

## **INFLUÊNCIA DE DIFERENTES COMPOSIÇÕES DA MATRIZ DE ENCAPSULAMENTO E $\text{CaCl}_2$ NA FORMAÇÃO DA CÁPSULA DE SEMENTES SINTÉTICAS DE *CAPSICUM***

Elisandra daSilva Sousa<sup>1\*</sup>; Kaline da Silva Nascimento<sup>2</sup>;  
Mailson Monteiro do Rêgo<sup>3</sup>; Elizanilda Ramalho do Rêgo<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Graduanda em Agronomia, UFPB, Areia-PB, elisandra484@gmail.com;  
<sup>2</sup>Doutoranda em Agronomia, UFPB, Areia-PB, kalinesnascimento@gmail.com;  
<sup>3</sup>Dr. Prof. Titular CCA, UFPB, Areia-PB, mailson@cca.ufpb.br;  
elizanilda@cca.ufpb.br

Apresentado no  
Congresso Técnico Científico da Engenharia e da Agronomia – CONTECC'2018  
21 a 24 de agosto de 2018 – Maceió-AL, Brasil

**RESUMO:** As pimenteiras são atualmente comercializadas e utilizadas de diversas formas em muitos países e, por isso, práticas de melhoramento genético tem sido aplicadas. Uma grande aliada do melhoramento genético é a cultura de tecidos. A produção de sementes sintéticas, por exemplo, é uma importante técnica para a micropropagação e conservação *in vitro*. A produção dessas sementes é influenciada pela composição utilizada na formação da cápsula. Com isso, este trabalho teve como objetivo avaliar a influência da composição da matriz de encapsulamento e concentrações de  $\text{CaCl}_2$  na formação de sementes sintéticas de *Capsicum*. Gemas apicais foram misturadas a diferentes composições de matriz de alginato de sódio e depois resgatadas e gotejadas em solução de  $\text{CaCl}_2$ . Posteriormente, foram inoculadas em tubos de ensaio, contendo meio MS. Após 50 dias as plântulas foram caracterizadas. Pôde-se observar que a cápsula de meio MS força total possibilitou um maior comprimento da plântula e da folha e maior número de folhas, sendo portanto a matriz mais indicada para a regeneração da plântula. Enquanto que as concentrações de cloreto de cálcio não interferiram.

**PALAVRAS-CHAVE:** Cultura de tecidos, micropropagação, pimenteira.

### **INFLUENCE OF DIFFERENT COMPOSITIONS OF THE ENCAPSULATION MATRIX AND $\text{CaCl}_2$ IN THE FORMATION CAPACITY SYNTHETIC SEED *CAPSICUM***

**ABSTRACT:** Peppers are currently marketed and used in many ways in many countries and therefore, breeding practices have been applied. A major ally of genetic improvement is tissue culture. The production of synthetic seeds, for example, is an important technique for micropropagation and *in vitro* conservation. The production of these seeds is influenced by the composition used in the formation of the capsule. The objective of this work was to evaluate the influence of the composition of the encapsulation matrix and  $\text{CaCl}_2$  concentrations on the formation of synthetic *Capsicum* seeds. Apical specimens were mixed to different sodium alginate matrix compositions and then rescued and dripped in  $\text{CaCl}_2$  solution. Subsequently, they were inoculated in test tubes containing MS medium. After 50 days the seedlings were characterized. It was possible to observe that the capsule of medium MS total strength allowed a greater length of the seedling and the leaf and greater number of leaves, being therefore the most suitable matrix for the regeneration of the seedling. While calcium chloride concentrations did not interfere.

**KEYWORDS:** Tissue Culture, micropropagation, chili pepper.

### **INTRODUÇÃO**

O gênero *Capsicum* pertence à família Solanaceae e compreende a espécies de pimentas e pimentões. Este gênero é contituído por cinco espécies domesticadas e cultivadas comercialmente em todo o mundo, que são: *Capsicum annum*, *C. baccatum*, *C. chinense*, *C. frutescens* e *C. pubescens* (Bosland, 1992; Goetz & Jeune, 2012; Pickersgill, 1971).

Pimenteiras deste gênero estão intimamente relacionados à riqueza cultural brasileira e são parte valiosa do patrimônio da biodiversidade por apresentarem grande quantidade de espécies. Sendo cultivadas em imensa variedade de tipos, tamanhos, cores, sabores e pungências (Pereira & Rodrigues, 2005).

As pimentas possuem grande variabilidade genética sendo empregada para diferentes fins. Utilizadas como condimentos, as pimentas são ricas em vitaminas A, C e E, e são importantes fontes de carotenóides, flavonóides e também apresentam elevadas concentrações de vitaminas B1, B2, B3 (Stommel & Griesbach, 2008; Bosland & Votava, 2012). São também utilizadas como matéria-prima na indústria alimentícia, farmacêutica e cosmética (Yamamoto & Nawata, 2005), apresentando também excelente potencial para comercialização como planta ornamental em vasos (Rêgo et al., 2009; Finger et al., 2012).

Atualmente, a propagação de plantas por cultivo *in vitro* vem crescendo consideravelmente por facilitar as práticas de melhoramento genético, como o avanço do ciclo das plantas e a diminuição no porte das espécies. A produção de sementes sintéticas, por exemplo, vem destacando-se como uma importante técnica para a micropropagação e conservação *in vitro* de várias espécies, devido à possibilidade de armazenamento sem perder a viabilidade (Rai et al., 2009).

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 converter-se a uma planta normal em condições *in vitro* ou *ex vitro*. 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 sucesso da micropropagação através das sementes sintéticas é altamente influenciado pela composição utilizada na formação da cápsula. Com a finalidade de melhorar a conversão das unidades encapsuláveis, tem sido introduzido, na matriz de encapsulamento, o carvão ativado, osmorreguladores como sorbitol e manitol, e reguladores de crescimento como BAP e ANA (Pereira et al., 2008; Taha et al., 2012).

Diante disso, o presente trabalho objetivou avaliar a influência da composição da matriz de encapsulamento e concentrações de  $\text{CaCl}_2$  na formação e germinação de sementes sintéticas de *Capsicum*.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

O trabalho foi realizado no Laboratório de Biotecnologia Vegetal da Universidade Federal da Paraíba, Areia-PB. As sementes de *Capsicum* utilizadas, pertencem ao Banco de Germoplasma da UFPB, Campus II, Areia.

As sementes de *Capsicum* foram inicialmente desinfestadas em solução 1:1 (v:v) de hipoclorito de sódio e água destilada, deionizada e autoclavada (DDA) durante 15 minutos, e posteriormente enxaguadas em água DDA três vezes para retirada do excesso de hipoclorito. Em seguida as sementes foram inoculadas em tubos de ensaio (25 x 125mm), contendo 10 ml de meio MS (Murashige & Skoog, 1962), previamente esterilizado em autoclave a 120°C, por 15 min e pH ajustado para 5,6, acrescido de 30 g.L<sup>-1</sup> de sacarose e 8 g.L<sup>-1</sup> de ágar (Sigma®) sem regulador de crescimento. A cultura foi mantida em sala de crescimento provida por lâmpadas fluorescentes brancas sob condição de temperatura de 25±2°C por 50 dias.

Gemas apicais provenientes das plântulas foram utilizadas no encapsulamento. As gemas extraídas assepticamente em câmara de fluxo laminar com o auxílio de bisturi foram misturadas as diferentes composições da matriz de alginato de sódio 3% (Sigma®) (H<sub>2</sub>O, 1/2MS e MS). Com o auxílio de uma pipeta automática com ponteira autoclavada e ajustada para 300µL, as unidades encapsuláveis foram individualmente resgatadas e gotejadas em solução de  $\text{CaCl}_2$  (0,1 M e 0,05 M), na qual permaneceram por 20 minutos para complexação. Em seguida, as sementes sintéticas foram submetidas a três lavagens em água destilada e esterilizada para a retirada do excesso de  $\text{CaCl}_2$  e depois imersas em solução de  $\text{KNO}_3$  (100 mM) por 15 minutos para a descomplexação, sendo posteriormente lavadas em água novamente.

Logo em seguida as sementes sintéticas foram inoculadas em tubos de ensaio (25 x 125mm), contendo 10 ml de meio MS (Murashige & Skoog, 1962), previamente esterilizado em autoclave a

120°C, por 15 min e pH ajustado para 5,6, acrescido de 30 g.L<sup>-1</sup> de sacarose e 8 g.L<sup>-1</sup> de ágar (Sigma®) acrescido de 3 mg/L de BAP e 1 mg/L de AIA. A cultura foi mantida em sala de crescimento provida por lâmpadas fluorescentes brancas sob condição de temperatura de 25±2°C por 50 dias.

Os dados foram analisados em delineamento inteiramente casualizado, em um esquema fatorial 2 x 3 (concentrações de cloreto de cálcio x composições da matriz de encapsulamento). As análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o programa computacional Genes (Cruz, 2006).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observa-se pela análise de variância que não houve diferenças significativas para as diferentes concentrações de Cloreto de Cálcio. No entanto, quando considerado as diferentes matrizes de encapsulamento houve diferença significativa para as características comprimento da plântula (CP), número de folhas (NF) e comprimento da folha (CF). Foi observada interação significativa entre as concentrações de Cloreto de Cálcio e a matriz de encapsulamento para a característica comprimento da plântula (CP), Tabela 1.

Tabela 1. Análise de variância para as cinco características de plântulas de sementes sintéticas provenientes de gemas apicais de *Capsicum*.

FV	GL	QM				
		CP	NF	CF	LF	P
Cloreto de Cálcio	1	0,001 <sup>ns</sup>	46,817 <sup>ns</sup>	0,028 <sup>ns</sup>	0,005 <sup>ns</sup>	0,003 <sup>ns</sup>
Matriz de encapsulamento	2	0,386 <sup>**</sup>	66,617 <sup>*</sup>	0,112 <sup>*</sup>	0,017 <sup>ns</sup>	0,011 <sup>ns</sup>
Cloreto de Cálcio x Matriz de encapsulamento	2	0,240 <sup>*</sup>	15,117 <sup>ns</sup>	0,066 <sup>ns</sup>	0,010 <sup>ns</sup>	0,008 <sup>ns</sup>
Resíduo	54	0,075	14,272	0,028	0,027	0,005
Total	59					

<sup>ns</sup>, \*, \*\* = não significativo e significativo a 1% e 5% de probabilidade, respectivamente, pelo teste F. CP: comprimento da plântula, NF: número de folhas, CF e LF comprimento e largura da folha, P: peso.

Na Tabela 2, observa-se que a maior média para comprimento de plântula e número de folhas ocorreu na composição MS força total, já para a característica comprimento da folha as maiores médias foram observadas nas composições MS força total e ½ MS, sendo estas estatisticamente iguais.

Resultados contrários foram obtidos por Pereira et al. (2008) que não observaram diferença significativa na altura das plântulas de pimenta-longa (*Piper hispidinervum* C. D.C.) ao trabalhar com diferentes concentrações de sais do meio MS, com carvão ativado, na matriz de encapsulamento.

Tabela 2. Teste de médias (Tukey) a 5% de probabilidade para as variáveis significativas das diferentes composições de encapsulamento.

	CP	NF	CF
H2O	0,70 b	0,93 ab	0,69 b
½ MS	0,73 b	0,75 b	0,83 a
MS	0,91 a	11,15 a	0,79 a

Médias seguidas pelas mesmas letras na vertical não diferem entre si.

Como pode-se observar na Tabela 1, as concentrações de cloreto de cálcio não diferiram significativamente quanto a composição de encapsulamento. Porém, ao observar a interação Tabela 3, observa-se que a matriz de encapsulamento H2O submetida a 100 mM de cloreto de cálcio apresentou maior média para o comprimento da plântula quando comparada com as composições ½ MS e MS força total.

Tabela 3. Teste de médias (Tukey) a 5% de probabilidade da interação entre Cloreto de cálcio e matriz de encapsulamento.

Cloreto de cálcio	H <sub>2</sub> O	½ MS	MS
0,05 M	1,005 Aa	0,797 Aa	1,026 Aa
0,10 M	1,195 Aa	0,863 Ba	0,790 Ba

Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas na horizontal e minúsculas na vertical não diferem estatisticamente entre si.

## CONCLUSÃO

Sementes sintéticas de *Capsicum* podem ser produzidas com a utilização de gemas apicais envoltas em cápsulas de alginato de sódio. A matriz de encapsulamento composta de meio de cultura MS força total possibilitou um maior comprimento da plântula, número de folhas e comprimento da folha, sendo portanto a matriz mais indicada para a regeneração da plântula. Enquanto que as concentrações de cloreto de cálcio não interferiram no desenvolvimento da gema no que diz respeito a complexação do encapsulamento, podendo ser utilizadas sem maiores prejuízos a formação da cápsula e germinação do explante.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq e à CAPES pelas bolsas concedidas aos mesmos.

## REFERÊNCIAS

- Bosland, P. W. Chiles: A diverse crop. Hort technology, v.2, p.6-10, 1992.
- Bosland, P. W.; Votava, E. J. Peppers: vegetable and spice Capsicum. Crop production science in horticulture, 2 ed. v. 22, p. 230, 2012.
- Cruz, CD. Programa Genes: Aplicativo computacional em genética e estatística. Viçosa, UFV, Brasil, p. 648. 2006.
- Finger, F. L.; Rêgo, E. R.; Segatto, F. B.; Nascimento, N. F. F.; Rêgo, M. M. Produção e potencial de mercado para pimenta ornamental. Informe Agropecuário, p. 14-20, 2012.
- Goetz, P.; Jeune, R. L. *Capsicum annuum* et *Capsicum frutescens* piment. Phytothérapie, v.10, p. 126-130, 2012.
- Murashige, T.; Skoog, F. A revised medium for rapid growth and bioassay with Tobacco tissue cultures. Physiologia Plantarum, vol. 15, p. 473-497, 1962.
- 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.
- Pereira, T.N.S.; Rodrigues, R. Recursos genéticos em Capsicum: situação atual e perspectivas. In: Lima, M. C. (org) Recursos genéticos de hortaliças: riquezas naturais, São Luís: Instituto Interamericano de Cooperação para a Agricultura, p. 137-159, 2005.
- Pickersgill, B. Relationships between weedy and cultivated forms in some species of peppers (genus Capsicum). Evolution, p. 683-691, 1971.
- Rai, M. K. et al. The encapsulation technology in fruit plants – A review. Biotechnology Advances, New York, v.27, p.671-679, 2009.
- Rêgo, E. R.; Rêgo, M. M.; Silva, D. F.; Santos, R. M. C.; Sapucay, M. J. L. C.; Silva, D.R.; Silva Júnior, S.J. Selection for leaf and plant size and longevity of ornamental peppers (*Capsicum* spp.) grown under greenhouse condition. Acta Horticulturae, p. 371-374, 2009.
- 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.
- Stommel, J. R.; Griesbach, R. J. Inheritance of fruit, foliar, and plant habit attributes in Capsicum. Journal of the American Society for Horticultural Science, v. 133, n. 3, p. 396-407, 2008.
- Taha, R.M. et al. Germination and Plantlet Regeneration of Encapsulated Microshoots of Aromatic Rice (*Oryza sativa* L. Cv. MRQ 74. Scientific World Journal, New York, 2012.
- Yamamoto, S.; Nawata, E. *Capsicum frutescens* L. in southeast and east Asia, and its dispersal routes into Japan. Economic Botany, v.59, p.18-28, 2005.