

UNIVERSIDADE DO ESTADO DA BAHIA
Autorização Decreto nº 9237/86. DOU 18/07/96.
Reconhecimento: Portaria 909/95, DOU 01/08-
95

DEPARTAMENTO DE TECNOLOGIA E CIÊNCIAS SOCIAIS
CAMPUS III - JUAZEIRO
Colegiado de Engenharia Agrônoma



HANNA MICHELLI FERREIRA DE SOUZA

**A IMPORTÂNCIA DAS SEMENTES SINTÉTICAS NA AGRICULTURA DO
BRASIL**

Juazeiro – BA

2021

HANNA MICHELLI FERREIRA DE SOUZA

Monografia apresentada a Universidade do Estado da Bahia, Departamento de Tecnologia e Ciências Sociais, UNEB/DTCS Campus III, colegiado de Engenharia Agrônômica como pré-requisito para a disciplina Trabalho de Conclusão. de Curso – TCC.

**A IMPORTÂNCIA DAS SEMENTES SINTÉTICAS PARA A AGRICULTURA
NO BRASIL**

Orientador: Manoel Abilio Queiróz

Juazeiro - BA

2021

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação

Regivaldo José da Silva/CRB-5-1169

S729i Souza, Hanna Michelli Ferreira de

A importância das sementes sintéticas na agricultura do Brasil / Hanna Michelli Ferreira de Souza. Juazeiro-BA, 2021.

28 fls.: il.

Orientador: Prof. Dr. Manoel Abílio Queiróz.

Inclui Referências

TCC (Graduação - Engenharia Agrônoma) – Universidade do Estado da Bahia. Departamento de Tecnologia e Ciências Sociais. Campus III. 2021.

1. Sementes sintéticas – Alginato de sódio. 2. Sementes sintéticas – Carvão ativado. 3. Sementes sintéticas – Embriogênese. I. Queiróz, Manoel Abílio. II. Universidade do Estado da Bahia. Departamento de Tecnologia e Ciências Sociais. III. Título.

CDD: 631.523


HANNA MICHELLI FERREIRA DE SOUZA

A IMPORTÂNCIA DAS SEMENTES SINTÉTICAS NA AGRICULTURA DO BRASIL

Monografia apresentada à Universidade do Estado da Bahia, Departamento de Tecnologia e Ciências Sociais, UNEB/DTCS campus III, Curso de Engenharia Agrônômica, como um dos pré-requisitos para a disciplina de Trabalho de conclusão de curso – TCC.

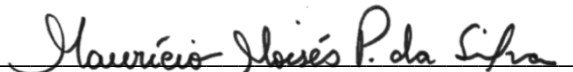
Aprovado em 16/12/2021

BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Manoel Abilio de Queiroz (Orientador)

Universidade do Estado da Bahia – Departamento de Tecnologia e Ciências Sociais – campus III



Mestrando Maurício Moisés Pereira da Silva (primeiro examinador)

Universidade do Estado da Bahia – Departamento de Tecnologia e Ciências Sociais – campus III



Prof. Dr. Lindete Miria Vieira Martins (segundo examinador)

Universidade do Estado da Bahia – Departamento de Tecnologia e Ciências Sociais – campus III

Juazeiro, BA
2021

Dedico este trabalho a minha.
Sem ela nada disso seria possível, serei eternamente
grata por tanto!

Agradeço imensamente a Deus.

Ele que sempre esteve comigo, que protege o meu caminho.

Me deu força para não desistir. Me proporcionou muito além...

Não há palavras para descrever o meu amor e gratidão, por Ele.

Agradeço a minha família.

Mainha que sempre me entende e tem as palavras certas para me dizer,

seja sobre o que for.

Obrigada por existir e ser a melhor.

Meu namorado que esteve sempre me incentivando e me ajudando, meu

assistente pessoal de T.I.

Agradeço a universidade, local que conheci pessoas incríveis que irei levar

para a vida, onde amadureci e tive grandes ensinamentos.

Agradeço imensamente aos professores e funcionários.

RESUMO

O Brasil é um país com muitas espécies de plantas, sendo muitas delas com notoriedade socioeconômica e com difícil forma de reprodução, além disso, as várias espécies de interesse comercial. A clonagem massal é um método que possibilita a conservação das propriedades importantes da cultura e a produção de grandes quantidades de mudas, fazendo-se através do emprego de órgãos e tecidos da planta, ou seja, usando embriogênese somática (CANCADO, 2014). As sementes sintéticas são equivalentes as sementes botânicas, formadas basicamente por camadas constituídos de compostos artificiais, em suma torna-se similar a uma cápsula. Propágulos que apresentam aptidão para conversão em plântulas naturais, sem ligação ao explante de origem, podem se tornar constituintes de uma unidade encapsulável (SOUZA, *et al.*, 2014). Objetivou-se avaliar metodologias de pesquisa que buscassem comprovar a eficiência da utilização de sementes sintéticas e avaliar vantagens e desvantagens das sementes sintéticas. O presente estudo consistiu em uma revisão sintética bibliográfica de literatura, baseado em estudos descritivos que buscaram demonstrar a importância da utilização de sementes sintéticas, possibilitando abranger estudos que foram desde o testar a produção de sementes sintéticas. No que diz respeito a produção de sementes sintéticas na pesquisa realizada por Campos (2014) em relação a geração de propágulos sintéticos de *Campomanesia pubescens*, chegou a obter resultados com 100% de rompimento das cápsulas que foram deixadas por 20 minutos no cloreto de cálcio, empregando ápices caulinares, esses dados. O método de produção de semente sintéticas beneficia para manutenção de germoplasma, como também visa durante o ciclo de produção da cultura, amenizar os gastos (VARGAS *et al.*, 2014). Conclui-se, portanto, que existem diversos casos em que a produção de sementes sintéticas foi bem sucedida, isso a depender de diversos fatores, assim como existem relatos em que os resultados não positivos ou não tiveram o sucesso esperado. A adição do carvão ativado demonstrou-se, na maioria dos casos, de fundamental importância para um melhor desenvolvimento da plântula.

Palavras chave: alginato de sódio, carvão ativado, embriogênese

ABSTRAT

Brazil is a country with many species of plants, many of them with socioeconomic notoriety and difficult to reproduce, in addition to the various species of commercial interest. Masal cloning is a method that enables the conservation of important crop properties and the production of large quantities of seedlings, using plant organs and tissues, that is, using somatic embryogenesis (CANCADO, 2014). Synthetic seeds are equivalent to botanical seeds, basically formed by layers consisting of artificial compounds, in short it becomes similar to a capsule. Propagules that are capable of being converted into natural seedlings, without binding to the original explant, can become constituents of an encapsulated unit (SOUZA, et al., 2014). The objective was to evaluate research methodologies that sought to prove the efficiency of using synthetic seeds and evaluate advantages and disadvantages of synthetic seeds. The present study consisted of a synthetic bibliographic literature review, based on descriptive studies that sought to demonstrate the importance of using synthetic seeds, making it possible to cover studies that ranged from testing the production of synthetic seeds. Regarding the production of synthetic seeds in the research carried out by Campos (2014) in relation to the generation of synthetic propagules of *Campomanesia pubescens*, it even obtained results with 100% rupture of the capsules that were left for 20 minutes in calcium chloride, employing shoot apexes, these data. The synthetic seed production method benefits the maintenance of germplasm, as it also aims to reduce costs during the crop production cycle (VARGAS et al., 2014). It is concluded, therefore, that there are several cases in which the production of synthetic seeds was successful, depending on several factors, as well as there are reports in which the results were not positive or were not as successful as expected. The addition of activated charcoal proved, in most cases, to be of fundamental importance for a better seedling development.

Key words: sodium alginate, activated charcoal, embryogenesis

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Aspecto de minirrebos de <i>Saccharum</i> sp. L. encapsuladas com diferentes concentrações de alginato de sódio e reticulados com cloreto de cálcio. Zero (a); 10 g L ⁻¹ (b); 20 g L ⁻¹ (c); 30 g L ⁻¹ (d); 40 g L ⁻¹ (e); 50 g L ⁻¹ (f). Fonte: SILVA (2017, p. 3).....	17
Figura 2. A: Sementes sintéticas de banana cv. 'Prata-Anã' clone Gorutuba, com e sem carvão ativado. B: estabelecimento de sementes sintéticas in vitro. C: conversão de microbrotos encapsulados em matriz de alginato contendo carvão ativado. D: conversão de microbrotos encapsulados em matriz de alginato contendo carvão ativado. D: conversão de microbrotos encapsulados em matriz de alginato de sódio sem carvão ativado. Fonte: FARIA et. al. (2014, p. 477).	19
Figura 3. Aspecto da matriz de encapsulamento com (a) e sem (b) carvão ativado, na sua composição. Fonte: PEREIRA et. al. (2008, p. 95).	20
Figura 4. Produção de sementes sintéticos de pimenta-longa: A) sementes pré-germinadas com 21 dias utilizadas com material para encapsulamento; B) aspectos de sementes pré-germinadas encapsuladas em diferentes concentrações de alginato de sódio (1% e 2%); C-D: aspecto das pré-germinadas encapsuladas; e E-F) plantas após 30 e 60 dias de emergência em meio de MS, prontas para aclimatização. Fonte: Guedes et. al. (2007, p. 1007).....	21
Figura 5.. Produção de sementes sintéticas de <i>Passiflora cincinnata</i> Mast. (A) - Flor de <i>P. cincinnata</i> . (B) - Cluster de embriões somáticos em diferentes fases de desenvolvimento. (C) - Embriões somáticos em estágios pré-cotiledonar, cotiledonar e em detalhe embrião zigótico. (D-E) - Embriões somáticos encapsulados na matriz I com alginato de sódio e matriz II com alginato e endosperma artificial com carvão ativado. (F) - Germinação de sementes sintéticas a partir de embriões zigóticos maduros cultivadas em frascos. (G) - Germinação embriões zigóticos encapsulados na Matriz (II) com alginato de sódio suplementado com meio de MS ^{1/2} e carvão ativado/endosperma artificial. (H) - Germinação de embrião somático cotiledonar encapsulado na Matriz I - alginato de sódio. (I) - Embriões somáticos encapsulados cultivados em frascos em plugs de celulose. (J) - Plântula convertida a partir de embrião somático cultivada em plug de celulose. (K) - Sementes sintéticas cultivadas em condição ex vitro em Gerbox com substrato Plantmax®. (L) - Sementes sintéticas cultivadas ex vitro em Gerbox com substrato e Florialite™. Fonte: SILVA, et. al. (2015, p. 334).....	22

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO (revisão de literatura)	10
2. OBJETIVOS	14
2.1 OBJETIVO GERAL	14
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	14
3. METODOLOGIA.....	14
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	15
5. CONCLUSÃO	24
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	24

1. INTRODUÇÃO (revisão de literatura)

O Brasil é um país com muitas espécies de plantas, sendo muitas delas com notoriedade socioeconômica e com difícil forma de reprodução, além disso, existem várias espécies de interesse comercial. O avanço da agricultura no país é evidente, o que gera uma busca constante por novas tecnologias, que visem aumentar a produtividade e que tenham baixo custo. Silva (2017) relata que o método convencional de propagação de cana-de-açúcar através de colmos, não sofreu alterações desde que a cultura é produzida de forma comercial, fazendo-se necessário buscar novas tecnologias que possam proporcionar aumento na produtividade, redução de doenças, propiciar homogeneidade no canavial, dentre as tecnologias que podem proporcionar tais resultados estão a multiplicação *in vitro* e a utilização de mudas pré-brotadas.

Várias espécies apresentam aspectos que atrapalham a propagação e conservação da forma convencional. O jenipapeiro (*Genipa americana* L.) por exemplo, que é bastante empregado para melhoria de áreas danificadas e para arborizar regiões urbanas, dispõe de sementes que não suportam o processo de dessecação e temperaturas amenas, chamadas pelo autor de sementes intermediárias, fazendo-se necessária a adoção de estratégias complementares, como a técnica de conservação de plantas a partir de eixos embrionários, utilizando a tecnologia de sementes (NASCIMENTO, 2018).

Em oliveira existem algumas formas de propagação, até mesmo através de sementes, contudo esses métodos propagativos se revelam decadentes, pois não proporcionam resultados relevantes para a produção da cultura, logo que provocam fatores como falta de homogeneidade das raízes e capacidade reduzida de se regenerar. Usando as sementes é inevitável perder a genética de origem, devido a isso chega a ser contraindicado fazer uso das sementes como forma propagativa. A clonagem massal é um método que possibilita a conservação das propriedades importantes da cultura e a produção de grandes quantidades de mudas, fazendo-se através do emprego de órgãos e tecidos da planta, ou seja, usando embriogênese somática (CANCADO, 2014).

Vem ocorrendo evoluções constantes nos conhecimentos sobre biologia molecular, celular e biotecnologia, especialmente no que diz respeito à cultura de tecidos. Segundo Floh, *et al.* (2015) a cultura de tecidos possibilitou, através de células somáticas, a formação de embriões *in vitro*. Os modelos de embriogênese somática, são muito promissores para estudos básicos de diferenciação celular em plantas, apresentam também alto potencial biotecnológico. Em espécies vegetais de interesse comercial, esta

técnica permite através de programas de melhoramento genético a clonagem massal de genótipos selecionados. Após toda essa análise foi possível ter a visão da produção de sementes sintéticas.

O ciclo de vida das plantas superiores alterna entre estruturas celulares haploides (geração gametófito) e diploides (geração esporófito). A geração gametófito inicia-se, com a formação dos gametófitos, masculino (grãos de pólen) e feminino (óvulos) que através da evolução do micro e megasporogênese, se formam respectivamente os gametas masculinos (anterozoides), e femininos (oosfera). A geração esporófito inicia-se após a fecundação da oosfera, dando origem ao zigoto, que a partir de uma série de divisões organizadas e da subsequente especialização celular, dá origem a um embrião (PIRES, 2018). Contudo, a oosfera não é a única célula com capacidade para produzir um embrião, na natureza, outras células, haploides ou diploides do saco embrionário podem estar envolvidas na formação de estruturas análogas aos embriões zigóticos (FLOH, 2015).

Esse processo ocorre de forma natural, em algumas espécies vegetais, como por exemplo, na formação de embriões nucelares em citros, sendo caracterizado como a capacidade de iniciação e desenvolvimento de embriões provenientes de células que não são o resultado direto da fusão dos gametas, e, quando estes embriões resultam da evolução de células do tecido nuclear, eles são clones da planta original (PEIXOTO, 2017; PIRES, 2018). Um processo semelhante pode ser conseguido em condições artificiais, com a formação *in vitro* de embriões a partir de células dos tecidos somáticos, e, como o próprio nome indica, recebe o nome de embriogênese somática (CANHOTO, 2010).

Na produção das sementes sintéticas é possível utilizar dois processos, a embriogênese direta, na qual os embriões surgem diretamente do tecido original, ocorrem em células nucelares de variedades poliembriônicas, em embriões imaturos, e em inflorescências jovens, e por meio da embriogênese indireta ocorre a formação de embriões que surgem de tecido que se diferenciou, apresentando células em distintas fases de diferenciação (SOUZA, *et al.*, 2014; PEIXOTO, 2017).

As sementes sintéticas são equivalentes às sementes botânicas, formadas basicamente por camadas constituídos de compostos artificiais, em suma torna-se similar a uma cápsula. Propágulos que apresentam aptidão para conversão em plântulas naturais, sem ligação ao explante de origem, podem se tornar constituintes de uma unidade encapsulável, quando utilizados para tal, tem potencial de originar plântulas resistentes a estresses, no qual a cápsula formada possibilita proteção a danos externos e podendo

ainda ser incorporado aporte de nutrientes para auxiliar no bom desenvolvimento do explantes, como em um endosperma (SOUZA, *et al.*, 2014).

Basicamente a produção das sementes sintéticas ocorre de forma que embriões somáticos são adicionados a um hidrogel, formando uma cápsula. Duarte *et al.* (2018) focado em aperfeiçoar a capacidade fisiológica de sementes, relatou que o alginato de sódio tem sido empregado com o propósito de assegurar rápida emergência e germinação das plântulas, sua origem se dá por intermédio de algas marinhas marrons (*Phaeophyceae*), está no grupo dos polissacarídeos. O seu uso *in vitro* corresponde basicamente no encapsulamento de diversos tecidos como ápices caulinares, brotos, embriões somáticos, gemas axilares, cada vez mais são notados seus benefícios para o desenvolvimento de sementes sintéticas (BRAGA, 2017).

O uso de sementes artificiais na agricultura moderna estabelece novos campos de ação, pois trata-se de um método promissor para plantas, na conservação, e principalmente, na propagação, logo que em algumas espécies existem dificuldades referentes a esses fatores, como plantas com sementes extremamente pequenas ou as que não nem sequer geram sementes. Para a área de biotecnologia essa técnica ocasiona uma ascensão muito importante, logo que, reduz vastamente a duração e os custos de práticas convencionais de melhoramento genético e clonagem. O potencial desta ferramenta está ligado a fatores como: período reduzido para geração de amplas quantidades de propágulos, a supressão do uso de estruturas de alto custo para aclimatização e a conservação de características clonais, além disso, proporciona vantagens para espécies de ciclos longos e que sofrem com fatores climáticos e condições adversas (MONDO e CICERO, 2008).

Os alginatos são polímeros lineares formados pela ligação de resíduos de dois ácidos β -D-manurônico (M) e α -L-gulurônico (G) em diferentes aspectos e proporções, arranjados em formas de blocos ao longo da cadeia, sua fórmula geral é representada por $(C_6H_8O)_n$. Ocorre a formação de hidrogéis em presença de cátions divalentes (Ca^{+2} ou Ba^{+2}), à ligação cruzada destes íons com os grupos carboxílicos dos resíduos de ácido gulurônico. Formando, portanto, uma rede tridimensional, chamada de “caixa de ovo”, no qual os íons divalentes localizam-se nas cavidades eletronegativas do alginato. O pH de solutos líquidos de alginato de sódio a 1% estão em aproximadamente 7,2. São pouco solúveis em álcool, solventes orgânicos, soluções aquosas com pH menor que 3 e solubiliza-se vagarosamente em água. As propriedades físicas do gel produzido variam de acordo com a composição do alginato e a concentração de íons existentes no meio. A

ocorrência de géis com maior grau de rigidez e com necessidade de período mais prolongados para perder a integridade, geralmente são os com ácido gulurônico em maior quantidade (FUJIWARA, 2012).

O gel considerado o principal para a realização do processo de encapsulamento é o alginato de sódio, pois apresenta características de grande importância como falta de toxicidade, de fácil manuseio, valor acessível e tem atributos gelificantes. Para a realização do processo de encapsulamento o explante é colocado junto ao alginato de sódio, posteriormente utilizando uma pipeta, o explante é sugado com o gel, formando a matriz de alginato, sendo assim, existe a possibilidade de produção de sementes artificiais em diversos formatos, volumes e espessuras. Em seguida, são mergulhados em cloreto de cálcio, o tempo é variável, para este autor entre 10 e 30 minutos, porém tem trabalhos que chegam a utilizar até 60 minutos. Em contato com os cátions di e trivalentes ocorre o processo de complexação, que transforma o alginato de sódio em alginato de cálcio. A resistência e dureza da cápsula são importantes, pois são fatores fundamentais para que a plântula consiga realizar o rompimento da cápsula, a germinação a vista disso a plântula irá se desenvolver (GUERRA *et al.*, 1999).

A cápsula oriunda do processo de encapsulamento tem o encargo de garantir anteparo ao explante, vetando que ocorra possíveis danificações externas, em contrapartida, ampara eliminação de água do explante para meio externo (IKHLAQ, *et al.*, 2010). O explante é envolto por um gel, que concede proteção e pode ser uma ferramenta atuante na nutrição, e como resultado o crescimento. Sendo possível incorporar, nutrientes minerais (nitratos, sulfatos, fosfatos) orgânicos, micronutrientes (boro, ferro, manganês, zinco), vitaminas, reguladores de crescimento, entre outros compostos que colaboram de forma determinante na nutrição da plântula. Sementes sintéticas possibilitam a realização de armazenamento a curto prazo, o que acaba sendo vantajoso para sementes recalcitrantes, por exemplo (BRAGA, 2017).

A utilização das sementes sintéticas traz diversos benefícios, especialmente para grandes produções, como: a necessidade de espaço físico reduzido, poder gerar diversos embriões somáticos em intervalos pequenos de tempo, assegurar homogeneidade clonal, estar ileso de consequências climáticas (PEIXOTO, 2017). Assim o uso de sementes sintéticas se mostra como grande potencial tecnológico, abrangendo facilidade de transporte, armazenamento, plantio e conservação de características clonais, além disso, viabiliza melhor controle na produção de mudas, tempo de produção e oportuniza um plantio direto, reduzindo assim os custos no cultivo *in vitro* (SILVA, *et al.*, 2015).

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Com base nos textos de referência citados, foi possível organizar e compor este trabalho através de metodologias de pesquisa que tenham utilizado sementes sintéticas com o objetivo de produzir propágulos capazes de ter bom desenvolvimento no campo, além de garantir fatores importantes para o desenvolvimento vigoroso da planta, indicando outro método de propagação para algumas culturas, em menor período de tempo, com mais possibilidades de armazenamento, com maior velocidade de germinação, entre outros fatores fundamentais para a redução do tempo e custos de produção.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar metodologias de pesquisa que busquem comprovar a eficiência da utilização de sementes sintéticas.
- Avaliar vantagens e desvantagens das sementes sintéticas.

3. METODOLOGIA

O presente estudo consistiu em uma revisão sintética bibliográfica de literatura, baseado em estudos descritivos que buscaram demonstrar a importância da utilização de sementes sintéticas, possibilitando abranger estudos que foram desde o testar a produção de sementes sintéticas para culturas que os métodos de propagação exijam longos períodos de tempo, custo elevado, dentre outros fatores que possam ser melhorados com as sementes sintéticas. Foram utilizados no estudo métodos objetivos e práticos para avaliar criticamente que foram desenvolvidos acerca do assunto.

Foram utilizadas fontes de informação secundárias, sendo 2 livros com foco em embriogênese e biotecnologia vegetal, que abordam basicamente sobre biotecnologias e clonagem. Artigos científicos acessados através do Google Acadêmico, Scielo e Portal de Periódicos, totalizando 17 artigos, sendo 14 nacionais e 3 internacionais, e 5 dissertações, disponíveis online em texto completo. Os seguintes assuntos foram abordados: embriogênese somática, alginato de sódio, complexação, micropropagação, encapsulamento, entre outros. Para a seleção dessas fontes foram considerados como critérios a inclusão de bibliografias que abordassem temas relacionados a sementes sintéticas, alginato de sódio e micropropagação.

Realizou-se a coleta dos dados, começando com leitura exploratória de forma geral em todo material pré-selecionado, realizando leitura rápida e direcionada, com o intuito de verificar se a obra era de interesse para o trabalho e já excluindo os que não tinham ligação ao tema. Em seguida realizou-se leitura seletiva, de forma mais aprofundada, selecionando partes importantes para compor o meu trabalho. Por fim, fez-se o registro das fontes de forma específica, criando a referência bibliográfica (autores, título, ano), citando todos os autores utilizados no referido estudo, respeitando as normas.

Posteriormente efetuou-se leitura crítica, objetivando ordenar os conhecimentos de acordo o propósito da pesquisa, assim obtendo e chegando a respostas e pontos de vista sobre a questão levantada pela pesquisa.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

No que diz respeito a produção de sementes sintéticas na pesquisa realizada por Braga (2017) observou-se que não ocorreu interação significativa para nenhuma variável analisada, entretanto, foi possível observar que para a concentração de forma isolada, verificou-se que houve significância para quaisquer variáveis. Porém, no que diz respeito à germinação conforme se elevando as quantidades de alginato, foi perceptível a redução na germinação, dificultando o rompimento de cápsulas e conseqüentemente a germinação. Na literatura trabalhos que utilizam diferentes concentrações de alginato de sódio obtiveram melhores resultados para encapsulamentos a 3% de alginato de sódio, um outro fator crucial corresponde a regularidade de transformação de explantes em plantas está diretamente ligado ao tempo de permanência no cloreto de cálcio. O período mais recomendado é de 30 minutos.

Campos (2014) em relação a geração de propágulos sintéticos de *Campomanesia pubescens*, chegou a obter resultados com 100% de rompimento das cápsulas que foram deixadas por 20 minutos no cloreto de cálcio, empregando ápices caulinares, esses dados são semelhantes aos encontrados por Braga (2017) sugerindo, portanto, que espécies diferentes dentro de um mesmo gênero, em condições de encapsulamento, apresentam comportamento germinativo similares.

Braga (2017) também observou aumentos em relação ao tempo de germinação à medida que se aumentou a concentração de alginato e o tempo de complexação, salvo sementes conduzidas com 3% de alginato, com tempo de complexação de 20 e de 30 minutos apresentando menor período para a germinação, permitindo considerar que quantidades de cloreto de cálcio, alginato de sódio, e tempo de complexação influenciam

diretamente a capacidade germinativa das sementes sintéticas, pois quanto maior a quantidade de alginato, forma-se cápsulas mais rígidas, resultando na redução de emergência de brotos e raízes. Além disso, fatores como a viscosidade do alginato, concentração e tempo de exposição ao cloreto de cálcio são de extrema importantes para definir o sucesso do encapsulamento, pois sabe-se que a complexação acontece assim que o alginato de sódio fica em contato com cátions di e trivalentes transformando-se por fim em cápsulas de alginato de cálcio. A resistência e dureza da cápsula são importantes, pois, em alguns casos, a dureza excessiva da cápsula dificulta ou impede a conversão do explante em plantas (GUERRA et al., 1999).

Existem fatores que influenciam de maneira direta o desenvolvimento do embrião, como o incremento de nutrientes na matriz, quantidade de alginato e o período passado no cloreto de cálcio. A etapa de complexar a cápsula é um fator decisivo para o sucesso do processo, em alguns casos o tempo precisa ser reduzido, para não formar capsulas muito rígidas. Ao se deixar por 60 minutos, por exemplo, pode ocorrer rigidez excessiva, conduzindo a uma baixa taxa de conversão, enquanto que em 10 minutos as cápsulas podem ficar com forma irregular e textura inadequada. A aplicabilidade de meio MS junto na cápsula, principalmente quando combinando a 1% de alginato promove resultados satisfatórios para as sementes artificiais de *Piper hispidinervum* C. DC. (GUEDES et al., 2007).

Gemas apicais de *Capsicum* tem potencial para serem base da produção de sementes sintéticas com o emprego de alginato de sódio. Quando o encapsulamento foi composto também com meio MS efeitos positivos foram observados, maiores quantidades de folhas, plântulas e folhas mais compridas (SOUZA, 2018).

Em contrapartida, Silva (2017) trabalhando com a produção de mudas de cana-de-açúcar, a partir de minirrebolos, obteve efeito danoso em quantidades de alginato de sódio relativamente às plântulas emergidas e a velocidade que ocorreu a emergência. O que dá a entender que o alginato de sódio não proporcionou resultados satisfatórios, por ter exercido efeito restritivo para as raízes, e conseqüentemente diminuiu o desenvolvimento inicial dessas plantas, impossibilitando a viabilidade dessa técnica para a cana-de-açúcar, pelo menos da forma estudada. A cápsula apesar de servir de proteção, pode formar um obstáculo para as raízes brotarem, impedindo conseqüentemente o crescimento das mudas. Mesmo as plântulas que atingiram a emergência em tratamentos com concentrações de alginato em 30, 40 e 50 g L⁻¹ (figura 1), não foram consideradas com qualidade suficiente para o principal objetivo do trabalho, produzir mudas. Por fim,

ainda para esses mesmos tratamentos, foi realizado um teste de replantio dos minirrebolos que não conseguiram emergir, denotando que a cápsula retém a capacidade da planta de crescer após ser removida, ou seja, o encapsulamento possibilitou uma taxa considerável de emergência quando extraída a cápsula e realizada sementeira em casa de vegetação com substrato, ambiente propício, atingindo resultados significativos (59% de emergência), atestando a viabilidade no emprego dessa técnica para o armazenamento em pequenos intervalos de tempo.

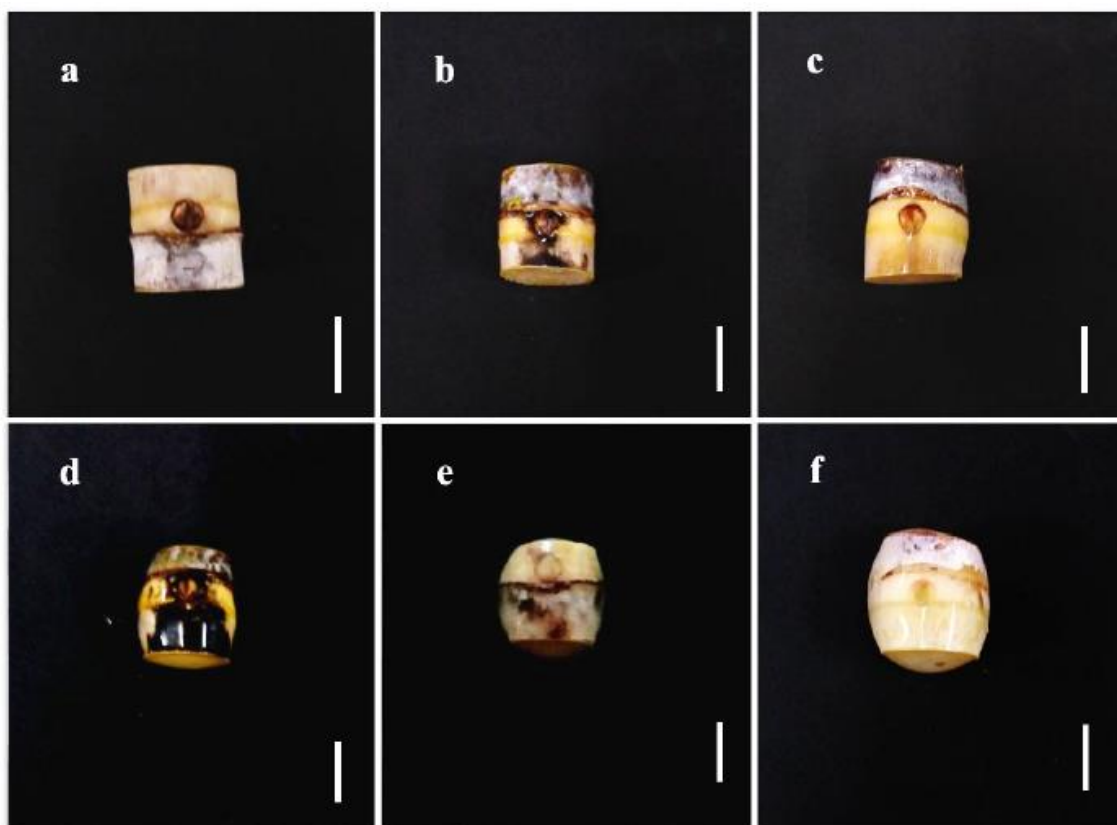


Figura 1. Aspecto de minirrebolos de *Saccharum* sp. L. encapsuladas com diferentes concentrações de alginato de sódio e reticulados com cloreto de cálcio. Zero (a); 10 g L⁻¹ (b); 20 g L⁻¹ (c); 30 g L⁻¹ (d); 40 g L⁻¹ (e); 50 g L⁻¹ (f). Fonte: SILVA (2017, p. 3).

Em algumas situações o encapsulamento pode ter efeito negativo, impossibilitando que os minirrebolos absorvam água, uma vez que, quantidades de alginato de 30, 40 e 50 g L⁻¹ e que foram colocadas em cloreto de cálcio acabam gerando um envoltório muito robusto, que compromete o sistema radicular (MÜLLER *et al.*, 2017).

Duarte (2018) conduziu uma pesquisa referente ao encapsulamento de sementes de soja em alginato, verificando para os fatores germinação e vigor que nenhuma alteração foi provocada pela presença do alginato de sódio. Contudo em relação a

formação de radículas ocorreu maior uniformidade para as sementes que passaram por processo de encapsulamento, fator que podem ter ligação com o possível domínio do alginato de sódio sobre o consumo de água pela semente encapsulada.

No encapsulamento poder acrescentados à matriz reguladores de crescimento, nutrientes e agentes protetores, o que afeta diretamente a taxa de conversão *in vitro* das sementes artificiais em plantas, juntamente com a concentração de alginato de sódio utilizada (FARIA *et al.*, 2014).

No encapsulamento, diferentes substâncias podem ser usadas de forma complementar a nutrição e bom desenvolvimento das plântulas, porém a banana cv. Prata-Anã clone Gorutuba, as cápsulas com incremento de vitaminas e sais do meio MS, e até carvão ativado, não se notou modificações para altura e conversão das plântulas. Todavia, outros autores já relataram que o carvão ativado na cápsula se demonstra eficaz, por proporcionar condições melhores no desenvolvimento da cultura, como por exemplo, melhor condição de respiração para o embrião e potencial otimização (FARIA *et al.*, 2014). Existem relatos de que o carvão ativado também é capaz de melhorar a taxa de enraizamento *in vitro*, produzir brotos maiores, melhorias para o sistema radicular, e conseqüentemente, para toda a planta (COSTA *et al.*, 2006).

O porcentual de emergência verificado por Pereira *et al.* (2008) mostrou-se positivo quando foi acrescentado nas cápsulas o meio MS com 1% de alginato de sódio, no que diz respeito à época de avaliação resultou em 79,1% de emergência ao decorrer de 30 dias do plantio *in vitro*.

Ainda no trabalho realizado por Faria *et al.* (2014) foram acrescentados dois compostos orgânicos com o objetivo de gerar respostas fisiológicas para explante, o BAP (benzilaminopurina) e o ANA (ácido naftalenoacético) ao meio MS, sendo testados de forma individual e juntos (figura 2), porém os resultados obtidos não foram bem sucedidos, chegando até a reduzir o porcentual de conversão, quando apenas o ANA foi utilizado. Os melhores resultados obtidos para enraizamento, foram de 42,5% e de 28,33% nos tratamentos que possuíam apenas o meio MS. A taxa de melhor resposta para a criação de raízes foi alcançada pelo meio MS 100% em conjunto com o carvão ativado, concluindo que não se faz necessário o incremento de reguladores de crescimento, isso não é algo totalmente negativo, pois significa que não será necessário o acréscimo desses reguladores, evitando os gastos para tal. Costa *et al.* (2006) também utilizando o BAP constatou uma variação fenotípica do material de origem, ademais ainda causou toxidez aos explantes, comprometendo o bom desenvolvimento dos brotos.

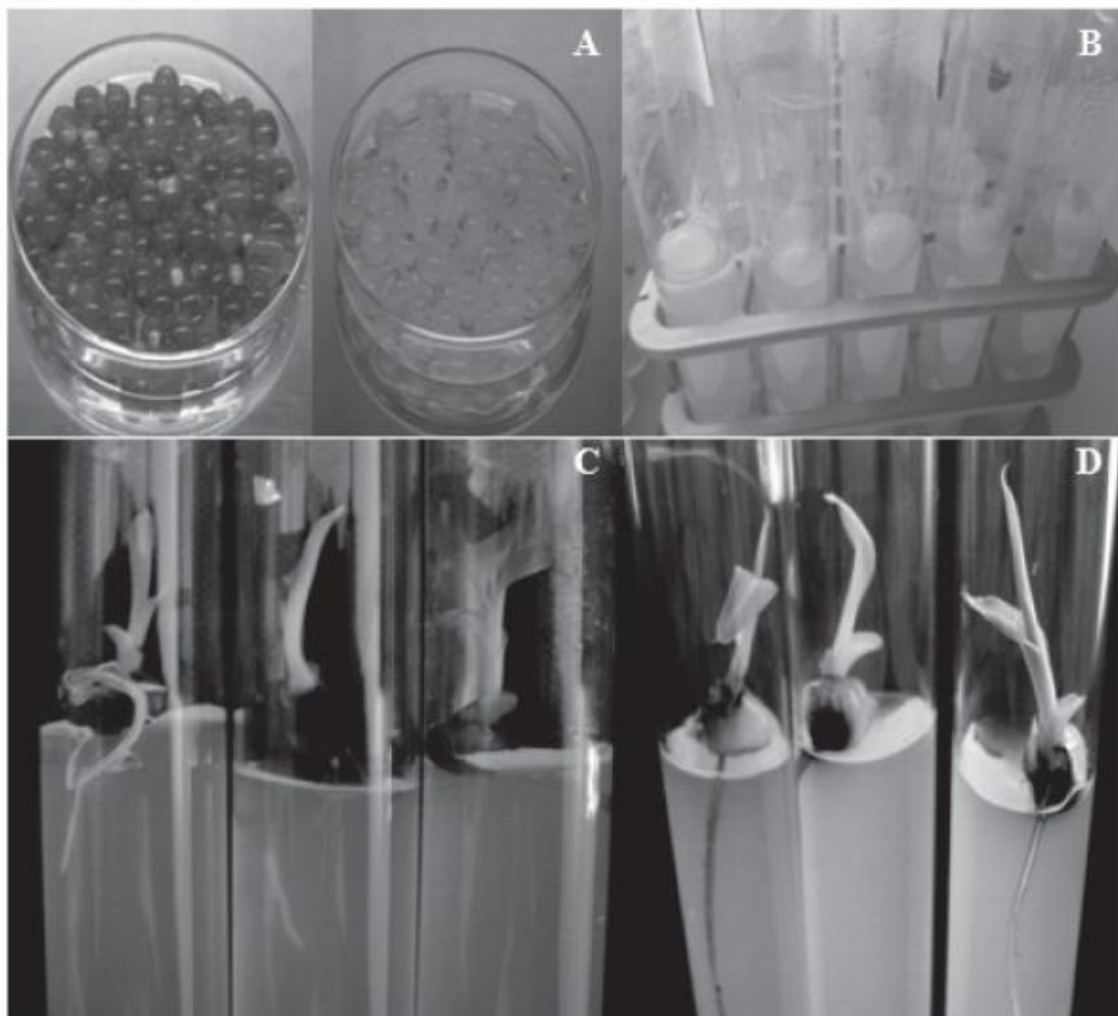


Figura 2. A: Sementes sintéticas de banana cv. 'Prata-Anã' clone Gorutuba, com e sem carvão ativado. B: estabelecimento de sementes sintéticas *in vitro*. C: conversão de microbrotos encapsulados em matriz de alginato contendo carvão ativado. D: conversão de microbrotos encapsulados em matriz de alginato de sódio sem carvão ativado. Fonte: FARIA et. al. (2014, p. 477).

Para Pereira *et. al.* (2008) constatou que quanto maiores as concentrações de meio MS incorporadas à matriz de encapsulamento maiores são as quantidades de sementes convertidas em plântulas de pimenta-longa, bastante elevado em comparativo aos tratamentos no qual foi colocado água na composição do endosperma. Tratamentos em que tiveram o incremento de carvão ativado (3 g L^{-1}) e, vitaminas e sais de MS (1/2 e 3/4) (figura 3), ocasionaram melhores proporções de conversão de plantas, especialmente em comparativo com os tratamentos sem adição do carvão ativado, evidenciando uma redução da oxidação e possível contribuição na respiração dos explantes, melhorando consequentemente o vigor e germinação das plantas. Aos 30 dias de semeadura, atingiu-

se a melhor quantidade de conversões, independente do carvão ativado estar ou não junto a cápsula.

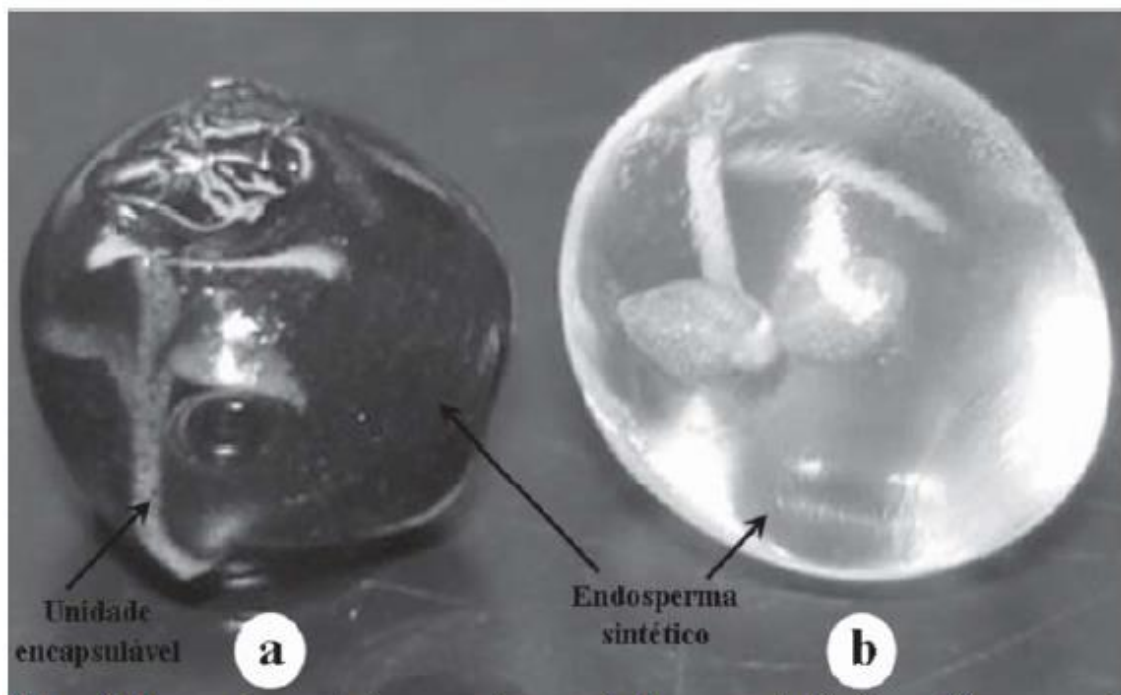


Figura 3. Aspecto da matriz de encapsulamento com (a) e sem (b) carvão ativado, na sua composição. Fonte: PEREIRA *et. al.* (2008, p. 95).

No experimento 2 de Guedes, *et al.* (2007) ocorreu significância em relação a composição da cápsula em comparativo com a emergência, o alginato de sódio a 1% chegou a 99,8% de emergência (figura 4). Altura das plântulas geradas não demonstrou diferenças importantes no que diz respeito da composição da cápsula, diferente da variável consistência, que resultou em maior altura quando acrescido 1% de alginato, isso acontece em consequência do porcentual de emergência dessas cápsulas e, dessa forma, o seu rápido crescimento.

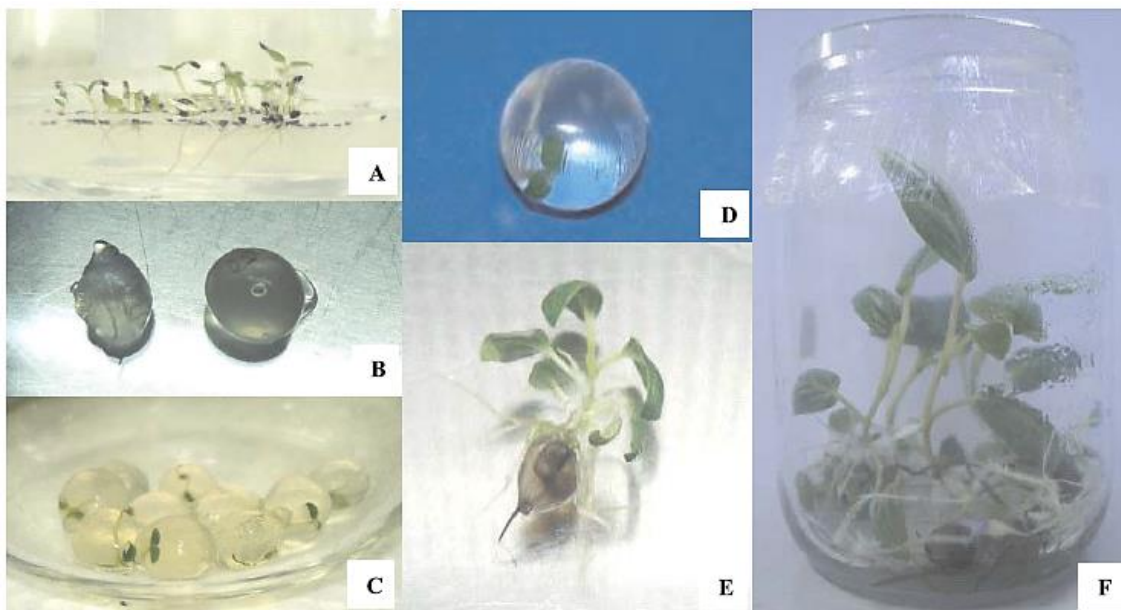


Figura 4. Produção de sementes sintéticas de pimenta-longa: A) sementes pré-germinadas com 21 dias utilizadas com material para encapsulamento; B) aspectos de sementes pré-germinadas encapsuladas em diferentes concentrações de alginato de sódio (1% e 2%); C-D: aspecto das pré-germinadas encapsuladas; e E-F) plantas após 30 e 60 dias de emergência em meio de MS, prontas para aclimatização. Fonte: Guedes *et. al.* (2007, p. 1007)

No que diz respeito à altura de plântulas não foi possível observar significância os constituintes da cápsula, diferentes quantidades de alginato e os períodos de avaliação. Isso é provocado, porque em seguida a instauração das raízes no meio todos os propágulos estavam sob as mesmas circunstâncias de cultivo, independente do que foi agregado à cápsula. No que diz respeito ao período de avaliação foi observada significância aos 30 dias de plantio, obtiveram maiores alturas, refletindo em maior crescimento das plântulas, no experimento 1 (GUEDES *et al.* 2007).

Costa *et al.* (2006) incluiu o carvão ativado no meio de cultura, o que resultou em maior vigor, quantidade de raízes e altura das brotações, contrastando como as brotações conduzidas somente em meio de cultivo. A inclusão do N6-BAP não gerou alterações para o tamanho das brotações. O que pode ser justificado pelo seguinte acontecimento, o carvão ativado tem a capacidade de absorver o regulador de crescimento, o que diminui ou até cessa a sua funcionalidade. Para a pimenta-longa as melhores taxas de conversão ocorreram quando a cápsula sintética foi composta por 75% de vitaminas e sais do meio MS juntamente com 3 g L⁻¹ do carvão ativado (PEREIRA *et al.*, 2008).

Silva *et al.* (2015) estudando sobre a produção de sementes sintéticas de maracujazeiro ornamental (figura 5) obteve germinação iniciada depois do décimo dia de cultivo, dos embriões somáticos e zigóticos, *in vitro*. O alginato de sódio a 2,5% formou

um composto (polímero) ao se unir ao $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, formando a estrutura de encapsulamento bem precisas. Chegando a ótimos resultados em ambos os tratamentos, para as cápsulas colocadas em frascos que foram produzidas somente com o alginato de sódio tiveram retorno de 79% para o fator germinação, ainda obtendo um bom alongamento das radículas, que conduziu também ao bom desenvolvimento de primórdios foliares. Outras unidades encapsuladas formadas com sais de MS chegaram a 76% e os com carvão ativado a 86%.



Figura 5.. Produção de sementes sintéticas de *Passiflora cincinnata* Mast. (A) - Flor de *P. cincinnata*. (B) - Cluster de embriões somáticos em diferentes fases de desenvolvimento. (C) - Embriões somáticos em estágios pré-cotiledonar, cotiledonar e em detalhe embrião zigótico. (D-E) - Embriões somáticos encapsulados na matriz I com alginato de sódio e matriz II com alginato e endosperma artificial com carvão ativado. (F) - Germinação de sementes sintéticas a partir de embriões zigóticos maduros cultivadas em frascos. (G) - Germinação embriões zigóticos encapsulados na Matriz (II) com alginato de sódio suplementado com meio de $\text{MS}^{1/2}$ e carvão ativado/endosperma artificial. (H) - Germinação de embrião somático cotiledonar encapsulado na Matriz I - alginato de sódio. (I) - Embriões somáticos encapsulados

cultivados em frascos em *plugs* de celulose. (J) - Plântula convertida a partir de embrião somático cultivada em *plug* de celulose. (K) - Sementes sintéticas cultivadas em condição *ex vitro* em Gerbox com substrato Plantmax®. (L) - Sementes sintéticas cultivadas *ex vitro* em Gerbox com substrato e Florialite™. Fonte: SILVA, *et. al.* (2015, p. 334).

Sementes sintéticas de *P. cincinnata* de acordo com condições *in vitro* e *ex vitro* (figura 5), encapsulados apenas com alginato de sódio obtiveram os melhores índices para as variáveis avaliadas, de conversão e germinação. São de suma importância estudo com a cultura de interesse, para armazenamento em temperaturas baixas e a semeadura dessas sementes em condições reais de cultivo ou em casas de vegetação, checando a viabilidade dessa técnica a nível comercial. Por fim, os embriões tanto zigóticos, como somáticos em fase de crescimento cotiledonar são recomendados como base para a realização da técnica de encapsulamento de *P. cincinnata*, no referido trabalho também foram acrescentados *plugs* de celulose como substrato (SILVA *et. al.*, 2015).

Hung e Dung (2015) fizeram uma tentativa de preparar e semear crisântemo em condições não assépticas objetivando demonstrar o comportamento das sementes sintéticas em semeadura direta, pois de acordo com o autor o desenvolvimento em condições de campo é de grande importância para as espécies de interesse comercial. Pontas de brotos crescidos *in vivo* foram misturados a substância de alginato de cálcio a 2,5%, foram posteriormente semeados em substrato de vermiculita e mantidos em uma câmara de propagação de polietileno. Esse método visa diminuir os processos de aclimatização de cultivos *in vitro*, melhorando as formas de traslado e manipulação dos propágulos. A recomendação dos autores é que para chegar ao sucesso na produção em grandes quantidades de sementes sintéticas seja colocada em condições de campo, para reduzir gastos na produção de forma a realizar testes para a cultura que tenha o interesse de produzir.

Ponderando que esta técnica reduz o processo de aclimatização necessário para culturas *in vitro*, possibilita o manuseio e transporte de propágulos. O que irá conferir mais sucesso para essa técnica é a sua realização em grandes quantidades diretamente no campo, reduzindo gastos com estruturas e aclimatização. Contudo, os estudos para formação de sementes sintéticas não estéreis e sua semeadura direta precisam ser adequados a cada espécie.

Falando agora sobre armazenamento de sementes sintéticas, Braga (2017) verificou através de diferentes períodos de armazenamento, que não ocorreu germinação das sementes sintéticas armazenadas a 4°C, independentemente do tempo em que foi

armazenado e de quanto de alginato foi usado fabricação das cápsulas. A não germinação da testemunha (sementes que não passaram por complexação da cápsula, mas que foram armazenadas a 4°C) e dos demais tratamentos, foi justificada pela ocorrência de alternância de temperaturas de armazenamento (4°C) e a germinação (30°C), possivelmente, sofreu com a mudança brusca na temperatura, impedido o progresso da germinação. O que corrobora com Campos (2014), que observou um decréscimo acentuado na porcentagem de rompimento de cápsulas, armazenadas a 4°C e que após 15 dias não obteve rompimento das cápsulas.

O método de produção de sementes sintéticas beneficia a manutenção de germoplasma, como também visa durante o ciclo de produção da cultura, amenizar os gastos. Pesquisas relacionadas ao uso do encapsulamento *in vitro* juntamente com à conservação *in vitro*, tanto via crescimento lento, quanto por meio do congelamento, são ainda incipientes no Brasil e, em função disso, a Embrapa Clima Temperado vem introduzindo técnicas que proporcionem novas alternativas, para produção de mudas e para manutenção de germoplasma (VARGAS *et al.*, 2014).

5. CONCLUSÃO

Conclui-se, portanto, que existem diversos casos em que a produção de sementes sintéticas foi bem sucedida, isso a depender de diversos fatores como adição de componentes como reguladores de crescimento a matriz de alginato de sódio, tempo de complexação, percentual de alginato de sódio e a parte da planta utilizada (sementes, ápices caulinares, por exemplo), assim como existem relatos de resultados não positivos ou não tiveram o sucesso esperado.

A adição do carvão ativado demonstrou-se, na maioria dos casos, de fundamental importância para um melhor desenvolvimento da plântula. Para a quantidade de alginato de sódio, os melhores resultados apresentados foram entre 1 a 3%, proporcionando maior equilíbrio para dureza e formato da cápsula, além de melhores resultados quando colocadas em condições favoráveis para germinação, manifestado menor interferência na emissão de radícula e o conseqüente desenvolvimento da cultura.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BRAGA, V. P. **Avaliação do encapsulamento de sementes recalcitrantes de *Campomanesia adamantium* (Cambess) O. BERG.** 2017. Dissertação (Mestrado em Agronomia, produção vegetal). Universidade Federal de Goiás. Regional Jataí. Jataí, Goiás. 2017.

- CAMPOS, N. A. **Estratégia para conservação in vitro de gabioba (*Campomanesia pubescens*)**. 2014. Tese (Doutorado em Agronomia/Fisiologia Vegetal) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2014.
- CANCADO, G. M. A., BRAGA, F. T., SOUZA, R., NUNES, C., RIBEIRO, A. P. SOARES, B. D. S. **Cultivo in vitro da Oliveira e suas aplicações**. Livro.: Oliveira no Brasil: tecnologias de produção. Capítulo 10, pp. 275-310. Junho, 2014.
- CANHOTO, J. M. **Biotechnology Vegetal: da Clonagem de Plantas à Transformação Genética**. Editora: Pombalina. Livro. Universidade de Coimbra. Coimbra, 2010.
- COSTA, F.H.S. PEREIRA, J. E. S., PEREIRA, M. A. A., OLIVEIRA, J. P. **Efeito da interação entre carvão ativado e N6-benzilaminopurina na propagação in vitro de bananeira, cv. Grand Naine (AAA)**. Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal. p. 280-283, 2006.
- DUARTE, V. G. O., NOBRE, D. A. C., LEITE, V. S. A., JESUS, B. G. L., TRONTO, J., MACEDO, W. R., PINTO, F. G. **Qualidade de semente de soja encapsuladas com alginato de sódio**. The Journal of Engineering and Exact Sciences – JCEC, Vol. 04, n 03 (2018).
- FARIA, R. A. N., COSTA, A. M., LONDE, L. N., SILVA, J. F., RIBEIRO, E. B. **Influence of the composition of encapsulation matrix of microshoots of banana (*Musa sp.*) cv. Prata-Anã Gorutuba clone**. Revista Brasileira de Fruticultura, v. 36, n. 2, p. 472-478, 2014.
- FLOH, E. L. S., SANTOS, A. L. W., DEMASCO, D., **Embriogênese vegetal: abordagens básicas e biotecnológicas**. In: Biotecnologia aplicada à saúde: fundamentos e aplicações. Vol.1 (pp.88-111). Edição 1. Capítulo 3. São Paulo, 2015.
- FUJIWARA, G. M. **Microencapsulação de estigmasterol utilizando alginato de sódio, quitosana e amido**. 2012. Dissertação (Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas, Ciências da Saúde). Universidade Federal do Paraná. Curitiba, Paraná. 2012.
- GUEDES, R.S; COSTA, F.H.S; PEREIRA, J.E.S. **Características físicas e nutricionais da matriz de encapsulamento na produção de sementes sintéticas de pimenta longa (*Piper hispidinervum* C. DC.)** Revista Árvore, Viçosa –MG, v.31, n.6, p.1005-1011, 2007.
- GUERRA, M.P; TORRES, A.C; TEIXEIRA, J.B. **Embriogênese somática e sementes sintéticas**. In: TORRES, A.C; CALDAS, L.S; BUSO, J.A. Cultura de Tecidos e Transformação Genética de Plantas. Embrapa-CNPq. Brasília, 1999.
- HUNG, C. D., DUNG, C. D. **Production of chrysanthemum synthetic seeds under non-aseptic conditions for direct transfer to commercial greenhouses**. Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC), v. 122, n. 3, p. 639-648, 2015.
- IKHLAQ, M. et al. **In vitro storage of synthetic seeds: Effect of different storage conditions and intervals on their conversion ability**. African Journal of Biotechnology, v. 9, n.35, p. 5712-5721, 2010.
- MÜLLER, E. M., GIBBERT, P., BINOTTO, T., KAISER, D. K., BORTOLINI, M. F. **Maturação e dormência em sementes de *Peltophorum dubium* (Spreng) Taub. de diferentes árvores matrizes**. Iheringia. Série Botânica, v. 71, n. 3, p. 222-229, 2017.
- MONDO, V. H. V.; CICERO, S. M. **Aspectos sobre a tecnologia de sementes sintéticas**. Informativo Abrates, Londrina, v. 18, n. 1,2,3, p. 23-29, 2008. MUNIZ, A. V. C. S. Banco ativo de germoplasma do jenipapo. Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2017. Folder.

NOGUEIRA, G. F. **Criopreservação e produção de sementes sintéticas *in vitro* de mangabeira**. 2010. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras-MG, 2010.

PEIXOTO, P. H. P. **Propagação de plantas: princípios e práticas**. Universidade Federal de Juiz de Fora. Departamento de Botânica (pós-graduação em ecologia). Juiz de Fora, Minas Gerais. 2017.

PEREIRA, J. E. S., GUEDES, R. S., COSTA, F. H. S., SCHMITZ, G. C. B. **Composição da matriz de encapsulamento na formação e conversão de sementes sintéticas de pimenta-longa**. Horticultura Brasileira. Brasília, v.26, n.1, p.093-096, jan./mar. 2008.

PIRES, R. N. **Ensaio com vista à indução de embriogênese somática em Oliveira (*Olea europaea* L.)**. 2018. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrônômica). Universidade de Évora. Escola de Ciências e Tecnologia, departamento de Engenharia Rural. Évora, 2018.

SILVA, J. C. **Tecnologias para a produção de mudas de cana-de-açúcar**. 2017. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias). Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano, campus Rio Verde, 2017.

SILVA, M. L., PINTO, D. L. P., GUERRA, M. P., LANII, E. G., CARVALHO, I. F., ROSSI, A. A. B., OTONI, W. C. **Produção de sementes sintéticas de maracujazeiro silvestre com potencial ornamental**. Ornamental Horticulture. V. 21, Nº.3, 2015, p. 331-338.

SOUZA, C. L., JUNIOR, W. C. M., CRESCÊNCIO, J. S., CORREA, R. M., PENONI, N., CAMARGOS, L. M. G. G. **Embriogênese somática e sementes sintéticas**. VII Semana de Ciência e Tecnologia IFMG – campus Bambuí. 2014.

SOUZA, E. S., NASCIMENTO, K. S., RÊGO, M. M., RÊGO, E. R. **Influência de diferentes composições da matriz de encapsulamento e CaCl_2 na formação da cápsula de sementes sintéticas de *capsicum***. Congresso Técnico Científico da Engenharia e da Agronomia – CONTECC'2018. Maceió, Alagoas. 2018.

VARGAS, D. P., DUTRA, L. F., FORMOSO, R. F., COSTA, R. R., HEYCARADIN, J., TAVARES, V. S., PEREIRA, A. S., CASTRO, C. M. **Sementes sintéticas: tecnologia para viabilizar a conservação *in vitro* da batata**. Revista Batata Show, nº 38, p. 41 à 44. Abril, 2014.