UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL

CAMPUS CERRO LARGO

CURSO DE AGRONOMIA

LUIZ FERNANDO DA VEIGA THEIS

SEMENTES SINTÉTICAS DE TANGERINA (*Citrus reticulata* Blanco) OBTIDAS POR DUPLO ENCAPSULAMENTO DE EMBRIÕES ZIGÓTICOS EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE ALGINATO DE SÓDIO

CERRO LARGO

2025

LUIZ FERNANDO DA VEIGA THEIS

SEMENTES SINTÉTICAS DE TANGERINA (*Citrus reticulata* Blanco) OBTIDAS POR DUPLO ENCAPSULAMENTO DE EMBRIÕES ZIGÓTICOS EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE ALGINATO DE SÓDIO

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Universidade Federal da Fronteira Sul, como requisito para obtenção do título de Engenheiro Agrônomo.

Orientador (a): Prof.ª Dr.ª Jordana Caroline Nagel

CERRO LARGO

2025

Bibliotecas da Universidade Federal da Fronteira Sul - UFFS

Theis, Luiz Fernando da Veiga
Sementes sintéticas de tangerina(Citrus reticulata Blanco) obtidas por duplo encapsulamento de embriões zigóticos em diferentes concentrações de alginato de sódio / Luiz Fernando da Veiga Theis. -- 2025.
46 f.:il.

Orientadora: Doutora Jordana Caroline Nagel

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal da Fronteira Sul, Curso de Bacharelado em Agronomia, Cerro Largo,RS, 2025.

I. Nagel, Jordana Caroline, orient. II. Universidade Federal da Fronteira Sul. III. Título.

Elaborada pelo sistema de Geração Automática de Ficha de Identificação da Obra pela UFFS com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Luiz Fernando da Veiga Theis

SEMENTES SINTÉTICAS DE TANGERINA (*Citrus reticulata* Blanco) OBTIDAS POR DUPLO ENCAPSULAMENTO DE EMBRIÕES ZIGÓTICOS EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE ALGINATO DE SÓDIO

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Universidade Federal da Fronteira Sul, como requisito para obtenção do título de Engenheiro Agrônomo.

Este trabalho foi defendido e aprovado pela banca em 05/12/2025

BANCA EXAMINADORA

Documento assinado digitalmente
gov.br
JORDANA CAROLINE NAGEL
Data: 08/12/2025 23:15:05-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Prof.ª Dr.ª Jordana Caroline Nagel – UFFS

Orientadora

Documento assinado digitalmente
GOV.BR
VALDIR MARCOS STEFENON
Data: 09/12/2025 17:08:02-0300
CPF: ***.138.149-**
Verifique as assinaturas em https://v.ufsc.br

Prof. Dr. Valdir Marcos Stefenon – UFSC

Avaliador

Documento assinado digitalmente
gov.br
LANA BRUNA DE OLIVEIRA ENGERS
Data: 10/12/2025 09:12:45-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Prof.ª Dr.ª Lana Bruna de Oliveira Engers – UFFS

Avaliador

Dedico este trabalho aos meus pais,
Nelson e Ivete, que sob muito sol,
fizeram-me chegar até aqui, na sombra.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, que me concedeu forças para trilhar este caminho e concluir esse trabalho, é nele que sempre busco o meu melhor.

A minha família que nunca deixaram de medir forças e serviços sob sol e chuva para ver o filho mais novo ter o prazer de conseguir trilhar o caminho que sempre quis, que me educaram da melhor forma possível e me ensinaram a ver o mundo com os olhos de alegria, sempre com o pensamento positivo e um sorriso estampado no rosto. Minha irmã, Ângela, que mesmo com a distância sempre me aconselhou e fez me dirigir ao melhor caminho possível, sem vocês nada seria possível, agradeço a Deus por ter uma família tão maravilhosa, que és a nossa.

Ao meu amado avô, que mesmo não estando mais no nosso mundo, teria certeza que se orgulharia de me ver trilhando o caminho que ele trilhou a sua vida toda, sempre buscando o melhor para a família, sua sabedoria e amor moldaram o que sou hoje, esta conquista é um reflexo do legado que ele deixou em mim. Agradeço por cada momento e sinto saudades.

A minha namorada, Fernanda Ortiz, que nunca deixou de acreditar em mim, mesmo em situações desafiadoras ao longo do meu caminho, nunca largou a minha mão, sempre me incentivando ao máximo para poder saborear o gosto da vitória. Seu amor foi um ponto especial e importante na minha jornada acadêmica.

Aos meus amigos que me apoiam e dão o máximo de votos de confiança a mim, especialmente ao meu grupo de amizade que durante essa jornada tive o prazer de conhecer, nos quais são, Vanderlan, Guilherme M, Guilherme R, Larissa T, João Pedro e Adolfo. Deixo minha eterna gratidão a eles. O companheirismo e a amizade de vocês contribuíram muito para eu chegar até aqui, por mais difícil que fosse, valeu a pena.

E especialmente para minha orientadora, Jordana Caroline Nagel, que teve a paciência de me escutar, incentivar e acrescentar coisas valiosas ao longo de todo o desenvolvimento do trabalho, sua experiência e atenção aos detalhes foram fundamentais para a realização deste TCC, meu muito obrigado!

Não se apavore, nem se desanime, pois o Senhor, o
seu Deus, estará com você por onde você andar.
(Deuteronômio 31:6).

RESUMO

A cultura da tangerina (*Citrus reticulata* Blanco) ponkan, possui grande importância econômica, mas a conservação de suas sementes é limitada pela alta sensibilidade à dessecação. Este estudo avaliou a germinação e o desenvolvimento inicial de embriões zigóticos submetidos ao duplo encapsulamento com diferentes concentrações de alginato de sódio. Todas as cápsulas internas continham ácido ascórbico para proteção antioxidante. Foram testadas duas testemunhas (sementes com e sem testa) e quatro formulações encapsuladas, combinando alginato a 2% e 3%, com ou sem adição de sacarose. Os parâmetros analisados incluíram o índice de velocidade de germinação (IVG), o tempo médio de germinação (TMG), o crescimento inicial (raiz e parte aérea) e a biomassa verde e seca. A remoção da testa aumentou a germinação (IVG = 11,88; TMG = 5,08 dias), enquanto sementes com testa apresentaram IVG = 6,33 e TMG = 9,42 dias. Entre os tratamentos encapsulados, a formulação com 2% de alginato com sacarose (tratamento 2) apresentou os melhores resultados (IVG = 4,93; TMG = 9 dias), sugerindo efeito positivo da sacarose na antecipação da germinação. Já as formulações com 3% de alginato (tratamento 3 e 4) não apresentaram germinação em nenhuma repetição. Assim, o uso de 2% de alginato, especialmente com aplicação de sacarose, mostrou-se mais adequado para a produção de sementes sintéticas, enquanto concentrações superiores comprometeram totalmente a emergência.

Palavras-chave: Micropropagação; Germinação; Sacarose; IVG; TMG.

ABSTRACT

The cultivation of tangerine (Citrus reticulata Blanco) ‘Ponkan’ has great economic importance, however, seed conservation is limited by their high sensitivity to desiccation. This study evaluated the germination and early development of zygotic embryos subjected to double encapsulation using different concentrations of sodium alginate. All inner capsules contained ascorbic acid for antioxidant protection. Two control treatments were tested (seeds with and without seed coat), as well as four encapsulated formulations combining 2% and 3% alginate, with or without sucrose addition. The evaluated parameters included the germination speed index (GSI), mean germination time (MGT), early growth (root and shoot length), and fresh and dry biomass. Removal of the seed coat increased germination (GSI = 11.88; MGT = 5.08 days), whereas seeds with seed coat showed GSI = 6.33 and MGT = 9.42 days. Among the encapsulated treatments, the formulation containing 2% alginate with sucrose (treatment 2) showed the best performance (GSI = 4.93; MGT = 9 days), suggesting a positive effect of sucrose on accelerating germination. In contrast, formulations containing 3% alginate (treatments 3 and 4) did not show germination in any replicate. Therefore, the use of 2% alginate, especially when combined with sucrose, proved to be more suitable for the production of synthetic seeds, whereas higher concentrations completely impaired embryo emergence.

Keywords: Micropropagation; Germination; Sucrose; GSI; MGT.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Representação esquemática da formação da rede tridimensional do gel de alginato de sódio após a interação com íons cálcio, evidenciando sua estabilidade e capacidade de proteção do embrião encapsulado. 19

Figura 2 Sementes encapsuladas prontas para germinação 25

Figura 3 Comparação das testemunhas com testa e sem testa durante a germinação. 29

Figura 4 A barreira física do alginato limitou a saída do embrião da cápsula. 32

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 Índice de velocidade de geminação e tempo médio de germinação para testemunha sem testa. 28

Tabela 2 Índice de velocidade de geminação e tempo médio de germinação para testemunha com testa. 28

Tabela 3 Índice de velocidade de geminação e tempo médio de germinação para tratamento 1 com alginato 2% sem sacarose. 30

Tabela 4 Índice de velocidade de geminação e tempo médio de germinação para tratamento 2 com alginato 2% com sacarose. 30

Tabela 5 Índice de velocidade de geminação e tempo médio de germinação para tratamento 3 com alginato 3% sem sacarose. 31

Tabela 6 Índice de velocidade de geminação e tempo médio de germinação para tratamento 4 com alginato 3% com sacarose. 31

Tabela 7 Valores dos cálculos de índice de velocidade de germinação e tempo médio de germinação..... 31

Tabela 8 Análise de variância do comprimento de raiz, sem testa. 34

Tabela 9 Teste de tukey para tratamento do comprimento de raiz, sem testa. 35

Tabela 10 Analise de variância do comprimento da parte aérea, sem testa. 35

Tabela 11 Teste de tukey para tratamento do comprimento da parte aérea, sem testa. .. 35

Tabela 12 Análise de variância do comprimento de raiz, com testa..... 35

Tabela 13 Teste de tukey para tratamento do comprimento de raiz, com testa. 37

Tabela 14 Analise de variância do comprimento de parte aérea, com testa. 38

Tabela 15 Teste de tukey para tratamento do comprimento de parte aérea, com testa. .. 38

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 Diferença do índice de velocidade de germinação e tempo médio de germinação nos tratamentos. 33

Grafico 2 Comparação de Massa Verde e Massa Seca (g) em Diferentes Tratamentos .40

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

TMG	Tempo médio de germinação.
IVG	Índice de velocidade de germinação.
T0COM	Tratamento 0 com testa.
T0SEM	Tratamento 0 sem testa.
C. Reticulata	*Citrus Reticulata* Blanco

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO 15
2. OBJETIVOS 16
2.1 Objetivo geral 16
2.2 Objetivos específicos 16
3. REVISÃO BIBLIOGRAFICA 17
3.1. Tangerina(*Citrus reticulata* Blanco) 17
3.2. Sementes sintéticas 18
3.3. Ácido ascórbico 19
3.4. Carvão ativado 20
3.5. Substratos 21
3.5.1 Vermiculita 21
3.5.2 Duplo encapsulamento 22
4. MATERIAL E MÉTODOS 23
4.1 Local do experimento 23
4.2 Implantação e delineamento do experimento 23
4.3 Produção das sementes sintéticas 24
4.3.1 Desinfestação das sementes 24
4.3.2 Encapsulamento interno 24
4.3.3 Encapsulamento externo 25
4.3.4 Implantação das cápsulas no substrato 25
4.4 Preparo dos substratos 26
4.5 Condução do experimento 26
4.6 Avaliações 26
4.7 Análise estatística 27
5 .RESULTADOS E DISCUSSÕES 28
5.1 Velocidade e tempo médio de germinação 28
5.2 Comprimento de raiz e parte aérea das plantulas. 34
5.3 Análise de massa verde e massa seca de plântulas 40
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS 42

1. INTRODUÇÃO

A tangerina (*Citrus reticulata* Blanco) é uma espécie frutífera amplamente cultivada em diversas regiões do mundo, com registros históricos de uso e domesticação desde a antiguidade no nordeste da Ásia e no sul da China. Seu cultivo apresenta significativa relevância econômica e social, movimentando cadeias produtivas que abrangem desde pequenos pomares até a industrialização parcial para a produção de sucos, óleos essenciais e outros derivados (Lorenzi *et al*., 2006; Sebrae, 2018). Segundo o Instituto de Economia agrícola (IEA, 2014), no Brasil, a cultura representa uma importante fonte de renda para pequenos produtores, com participação expressiva no mercado citrícola nacional.

Apesar da importância agronômica da espécie, a conservação das sementes de *C. reticulata* enfrenta limitações decorrentes de sua sensibilidade à dessecação, característica observada em espécies com comportamento intermediário entre sementes ortodoxas e recalcitrantes. A perda de umidade após a remoção do fruto compromete rapidamente o potencial germinativo, dificultando o armazenamento, transporte e manipulação por períodos prolongados (Saipari *et al*., 1998; Orjuela-Palacio *et al.,* 2020). Tal limitação impõe barreiras técnicas relevantes para programas de melhoramento genético, conservação em bancos de germoplasma e práticas de propagação vegetativa.

Diversas técnicas biotecnológicas vêm sendo exploradas com o objetivo de proteger embriões contra estresses mecânicos e hídricos, destacando-se, entre elas, o encapsulamento em alginato de sódio. Essa abordagem permite a formação de uma matriz semipermeável com capacidade de preservar a umidade, conferir proteção estrutural e possibilitar, em determinadas condições, o armazenamento de curto prazo de propágulos (Ahmad *et al.*, 2022).

A eficácia do encapsulamento, contudo, depende de variáveis como a concentração do polímero, a presença de substâncias osmoprotetoras e a utilização do duplo encapsulamento, que afetam diretamente as propriedades físico-químicas da cápsula, incluindo porosidade, rigidez e trocas gasosas, fatores determinantes para a germinação (Attia *et al*., 2021) Entretanto, ainda são escassos os estudos que abordam a influência de diferentes concentrações de alginato no desempenho germinativo de embriões zigóticos de citros submetidos ao duplo encapsulamento. Essa limitação de informações técnicas tem dificultado o aprimoramento da produção de sementes sintéticas e a padronização de metodologias

aplicáveis. Resultados experimentais demonstram que concentrações reduzidas de alginato favorecem a protrusão radicular por imporem menor resistência mecânica, enquanto formulações mais concentradas tendem a dificultar esse processo devido à maior rigidez estrutural da matriz encapsulante (Dantas *et al.*, 2024).

Dessa forma, o presente estudo teve como objetivo avaliar o efeito de diferentes concentrações de alginato de sódio (2% e 3%), com ou sem adição de sacarose, no desempenho germinativo e no desenvolvimento inicial de embriões zigóticos de tangerina submetidos ao duplo encapsulamento, utilizando sementes com e sem testa como referências comparativas. A espécie *C. reticulata* Blanco foi utilizada como modelo devido à sua reconhecida sensibilidade à dessecação, o que permite evidenciar de forma clara o impacto das formulações no processo germinativo.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar o desempenho germinativo e o desenvolvimento inicial de embriões zigóticos de tangerina (*Citrus reticulata* Blanco) submetidos ao duplo encapsulamento com diferentes concentrações de alginato de sódio.

2.2 Objetivos específicos

- Produzir sementes sintéticas de tangerina a partir do encapsulamento duplo de embriões zigóticos, variando a concentração de alginato de sódio na cápsula interna (2% e 3%) e utilizando carvão ativado na cápsula externa padronizada.
- Avaliar a taxa de germinação, o tempo médio de germinação e o vigor das plântulas obtidas das sementes sintéticas produzidas.
- Discutir o potencial do duplo encapsulamento como estratégia aplicável a conservação de embriões sensíveis a dessecação, tomando a tangerina como espécie modelo.

3. REVISÃO BIBLIOGRAFICA

3.1.Tangerina(*Citrus reticulata* blanco)

A tangerina (*Citrus reticulata* Blanco) pertence à família Rutaceae e apresenta ampla variabilidade genética dentro do gênero *Citrus*. Do ponto de vista fisiológico, suas sementes são frequentemente descritas como apresentando comportamento intermediário entre ortodoxo e recalcitrante, característica observada em diversos cítricos. Estudos demonstram que, embora algumas cultivares tolerem secagem moderada, a viabilidade é rapidamente perdida quando a umidade cai abaixo de limites críticos, o que restringe o armazenamento prolongado (Wen *et al*., 2010). Esse padrão também é descrito para sementes tropicais com tolerância reduzida à dessecação, que apresentam queda acentuada de vigor quando expostas à secagem intensa (Black; Pritchard, 2002).

Nos embriões zigóticos de *C. reticulata* Blanco, observa-se elevada hidratação dos tecidos, cotilédones espessos e eixo embrionário sensível à perda de água, características que amplificam a suscetibilidade fisiológica à dessecação. Essa condição é semelhante à relatada para outras espécies do gênero *Citrus*, que apresentam redução drástica da viabilidade quando submetidas a desidratação além do nível seguro de umidade (Khan *et al.*, 2002). Assim, ao serem removidos do fruto, os embriões tornam-se mais vulneráveis ao estresse hídrico e a danos mecânicos, dificultando sua conservação por métodos convencionais.

A própria estrutura da testa pode funcionar como uma barreira física e fisiológica, dificultando a emergência do embrião e retardando o processo de germinação, especialmente em sementes com tolerância reduzida à dessecação. Diante disso, a manipulação direta do embrião, associada a técnicas que preservem sua integridade hídrica, torna-se uma estratégia importante para favorecer a germinação e o desenvolvimento inicial (Black; Pritchard, 2002).

Nesse contexto, *C. reticulata* Blanco constitui um modelo adequado para estudos *in vitro*, especialmente aqueles que envolvem encapsulamento e produção de sementes sintéticas. O uso de cápsulas de alginato de sódio tem sido proposto como alternativa para proteger o embrião contra perda de água, amortecer danos mecânicos e regular a difusão de oxigênio e umidade, função que mimetiza parcialmente o papel natural da semente. Além disso, a sensibilidade à dessecação relatada para o gênero *Citrus* reforça a importância de

técnicas que ofereçam estabilidade fisiológica durante as etapas de manipulação, conservação e germinação.

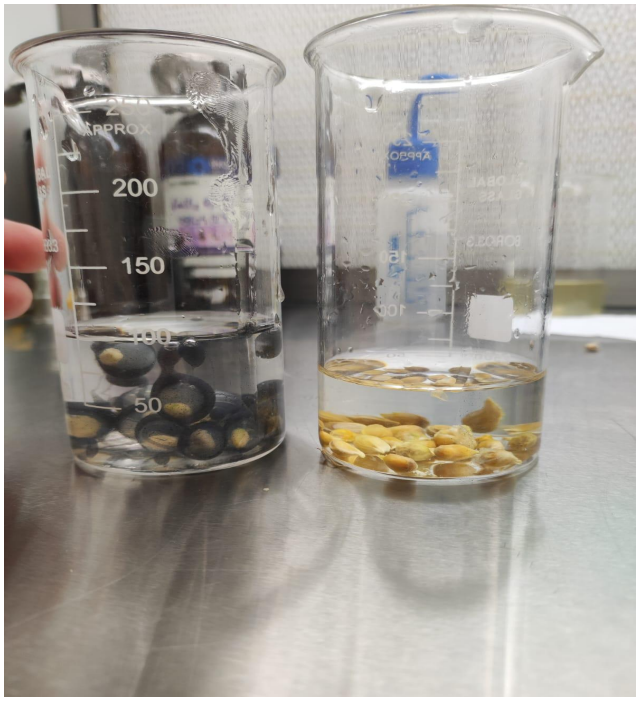
3.2. Sementes sintéticas

O encapsulamento em alginato apresenta vantagens importantes para a produção massal de plântulas, pois permite que propágulos sejam manuseados, transportados e armazenados com maior segurança e, posteriormente, estabelecidos diretamente em diferentes ambientes de cultivo como BOD, casas de vegetação ou até mesmo no campo favorecendo a aclimatização inicial e reduzindo etapas intermediárias do processo de micropropagação (Piccioni; Standardi, 1995; Standardi; Piccioni, 1998). Além disso, o método contribui para a manutenção da estabilidade genética, sendo especialmente útil para espécies de crescimento lento ou sensíveis a condições ambientais adversas (Mondo; Cícero, 2008).

O princípio do encapsulamento em hidrogéis foi introduzido por Redenbaugh *et al*., (1984), constituindo um marco para a propagação artificial de plantas. A partir desse desenvolvimento, o alginato de sódio tornou-se o principal polímero utilizado para formar esferas protetoras ao redor dos embriões, permitindo seu manuseio e germinação de maneira funcionalmente semelhante às sementes naturais. Esse biopolímero é amplamente empregado devido à sua biocompatibilidade, ausência de toxicidade e capacidade de formar géis estáveis quando exposto a íons cálcio, garantindo proteção física e condições de umidade adequadas para o processo germinativo. Conforme relatado por West *et al*. (2006), trata-se de um material de baixo custo, fácil preparo e ampla aplicabilidade, características que justificam sua utilização em protocolos de propagação e conservação in vitro.

A associação entre alginato e cálcio resulta em um gel de estrutura uniforme e resistente, capaz de isolar o propágulo e conservar sua viabilidade durante o armazenamento, conforme exemplificado na Figura 1.

Figura 1 Representação esquemática da formação da rede tridimensional do gel de alginato de sódio após a interação com íons cálcio, evidenciando sua estabilidade e capacidade de proteção do embrião encapsulado.



Fonte: Autor, (2025).

3.3. Ácido ascórbico

O ácido ascórbico, também conhecido como vitamina C, é incorporado às cápsulas porque atua como um antioxidante direto, capaz de neutralizar rapidamente as quinonas formadas pela oxidação de compostos fenólicos. Esse processo é o principal responsável pelo escurecimento de tecidos vegetais durante a manipulação, especialmente quando há corte ou exposição ao oxigênio , situações comuns na extração de embriões. Ao reduzir essas quinonas de volta à forma não oxidada, o ácido ascórbico impede o acúmulo de pigmentos escuros e ajuda a manter a vitalidade do tecido, como demonstrado em estudos clássicos sobre inibição de escurecimento enzimático (Salazar-Montoya *et al*., 2024).

No caso de embriões zigóticos encapsulados, esse escurecimento representa um risco direto para a viabilidade, pois as quinonas formadas são altamente reativas e podem comprometer membranas, proteínas e o metabolismo inicial da germinação. Assim, a incorporação de ácido ascórbico à solução de alginato usada para formar a cápsula interna

tem como principal finalidade proteger o embrião durante as etapas de extração e encapsulamento, momentos em que o contato com o oxigênio e o estresse oxidativo é mais intenso.

Embora a maioria dos estudos trate de frutas frescas ou tecidos minimamente processados, os mecanismos bioquímicos são os mesmos para embriões manipulados in vitro. Por isso, diversos trabalhos que utilizam sementes sintéticas incorporam antioxidantes à matriz de alginato, incluindo ácido ascórbico com o objetivo de preservar a coloração natural do embrião, reduzir o estresse oxidativo e aumentar as chances de conversão em plântulas vigorosas (Redenbaugh *et al*., 1984; Patnaik; Chadn, 2000).

3.4. Carvão ativado

O carvão ativado é amplamente utilizado em técnicas de encapsulamento e cultura in vitro porque ajuda a controlar o microambiente ao redor do embrião. Sua superfície altamente porosa permite que ele adsorva compostos que normalmente se acumulam após a extração ou manipulação dos tecidos, como fenóis oxidados e quinonas. Esses compostos estão diretamente ligados ao escurecimento, um processo que reduz a viabilidade do material vegetal e pode comprometer a formação de plântulas,segundo (Fridborg; Eriksson; Widén, 1978).

Em espécies do gênero *Citrus*, esse cuidado torna-se ainda mais relevante, pois seus embriões são sensíveis ao estresse e tendem a liberar fenóis com facilidade durante o preparo. Ao remover esses compostos ao redor da cápsula, o carvão ativado contribui para manter o embrião mais estável nessa fase crítica. Além do efeito de adsorção, o carvão ativado também pode modificar, de forma sutil, a estrutura do gel de alginato. Pesquisas indicam que sua presença influencia a difusão de água e oxigênio pelo hidrogel, ajudando a criar um ambiente mais regulado e menos sujeito a variações bruscas (Pan; Van Staden, 1998). Isso reduz o acúmulo de substâncias potencialmente tóxicas e favorece condições mais adequadas para a germinação.

Por esse motivo, muitos protocolos optam por incorporar o carvão ativado apenas na cápsula externa como adotado neste experimento. Assim, ele atua como um filtro químico, protegendo o embrião de compostos indesejáveis sem interferir nos nutrientes necessários ao

seu desenvolvimento. De acordo com, (Redenbaugh *et al*.,1984) já indicavam que essa configuração otimiza a proteção do embrião sem prejudicar seu metabolismo interno.

3.5. Substratos

Os substratos são responsáveis por fornecer as condições imediatas de desenvolvimento para embriões encapsulados, especialmente no cultivo de sementes sintéticas. Como o alginato restringe parcialmente a difusão de água e gases, o substrato precisa garantir aeração adequada, retenção de umidade, estabilidade estrutural e disponibilidade de nutrientes (Guerra; Dal Vesco, 2007; Charlo *et al.*, 2006).

Mais do que um simples suporte, o substrato garante condições propícias para a germinação e o crescimento inicial das plântulas, podendo favorecer ou limitar seu desenvolvimento dependendo de fatores como ventilação, capacidade hídrica e suscetibilidade a patógenos (Figliolia *et al.*, 1993). No caso de sementes encapsuladas em alginato de sódio, a escolha do substrato torna-se ainda mais estratégica, já que diferentes materiais podem influenciar de maneiras distintas o desempenho das cápsulas e o ritmo de germinação, exigindo atenção às necessidades específicas de cada espécie.

3.5.1 Vermiculita

A vermiculita é amplamente utilizada na formação de mudas, especialmente de espécies florestais, e também pode ser aplicada em experimentos de germinação realizados em laboratório. Sua popularidade se deve à combinação de disponibilidade, baixo custo e propriedades físicas favoráveis. Entre suas características mais destacadas estão a estrutura homogênea, a elevada capacidade de retenção de umidade, a leveza e a excelente circulação de ar, atributos que contribuem significativamente para o desenvolvimento inicial das sementes (Figliolia *et al*., 1993; Martins *et al*., 2009).

Além disso, apresenta grande estabilidade física, o que é particularmente importante no contexto das sementes sintéticas. Ela garante que a matriz que envolve o embrião permaneça intacta, protegendo-o contra danos mecânicos e mantendo condições adequadas para o seu crescimento. Outro ponto relevante é sua elevada capacidade de troca catiônica, permitindo a retenção e liberação gradual de nutrientes essenciais, o que é vantajoso para

sementes sintéticas, cujas plântulas em estágios iniciais podem necessitar de suplementação nutricional para desenvolver-se adequadamente.

A versatilidade da vermiculita também está associada à sua facilidade de manuseio, transporte e armazenamento, o que a torna uma alternativa prática e eficiente em técnicas de propagação de plantas e no acondicionamento de sementes sintéticas antes da semeadura. Além disso, a combinação entre elevada retenção de água, boa aeração e suporte físico proporcionada por esse material cria um microambiente estável, favorecendo uma germinação mais uniforme e o desenvolvimento saudável das plântulas, contribuindo para a qualidade e a uniformidade das mudas produzidas (Hartmann *et al*., 2011)

3.5.2 Duplo encapsulamento

O duplo encapsulamento baseia-se na aplicação de duas camadas sucessivas de alginato de sódio ao redor do explante, estratégia que visa reforçar a proteção física e favorecer a manutenção de água e nutrientes durante a obtenção de sementes sintéticas. De modo funcional, a camada interna atua como matriz nutritiva, envolvendo o explante em um endosperma artificial, enquanto a camada externa confere maior resistência mecânica à cápsula, contribui para a retenção hídrica e minimiza a lixiviação de solutos essenciais, como carboidratos e reguladores vegetais, especialmente durante o armazenamento e o transporte (Reshi *et al*., 2025).

Embora a aplicação de uma segunda camada de alginato proporcione maior proteção física e auxilie no controle de contaminações, o uso de alginato de maior viscosidade pode retardar o crescimento inicial do embrião, possivelmente em função da maior rigidez da cápsula e da sua adesão ao tecido vegetal. Ainda que o duplo encapsulamento possa resultar em taxas de conversão inferiores quando comparado a outras estratégias, como a encapsulação-revestimento, essa técnica mostra-se essencial em situações que demandam maior proteção mecânica e melhor retenção de água e nutrientes, especialmente em processos de transporte comercial e conservação de sementes sintéticas por períodos prolongados (Standardi; Piccioni, 1998; West *et al*., 2006; Rai *et al*., 2009).

Estudos anteriores demonstraram que concentrações médias de 2% obteve o melhor resultado em parâmetros quando comparada a altas concentrações. Segundo (Dutra *et al.* 2024), a combinação de alginato de sódio a 2% com cloreto de cálcio se mostrou bastante

eficiente na germinação de sementes. Essa mistura não apenas resultou nos maiores índices de germinação e velocidade de germinação (GSI), como também favoreceu uma melhor sincronização do processo, aspectos fundamentais para o sucesso da semeadura direta e o desenvolvimento inicial das plântulas.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 LOCAL DO EXPERIMENTO

O experimento foi desenvolvido em câmara de germinação no laboratório de fisiologia vegetal da Universidade Federal da Fronteira Sul, campus Cerro Largo. Sendo coletado os frutos em Porto Xavier -RS e Cerro Largo - RS. O ambiente foi mantido sob condições controladas de temperatura e luz, assegurando um ambiente adequado para o desenvolvimento das sementes sintéticas e a condução das análises propostas.

4.2 IMPLANTAÇÃO E DELINEAMENTO DO EXPERIMENTO

O experimento foi realizado seguindo um delineamento inteiramente casualizado (DIC), formado por seis tratamentos e cinco repetições, tendo a vermiculita como substrato de germinação. Cada unidade experimental continha 12 sementes sintéticas de tangerina, totalizando 360 cápsulas contendo embriões.

O tratamento (Testemunha, T0) consistiu de sementes não encapsuladas. Para comparação direta com os demais tratamentos, essas sementes foram apenas separadas em dois subgrupos (com testa e sem testa), utilizados exclusivamente como referência fisiológica. Apesar da separação física, ambos compõem um único tratamento controle (Testemunha T0), mas não incluídos na ANOVA geral. Nos demais tratamentos, as sementes foram recobertas por duas camadas, uma cápsula interna, que variou conforme cada formulação testada, e uma cápsula externa, mantida igual em todos os casos. Essa cápsula externa foi padronizada em 2% de alginato de sódio e adição de carvão ativado 0,5g/100mL, utilizado por suas propriedades de adsorção e por contribuir para a estabilidade da estrutura do revestimento (Pasqual *et al*.,2001).

As diferenças entre os tratamentos ocorreram apenas na composição da cápsula interna, preparada com alginato de sódio em concentrações de 2,0% e 3,0%, combinadas com a presença ou ausência de 2% de sacarose, testada como reserva energética para auxiliar o embrião nas etapas iniciais da germinação. Em todas as formulações internas, foi adicionado

ácido ascórbico, com função antioxidante, atuando na proteção do embrião durante o encapsulamento e auxiliando na manutenção de sua viabilidade fisiológica na cápsula interna.

4.3 Produção das sementes sintéticas

O procedimento experimental teve início com a preparação das soluções para encapsulação das sementes. Nessa etapa, foram elaboradas diferentes formulações variando-se a concentração de alginato e adição ou não de sacarose.

As soluções de alginato foram preparadas para a formação das cápsulas interna e externa, sem ajuste de pH. A cápsula interna foi confeccionada com alginato a 2% e 3%, com e sem adição de 2% de sacarose, sendo acrescido Ácido ascórbico como antioxidante. Já a cápsula externa foi padronizada com alginato a 2% e 0,5 g/100 mL de carvão ativado, visando conferir resistência e proteção ao material encapsulado.

4.3.1 Desinfestação das sementes

As sementes foram extraídas dos frutos e submetidas à desinfestação inicial em álcool 70% por 60 segundos, seguidas de três lavagens com água destilada estéril e posterior imersão em hipoclorito de sódio a 1% por 10 minutos. Após a desinfestação, as sementes foram dispostas sobre papéis autoclavados para secagem, afim de evitar qualquer risco de contaminação. Todo o manuseio subsequente foi realizado em câmara de fluxo laminar, assegurando condições estéreis durante a remoção da testa das sementes, com bisturi e pinças para facilitar o manuseio.

4.3.2 Encapsulamento interno

As sementes desprovidas de testa foram imersas na solução de alginato interna, permanecendo em contato com o polímero durante 1 hora, em cada semente foi usado aproximadamente 40 a 60 microlitros (µL), formando a cápsula interna. O gotejamento da solução foi realizado com o auxílio de uma pipeta, mantendo-se uma altura aproximada de 2 cm entre a ponta da pipeta e a solução de cloreto de cálcio, garantindo a formação uniforme das pérolas. Em seguida, as cápsulas foram gelificadas em solução de cloreto de cálcio ($CaCl_2$) a 100 mM por 10 minutos, mantida a 20 °C. A solução de $CaCl_2$ foi renovada entre

as repetições para manter a eficiência da gelificação. Após esse processo, realizou-se a tríplice lavagem em água destilada estéril, deixando as cápsulas internas prontas para o encapsulamento externo.

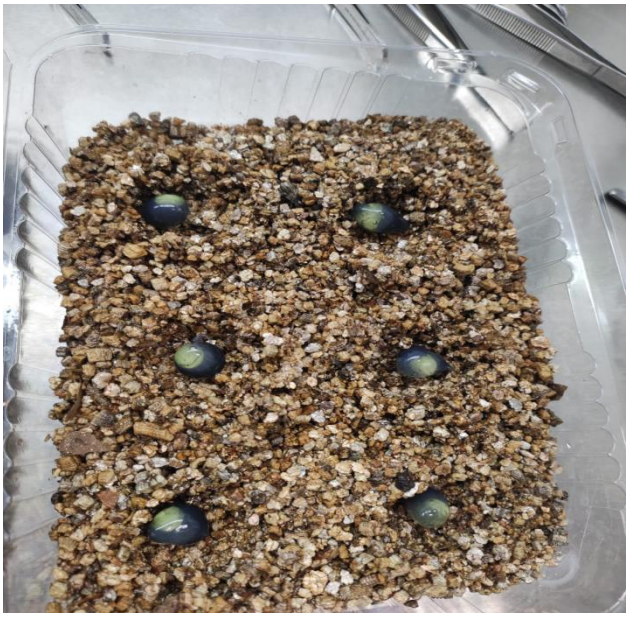
4.3.3 Encapsulamento externo

Cada cápsula interna foi imersa na solução de alginato destinada à formação da cápsula externa, agitada com agitador magnético até 40 graus e preparada com a adição de carvão ativado. Após a imersão, as cápsulas foram transferidas para a solução de cloreto de cálcio, onde permaneceram por 20 minutos para promover a gelificação e o endurecimento da cápsula externa. Concluída essa etapa, realizou-se a tríplice lavagem das cápsulas em água destilada estéril, assegurando a remoção de resíduos das soluções e reduzindo o risco de contaminações.

4.3.4 Implantação das cápsulas no substrato

Após o processo de encapsulamento, as cápsulas foram imediatamente depositadas na vermiculita, conforme a Figura 2, sob condições adequadas de temperatura e com 75 ml de água destilada por bandeja para manter a umidade.

Figura 2. Sementes encapsuladas prontas para germinação.



Fonte: Pelo autor, (2025).

4.4 Preparo dos substratos

Optou-se pela esterilização em autoclave devido à necessidade de eliminar contaminantes sem alterar a estrutura física expandida da vermiculita, o vapor penetra profundamente nos poros e partículas do substrato, empregado a destruição de micro-organismos, esporos e fungos. O substrato foi previamente esterilizado em autoclave a 120 °C por 20 min, a fim de eliminar possíveis microrganismos contaminantes. Após o processo de esterilização, o material foi manipulado sob condições assépticas em câmara de fluxo laminar, utilizando luvas, máscara e jaleco, garantindo a segurança do operador e integridade do material durante o preparo do substrato para a germinação das sementes sintéticas.

As cápsulas contendo os embriões zigóticos de *Citrus reticulata* Blanco foram posicionadas individualmente a aproximadamente 1 cm de profundidade, pois mantém a umidade, não impede troca gasosa, protege cápsula contra desidratação inicial. Durante o experimento, o substrato foi mantido constantemente úmido, com 75 ml por bandeja, sem excesso de água, e a bandeja recebeu vedação para manutenção do microambiente, assegurando condições favoráveis à germinação e ao desenvolvimento inicial das plântulas.

4.5 Condução do experimento

As bandejas contendo vermiculita esterilizada e as sementes sintéticas com embriões zigóticos foram acondicionadas em uma BOD, garantindo controle total das condições ambientais de germinação. A temperatura foi mantida em 25 graus, constante, com variação de ±2 °C, sob fotoperíodo de 16 horas de luz e 8 horas de escuro, durante um período total de 26 dias. Contudo, não houve evidência de efeito do fotoperíodo na germinação das sementes, que ocorre independentemente da luz, mas, após a emergência das plântulas, a exposição à luz favoreceu o desenvolvimento inicial da parte aérea e o crescimento do sistema radicular.

A irrigação foi realizada por volume aproximado de 75 ml por bandeja, ajustado conforme a necessidade de umidificação da vermiculita, evitando o encharcamento do substrato e prevenindo a deterioração das cápsulas. Esse manejo permitiu manter condições adequadas de umidade e temperatura, garantindo um ambiente favorável à germinação e ao desenvolvimento inicial dos embriões zigóticos de *Citrus reticulata* Blanco.

4.6 Avaliações

As avaliações foram realizadas diariamente após a instalação do experimento na BOD. A cada 24 horas registrou-se o número de sementes germinadas, considerando como germinação, a protrusão radicular mínima de 2 mm. Ao final do período experimental, as plântulas foram coletadas para determinação da massa verde e, posteriormente, mantidas em estufa a 60 °C por 48 horas para obtenção da massa seca.

O Tempo Médio de Germinação (TMG) foi calculado segundo Labouriau (1983), pela equação:

$$TMG = \Sigma (n_i \times t_i) / \Sigma n_i$$

em que n_i representa o número de sementes germinadas no dia i, t_i o tempo (em dias) correspondente a cada contagem, e Σn_i o total de sementes germinadas durante o período de avaliação.

O Índice de Velocidade de Germinação (IVG) foi determinado conforme Maguire (1962), pela expressão:

$$IVG = (G_1/N_1) + (G_2 - G_1)/N_2 + (G_3 - G_2)/N_3 + ... + (G_n - G_{n-1})/N_n$$

em que $G_1, G_2, G_3, ..., G_n$ representam o número acumulado de plântulas germinadas até cada dia de contagem e $N_1, N_2, ..., N_n$ o número de dias decorridos desde a semeadura até cada contagem.

Foram avaliados os seguintes parâmetros de desenvolvimento das plântulas: altura da parte aérea (cm), comprimento da raiz (cm) e massa seca da parte aérea e da raiz (g). Para a determinação da massa seca, as plântulas foram levadas à estufa até atingirem 48 horas, seguindo temperatura padronizada para secagem em 60°C.

As observações do experimento foram conduzidas de forma contínua ao longo do período após a semeadura. A taxa de germinação foi determinada com base no número de plântulas que emergiram por unidade experimental, considerando-se apenas aquelas totalmente emergidas. Aos 26 dias após a semeadura, foram avaliados os seguintes parâmetros de desenvolvimento das plântulas: altura da parte aérea(cm), comprimento da raiz(cm), peso massa verde(g) e peso massa seca da parte aérea e raiz, após secagem em estufa. A massa individual era insuficiente para pesagem precisa, sendo necessário o agrupamento por unidade experimental. a baixa biomassa individual das plantulas.

4.7 Análise estatística

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e, quando constatada significância estatística pelo teste de F ($p \leq 0,05$), as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade, utilizando-se o software estatístico SISVAR® (FERREIRA, 2019).

5 . RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 VELOCIDADE E TEMPO MÉDIO DE GERMINAÇÃO

A análise dos valores de índice de velocidade de germinação e tempo médio de germinação obtidos, permitem observar diferenças claras no comportamento germinativo, tanto quando comparadas a testemunha, quanto entre as próprias formulações encapsuladas (Tabela 1 e 2).

Tabela 1 Índice de velocidade de geminação e tempo médio de germinação para testemunha sem testa.

Dias	Sementes germinadas
4	15
5	24
6	20

Fonte: Elaborado pelo autor, (2025).

Tabela 2 Índice de velocidade de geminação e tempo médio de germinação para testemunha com testa.

Dias	Sementes germinadas
8	11
9	23
10	14
11	11

Fonte: Elaborado pelo autor, (2025).

A remoção da testa da semente favoreceu a germinação, resultando em menor tempo médio de germinação (TMG = 5,08 dias) e maior índice de velocidade de germinação (IVG =

11,88). Em contraste, sementes com testa apresentaram TMG de 9,42 dias e IVG de 6,33, o que indica atraso no início da germinação e menor uniformidade no surgimento de plântulas.

Esse padrão está em consonância com estudos realizados em outras espécies, nos quais a retirada da testa promoveu germinação mais rápida e sincronizada. A remoção da testa acelerou significativamente o processo germinativo em sementes de *Momordica charantia*, reduzindo o tempo até a emergência e aumentando a velocidade de germinação (Byregowda *et al.,* 2025). Em outra pesquisa, sementes de *Calophyllum brasiliense* sem testa germinaram mais prontamente do que as com testa, confirmando o papel da testa como barreira física e/ou fisiológica à entrada de água e à ativação metabólica do embrião (Silva e Santos, 2022). Portanto, os dados obtidos no presente estudo confirmam que a retirada da testa estabelece uma condição de vigor germinativo máximo, servindo como referência para a avaliação das sementes sintéticas obtidas via encapsulamento. Assim, mesmo que ambas as testemunhas tenham apresentado excelente desempenho, remoção da testa favoreceu nitidamente um início mais viroso com 25% das sementes germinadas no quarto dia (Figura 3).

Figura 3 Comparação das testemunhas com testa e sem testa durante a germinação.



Fonte: Autor, (2025).

Tabela 3 Índice de velocidade de geminação e tempo médio de germinação para tratamento 1 com alginato 2% sem sacarose.

Dias	Sementes germinadas
10	16
11	8
12	10
13	6

Fonte: Elaborado pelo autor, (2025).

Tabela 4 Índice de velocidade de geminação e tempo médio de germinação para tratamento 2 com alginato 2% com sacarose.

Dias	Sementes germinadas
8	15
9	14
10	15

Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

Nos tratamentos encapsulados, observou-se atraso germinativo em relação às testemunhas, efeito diretamente associado à presença da matriz de alginato. No tratamento T1, composto por alginato a 2% sem sacarose, o TMG de 11,15 dias e o IVG de 3,62 revelam uma germinação mais lenta e menos uniforme, reflexo da resistência mecânica imposta pela cápsula.

No tratamento 2, também com alginato a 2%, mas contendo sacarose na cápsula interna, houve melhora evidente: o TMG foi reduzido para 9 dias e o IVG aumentou para 4,93. A sacarose atuou como fonte de energia imediata e contribuiu para a manutenção do potencial hídrico no interior da cápsula, criando condições mais favoráveis ao início da atividade metabólica do embrião (Ferreira *et al*., 2002; Garcia *et al*., 2002). Essa combinação resultou em uma germinação mais rápida e vigorosa em comparação ao tratamento 1.

A interpretação conjunta desses dados indica que o comportamento germinativo observado está diretamente associado às características físicas da cápsula formada em cada tratamento, demonstrando que a concentração de 2% de alginato proporcionou o melhor balanço entre firmeza estrutural e permeabilidade, permitindo a difusão adequada de água e oxigênio, o que viabilizou a germinação nos tratamentos encapsulados. Em contraste, concentrações mais elevadas, como 3%, geram cápsulas excessivamente rígidas e com baixa porosidade, inviabilizando a emergência da radícula. A comparação entre sementes com e sem testa reforça que o tegumento atua como barreira mecânica adicional, retardando a embebição e reduzindo a velocidade de germinação, enquanto sua remoção favorece respostas mais rápidas e sincronizadas. Assim, fica evidente que o alginato a 2% foi a única concentração funcional para a formação de sementes sintéticas nas condições avaliadas.

Tabela 5 Índice de velocidade de geminação e tempo médio de germinação para tratamento 3 com alginato 3% sem sacarose.

Dias	Sementes germinadas
10	0
11	0
12	0

Fonte: Elaborado pelo autor, (2025).

Tabela 6 Índice de velocidade de geminação e tempo médio de germinação para tratamento 4 com alginato 3% com sacarose.

Dias	Sementes germinadas
10	0
11	0
12	0

Fonte: Elaborado pelo autor, (2025).

Os tratamentos 3 e 4, ambos produzidos com alginato 3%, não apresentaram germinação durante os 26 dias, independente da presença ou não de sacarose, podendo ser pela barreira física da cápsula ou até mesmo hipóxia, por causa do excesso de gel. As cápsulas mais espessas provavelmente comprometeram a permeabilidade, impedindo que a

água e o oxigênio atingissem o embrião em quantidade suficiente para permitir a retomada do metabolismo. Mesmo com a sacarose presente no tratamento 4, a barreira física não pode ser superada. A ausência completa da germinação reforça que, concentrações mais elevadas de alginato podem formar cápsulas densas e rígidas demais, inviabilizando totalmente a emergência.

Figura 4 A barreira física do alginato limitou a saída do embrião da cápsula.



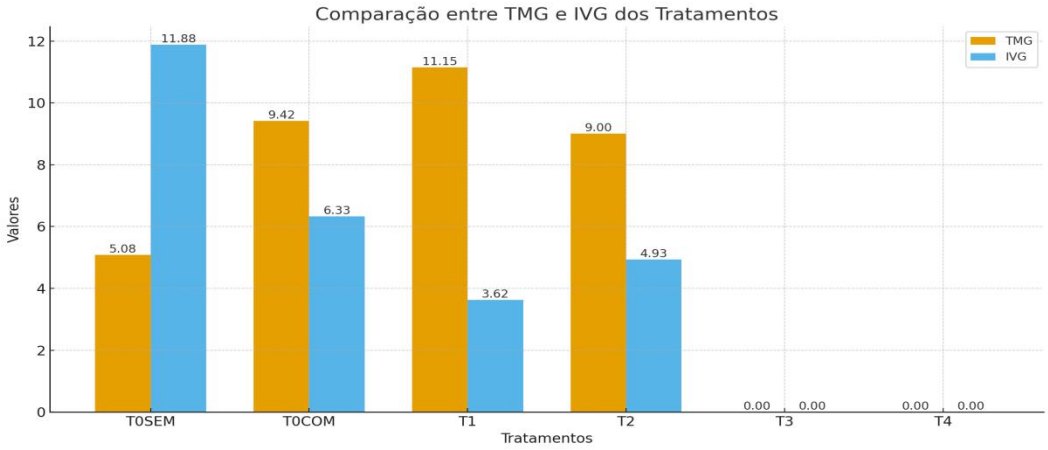
Fonte: autor, (2025).

Tabela 7 Valores dos cálculos de índice de velocidade de germinação e tempo médio de germinação.

Tratamento	Descrição	IVG	TMG (Dias)
Testemunha sem testa	Sem encapsulamento	11,88	5,08
Testemunha com testa	Sem encapsulamento	6,33	9,42
Tratamento 1	Alginato 2% sem sacarose	3,62	11,15
Tratamento 2	Alginato 2% com sacarose 2%	4,93	9,00
Tratamento 3	Alginato 3% sem sacarose	0	0
Tratamento 4	Alginato 3% com 2% sacarose	0	0

Fonte: Elaborado pelo autor, (2025).

Gráfico 1 Diferença do índice de velocidade de germinação e tempo médio de germinação nos tratamentos.



Fonte: Elaborado pelo autor, (2025).

A comparação entre o TMG e IVG mostra, de forma clara, como cada tratamento influenciou o ritmo e a qualidade da germinação (gráfico 1). Nota-se que T0 sem testa apresentou o resultado mais favorável, germinou mais rápido e de maneira mais uniforme. Com o seu TMG de 5,08 dias e com o maior IVG entre todos os tratamentos, fica evidente que a remoção da testa facilita a entrada de água e oxigênio, permitindo que, a germinação aconteça sem grandes impedimentos.

Quando a testa foi mantida, no T0com, esse processo ficou mais lento, quase dobrando o TMG e o IVG caindo pela metade, mostrando que o tegumento realmente funciona como uma barreira física que retarda a emergência da radícula e compromete a velocidade do processo.

Nos tratamentos com cápsulas, o comportamento ficou claro, em T1 aonde a semente foi encapsulada com alginato 2% sem sacarose, a germinação ocorreu, mas de forma mais lenta e pouco vigorosa. O TMG mais alto e o IVG baixo, indicam que, apesar dessa concentração formar cápsulas estáveis, a ausência de uma fonte de energia interna dificulta o rompimento da matriz de alginato e o desenvolvimento inicial da plântula.

No tratamento T2 que recebeu a sacarose juntamente com o alginato 2%, mostrou uma melhoria nítida. O TMG foi reduzido e o IVG apresentou um aumento considerável. Deixando claro que a sacarose cumpre um papel essencial dentro da cápsula, funcionando

como fonte de energia que ajuda a semente a romper o gel e iniciar o crescimento com mais força e regularidade.

Por outro lado, os tratamentos 3 e 4, encapsulados com alginato 3%, não apresentaram qualquer germinação no longo dos 26 dias. Isso reforça que a concentração mais alta torna a cápsula rígida demais, dificultando tanto a entrada de água quanto a troca gasosa, fatores indispensáveis para que a germinação aconteça.

5.2 Comprimento de raiz e parte aérea das plântulas.

A análise estatística evidenciou que os tratamentos influenciaram significativamente a germinação e o desenvolvimento inicial dos embriões zigóticos. Em todas as variáveis avaliadas, os valores de p-valor foram inferiores a 0,05, indicando diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos. Entretanto, a determinação de quais grupos diferiram entre si só foi possível por meio do teste de Tukey, que permitiu uma comparação mais detalhada das médias. Ressalta-se que os frutos de tangerina utilizados foram coletados em dois locais distintos devido à baixa disponibilidade de material, fato que foi considerado no planejamento experimental e na interpretação dos resultados. Entretanto, a identificação de quais grupos diferiram entre si só foi possível por meio do Teste de Tukey, que permitiu uma avaliação detalhada das médias (Tabela 7, 9 e 11).

Tabela 8. Análise de variância do comprimento de raiz, sem testa.

FV	GL	SQ	QM	F	P-VALOR
Tratamento	4	19051.009201	4762.752300	68.406	0.0000
Erro	296	20608.853677	69.624506		
Total	300	39659.862878			

* significativo ao nível de 5% de probabilidade (.01 =< p < .05)

Cv = 93.72

Média geral: 8.9033223

Fonte: elaborado pelo autor, (2025).

Tabela 9. Teste de tukey para tratamento do comprimento de raiz, sem testa.

Tratamento	Médias	Resultado do teste
T3 alginato 3% sem sacarose	0.000000	D
T4 alginato 3% com 2% de sacarose	0.000000	D
T2 alginato 2% com 2% de sacarose	10.092667	C
T1 alginato 2% sem sacarose	14.4846000	B
Testemunha sem testa	20.087833	A*

* As médias seguidas pelo mesmo número não diferem estatisticamente entre sí, ao nivel de 5% de probabilidade teste de tukey.

Fonte: elaborado pelo autor (2025).

Tabela 10. Análise de variância do comprimento da parte aérea, sem testa.

FV	GL	SQ	QM	F	P-VALOR
Tratamento	4	39532.050009	9883.12502	117.124	0.0000
Erro	296	24976.676172	84.380663		
Total	300	64508.726181			

* significativo ao nível de 5% de probabilidade (.01 =< p < .05)

Cv(%) = 76.12

Média geral: 12.0675415

Fonte: Elaborado pelo autor, (2025).

Tabela 11. Teste de tukey para tratamento do comprimento da parte aérea, sem testa.

Tratamento	Médias	Resultado do teste
T3 alginato 3% sem sacarose	0.000000	C
T4 alginato 3% com 2% de sacarose	0.000000	C
T1 alginato 2% sem sacarose	14.234667	B
T2 alginato 2% com 2% de sacarose	15.577167	B
Testemunha sem testa	30.727000	A*

* As médias seguidas pelo mesmo número não diferem estatisticamente entre sí, ao nivel de 5% de probabilidade teste de tukey.

Fonte: Elaborado pelo autor, (2025).

Nas sementes sem testa, a testemunha apresentou os maiores comprimentos de raiz e parte aérea, sendo estatisticamente superior aos demais tratamentos (números diferentes no Tukey). Entre os tratamentos encapsulados, o tratamento 1 (alginato 2%) apresentou médias estatisticamente superiores ao tratamento 2 (alginato 2% + sacarose) no comprimento de raiz e parte aérea, indicando maior crescimento final. O tratamento 2, por sua vez, apresentou menor tempo médio de germinação (TMG), evidenciando que iniciou a germinação mais rapidamente, mas não alcançou a mesma extensão de crescimento que T1. Os tratamentos com 3% de alginato (tratamento 3 e 4) não apresentaram germinação em nenhuma repetição. Como não houve crescimento, sua interpretação foi conduzida de forma qualitativa. Observou-se que a elevada concentração de alginato resultou em uma matriz excessivamente rígida, dificultando a emergência da radícula e impedindo o início do desenvolvimento do embrião. Nessa condição, o gel torna-se mais denso e menos permeável, reduzindo a entrada de água necessária à embebição e limitando a difusão de oxigênio para o interior da cápsula. Esse ambiente, marcado por baixa hidratação e hipóxia, compromete a respiração celular e inviabiliza a ativação metabólica essencial para o processo germinativo (Rai *et al.*, 2009; Guerra *et al*., 1999).

A cápsula deve ser firme o bastante para permitir o manuseio das unidades encapsuladas sem causar danos, mas ao mesmo tempo precisa manter fragilidade suficiente para que o embrião consiga romper a matriz e emergir naturalmente durante a germinação. A maior concentração do alginato torna a cápsula mais rígida e menos permeável, impedindo a expansão do embrião e a emergência da radícula. No entanto é importante ressaltar que os valores zeros obtidos, aumentam a variabilidade da ANOVA e são entendidos não como uma

diferença real entre os tratamentos, mas sim como um sinal claro que o embrião não conseguiu vencer a barreira física da capsula. Essa condição explica o andamento nulo desses dois tratamentos e sua permanência no grupo inferior

Tabela 12. Análise de variância do comprimento de raiz, com testa.

FV	GL	SQ	QM	F	P-VALOR
Tratamento	4	17457.102957	4364.275739	59.958	0.0000
Erro	296	21372.610997	72.788512		
Total	300	38929.713955			

* significativo ao nível de 5% de probabilidade (.01 =< p < .05)

CV(%) = 98.76

Média geral: 8.6385333

Fonte: Elaborado pelo autor, (2025).

Tabela 13. Teste de tukey para tratamento do comprimento de raiz, com testa.

Tratamento	Médias	Resultado do teste
T3 alginato 3% sem sacarose	0.000000	D
T4 alginato 3% com 2% de sacarose	0.000000	D
T2 alginato 2% com 2% de sacarose	10.092667	C
T1 alginato 2% sem sacarose	14.484500	B
Testemunha com testa	18.931017	A*

* As médias seguidas pelo mesmo número não diferem estatisticamente entre sí, ao nivel de 5% de probabilidade teste de tukey.

Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

A análise de variância apresentada na (Tabela 11) evidenciou que houve diferença significativa entre os tratamentos para o comprimento de raiz no grupo “com testa”, indicando que os diferentes tipos de encapsulamento influenciaram diretamente o desenvolvimento radicular dos embriões de *C. reticulata*. Apesar da significância estatística, o coeficiente de variação foi extremamente elevado (CV = 98,76%), o que reflete a grande heterogeneidade no desenvolvimento das plântulas, especialmente entre os tratamentos que

utilizavam cápsulas de alginato. Essa variabilidade é facilmente explicada pela natureza física das cápsulas, que interferem de forma diferente na difusão de água e oxigênio, resultando em emergências irregulares.

A partir do teste de Tukey (Tabela 12), observou-se que o tratamento T0com se destacou com o maior comprimento radicular, formando um grupo estatisticamente superior aos demais. Uma vez que testemunha com testa corresponde à semente natural com testa e sem encapsulamento, não enfrentando as barreiras mecânicas impostas pelas cápsulas de alginato utilizadas nos demais tratamentos. Mesmo com a presença da testa, a permeabilidade natural do tegumento permitiu condições adequadas para a hidratação do embrião e o posterior alongamento da radícula. De acordo com a (Tabela 12) o tratamento 2 com sacarose teve variância menor no comprimento de raiz, por outro lado (Tabela 14), as mesmas cresceram mais rápido em relação ao tratamento 1, tendo uma média de altura mais elevada

Tabela 14 Analise de variância do comprimento de parte aérea, com testa.

FV	GL	SQ	QM	F	P-VALOR
Tratamento	4	37.389.964165	9347.491041	117.022	0.0000
Erro	296	23564.099769	79.878304		
Total	300	60954.063935			

* significativo ao nível de 5% de probabilidade (.01 =< p < .05)

CV(%) = 75.47

Média geral: 11.8428667

Fonte: Elaborado pelo autor, (2025).

Tabela 15 Teste de tukey para tratamento do comprimento de parte aérea, com testa.

Tratamento	Médias	Resultado do teste
T3 alginato 3% sem sacarose	0.000000	C
T4 alginato 3% com 2% de sacarose	0.000000	C
T1 alginato 2% sem sacarose	14.234667	B
T2 alginato 2% com 2% de sacarose	15.577167	B
Testemunha com testa	29.900847	A*

* As médias seguidas pelo mesmo número não diferem estatisticamente entre sí, ao nivel de 5% de probabilidade teste de tukey.

Fonte: Elaborado pelo autor, (2025).

Ao analisar as sementes com testa, foi possível observar que o tratamento T0 com que representa a semente natural íntegra, sem qualquer encapsulamento apresentou o melhor desempenho entre todos os tratamentos avaliados.

Nas Tabelas 11 e 13, a ANOVA indicou diferença significativa entre os tratamentos para o comprimento de raiz e da parte aérea. No entanto, assim como visto anteriormente, os coeficientes de variação foram muito elevados, refletindo a grande heterogeneidade entre as plântulas encapsuladas. Em sistemas de encapsulamento, essa variabilidade geralmente reflete diferenças individuais no momento de ativação metabólica, na capacidade de absorção de água e oxigênio e na resistência mecânica encontrada pelo embrião ao atravessar a matriz de alginato. Quando essa discrepância entre indivíduos é grande, alguns embriões conseguem iniciar a germinação rapidamente, enquanto outros permanecem mais tempo em dormência metabólica ou enfrentam maior dificuldade de extrusão da radícula. Mesmo diante dessa variabilidade, o Teste de Tukey confirmou que a testemunha com testa formou o grupo superior, destacando-se nitidamente em relação aos demais tratamentos (Tabelas 12 e 14).

Nos tratamentos 1 e 2, embora apresentam diferenças numéricas, o teste de tukey agrupou ambos no mesmo número A2, indicando que estatisticamente não diferem entre sí ao nível de 5% de probabilidade.

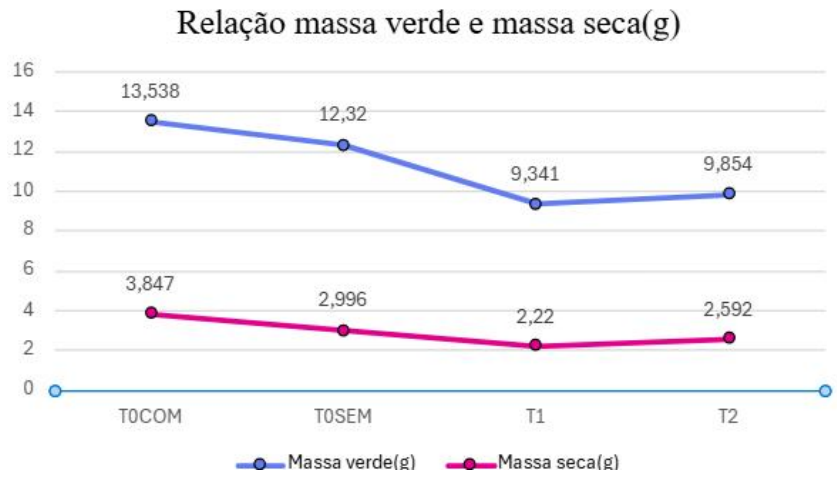
Os tratamentos com 3% de alginato, apresentaram desempenho drasticamente inferior numericamente, com ausência total de germinação tanto em tratamento 3 quanto no tratamento 4. Devido a esse desempenho nulo, foram analisados apenas qualitativamente, destacando que a concentração mais elevada de alginato resulta em cápsulas volumosas, densas e rígidas, com baixíssima difusão de água e oxigênio. Além disso, essa cápsula interna ainda foi recoberta por uma cápsula externa com carvão ativado o que ampliou ainda mais a barreira física e limitou completamente a ativação metabólica do embrião. O sucesso do encapsulamento depende de fatores como a viscosidade do alginato, a concentração e o tempo em que este é exposto ao cloreto de cálcio. A reação de complexação inicia assim que o alginato de sódio entra em contato com cátions di e trivalentes, resultando na formação das cápsulas de alginato de cálcio. A rigidez das cápsulas é um aspecto relevante, pois quando muito elevada, pode impedir ou dificultar o desenvolvimento do explante em plântula (Guerra *et al*., 1999).

Mesmo o tratamento 4, que continha sacarose, não apresentou qualquer germinação. Isso demonstra que, na prática, a sacarose ficou isolada dentro da cápsula, sem capacidade de exercer seu efeito fisiológico sobre o embrião devido à barreira mecânica extrema.

5.3 Análise de massa verde e massa seca de plântulas

Apesar da testemunha com testa apresentar valor intermediário devido à inclusão da massa da testa, os demais tratamentos mostram um padrão descritivo coerente: os grupos que germinaram mais cedo, como a testemunha sem testa e os encapsulados com 2% de alginato, apresentaram maior acúmulo de biomassa verde e seca ao final do experimento. Já os tratamentos encapsulados com 3% de alginato não registraram qualquer crescimento, uma vez que não houve germinação no período de 26 dias. Essa tendência é biologicamente consistente, pois plântulas que emergem mais rapidamente iniciam mais cedo os processos de alongamento, fotossíntese e absorção de água, resultando em maior crescimento inicial. No entanto, como não foi realizada análise estatística, esses resultados devem ser interpretados como tendências biológicas e não como diferenças estatisticamente comprovadas entre os tratamentos.

Grafico 2. Comparação de Massa Verde e Massa Seca (g) em Diferentes Tratamentos



Fonte: Autor, (2025).

Ao analisar o Gráfico 2, observa-se que a testemunha com testa (T0COM) apresentou os maiores valores de massa verde e seca. No entanto, esse aumento está diretamente relacionado ao peso da própria testa incluído na pesagem, e não a um desenvolvimento real

da plântula. Por isso, os valores mais altos refletem apenas material adicional e não maior crescimento vegetativo.

A testemunha sem testa (T0SEM) exibiu valores menores de massa total, mas esse resultado está relacionado apenas à ausência da testa. Mesmo com valores numericamente menores, o T0SEM demonstrou maior desenvolvimento das plântulas, indicando uma tendência de melhor desempenho fisiológico em comparação a testemunha com testa.

Nos tratamentos encapsulados (T1 e T2), os valores foram menores e relativamente próximos entre si, sugerindo que o encapsulamento pode ter limitado o crescimento inicial devido à barreira física do alginato ou à menor difusão de água e oxigênio. Observou-se que o T2 apresentou valores numericamente maiores que o T1, indicando uma possível tendência de melhor desenvolvimento quando a sacarose está presente. Entretanto, na ausência de análise estatística, essa diferença deve ser interpretada com cautela.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A avaliação do duplo encapsulamento de embriões zigóticos de *Citrus reticulata* Blanco com diferentes concentrações de alginato de sódio permitiu identificar limites e potencialidades da técnica na produção de sementes sintéticas. A ausência de germinação nas formulações com 3% de alginato indica que a elevada rigidez da matriz compromete a emergência do embrião. Em contraste, a concentração de 2% favoreceu a germinação e o desenvolvimento inicial das plântulas, apresentando melhor desempenho fisiológico nas condições testadas.

A remoção da testa reduziu o tempo médio e aumentou a velocidade de germinação, evidenciando seu efeito inibitório sobre a protrusão radicular. A adição de sacarose antecipou o início da germinação, embora não tenha promovido ganho significativo no crescimento das plântulas quando associada às cápsulas mais rígidas.

Diante desses resultados, a formulação com 2% de alginato, especialmente quando suplementada com sacarose, demonstrou ser a mais eficiente para o encapsulamento interno de embriões de tangerina. Investigações futuras devem considerar o uso de modificadores de textura, ajustes na formulação da cápsula externa e aplicação de tratamentos pré-germinativos, com foco na redução das barreiras físicas à emergência e no aprimoramento da tecnologia de sementes sintéticas.

REFERÊNCIAS

AHMAD, Z.; SHAHZAD, A.; SHARMA, S.; PARVEEN, S. Ex vitro rescue, physiochemical evaluation, secondary metabolite production and assessment of genetic stability using DNA-based molecular markers in regenerated plants of *Decalepis salicifolia* (Bedd. ex Hook.f.) Venter. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, v. 132, p. 497–510, 2018. DOI: 10.1007/s11240-017-1345-x.

ALVES, R. E. Adubando para alta produtividade e qualidade fruteiras tropicais do Brasil. Fortaleza-CE: A.E. Johnston, 2009.

ARBONA, V. et al. Hydrogel substrate amendment alleviates drought effects on young citrus. *Plant and Soil*, v. 270, n. 1, p. 73–82, 2005.

ATTIA, A. O.; ISMALI, I. A.; EL DESSOKY, D. S.; ALOTAIBI, S. S. Synthetic seeds as in vitro conservation method for Al-Taif rose plant (*Rosa damascena trigintipetala* Dieck). *Bioscience Research*, v. 15, p. 1113–1119, 2018.

AZEVEDO, T. L. F.; BERTONHA, A.; GONÇALVES, A. C. A. Uso de hidrogel na agricultura. *Revista do Programa de Ciências Agroambientais*, v. 1, n. 1, p. 23–31, 2002.

BARBOTIN, J. N. et al. Immobilization of whole cells and somatic embryos: coating process and cell-matrix interaction. In: REDENBAUGH, K. (Ed.). *Synseeds: Applications of Synthetic Seeds to Crop Improvement*. Boca Raton: CRC Press, 1993. p. 65–103.

BLACK, M.; PRITCHARD, H. W. *Desiccation and survival in plants: drying without dying.* New Phytologist, 2002.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. *Regras para análise de sementes.* Brasília: SNDA/DNDV/CLAV, 1992.

BYREGOWDA, M. et al. Effect of seed coat removal on germination and seedling growth in *Momordica charantia* L. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, v. 14, n. 4, p. 451–457, 2025.

CARRIJO, O. A.; LIZ, R. S.; MAKISHIMA, N. Fibra da casca do coco verde como substrato agrícola. *Horticultura Brasileira*, v. 20, p. 533–535, 2002.

CECCON, G. et al. *(você citou Ceccon no texto mas não havia colocado na lista; se quiser, adiciono corretamente!)*

CHARLO, H. C. D. O. et al. Aspectos morfológicos, germinação e desenvolvimento inicial de plântulas de *Archontophoenix alexandrae* (F. Mueller) H. Wendl. e Drude (Arecaceae) em diferentes substratos. *Revista Árvore*, v. 30, n. 6, p. 933–940, 2006.

COSTANZO, G. et al. Antioxidant properties of pulp, peel and seeds of Phlegrean mandarin (*Citrus reticulata* Blanco) at different stages of ripening. *Antioxidants*, v. 11, n. 2, p. 187, 2022. DOI: 10.3390/antiox11020187.

CUI, Z. et al. Sodium alginate-functionalized nanodiamonds as sustained chemotherapeutic drug release vectors. *Carbon*, v. 97, p. 78–86, 2016.

DANTAS, B. F. et al. Seeds technologies: performance of sodium alginate and calcium chloride as seed coating. *ResearchGate*, 2024. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/387172897. Acesso em: 1 dez. 2025.

DUTRA, F. B. et al. Seeds technologies: performance of sodium alginate and calcium chloride as seed coating. *Acta Biológica Catarinense*, v. 11, n. 4, p. 34–43, 2024. Disponível em: https://periodicos.univille.br/ABC/article/view/2390/1895. Acesso em: 30 nov. 2025.

FERREIRA, D. F. SISVAR: um sistema computacional de análise estatística. *Ciência e Agrotecnologia*, v. 35, n. 6, p. 1039–1042, 2011.

FERREIRA, M. G. R. et al. Resposta de eixos embrionários de cupuaçu... *Revista Brasileira de Fruticultura*, v. 24, p. 246–248, 2002.

FIGLIOLIA, M. B.; OLIVEIRA, E. C.; PIÑA-RODRIGUES, F. C. M. Análise de sementes. In: AGUIAR, I. B.; PIÑA-RODRIGUES, F. C. M.; FIGLIOLIA, M. B. (Ed.). *Sementes florestais tropicais.* Brasília: ABRATES, 1993. p. 137–174.

FISCHER, W. et al. Accumulation of storage materials… *Botanica Acta*, v. 101, p. 344–354, 1988.

FRIDBORG, G.; ERIKSSON, T.; WIDÉN, E. The effect of activated charcoal on growth and morphogenesis… *Physiologia Plantarum*, v. 43, p. 104–114, 1978.

FRIDBORG, G. et al. The effect of activated charcoal on tissue cultures… *Physiologia Plantarum*, v. 43, p. 104–106, 1978.

GARCIA, J. L. et al. Influence of carbon source… *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, v. 69, p. 95–100, 2002.

HARTMANN, H. T.; KESTER, D. E.; DAVIES, F. T.; GENEVE, R. L. *Plant propagation: principles and practices.* 8. ed. New Jersey: Pearson, 2013. Disponível em: https://www.pearson.com/en-us/subject-catalog/p/hartmann--kesters-plant-propagation-principles-and-practices/P200000000940/9780134483672

IBGE. Produção de tangerina no Brasil, 2024. Disponível em: https://www.ibge.gov.br/. Acesso em: 27 out. 2025.

IBRAHIM, A. K. Chemistry of mandarin *Citrus reticulata*. *Egyptian Journal of Chemistry*, v. 67, n. 4, p. 57–65, 2024.

KHAN, A. A. et al. Seed storage behaviour of tropical fruit trees… *Seed Science Research*, 2002.

LORENZI, H.; BACHER, B. L.; LACERDA, M. T. C.; SARTORI, S. F. *Frutas brasileiras e exóticas cultivadas.* São Paulo: Instituto Plantarum, 2006.

MONDO, V. H. V.; CICERO, S. M. Aspectos sobre a tecnologia de sementes sintéticas. *Informativo ABRATES*, v. 18, n. 1–3, p. 23–29, 2008.

MUNEMASA, S. et al. Mechanisms of abscisic acid-mediated control… *Current Opinion in Plant Biology*, v. 28, p. 154–162, 2015.

MUNIZ, A. V. C. S. *Banco ativo de germoplasma do jenipapo.* Aracaju: Embrapa, 2017.

MUSARA, C. Review of the nutritional… *F1000Research*, v. 9, p. 1387, 2020.

OLIVEIRA, R. P.; SCIVITTARO, W. B. *Cultivo de citros sem sementes.* Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2011.

PAN, M.-J.; VAN STADEN, J. The use of charcoal in in vitro culture — A review. *Plant Growth Regulation*, v. 26, p. 155–163, 1998.

PAIVA, J. R. et al. Clones de aceroleira… 2003. Disponível em: https://www.embrapa.br/. Acesso em: 11 abr. 2025.

PASQUAL, M.; RAMOS, J. D.; DUTRA, L. F. Aplicações no melhoramento genético de plantas. Lavras: UFLA, 2001.

POPINIGIS, F. *Fisiologia da semente.* Brasília: Agiplan, 1985.

RAI, M. K. et al. A tecnologia de encapsulamento… *Biotechnology Advances*, v. 27, p. 671–679, 2009. DOI: 10.1016/j.biotechadv.2009.04.025.

REDENBAUGH, K.; NICHOL, J.; KOSSLER, M. E.; PAASCH, B. Encapsulation of somatic embryos… *In Vitro Cellular and Developmental Biology*, v. 20, p. 256, 1984.

REDENBAUGH, K. et al. Encapsulation of somatic embryos… *Bio/Technology*, v. 2, p. 39–44, 1984.

RESHI, Z. A.; et al**.** Double-layered synthetic seeds: enhanced structural integrity and nutrient retention through additional alginate layers. *Plants*, v. 11, n. 5, p. 486, 2025. Disponível em: https://www.mdpi.com/2311-7524/11/5/486

RITZINGER, R.; RITZINGER, C. H. S. P. *Acerola.* Belo Horizonte: Informe Agropecuário, 2011.

SALAZAR-MONTOYA, O. et al. Evaluation of anti-browning treatments… *Plants*, v. 10, n. 12, p. 1265, 2024. Disponível em: https://www.mdpi.com/2311-7524/10/12/1265.

SEBRAE. Cultivo e mercado da tangerina. 2025.

SILVA, R. F.; SANTOS, A. L. Efeito da escarificação mecânica… *Revista Brasileira de Sementes*, v. 44, e202244005, 2022.

SIMÃO, S. Cereja das Antilhas. In: SIMÃO, S. (Org.). *Manual de fruticultura.* São Paulo: Ceres, 1971. p. 477–485.

SOUZA, C. L. et al. Embriogênese somática e sementes sintéticas. VII Semana de Ciência e Tecnologia, IFMG, 2014.

STANDARDI, A.; PICCIONI, E. Recent perspectives… *International Journal of Plant Sciences*, v. 159, p. 968–978, 1998.

WEN, Z. et al. Storage behaviour of citrus seeds… *Seed Science and Technology*, 2010.

WEST, T. P.; RAVINDRA, M. B.; PREECE, J. E. Encapsulation, cold storage and growth… *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, v. 87, n. 3, p. 223–231, 2006. DOI: 10.1007/s11240-006-9155-6.

YANG, J. et al. Anti-inflammatory effects of essential oils… *Molecules*, v. 28, n. 12, p. 4801, 2023. DOI: 10.3390/molecules28124801.