C.



**Figura 1** Gema apical envolta pela cápsula de Alginato de sódio.

Foi testada a influência da constituição da matriz de alginato de sódio (água, ½ MS ou MS). O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado sendo cada tratamento formado por quinze repetições, cada repetição constituída de um tubo de ensaio contendo uma semente sintética. Foram feitas avaliações aos 7, 14 e 21 dias onde foi observada a germinação das sementes a oxidação dos explantes e a formação de novas brotações. Foram consideradas germinadas as sementes em que a

cápsula foi rompida pelo explante. Os dados foram analisados pelo programa estatístico Sisvar (FERREIRA, 2000).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após a análise estatística dos dados foi verificado que não houve diferenças significativas para a variável germinação aos 7, 14 e 21 dias.

Meio de encapsulamento	Médias
ALGINATO + ÁGUA	44,5% a
ALGINATO + ½ MS	33,4% a
ALGINATO + MS	33,4% a

**Figura 2** Porcentagem média de germinação dos ápices caulinares encapsulados com diferentes matrizes de encapsulamento.

Na avaliação feita aos sete dias não foi observado o rompimento de nenhuma cápsula, a partir dos quatorze dias as cápsulas começaram a se romper atingindo pouco mais de 50% de germinação aos vinte e um dias (Figura 3).

Tempo de germinação	Médias
7 DIAS	0% c
14 DIAS	37,77% b
21 DIAS	73,33% a

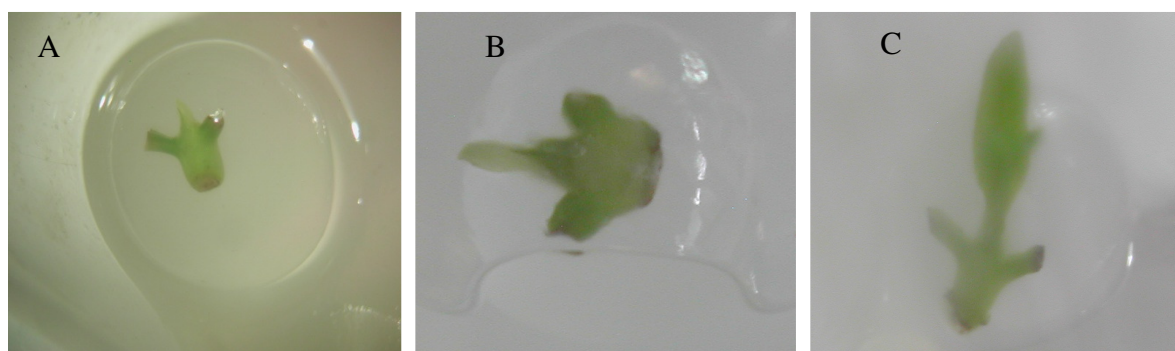
**Figura 3** Porcentagem média de germinação dos ápices caulinares encapsulados em diferentes tempos.

Não foi observada a oxidação dos explantes, provavelmente devido ao fato de as sementes sintéticas terem sido mantidas no escuro por uma semana, fase em que as gemas ainda não estavam bem desenvolvidas.

Até os vinte e um dias de análise, não foi observada a formação de novas brotações.

Esses resultados demonstram que a composição da matriz de encapsulamento não afetou o desenvolvimento das sementes sintéticas nos seus estágios iniciais.

Resultados contrários foram obtidos por Singh et al. (2010) que observaram que a utilização de água destilada na preparação do gel da matriz resultou em menor germinação das cápsulas formadas com segmentos nodais de *Eclipta alba* quando comparada com a utilização do meio MS.



**Figura 4** Gemas apicais encapsuladas aos 7 (A), 14 (B) e 21 (C) dias de cultivo.

## **CONCLUSÃO**

Sementes sintéticas de *Coffea arabica* cv. Acauã podem ser produzidas com a utilização de gemas apicais envoltas em cápsula de alginato.

Não é necessária a utilização de meio de cultura na fabricação das cápsulas de alginato para obtenção de boas taxas de germinação.

As sementes sintéticas formadas a partir de ápices caulinares de café iniciam a germinação aos 14 dias de cultivo.

## **REFERÊNCIAL BIBLIOGRÁFICO**

KUMAR, V.; NAIDU, M. M.; RAVISHANKAR, G. A. Developments in coffee biotechnology - in vitro plant propagation and crop improvement. **Plant Cell Tissue and Organ Culture**, Dordrecht, v.87, p.49-65, 2006.

MARUYAMA, E.; KINOSHITA, I.; ISHII, K.; OHBA, K.; SAITO, A. Germplasm 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**, Berlin, v.16, p.393-396, 1997.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A. Revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, v.15, p.473-497, 1962.

NASSAR A.H. Slow growth storage of encapsulated germplasm of *Coffea arabica* L. **International Journal of Agriculture & Biology**, n.5, p.517-520, 2003.

PEREIRA, J. E. S.; GUEDES, R. da S., COSTA, F. H. da S.; SCHMITZ, G. C. B. Composição da matriz de encapsulamento na formação e conversão de sementes sintéticas de pimenta-longa. **Horticultura Brasileira**, v.26, p.093-096, 2008.

RAI, M. K.; ASTHANA, P.; SINGH, S. K.; JAISWAL, V. S.; JAISWAL, U. The encapsulation technology in fruit plants – A review. **Biotechnology advances**, v.27, p.671-679, 2009.

RIBEIRO, L.S.; PASQUAL, M.; MACIEL, A.L.R.; CHAGAS, E.A.; DUTRA, L.F. Multiplicação in vitro de brotações de várias cultivares de *Coffea arabica* L. em diferentes meios de cultura. **Ciência e agrotecnologia**, v.26, n.5, p.949-954, 2002.

SINGH, S. K.; RAI, M. K.; ASTHANA, P.; SAHOO, L. Alginate-encapsulation of nodal segments for propagation short-term conservation and germoplasma exchange and distribution of *Eclipta alba* (L.). **Acta Physiologiae Plantarum**, v.32, p.607-610, 2010.

FERREIRA, D. F. **SISVAR – Sistema de análise de variância para dados balanceados, versão 4.0**. Lavras: UFLA, 2000.