

**UNIVERSIDADE DO ESTADO DE MATO GROSSO  
CAMPUS UNIVERSITÁRIO DE CÁCERES JANE VANINI  
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E BIOLÓGICAS - FACAB  
CURSO DE AGRONOMIA**

**RAPHAEL EGUES RANZANI**

**INFLUÊNCIA DO TEOR DE ÁGUA NA QUALIDADE  
FISIOLÓGICA E CRIOPRESERVAÇÃO DE SEMENTES DE  
*Passiflora suberosa* L.**

**CÁCERES-MT  
2015**

**RAPHAEL EGUES RANZANI**

**INFLUÊNCIA DO TEOR DE ÁGUA NA QUALIDADE FISIOLÓGICA E  
CRIOPRESERVAÇÃO DE SEMENTES DE *Passiflora suberosa* L.**

Monografia apresentada como requisito obrigatório para obtenção do título de Engenheiro Agrônomo a Universidade do Estado de Mato Grosso – Campus Cáceres.

**Orientador**

**Prof. Dr. Petterson Baptista da Luz**

**Coorientador**

**Prof. Dr. Severino de Paiva Sobrinho**

**CÁCERES-MT  
2015**

**RAPHAEL EGUES RANZANI**

**INFLUÊNCIA DO TEOR DE ÁGUA NA QUALIDADE FISIOLÓGICA E  
CRIOPRESERVAÇÃO DE SEMENTES DE *Passiflora suberosa* L.**

Esta monografia foi julgada e aprovada como requisito para obtenção do Diploma de Engenheiro Agrônomo no Curso de Agronomia da Universidade do Estado de Mato Grosso – UNEMAT.

Cáceres, 06 de Julho de 2015.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof. Dr<sup>a</sup>. Daniela Soares Alves Caldeira – (UNEMAT)

---

Prof. Dr<sup>a</sup>. Andréa dos Santos Oliveira – (UNEMAT)

---

Prof. Dr. Petterson Baptista da Luz - (UNEMAT)  
Orientador

---

Prof. Dr. Severino de Paiva Sobrinho - (UNEMAT)  
Coorientador

Ao Deus, meu Senhor;

A minha avó Anatalia e a minhas mães Renilza e Renilce (*in memoriam*);

A minha noiva Keila;

A todos os meus familiares;

Aos professores Petterson e Severino.

**DEDICO**

## AGRADECIMENTOS

Ao Deus todo poderoso que renovou todos os dias a minha fé no nome de Jesus, e me proporcionou sabedoria durante esta caminhada.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e Fundação de Amparo e Pesquisa do Estado de Mato Grosso, pelas concessões das bolsas de estudo.

A Universidade do Estado de Mato Grosso, pela oportunidade da realização do curso.

Ao meu amigo e orientador, Petterson Baptista da Luz, que acreditou em mim desde o primeiro semestre como seu bolsista e me incentivou a buscar novos conhecimentos além da sala de aula, contribuindo assim para o meu desenvolvimento acadêmico. Obrigado professor por ser um excelente orientador! Hoje eu posso dizer que estou pronto para um mestrado. Que Deus abençoe você e sua família infinitamente.

A minha avó Anatalia Leite Egues, minha mãe de coração Renilza Egues Almeida, a minha mãe biológica Renilce Egues Ranzani (*in memoriam*), e aos meus tios e tias, que sempre estiveram ao meu lado, apesar das dificuldades e acreditaram no meu potencial, além de lutarem em meu favor para que pudesse concluir este curso. Obrigado Família!

A minha noiva e futura esposa Keila Regina Santiago, pela companhia e força nos momentos finais. Sua presença foi de extrema importância, estar ao seu lado fez toda a diferença. Obrigado meu amor!

Ao meu coorientador, Prof. Severino de Paiva Sobrinho, pelas brincadeiras e piadas que em momentos de correria faziam toda a diferença para continuarmos firmes nos estudos. A Prof.<sup>a</sup> Daniela Caldeira por também me proporcionar momentos alegres e a Prof.<sup>a</sup> Andréa que recém-chegada e já cativou a simpatia de todos.

Aos meus amigos parceiros que sempre estiveram presentes nas brincadeiras e zoações, Thalita Marostega, Thallita Guimarães, Guilherme Koch, Thaysa Gomes, Alisson Braga, Lucas Lente, Renan Tomaz, Guilherme Santana. Obrigado pela amizade. Passamos por tantos trabalhos juntos várias madrugadas de estudos e tantos momentos de risadas nas rodas de tererés que não poderia deixar de agradecer-los.

“O temor do Senhor é o princípio da sabedoria, têm bom entendimento todos os que cumprem os seus preceitos, o seu louvor subsiste para sempre.”

(Sl-111:10)

## RESUMO

O Brasil é um dos centros de diversidade do gênero *Passiflora* e por isso, possui um grande potencial para a utilização dos recursos genéticos de maracujá na área agrônômica. Existem cerca de 500 espécies, das quais aproximadamente 150 ocorrem no país e 70 produzem frutos comestíveis. O potencial do maracujá não está somente ligado ao fruto, mais também a flor que agrega um valor ornamental a cultura. O valor ornamental das passifloras é atribuído especialmente à exuberância das flores, com suas formas, cores e tamanhos diversificados. O Brasil apesar de ser considerado o principal centro de diversidade de *Passiflora*, usa pouco dessas espécies para fins ornamentais. Entre as espécies de *Passiflora* que apresentam potencial ornamental destaca-se *Passiflora suberosa* L. que ocorre em regiões de cerrados, de florestas pluviais montanhosas, submontanhosas e de restingas. O objetivo com este presente trabalho é avaliar a influência do teor de água na qualidade fisiológica em sementes de *Passiflora Suberosa*, visando o potencial ornamental, a fim de adquirir a melhor forma de disseminação desta espécie. A pesquisa foi realizada no laboratório de Sementes e Plantas Ornamentais do *Campus* Universitário de Cáceres – MT da Universidade do Estado de Mato Grosso – UNEMAT, as sementes foram obtidas do campo experimental localizado na área adjacente ao *campus*, localizado a 16°11'42" de latitude Sul e 57°40'51" de longitude Oeste, temperatura média anual de 26,24°C, precipitação total anual de 1.333 mm e altitude de 118m. Para obtenção de amostras com diferentes teores de água, as sementes foram submetidas ao processo de hidratação ou secagem. Foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado, com quatro tratamentos (6%, 8%, 10% e 12% b.u) e 8 repetições de 25 sementes cada. As amostras foram depositadas em embalagens de alumínio, sendo posteriormente armazenadas em um tanque de nitrogênio líquido (-196 °C) por um período de 120 horas. Nesse ensaio, foram utilizados 4 tratamentos com 5 repetições de 50 sementes. Os dados foram submetidos à análise de variância através do teste F, sendo que as médias foram comparadas pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade utilizando o programa computacional Sistema para Análise de Variância. O teor de umidade de 6 a 12% das sementes de *P. suberosa*, não influenciou a qualidade fisiológica. As sementes dessa espécie têm potencial para serem criopreservadas, porém a utilização de crioprotetores é de extrema importância para o armazenamento, contudo, novos estudos devem ser realizados para elucidar os efeitos do NL<sub>2</sub> no desenvolvimento de plântulas após o processo.

**Palavras chave:** Nitrogênio Líquido. Crioprotetor. Maracujá.

## SUMÁRIO

### ARTIGO

RESUMO.....	09
ABSTRACT.....	10
1. INTRODUÇÃO.....	11
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	13
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	17
4. CONCLUSÃO.....	20
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	21

## INFLUÊNCIA DO TEOR DE ÁGUA NA QUALIDADE FISIOLÓGICA E CRIOPRESERVAÇÃO DE SEMENTES DE *Passiflora suberosa* L.

Preparado de acordo com as normas da Revista Brasileira de Horticultura Ornamental – Versão preliminar.

**RESUMO** - O valor ornamental das *Passifloras* é atribuído especialmente à exuberância das flores, com suas formas, cores e tamanhos diversificados. Entre as espécies de que apresentam potencial ornamental destaca-se a *Passiflora suberosa* L, que ocorre em regiões de cerrados, de florestas pluviais montanhosas, submontanhosas e de restingas. O objetivo do presente trabalho foi avaliar a influência do teor de água na qualidade fisiológica em sementes e a eficiência da criopreservação em sementes de *P. suberosa*. Foram realizados dois experimentos, sendo o primeiro visa estabelecer o teor de água adequado para a criopreservação, avaliando a qualidade fisiológica e vigor das sementes. O Deliamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com 4 tratamentos 6, 8, 10 e 12% de umidade e 8 repetições. Baseado no melhor resultado do ensaio anterior foi realizado o segundo experimento, submetendo as sementes de *P.suberosa* à criopreservação em solução de sacarose a 0,3M (T1); DMSO a 7% (T2); sem crioprotetor (T3) e o controle (T4). As sementes foram armazenadas por 120hrs e avaliados quanto a germinação e vigor. O Deliamento experimental foi inteiramente casualizado, com 5 repetições. As variações na umidade de 6 a 12% das sementes de *P. suberosa*, não influenciou a qualidade fisiológica. As sementes dessa espécie têm potencial para serem criopreservadas sem a necessidade de crioprotetores, contudo, novos estudos devem ser realizados para elucidar os efeitos do  $NL_2$  no desenvolvimento de plântulas após o processo.

**Palavras chave:** Nitrogênio Líquido. Crioprotetor. Maracujá.

## WATER CONTENT INFLUENCE ON THE QUALITY AND PHYSIOLOGICAL SEED CRYOPRESERVATION SEED *Passiflora suberosa* L.

**ABSTRACT** - The ornamental value of *Passiflora* is especially attributed to the exuberance of flowers, with their shapes, colors and diverse sizes. Among the species that have potential ornamental highlights the *Passiflora suberosa* L, which takes place in closed areas, mountainous rain forests, and sandbanks. The objective of this study was to evaluate the influence of water content on the physiological quality of seeds and cryopreservation efficiency in *P. suberosa* seeds. Two experiments were conducted, the first is to establish a water content suitable for cryopreservation, evaluating the physiological quality and vigor. The experimental Deliamento was completely randomized, with 4 treatments 6, 8, 10 and 12% moisture and 8 repetitions. Based on best result of the previous test was conducted the second experiment, submitting the seeds of *P.suberosa* to cryopreservation in a 0.3M sucrose solution (T1); 7% DMSO (T2); without cryoprotectants (T3) and control (T4). The seeds were stored for 120hrs and evaluated for germination and vigor. The experimental Deliamento was completely randomized, with five repetitions. Variations in humidity 6-12% of *P. suberosa* seeds, did not affect the physiological quality. The seeds of this species have the potential to be cryopreserved without the need for cryoprotectants, however, further studies should be conducted to elucidate the effects of NL2 in the development of seedlings after the process.

Keywords: Liquid Nitrogen . Cryoprotectant . Passion Fruit.

## INTRODUÇÃO

O Brasil é um dos centros de diversidade do gênero *Passiflora* e por isso, possui um grande potencial para a utilização dos recursos genéticos de maracujá na área agrônômica. Existem cerca de 500 espécies, das quais aproximadamente 150 ocorrem no país e 70 produzem frutos comestíveis (FALEIRO, 2005).

Além disso, o país é o principal produtor e consumidor mundial de maracujá comercial (FALEIRO et al., 2005). A produção da fruta é estimada em 664.000 toneladas, sendo a área cultivada correspondente a 47.032 hectares por ano (IBGE, 2012). A principal espécie cultivada é o maracujá-amarelo (*Passiflora edulis*) e em menor escala o maracujá roxo (*Passiflora edulis*) e o maracujá doce (*P. alata*). Contudo, o potencial do maracujá não está somente ligado ao fruto, mais também a flor que agrega um valor ornamental a cultura (OLIVEIRA e RUGGIERO, 2005).

O valor ornamental das passifloras é atribuído especialmente à exuberância das flores, com suas formas, cores e tamanhos diversificados. O Brasil apesar de ser considerado o principal centro de diversidade de *Passiflora*, usa pouco dessas espécies para fins ornamentais (SOUZA e PEREIRA, 2003).

Além disso, para Peixoto (2005) as Passifloras podem ser exploradas de várias formas, seja para fins decorativos como soluções paisagísticas para médias e grandes áreas, a exemplo de jardins e parques, uso em cercas vivas, pérgulas e muros, ou em lugares que necessitam de cobertura vegetal como áreas degradadas. Também podem ser utilizadas como plantas para vasos que podem ser usadas em varandas ou dentro de casa.

Entre as espécies de *Passiflora* que apresentam potencial ornamental destaca-se *Passiflora suberosa* L, de decorrência em regiões de cerrados, florestas pluviais montanhosas, submontanhosas e de restingas. A espécie floresce nos meses de fevereiro a julho e de setembro

a dezembro, apresentando flores com coloração esverdeada e frutos pequenos de cor roxa (AZEVEDO e BAUMGRATZ, 2004).

O teor de água das sementes de maracujá, após a extração está de 30% b.u. Portanto, para evitar perdas na qualidade fisiológica das sementes durante o armazenamento é necessário submetê-las ao processo de secagem.

Sabe-se que o armazenamento de sementes por períodos prolongados e com teores de água elevados é praticamente inviável, pois nessas condições o metabolismo das sementes continua intenso. Portanto, além da secagem, outro fator importante na produção de mudas a partir de sementes é o seu armazenamento, (PIZA JÚNIOR, 1991). Bruckner e Picanço (2001) relatam que até o quinto mês a partir da extração das sementes, a perda do poder germinativo é lenta, tornando-se mais rápida a partir daí; aos 12 meses o poder germinativo já é muito baixo. Oliveira e Ruggiero (1998) recomendam que se utilizem sementes novas, pois o poder germinativo das sementes de maracujá decai muito rapidamente, podendo passar de cerca de 90% logo depois da colheita para valores inferiores a 20% após seis meses de armazenamento.

Uma forma de armazenar sementes é por meio da criopreservação que proporciona o potencial para um armazenamento sem limite de tempo, uma vez que reduz o metabolismo a níveis tão baixos que todos os processos bioquímicos são reduzidos (KARTHA, 1985). Para Almeida (2002) existem várias vantagens com relação a esse tipo de técnica, como: pequeno espaço a ser ocupado por um banco de germoplasma mantido em nitrogênio líquido; simplicidade de manuseio; como também o baixo custo de investimento, uma vez que não exige sistema de refrigeração.

Um grande desafio da criopreservação é a escolha do substâncias químicas denominadas de crioprotetor, na qual deve ser adequado para sementes com a finalidade de reduzir a injúria sofrida pela célula, durante seu congelamento ou descongelamento (CARVALHO e OTONI,

2010). Os crioprotetores mais utilizados na criopreservação de plantas são glicerol, dimetilsulfóxido (DMSO), metanol e os glicóis de menor peso molecular, Benson (2008).

Dessa forma, esse trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar a eficiência da criopreservação em espécies de *Passiflora suberosa*.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

A pesquisa foi realizada no laboratório de Sementes e Plantas Ornamentais do curso de Agronomia na Universidade do Estado de Mato Grosso – UNEMAT localizada em Cáceres-MT do BAG de maracujá que fica situado a 16°11'42" S de latitude Sul e 57°40'51" W , temperatura média anual de 26,24°C, precipitação anual de 1.333 mm e altitude de 118m, Neves (2011).

Os frutos foram colhidos maduros e levados ao Laboratório de Sementes e Plantas Ornamentais, para a extração das sementes, os frutos foram seccionados transversalmente, removida a polpa o arilo foi retirado por meio das sementes sobre peneira de malha inferior ao seu tamanho, com auxílio de cal e água. Após isso, as sementes foram levadas para secar e distribuídas em bandejas por dois dias em temperatura ambiente (19,9 a 35,7 °C), sendo depois armazenadas em recipientes de vidros e mantidos em geladeira com temperatura aproximada de 7 °C.

Para a determinação do teor de água inicial foi realizado o método de estufa a 105°C ( $\pm$  3°C), conforme as recomendações das Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009), utilizando-se duas sub-amostras de 50 sementes. O ajuste do teor de água final foi baseado no teor de água inicial das sementes de maracujá, as mesmas foram submetidas ao processo de hidratação ou secagem, para ajustar a umidade a 6, 8, 10 e 12% b.u). A perda ou ganho de água pelas sementes foram definidas por meio da fórmula Cromarty (1985).

As sementes com teor de água acima foram colocadas em um dessecador contendo sílica gel, e pesadas a cada duas horas, até atingirem os pesos referentes aos teores de água

estabelecidos, no caso da umidade acima do valor inicial. As sementes com teor de água inferior foram colocadas em câmara úmida, contendo água e mantidas na temperatura de 25 °C, sendo pesadas a cada duas horas, até atingirem os pesos referentes aos teores de água estabelecidos.

Para o teste de germinação foram utilizadas oito repetições de 25 sementes, distribuídas em caixas de acrílico (“Gerbox”) sobre uma folha de papel mata-borrão e umedecidas com água destilada, na proporção de duas vezes e meia o peso do papel. As caixas foram colocadas em sacos de polietileno transparentes e acondicionadas em incubadora refrigerada (tipo B.O.D.), mantidos à temperatura constante de 25 °C, com fotoperíodo de 12 horas, por um período de 30 dias.

O Deliamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com 4 tratamentos (6, 8, 10 e 12%) e 8 repetições com 25 sementes. Para avaliar a qualidade, as sementes foram submetidas às seguintes determinações Índice de Velocidade de Germinação (IVG), juntamente ao teste de germinação foi realizado diariamente, durante os 30 dias a contagem do número de sementes germinadas, sendo para tanto consideradas, apenas aquelas que rompessem o tegumento emitindo radícula com pelo menos 2 mm de comprimento Hadas (1976). Com esses dados, foi calculado o índice de velocidade de germinação conforme Maguire (1962):

A porcentagem de germinação foi obtida através do número total de sementes germinadas ao final dos 30 dias de avaliação do teste de germinação, calculada para cada repetição dos tratamentos, sendo expressa em porcentagem.

Para o teste de emergência pra cada tratamento, foram utilizadas 8 repetições de 25 sementes, distribuídas em caixas de acrílico (“Gerbox”) contendo o substrato comercial “Vermiculita” na quantidade de 0,040 gramas, e umedecidas com água destilada, conforme Krzyzanowski (1999). As caixas foram distribuídas e mantidas em laboratório, sob temperatura ambiente (19,9 a 35,7 °C) e foram avaliadas diariamente, por um período de 30 dias.

A avaliação do teste de emergência de plântulas foi realizada considerando diariamente, o número de plântulas emergidas. Com esses dados, foi calculado o índice de velocidade de emergência conforme Maguire (1962).

A porcentagem de emergência foi obtida através do número total de plântulas emergidas ao final dos 30 dias de avaliação do teste de emergência, calculada para cada repetição dos tratamentos, sendo expressa em porcentagem (%).

Ao término das avaliações, as plântulas normais obtidas do teste de emergência foram pesadas para determinação da massa fresca. Em seguida, foram acondicionadas em sacos de papel e levadas para a estufa de circulação de ar a 70 °C por 72 horas, sendo pesadas para determinar a massa de seca das plântulas. Os resultados foram expressos em g/plântula.

Para avaliação, foram utilizadas as plântulas provenientes do teste de emergência, ao final dos 30 dias de avaliação, sendo o comprimento da parte aérea das mesmas medidas com uma régua milimetrada. Os resultados foram expressos em cm de parte aérea/plântula.

Plântulas normais provenientes do teste de emergência foram utilizadas para determinação do comprimento da radícula, medindo-as com uma régua milimetrada. Os resultados foram expressos em cm de radícula/plântula.

Os dados foram submetidos à análise de variância através do teste F, sendo que as médias foram comparadas pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade, utilizando o programa computacional Sistema para Análise de Variância - SISVAR (FERREIRA, 2008).

Após os processos descritos, os resultados referentes à análise estatística foram utilizados para definição do teor de água das sementes de *Passiflora suberosa* a serem criopreservadas.

As melhores respostas obtidas no experimento com diferentes teores de água nas sementes de *Passiflora* foram utilizados para definição do teor de umidade (b.u. %) a ser utilizado na criopreservação das sementes em nitrogênio líquido (NL<sub>2</sub>) a -196°C.

Foram utilizados como crioprotetores as soluções 7% Dimetilsulfóxido (DMSO) e 0,3 M de Sacarose, com imersão das sementes nessas soluções durante três horas em temperatura ambiente. As sementes foram mantidas posteriormente em ambiente (19,9 a 35,7 °C) durante um dia para secagem e adequação ao teor de água desejado.

As amostras foram depositadas em embalagens de alumínio, sendo posteriormente armazenadas em um tanque de nitrogênio líquido (-196 °C) por um período de 120 horas. Nesse ensaio, foram utilizados 4 tratamentos com 5 repetições de 50 sementes, no qual: T<sub>1</sub> - sementes criopreservadas com adição de DMSO na concentração de 7%; T<sub>2</sub> - sementes criopreservadas com adição de sacarose na concentração de 0,3 M; T<sub>3</sub> - sementes criopreservadas com ausência de crioprotetores; T<sub>4</sub> – controle: sementes que não foram criopreservadas e, portanto, também não continham os crioprotetores.

O método de descongelamento usado foi o rápido realizado em banho-maria a 37°C durante 20 minutos. Para tanto, as amostras de sementes contidas nas embalagens de alumínio foram retiradas do NL<sub>2</sub> e depositadas em sacos de polietileno, com o objetivo de evitar qualquer contato direto das sementes com a água.

Após, as mesmas foram utilizadas para os testes de germinação e emergência de plântulas, já descritos anteriormente, analisando-se as mesmas variáveis: índice de velocidade de germinação (IVG): metodologia conforme Maguire (1962); Porcentagem de germinação das sementes: resultados expressos em porcentagem (%); índice de velocidade de emergência (IVE): metodologia conforme Maguire (1962); porcentagem de emergência de plântulas: expressa em porcentagem (%); massa seca: os resultados foram expressos em g/plântula; comprimento da parte aérea da plântula: resultados expressos em cm de parte aérea/plântula; comprimento da radícula da plântula: o resultado foi expresso em cm de radícula/plântula.

Os dados foram submetidos à análise de variância através do teste F, sendo que as médias foram comparadas pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade, utilizando o programa computacional Sistema para Análise de Variância - SISVAR (FERREIRA, 2000).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores da umidade de *P. suberosa* foram ajustados para teores de 6, 8, 10 e 12%, o grau de umidade inicial das sementes apresentaram valores médios de 7,24% e o desvio padrão ( $\pm 0,28$ ).

Não houve diferença significativa entre os teores de água utilizados ( $P > 0,05$ ) para todas as variáveis analisadas. Para IVG e porcentagem de germinação (G%) as médias obtidas variaram entre 2,302 a 3,132 e de 52,0 a 66,5%, (Tabela 1).

TABELA 1. Média índice de velocidade de germinação (IVG), porcentagem de germinação (G %), Índice de Velocidade de Emergência (IVE) Percentagem de Emergência (E %), Corpo de Radicle (CR) Comprimento Air Parte (CPA) e massa seca (MS) obtido na avaliação do efeito teor de umidade em *Passiflora suberosa* L. Sementes.

Espécie	Umidade (%)	Variáveis						
		IVG	G%	IVE	E%	CR (cm)	CPA (cm)	MS (g)
	6	3,132a	66,0a	0,552 <sup>a</sup>	12,0a	2,9a	4,4a	0,011a
	8	2,635a	52,0a	0,615 <sup>a</sup>	13,0a	3,2a	3,8a	0,013a
<i>P. suberosa</i>	10	2,877a	64,0a	0,785 <sup>a</sup>	16,0a	2,8a	4,3a	0,016a
	12	2,302a	53,0a	0,360 <sup>a</sup>	7,0a	3,1a	4,3a	0,008a
	CV%	23,45	21,53	46,08	45,57	18,69	10,89	52,90

\*Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem pelo teste de Tukey a nível de 5% de probabilidade .

Quanto ao IVE e porcentagem de emergência (E%) as médias obtidas foram menores do que as observadas no IVG e porcentagem de germinação, variando de 0,360 a 0,785 para IVE e

de 7,5 a 16,0% para porcentagem de plântulas emergidas. Essas médias inferiores podem estar relacionadas ao substrato e as faixas de temperaturas ao qual os diferentes testes foram submetidos.

Os resultados quanto ao comprimento de radícula (CR) demonstraram variação nas médias das plântulas de 2,8 a 3,2 cm, enquanto para o comprimento da parte aérea (CPA) as médias variaram de 3,8 a 4,4 cm. As médias obtidas para massa seca (MS) variaram de 0,008 a 0,016 g nos tratamentos.

Esses resultados sugerem que para a espécie *P. suberosa*, o teor de umidade das sementes no intervalo de 6 a 12% não influencia diretamente o seu potencial fisiológico, tolerando os ajustes para esses teores de umidade sem danos aparentes nas sementes.

Resultados semelhantes foram obtidos em estudo sobre dessecação e criopreservação de sementes de mamão no qual verificou-se que durante o processo de secagem até a estabilização do grau de umidade em 4,5% e 5,3%, não foi observada perda significativa de viabilidade das sementes, o que sugere a possibilidade de conservá-las a longo prazo, em função da sua tolerância à dessecação (ALTHOFF e CARMONA, 1999).

A média do teor de água das sementes de *P. suberosa* utilizado para o teste de criopreservação foi de 9,5%, tendo em vista que o conteúdo de umidade das sementes é um dos principais fatores que controlam a criopreservação (HOEKSTRA et al., 2001; WALTERS et al., 2004) e que para sementes ortodoxas, recomenda-se conteúdos de umidade abaixo de 10%; porém, o intervalo de umidade favorável para o congelamento difere entre as espécies (SILVA et al., 2011).

Os resultados foram semelhantes ( $P > 0,05$ ) para a maioria das variáveis, com exceção do CR e CPA (Tabela 2). Para IVG e G% as médias dos tratamentos variaram de 2,447 a 3,393 e de 47,2 a 62,0%, indicando que o armazenamento em  $NL_2$  não prejudicou de forma significativa o potencial germinativo das sementes de *P. suberosa*.

Tabela 2. Médias do Índice de Velocidade de Germinação (IVG), Porcentagem de Germinação (G%), Índice de Velocidade de Emergência (IVE), Porcentagem de Emergência (E%), Comprimento da Radícula (CR), Comprimento da Parte Aérea (CPA) e Massa Seca (MS) obtidas na avaliação da criopreservação em Nitrogênio Líquido (NL<sub>2</sub>) em sementes de *Passiflora Suberosa* L.

Espécie	Tratamento	Variáveis						
		IVG	G%	IVE	E%	CR (cm)	CPA (cm)	MS (g)
<i>P. suberosa</i>	DMSO	2,561a	48,0a	1,395a	34,0a	2,6c	4,5a	0,029a
	SAC	2,447a	47,0a	1,491a	34,0a	3,1ab	4,3ab	0,024a
	S/CRIO	3,393a	62,0a	1,127a	28,0a	3,5a	4,2ab	0,019a
	Controle	2,556a	52,0a	1,892a	39,0a	2,9bc	3,8b	0,020a
	CV%	23,95	22,92	29,06	31,00	7,93	7,25	35,18

\*Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey, em nível de 5% de probabilidade. Legenda: DMSO – Dimetilsulfóxido; SAC – Sacarose; S/CRIO – Sem crioprotetor.

O mesmo ocorreu nas variáveis índice de velocidade de germinação e porcentagem de emergência. Nessas, as médias variaram de 1,127 a 1,892 e de 28,0 a 39,0%, demonstrando valores menores de emergência. Para massa seca, as análises também indicaram resultados não significativos, sendo que as médias dos tratamentos oscilaram de 0,019 a 0,029g.

Para as sementes de *P. suberosa* submetidas a criopreservação os resultados foram significativos para as variáveis, comprimento de radícula e comprimento da parte Aérea, no entanto, ambas divergiram quanto ao tratamento com melhor média.

Para a variável, comprimento de radícula a melhor média foi observada no tratamento das sementes armazenadas em NL<sub>2</sub> sem crioprotetores (3,5 cm) e sacarose (3,1 cm), seguido do controle (2,9 cm) e por último o DMSO (2,6cm). Já para a variável, comprimento da parte aérea, a situação do DMSO se inverteu, obtendo a maior média (4,5 cm), juntamente com tratamentos sacarose (4,3 cm) e sem crioprotetor (4,2 cm), seguido por último do controle (3,8 cm).

O efeito dos crioprotetores pode causar toxidez ou estresse osmótico nas células (CARVALHO e OTONI, 2010). Sakai (1995) observou que alguns crioprotetores podem ser tóxicos ou podem causar estresse osmótico, levando à morte das células ou modificando sua resposta morfogênica em cultura. O DMSO é o mais indicado porque tem maior poder de penetração, sendo geralmente mais eficiente na criopreservação (Santos e Salomão, 2010). No presente trabalho a dosagem de 7% de DMSO interferiu de forma negativa nos resultados, devendo ser estudado novas dosagens para verificar se houve toxidez ao crioprotetor utilizado.

Conforme Martínez-Montero et al. (2002) é possível que os danos observados na criopreservação possam ter sido causados pela perda da integridade celular devido à formação de cristais de gelo, que poderia danificar membrana.

Veiga-Barbosa et al. (2013) em estudo sobre criopreservação de espécies de *Passiflora*. Sementes de *P. edulis* e *P. edulis* f. *flavicarpa* tiveram o teor de água reduzido e foram imersas em NL<sub>2</sub>, onde os resultados demonstraram que as sementes de *P. edulis* quando criopreservadas mantiveram o mesmo potencial de germinação do controle.

Devido à ambiguidade desses resultados, não é possível inferir com certeza qual o melhor tratamento para criopreservação de *P. suberosa*. O que parece claro até então, é que embora a exposição ao NL<sub>2</sub> não tenha resultado em perdas no potencial germinativo das sementes, houve apenas diferenças significativas no desenvolvimento das plântulas, variando consideravelmente conforme o tratamento realizado.

## **CONCLUSÃO**

O teor de água de 6 a 12% em sementes de *P. suberosa*, não influencia a qualidade fisiológica.

As sementes dessa espécie têm potencial para serem criopreservadas.

## REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

- ALMEIDA, F. de A. C.; MORAIS A. M. de; CARVALHO J. M. F. C.; GOUVEIA J. P. G. de. Crioconservação de sementes de mamona das variedades nordestina e pernambucana, **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.6, n.2, p.295-302, 2002.
- ALTHOFF, M. A.; CARMONA, R. Conservação de sementes de mamão (*Carica papaya* L. - Caricaceae). **Revista Brasileira de Sementes**, v.21, p.151-156, 1999.
- AZEVEDO, M. M. A.; BAUMGRATZ, J. F. A. *Passiflora* L. subgênero Decaloba (DC.) .chb. (Passifloraceae) na região Sudeste do Brasil. **Rodriguésia**, v.55, p.54-60, 2004.
- BENSON, E.E; Cryopreservation Theory. In: REED, B. M. (Ed.) **Plant Cryopreservation- A Pratical Guide**. New York, USA: Springer. p.15-32. 2008.
- BRASIL. Ministério da agricultura, pecuária e abastecimento. **Regras para análise de sementes/ Ministério da agricultura, pecuária e abastecimento**. Brasília: Mapa/ACS, p.395, 2009.
- BRUCKENER. C. H.; PIKANÇO, C. **Maracujá: Tecnologia de produção, pós colheita, agroindústria e mercado**. Porto Alegre: Cinco Continentes, p.137, 2001.
- CARVALHO, V. S.; OTONI, W. C. Criopreservação de Germoplasma Vegetal. In: PEREIRA, T. N. S. (Ed). **Germoplasma: conservação, manejo e uso no melhoramento de plantas**. Viçosa: Arca, p.89-113. 2010.
- CROMARTY, A. S.; ELLIS, R. H.; ROBERTS, E. H. **Design of seed storage facilities for genetic conservation**. Rome: IBPGR, p.100, 1985.
- FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F. Germoplasma e melhoramento genético do maracujazeiro - desafios da pesquisa. In: FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F. (Eds.). **Maracujá: germoplasma e melhoramento genético**. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2005. p.187-210.

FERREIRA, D. F. SISVAR: um programa para análises e ensino de estatística. **Revista Symposium**, v.6, p.36-41, 2008.

HADAS, A. Water uptake and germination of leguminous seeds under changing external water potential in osmotic solution. **Journal of Experimental Botany**, v.52: p.480-489, 1976.

HOEKSTRA F. A.; GOLOVINA E. A.; BUITINK J. Mechanisms of plant desiccation tolerance. **Trends in Plant Science**, v.6: p.431-438, 2001.

IBGE. **Instituto brasileiro de geografia e estatística**. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/>. Acesso em: 10, maio, 2015.

KARTHA, K. K. Meristem culture and germplasm preservation. In: Kartha, K. K. (Ed.). **Cryopreservation of plant cells and organs**. Florida: CRC Press, p.115-134, 1985.

KRZYZANOWKI, F.C.; VIEIRA, R.D. Deterioração controlada. In: KRZYZANOWKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA NETO, J.B. (Ed.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, p.61-68,1999.

MAGUIRE, J. D. Speed of germination aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, v.2, p.176-177, 1962.

MARTÍNEZ-MONTERO, M.E.; MORA, N.; QUIÑONES, J.; GONZÁLEZ-ARNAO, M.T.; ENGELMANN, F.; LORENZO, J.C. Effect of cryopreservation on the structural and functional integrity of cell membranes of sugarcane (*Saccharum* sp.) embryogenic calluses. **CryoLetters**, London, n.23, p.237-244, 2002.

NEVES, S. M. A. S.; NUNES, M. C. M.; NEVES, R. J. Caracterização das condições climáticas de Cáceres/MT Brasil, no período de 1971 a 2009: subsídio às atividades agropecuárias e turísticas municipais. **Boletim Goiano Geográfico**, v.31, p.55-68, 2011.

OLIVEIRA, J. C.; FERREIRA, F. R. Melhoramento Genético do Maracujazeiro. In: **A Cultura do Maracujá no Brasil**. Ribeirão Preto: FUNEP, p. 221-239, 1991.

OLIVEIRA, J.C. de.; RUGGIERO, C. **Espécies de maracujá com potencial agrônômico**. In: FALEIRO, F.G.; JUNQUEIRA, N.T.V.; BRAGA, M.F. (Ed.) *Maracujá: Germoplasma e melhoramento genético*. Planaltina, DF. Embrapa Cerrados, p.143-158, 2005.

PEIXOTO, M. Problemas e perspectivas do maracujá ornamental. In: FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F. (Eds.). **Maracujá: germoplasma e melhoramento genético**. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2005. p.143-158.

PEREIRA, M. G.; SILVA, F. F.; PEREIRA, T. N. S. Recursos genéticos vegetais e o melhoramento de plantas. In: PEREIRA, T. N. S. (Ed). **Germoplasma: conservação, manejo e uso no melhoramento de plantas**. Viçosa: Arca, p.141-176. 2010.

PIZA JUNIOR, C.T. A cultura do maracujá. Campinas: SAA/CATI, p.71, 1991.

SAKAI, A. Cryopreservation of germplasm of woody plants. In: BAJAJ, Y. P. S. (Ed.) **Biotechnology in agriculture and forestry: Cryopreservation of plant germplasm I**. Berlin: Springer-Verlag, p.53-69. 1995.

SANTOS, I. R. I.; SALOMÃO, A. N. **Manual de curadores de germoplasma – vegetal: criopreservação**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, p.16, 2010.

SILVA, R. C.; CAMILLO, J.; LUIS, Z. G.; SCHERWINSKI-PEREIRA, J. E. Potencial germinativo e morfoanatomia foliar de plântulas de pinhão-manso originadas de germoplasma criopreservado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.46, p.836-844, 2011.

SOUZA, M.M.; PEREIRA, T.N.S. Passiflora como plantas ornamentais. In: **Congresso Brasileiro De Floricultura e Plantas Ornamentais e Congresso Brasileiro de Cultura de Tecidos de Plantas**, 15, 2003, Lavras. Anais... Lavras: UFLA/FAEPE, 2003. p 24.

VEIGA-BARBOSA, L.; MIRA, S.; GONZÁLEZ-BENITO, M. E.; SOUZA, M. M.; MELETTI, L. M. M.; PÉREZ-GARCÍA, F. Seed germination, desiccation tolerance and cryopreservation of *Passiflora* species. **Seed Science & Technology**, v.41, p.89-97, 2013.

WALTERS C.; WHEELER, L.; STANWOOD, P. C. Longevity of cryogenically stored seeds.  
**Cryobiology**, v.48, p.229-244, 2004.