

Conservação e crioconservação de sementes do porta-enxerto de marmeleiro ‘Japonês’

VIVIANE MARCELA CELANT¹; RAFAEL PIO²; EDVAN ALVES CHAGAS³; WILSON BARBOSA⁴; LEANDRO RAMPIM^{5*}; MADELEINE ALVES DE FIGUEIREDO⁶; CYNTHIA NATALLY DE ASSIS⁷; ANDREI SPAZIANI TIBERTI⁷

¹Pós-graduando do curso de Doutorado em Agronomia, Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE), Rua Pernambuco 1.777, Caixa Postal 91, CEP 85.960-000, Marechal Cândido Rondon/PR. Bolsista do CNPq. E-mail: vivicelant@hotmail.com

²Professor Adjunto, Universidade Federal de Lavras (UFLA), Depto. de Agricultura, Caixa Postal 3037, CEP 37200-000, Lavras/MG. Bolsista Produtividade em Pesquisa CNPq. E-mail: rafaelpio@dag.ufla.br

³Pesquisador Científico, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA CPAFRR), Rodovia 174, Km 8, Caixa Postal 133, CEP 69301-970, Boa Vista/RR. Bolsista Produtividade em Pesquisa CNPq. E-mail: echagas@cpafrr.embrapa.br

⁴Pesquisador Científico, Centro Experimental Central, Instituto Agronômico (IAC), Caixa Postal 28, CEP 13001-970, Campinas/SP. Bolsista Produtividade em Pesquisa CNPq. E-mail: wbarbosa@iac.sp.gov.br

⁵Doutorando em Agronomia – Produção Vegetal, Universidade Estadual do Oeste Paranaense - UNIOESTE, campus M.C.Rondon, PR. E-mail: rampimleandro@yahoo.com.br. *Autor para correspondência

⁶Mestrando da Pós-graduação em Fitotecnia da Universidade Federal de Lavras (UFLA)

⁷Discente de graduação em Agronomia da Universidade Federal de Lavras (UFLA)

RESUMO

Desenvolveu-se um protocolo de produção de mudas de marmeleiro enxertadas no porta-enxerto ‘Japonês’ no inverno. Como a extração das sementes do marmeleiro ‘Japonês’ é em maio e demanda-se nove meses por ano para produzir os porta-enxertos, há necessidade de estudar técnicas de conservação de sementes para facilitar o escalonamento de mudas no viveiro. O presente trabalho teve como objetivo estudar a viabilidade da conservação e crioconservação de sementes do marmeleiro ‘Japonês’. Uma parte das sementes foi semeada imediatamente e as demais tiveram a umidade diminuída para 14,14%. Parte foi estratificada por 20 dias em geladeira em placas de Petri, outra parte foi armazenada por 3, 6, 9 e 12 meses dentro de tubos plásticos, sob temperaturas de 20, 5 e -12°C, e as sementes restantes foram crioconservadas por 20 dias. Após o armazenamento, todas as sementes foram estratificadas, semeadas sob placas de Petri e colocadas em câmara tipo B.O.D. a 20°C. Avaliou-se a porcentagem de germinação ao final da estratificação e por mais quatro avaliações espaçadas de sete dias. Concluiu-se que é possível armazenar as sementes de marmeleiro por até nove meses sob a temperatura de 20 °C ou por longos períodos por meio da crioconservação.

Palavras-chave: *Chaenomeles sinensis* Koehne, produção de mudas, germinação, estratificação.

ABSTRACT

Conservation and cryoconservation of seeds of ‘Japanese’ quince rootstock

A protocol was developed for the production of seedlings of quince grafted in the ‘Japanese’ rootstock in the winter. As the extraction of the seeds of ‘Japanese’ quince is in May and the rootstocks require nine months per year to be produced, it is necessary to study techniques of seed conservation in order to facilitate the grading of seedlings in the nursery.

SAP 5132

Data do envio: 27/04/2011

Data do aceite: 26/08/2011

This study aimed to examine the feasibility of conservation and cryoconservation of seeds of 'Japanese' quince rootstocks. Part of the seeds was sowed immediately and the remaining seeds had their humidity lowered to 14.14%. Part of these seeds was stratified for 20 days in refrigerator in Petri plates, another part was stored for 3, 6, 9 and 12 months inside plastic tubes at 20, 5 and -12°C, and the remaining seeds were cryoconserved for 20 days. After storage, all seeds were stratified, sowed under Petri plates and placed in B.O.D. incubator at 20°C. The percentage of germination was assessed at the end of stratification and four more evaluations were done each seven days. It was concluded that it is possible to store the seeds of quince for up to nine months under the temperature of 20 °C or for long periods by cryoconservation.

Keywords: *Chaenomeles sinensis* Koehne, seedlings production, germination, stratification.

INTRODUÇÃO

A produção de mudas de marmeleiro (*Cydonia oblonga*) são tradicionalmente obtidas através de estacas enraizadas. Em trabalho realizado por Pio *et al.* (2005a) desenvolveram a tecnologia de produção de mudas enxertadas, utilizando o marmeleiro 'Japonês' (*Chaenomeles sinensis*) como porta-enxerto.

Não obstante, recentemente, o marmeleiro 'Japonês' (*Chaenomeles sinensis* Koehne) tem sido utilizado como opção de porta-enxertos para os marmeleiros, por ter mais de 180 sementes por frutos, germinação de 90%, emergência das plântulas de 70% e boa afinidade na relação enxerto/porta-enxerto com as cultivares 'Provence', 'Portugal' e 'Mendoza Inta-37' em ensaios preliminares (ALVARENGA *et al.*, 2007; PIO *et al.*, 2007). Os avanços tecnológicos da utilização de mudas enxertadas na marmelocultura foram altamente significativos, pois nem todos os cultivares de marmeleiro possuem bom potencial rizogênico (PIO *et al.*, 2004). Além disso, pomares implantados com mudas oriundas de estacas enraizadas possuem desenvolvimento inicial lento e com tendência em forma mudas "entouceradas" (excesso de brotações na base da planta) (ALVARENGA *et al.*, 2007).

Para a produção de mudas enxertadas de marmeleiro, são coletados ramos porta-borbulha junto à operação da poda, normalmente realizada no mês de julho, quando as plantas encontram-se em dormência e assim realiza-se a enxertia pelo processo de garfagem (PIO *et al.*, 2008). Como é uma prática rotineira e idêntica as demais frutíferas de clima temperado, há concentração dessa atividade nesse período, o que demanda muita mão-de-obra no viveiro e desfavorece o escalonamento da produção de mudas.

A época de colheita dos frutos e posterior extração das sementes do marmeleiro 'Japonês' ocorrem no mês de maio (ALVARENGA *et al.*, 2007). Em seguida, as sementes são estratificadas a frio-úmido para superação da dormência e posteriormente semeadas em sacolas plásticas, permanecendo no viveiro até atingirem o ponto de enxertia. Em Pio *et al.* (2007), constataram que são decorridos nove meses para os porta-enxertos do marmeleiro 'Japonês' estarem aptos a realização da enxertia, a partir da extração das sementes. Como a enxertia tem que ser necessariamente realizada em julho, época da poda das plantas matrizes de marmeleiro, faz-se necessário estudar técnicas de conservação das sementes do referido porta-enxerto, para assim favorecer a redução do tempo de permanência das mudas na estrutura de produção, dinamizando o uso da mão-de-obra e ainda propiciar a oferta de mudas de outras espécies frutíferas no viveiro, pela maior rotação de mudas.

Sementes frutíferas com embriões dormentes, como é o caso do marmeleiro, ou com envoltório impermeável, possuem maior capacidade de manter a viabilidade sob condições ambientais de armazenagem. No entanto, as condições ideais de armazenagem, como a exposição a temperaturas reduzidas, podem prolongar a viabilidade das sementes (CAMPO DALL'ORTO *et al.*, 1985). O armazenamento em baixas temperaturas, o que inclui a crioconservação em nitrogênio líquido, é um método eficiente e prático para a conservação dos recursos fitogenéticos. Medeiros & Cavalari (1992) definem crioconservação em nitrogênio

líquido como sendo a preservação de materiais biológicos a baixas temperaturas (-160 a -196 °C), nas quais todos os processos metabólicos são essencialmente paralisados e mantidos em estado latente, proporcionando a preservação dos materiais em longo prazo. Outros autores acrescentam que a criopreservação em nitrogênio líquido é um método potencialmente estudado para reduzir a taxa de deterioração, aumentando assim o tempo de armazenamento das sementes, assegurando a preservação das fontes genéticas da planta, além de reduzir os custos e a perda da viabilidade (STANWOOD & BASS, 1981).

O presente trabalho teve como objetivo estudar a viabilidade da conservação e criopreservação de sementes do marmeleiro ‘Japonês’.

MATERIAL E MÉTODOS

Frutos maduros do marmeleiro ‘Japonês’ foram coletados na Fazenda Experimental de Maria da Fé da Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (EPAMIG) no município de Maria da Fé-MG, no mês de maio de 2009 e foram transportadas para o laboratório do Jardim Botânico, pertencente ao Centro Experimental Central (CEC) do Instituto Agrônomo (IAC), Campinas-SP. As sementes foram cuidadosamente extraídas, lavadas em água corrente e secas à sombra por duas horas.

Uma parte das sementes com umidade inicial de 32,8% foi semeada imediatamente sobre placas de Petri forradas com algodão umedecido e colocadas em câmara tipo B.O.D. à temperatura de 20 °C. As demais sementes foram submetidas à secagem em estufa com circulação de ar forçado a 32 °C, para redução e uniformização de umidade até 14,14%.

Posteriormente, uma parte das sementes foram estratificadas por 20 dias em geladeira a 4 °C sobre placas de Petri forradas com algodão umedecido e o restante das sementes foi armazenado por 3, 6, 9 ou 12 meses, dentro de tubos plásticos, sob a temperatura de 20, 5 e -12 °C. Outras sementes foram colocadas em criotubos e armazenadas em criopreservação, com -196 °C por 20 dias. Após este período, foram mantidas por 24 horas a -20 °C e em seguida por mais 24 horas, em 5 °C.

Após o armazenamento, todas as sementes foram estratificadas como descrito acima e posteriormente semeadas sob placas de Petri forradas com algodão umedecido e colocadas em câmara tipo B.O.D. à 20 °C de temperatura.

O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado, com 15 tratamentos, quatro repetições e 20 sementes por parcela. Avaliou-se a porcentagem de germinação ao final da estratificação e por mais quatro avaliações espaçadas de sete dias, em contagem acumulativa.

Para a realização da análise estatística, os dados foram analisados no esquema de parcela subdividida no tempo. As parcelas constituíram-se dos tratamentos, representando o tratamento principal e o tempo de avaliação constituiu as subparcelas, representando o tratamento secundário, composto pelas cinco avaliações da porcentagem de germinação. Os dados foram transformados em arco seno raiz de $x/100$, os quais foram submetidos à análise de variância e as médias ao teste de Scott-Knott, ao nível de 5% de probabilidade. As análises foram realizadas pelo programa computacional Sistema para Análise de Variância - SISVAR.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No trabalho ficou evidenciado a interação entre os tratamentos e as avaliações de germinação. Sementes com a umidade inicial de 32,8%, que não foram conservadas e nem estratificadas, apresentaram apenas 35% de germinação ao final de 28 dias (Tabela 1). Esse resultado era esperado, uma vez que há necessidade de se superar a dormência das sementes do marmeleiro ‘Japonês’ sob exposição a frio-úmido por um período, para se maximizar o processo germinativo (PIO *et al.*, 2005b), como é apontado com o resultado das sementes estratificadas.

Sementes conservadas por até 9 meses a temperatura de 20 °C apresentaram alta viabilidade, registrando 71,25% a 75% de germinação aos 21 dias após o final da estratificação.

Já as sementes que foram conservadas por 12 meses apresentaram uma sensível redução da viabilidade, com 61,25% de germinação.

Para as sementes que foram conservadas em temperaturas reduzidas, bons resultados foram obtidos em conservação por 3 meses à 5 °C que apresentaram 77,5% de germinação após uma semana do final da estratificação.

TABELA 1. Porcentagem semanal de germinação de sementes do marmeleiro ‘Japonês’, conservadas em diferentes ambientes e avaliadas mensalmente no IAC, Campinas/SP, 2009.

Ambientes de conservação	Avaliação semanal da porcentagem de germinação				
	1°	2°	3°	4°	5°
Sem conservação e estratificação	3,75 Bb	8,75 Be	20,00 Ad	32,50 Ad	35,00 Ad
Sem conservação e com estratificação	1,25 Cb	1,25 Ce	53,75 Bc	68,75 Ab	71,25 Aa
Conservação 3 meses à 20°C	21,25 Ca	52,50 Bc	65,00 Ab	71,25 Aa	71,25 Aa
Conservação 6 meses à 20°C	17,5 Ba	62,50 Ab	68,75 Ab	75,00 Aa	75,00 Aa
Conservação 9 meses à 20°C	6,2 Cb	46,25 Bc	70,00 Ab	75,00 Aa	77,50 Aa
Conservação 12 meses à 20°C	0 Cb	25,00 Bd	47,50 Ac	60,00 Ab	61,25 Ab
Conservação 3 meses à 5°C	27,50 Ba	77,50 Aa	83,75 Aa	85,00 Aa	85,00 Aa
Conservação 6 meses à 5°C	17,50 Ba	62,50 Ab	65,00 Ab	66,25 Ab	66,25 Ab
Conservação 9 meses à 5°C	0 Bb	12,50 Be	48,75 Ac	48,75 Ac	48,75 Ac
Conservação 12 meses à 5°C	1,25 Bb	11,25 Be	17,50 Ad	25,00 Ad	25,00 Ad
Conservação 3 meses à -12°C	0 Cb	16,25 Be	48,75 Ac	56,25 Ab	56,25 Ab
Conservação 6 meses à -12°C	16,25 Ba	48,75 Ac	53,75 Ac	56,25 Ab	56,25 Ab
Conservação 9 meses à -12°C	2,50 Cb	16,2 Ce	42,50 Bc	58,75 Ab	58,75 Ab
Conservação 12 meses à -12°C	0 Bb	13,75 Be	30,00 Ad	38,75 Ac	42,50 Ac
Crioconservação	0 Cb	35,00 Bd	78,75 Aa	78,75 Aa	78,75 Aa
C.V. 1 (%) - Conservação				15,50	
C.V. 2 (%) - Semanas				24,24	

* Médias seguidas pela mesma letra em maiúsculo na linha e minúsculo na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($P \leq 0,05$).

No entanto, as sementes do marmeleiro ‘Japonês’ devem ser conservadas por maior tempo, pois são extraídas dos frutos em maio. E se forem conservadas por apenas 3 meses, os porta-enxertos estarão aptos a realização da enxertia no mês de maio do ano corrente. Contudo a época de realização das enxertias é no mês de julho, evidenciando a necessidade de ampliar o tempo de conservação das sementes, ao ponto que os porta-enxertos estejam aptos a enxertia no momento adequado.

Para a conservação das sementes sob temperatura de 5 °C, se registrou 66,25% de germinação aos 6 meses de conservação, com redução progressiva da viabilidade com o aumento do tempo de conservação. Já para as sementes conservadas a -12 °C, a porcentagem de germinação não alcançou os 60% (Tabela 1).

Campo Dall’Orto *et al.* (1985), verificaram que sementes de marmeleiro do gênero *Cydonia* apresentam sensível diminuição da viabilidade e redução da velocidade de emergência, quando conservadas em condições ambientais por longos períodos. No entanto, os mesmos autores verificaram que as sementes podem ser armazenadas por até um ano sob temperaturas reduzidas (5 °C), sem perda da viabilidade. Esses resultados são o inverso ao obtido no presente trabalho, determinando que as sementes do marmeleiro ‘Japonês’, do gênero *Chaenomeles*, podem ser conservadas em temperatura ambiente, mas há sensível diminuição da viabilidade quando expostas a temperaturas na ordem de 5 °C e -12 °C.

Com relação às sementes crioconservadas, houve elevada porcentagem de germinação logo aos 14 dias após o término da estratificação (78,75%) (Tabela 1). De acordo com Cavalcanti Mata (2001), quando as sementes são consideradas crioconserváveis, ou seja, permite o seu armazenamento a temperatura criogênica, elas passam a ter um potencial de conservação que se

considera por tempo indefinido. No entanto, Meletti *et al.* (2007) não observou melhoria na qualidade fisiológica das sementes de maracujazeiro utilizando crioconservação.

CONCLUSÃO

Pelos resultados obtidos, consegue-se armazenar as sementes de marmeleiro por até 9 meses sob 20 °C ou crioconservação, possibilitando o escalonamento da produção dos porta-enxertos e ainda possibilitando o armazenamento de germoplasma por crioconservação.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVARENGA, A.A.; ABRAHÃO, E.; CARVALHO, V.L.; SILVA, R.A.; FRAGUAS, J.C.; CUNHA, R.L.; SANTA CECÍLIA, R.V.C.; SILVA, V.J. Marmelo (*Cydonia oblonga* Mill e *Chaenomeles* spp.). In: TRAZILBO, J.P. JR. & MADELAINE V. (Org.). **101 Culturas - Manual de tecnologias agrícolas**. Belo Horizonte: EPAMIG, 2007. p.513-520.

CAMPO DALL'ORTO, F.A.; OJIMA, M.; FERRAZ, E.S.B.; IGUE, T.; MAEDA, J.A.; MARTINS, F.P. Conservação de sementes de marmelo. **Bragantia**, v.44, n.1, p.347-356, 1985.

CAVALCANTI MATA, M.E.R.M. **Crioconservação dos recursos fitogenéticos de espécies florestais, medicinais e de interesse econômico do semi-árido do Nordeste do Brasil**. Campina Grande: UFCG, 2001. 68p.

MEDEIROS, A.C.S.; CAVALLAR, D.A.N. Conservação de germoplasma de aroeira (*Astronium urundeuva* (Fr. All.) EngL). **Revista Brasileira de Sementes**, v.14, n.1, p.713-75, 1992.

MELETTI, L.M.M.; BARBOSA, W.; VEIGA, R.F.A.; PIO, R. Crioconservação de sementes de seis acessos de maracujazeiro, **Scientia Agraria Paranaensis**, v.6, p.13-20, 2007.

PIO, R.; CHAGAS, E.A.; BARBOSA, W.; SIGNORINI, G.; ENTELMANN, F.A.; FIORAVANÇO, J.C.; FACHINELLO, J.C.; BIANCHI, V.J. Desenvolvimento de 31 cultivares de marmeleiro enxertadas no porta-enxerto 'Japonês'. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.30, n.2, p.466-470, 2008.

PIO, R.; CHAGAS, E.A.; BARBOSA, W.; SIGNORINI, G.; ALVARENGA, A.A.; ABRAHÃO, E.; CAZETTA, J.O.; ENTELMANN, F.A. Emergência e desenvolvimento de plântulas de cultivares de marmeleiro para o uso como porta-enxertos. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.29, n.1, p.133-136, 2007.

PIO, R.; CAMPO DALL'ORTO, F.A.; ALVARENGA, A.A.; ABRAHÃO, E.; BUENO, S.C.S.; MAIA, M.L. **A Cultura do Marmeleiro**. Piracicaba: ESALQ/USP, 2005a. 53p. (Série Produtor Rural, 29).

PIO, R.; CHAGAS, E.A.; CAMPO DALL'ORTO, F.A.; BARBOSA, W.; ALVARENGA, A.A.; ABRAHÃO, E. Marmeleiro 'Japonês': nova opção de porta-enxerto para marmelos. **O Agrônômico**, v.57, p.15-16, 2005b.

PIO, R.; ARAÚJO, J.P.C.; SCARPARE FILHO, J.A.; MOURÃO FILHO, F. DE A.A.; ALVARENGA, A.A.; ABRAHÃO, E. Potencial de propagação de cultivares de marmeleiro por estacas. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.26, n.2, p.287-289, 2004.

STANWOOD, P.C.; BASS, L.N. Seed germplasm preservation using liquid nitrogen. **Seed Science and Technology**, v.9, p.423-437, 1981.