



OTIMIZAÇÃO DE UM PROTOCOLO PARA PRODUÇÃO DE SEMENTES SINTÉTICAS A PARTIR DE EMBRIÕES DE CAFEEIRO

Mateus R. PIZA¹; Peterson R. da SILVA²; Anna L. de R. MACIEL³

RESUMO

O presente trabalho teve como objetivo avaliar a influência de diferentes concentrações de goma xantana e concentrações dos sais do meio MS para otimização de um protocolo para produção de sementes sintéticas de *Coffea arabica* L. O experimental foi inteiramente ao acaso, em esquema fatorial 2 x 4, com três repetições. A matriz de encapsulamento foi composta por solução de alginato de sódio a 2%, meio de cultura MS nas concentrações de 25 e 50% dos sais e goma xantana nas concentrações de 0, 1, 1,5 e 2%. As avaliações foram realizadas aos 20 e 30 dias após a descomplexação, onde se avaliou as porcentagens de sementes germinadas e de sementes contaminadas. Conclui-se que os tratamentos com adição de 1% de goma xantana não apresentam contaminação e proporcionam maiores percentuais de germinação independente da concentração de sais de meio MS. Para o tratamento com 2% de goma xantana e 50% de sais de meio MS, não há germinação das sementes sintéticas.

Palavras-chave: *Coffea arabica* L.; Biotecnologia; Matriz de encapsulamento; Alginato de sódio.

1. INTRODUÇÃO

Entre as técnicas biotecnológicas utilizadas em *Coffea arabica*, a embriogênese somática é um importante método de propagação *in vitro*, pois consiste no desenvolvimento de embriões a partir de células somáticas, sem que haja fusão de gametas, a qual possibilita propagação vegetativa acelerada e uniformidade genética de clones superiores, apresentando grande potencial a ser explorado (REZENDE, 2008).

O desenvolvimento de sementes sintéticas é uma técnica de cultura de tecidos vegetais que consiste em encapsular embriões somáticos, ápices caulinares ou gemas axilares (CID, 2004). Dentre as principais aplicabilidades dessa tecnologia são a proteção dos propágulos, a facilidade de armazenamento, a possibilidade de conservação e intercâmbio de germoplasma com protocolos determinados para propagação (PINTO et al., 2010).

O sucesso da propagação através de sementes sintéticas é altamente influenciado pela composição utilizada na formação da cápsula. Bactérias pertencentes ao gênero *Xanthomonas* são capazes de sintetizar goma xantana (LUVIELMO; VENDRUSCOLO; SCAMPARINI, 2007). Segundo Ramos (2011), a goma xantana possui propriedades como agente espessante, dispersante, estabilizadora de emulsões e suspensões, estabilizadora da temperatura, ente outras. Esta pode ser usada para encapsulamento de células vivas, devido a seu efeito protetor, onde devido suas notáveis propriedades reológicas (viscosidade), limitam a transferência de calor e propiciando alta atividade

1 IFSULDEMINAS – mateus.pr365@gmail.com

2 IFSULDEMINAS – peterson.juruiaia@gmail.com

3 IFSULDEMINAS – anna.lygia@muz.ifsuldeminas.edu.br



de água (MUGNIER; JUNG, 1985).

Neste contexto, o objetivo do presente trabalho foi avaliar a influência de diferentes concentrações dos sais do meio de cultura MS e de goma xantana para otimização de um protocolo para produção de sementes sintéticas a partir de embriões somáticos de *Coffea arabica* L. No entanto, devido à dificuldade de obtenção de embriões somáticos para o desenvolvimento do presente trabalho, foram utilizados embriões zigóticos de cafeeiro.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas Gerais, *Campus Muzambinho*. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2 x 4, com 3 repetições. Foram utilizados embriões zigóticos de cafeeiro extraídos das sementes da cv Acauã.

As sementes permaneceram submersas em água destilada durante 48 horas, posteriormente passaram por assepsia em hipoclorito de sódio a 1,25% de cloro ativo durante 15 minutos para posterior extração dos embriões.

A matriz de encapsulamento, foi composta por uma solução de alginato de sódio a 2% acrescida de meio MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962) nas concentrações de 25 e 50% dos sais e goma xantana nas concentrações de 0, 1, 1,5 e 2%, onde as soluções referentes a cada tratamento tiveram o pH ajustado para $5,8 \pm 1$ e posteriormente foram autoclavadas a 120°C e 1,5 atmosfera de pressão.

Após a extração dos embriões, estes foram submersos na matriz de encapsulamento referente a cada tratamento, e resgatados com auxílio de uma pipeta automática ajustada para 500 μL , sendo então, gotejadas em solução de cloreto de cálcio ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) a concentração de 11 gramas L^{-1} , onde permaneceram por 20 minutos para sua complexação. Após este período, as sementes foram submetidas a uma tríplice lavagem em água destilada e posteriormente submersas em solução de glicerina a 2% para em seguida, serem secas em papel filtro.

As sementes referentes a cada tratamento foram acondicionadas em placas de Petri e colocas em sacos de papel pardo, para serem levadas para câmara fria a 10°C com umidade de 80%, onde permaneceram por 10 dias. Após este período, as sementes foram submersas em solução de nitrato de potássio (KNO_3) na concentração de 100mM, por 20 minutos para a descomplexação e em seguida, foram submetidas ao Blotter Test, utilizando três folhas de papel Germitest umedecidas



com 2,5 vezes seu peso em água destilada, onde se montou os rolos, que foram mantidos de forma vertical e levados para câmara de germinação com temperatura ajustada para 25 ± 1 °C e fotoperíodo de 12 horas.

As avaliações foram realizadas aos 20 e aos 30 dias após a descomplexação (DAD), onde se avaliou as porcentagens de sementes germinadas e de sementes contaminadas. Os dados foram submetidos à análise de variância com o emprego do Software estatístico SISVAR (FERREIRA, 2011). As médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

De acordo com os resultados obtidos no presente trabalho, pode-se observar na Tabela 1, que para as concentrações de 25 e 50% dos sais do meio MS, não houve diferença estatística significativa para germinação (ruptura da capsula), entre os tratamentos com 1, 1,5 e 2% de goma xantana nas avaliações realizadas aos 20 e 30 DAD. No entanto, quando não se utilizou a goma xantana como matriz de encapsulamento, foi observado um aumento na porcentagem de germinação aos 30 DAD para a concentração de 25% dos sais do meio MS, alcançando valores de 100% de germinação (Tabela 1).

Os tratamentos com 1% de goma xantana, apresentaram uma maior porcentagem de germinação, onde até os 20 DAD, 100% das sementes sintéticas já haviam rompido a matriz de encapsulamento para as concentrações de 25 e 50% de meio MS (Tabela 1).

Tabela 1: Germinação (%) de sementes sintéticas de *Coffea arabica* L. aos 20 e 30 dias após descomplexação (DAD) com relação a diferentes concentrações de goma xantana e de meio MS. IFSULDEMINAS Campus Muzambinho, Muzambinho – MG. 2017.

Goma Xantana (%)	Concentração de meio de cultura MS			
	25 %		50 %	
	20 DAD	30 DAD	20 DAD	30 DAD
0,0	20,00 c	100,0 a	66,67 b	53,33 c
1,0	100,0 a	100,0 a	100,0 a	100,0 a
1,5	80,00 b	80,00 b	63,64 b	81,82 b
2,0	30,77 c	30,77 c	00,00 c	00,00 d
CV (%)	12,45	10,52	12,45	10,52

*Médias seguidas de mesma letra na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 0,05 de significância.

A elevada porcentagem de germinação pode estar relacionada às características espessante e de estabilização da goma xantana, proporcionando melhor estruturação das sementes sintéticas após a fase de complexação e durante a fase de desenvolvimento do eixo embrionário (RAMOS, 2011).

Na Figura 1 pode-se observar que não houve contaminação das sementes sintéticas de cafeeiro utilizando-se 50% dos sais do meio MS na presença de goma xantana nas concentrações de



1,0; 1,5 e 2,0% aos 20 DAD, permanecendo até os 30 DAD (Figura 2).

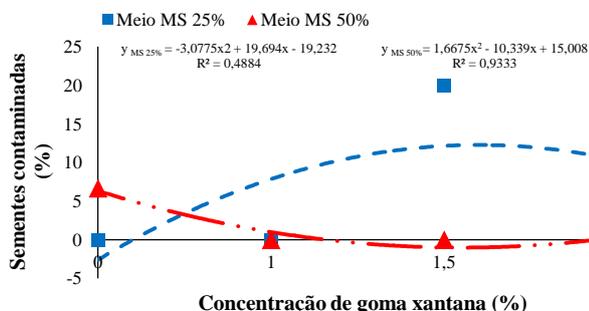


Figura 1: Porcentagem de sementes sintéticas de *Coffea arabica* L. contaminadas aos 20 DAD.

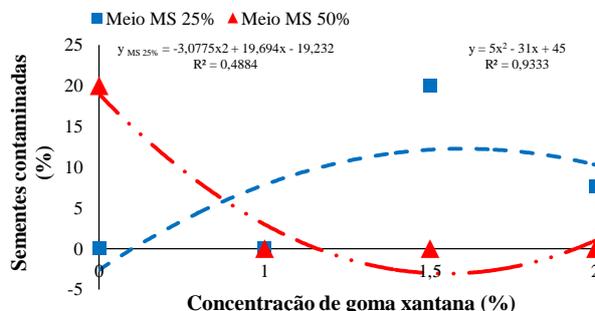


Figura 2: Porcentagem de sementes sintéticas de *Coffea arabica* L. contaminadas aos 30 DAD.

4. CONCLUSÕES

A concentração de 1% de goma xantana proporciona maiores porcentagens de germinação de sementes sintéticas de cafeeiro independente da concentração de sais de meio MS.

Não há contaminação das sementes sintéticas utilizando-se 50% dos sais do meio MS na presença de goma xantana aos 20 e 30 DAD.

REFERÊNCIAS

- FERREIRA, D. F. **SISVAR**: sistema de análise de variância, Versão 3.04, Lavras/DEX, 2011.
- LUVIELMO, M.M.; VENDRUSCOLO, C.T.; SCAMPARINI, A.R.P. Seleção de linhagens de *Xanthomonas campestris* para a produção de goma xantana. **Ciências Exatas e Tecnológicas**, Londrina, v. 28, n. 2, p.161-172, Não é um mês valido! 2007.
- MUGNIER, J.; JUNG, G. Survival of Bacteria and Fungi in Relation to Water Activity and the Solvent Properties of Water in Biopolymer Gels. **Applied And Environmental Microbiology**, France, v. 50, n. 1, p.108-114, jul. 1985.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and biossay with tobacco tissue culture. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 15, n. 3, p. 473-497, 1962.
- PINTO, M.S. et al. PRODUÇÃO DE SEMENTES SINTÉTICAS A PARTIR DE GEMAS APICAIAS DE *Coffea arabica* L. CV. ACAUÃ. In: **XIX CONGRESSO DE PÓS-GRADUAÇÃO DA UFLA**, 2010, Lavras.
- RAMOS, B.F.M. **Produção de goma xantana em água produzida da indústria de petróleo**. 2011. 71 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia Industrial, Universidade Federal da Bahia. Escola Politécnica, Salvador, 2011.
- REZENDE, J. C.; FERREIRA, E.A.; PASQUAL, M.; VILLA, F.; BOTELHO, C.E. CARVALHO, S.P. Evelopment of *Coffea arabica* L. seedlings obtained from direct somatic embryogenesis. **Coffee Science**, Lavras, v. 3, p.30-37, jan. 2008.