

N.º 17 , Dez/98, p. 1-4

VIABILIDADE DE SEMENTES DE MAMÃO CRIOPRESERVADAS

Marco Aurélio Althoff¹

As características de armazenamento das sementes de mamão (*Carica papaya*) estão sendo estudadas desde meados de 1995 no laboratório de sementes da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, em busca de alternativas adequadas para a conservação a longo prazo de germoplasma-semente dessa espécie.

Resultados de experimentos preliminares revelaram que as sementes de mamão são tolerantes à dessecação até os teores de umidade recomendados para a conservação em temperaturas abaixo de 0°C (4% a 6% de umidade). Entretanto, verificou-se que, mesmo com o teor de umidade ajustado para o armazenamento a longo prazo, a viabilidade das sementes perde-se em poucos meses de armazenamento à temperatura de -18°C, inviabilizando a conservação dessas sementes nas câmaras frias utilizadas para a conservação de sementes ortodoxas.

Segundo a literatura, o comportamento das sementes de mamão no armazenamento é contraditório, pois ele não permite a classificação destas sementes como ortodoxas, tampouco como recalcitrantes, havendo uma tendência a classificá-las como sendo de comportamento intermediário.

A conservação de sementes em nitrogênio líquido (criopreservação) constitui uma alternativa, tanto para sementes ortodoxas, quanto para as sementes recalcitrantes ou com características de armazenamento intermediárias, pois, teoricamente, pode manter a viabilidade original das sementes por períodos indeterminados, uma vez que, teoricamente, à temperatura do nitrogênio líquido (-196°C), o processo de deterioração não ocorre, não sendo necessário o controle periódico de viabilidade das sementes armazenadas e tampouco a regeneração dos acessos, o que traria grandes vantagens em termos de segurança e custos operacionais.

¹Eng. Agr., MSc., pesquisador da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

Para que a criopreservação das sementes, em outras estruturas vivas, seja possível, é necessário desenvolver metodologias específicas para o objeto da conservação, a qual pode envolver variáveis diversas, tais como os teores de umidade do material, a velocidade de congelamento e de reaquecimento, e a utilização de substâncias crioprotetoras. A velocidade de congelamento e reaquecimento têm um papel fundamental relacionado com a ocorrência de danos químicos e/ou físicos que podem inviabilizar o material submetido à temperatura do nitrogênio líquido.

Esta pesquisa tem como objetivo estudar o comportamento da viabilidade das sementes de mamão submetidas a diferentes procedimentos para a criopreservação, com a finalidade de obter uma metodologia eficiente para a criopreservação dessas sementes, aplicável à conservação a longo prazo de germoplasma de mamão.

Se as sementes de mamão resistem, à dessecação mantem a sua viabilidade após a dessecação até teores de umidade extremamente baixos, e a temperatura do armazenamento em nitrogênio líquido evita as alterações metabólicas responsáveis pela deterioração, pode ser possível conservar as sementes de mamão inteiras em ambiente criogênico.

Sendo devidamente ajustadas as velocidades de congelamento e reaquecimento, pode-se evitar danos como a desnaturação de lipoproteínas devido ao maior tempo de exposição a altas concentrações de solutos durante um congelamento lento, ou à desestruturação física das sementes devido a alterações bruscas do volume das suas estruturas durante um reaquecimento muito rápido, podem ser evitados ou minimizados com ajustes adequados nas velocidades de congelamento e reaquecimento.

Para testar o efeito de vários procedimentos de criopreservação em sementes de mamão, as sementes recém-extraídas dos frutos maduros foram submetidas à remoção manual da sarcotesta (tecido externo mucilaginoso), lavadas em água corrente e secadas em ambiente com temperatura de 25°C e 15% de umidade relativa do ar. Testes de germinação antes e após a secagem até teores de umidade de 5,3% confirmaram que o poder germinativo (87%) não foi afetado pela secagem. Os testes de germinação em rolos de papel foram conduzidos em temperaturas alternadas de 20/30°C, em termoperíodo de 16/8 horas.

Amostras de sementes dessecadas foram embaladas em envelopes aluminizados selados a calor e congeladas conforme os seguintes procedimentos:

- a) suspensão no vapor de nitrogênio, sem imersão;
- b) imersão após suspensão a 7 cm acima da superfície do nitrogênio líquido;
- c) imersão direta no nitrogênio líquido.

A temperatura em imersão no nitrogênio líquido é de -196°C . No caso da suspensão a 7 cm da superfície, a permanência das amostras no vapor de nitrogênio foi suficiente para que a temperatura do material atingisse a temperatura de -140°C , baseando-se numa taxa de resfriamento de -12°C por minuto, ou seja, 13 minutos e 45 segundos. Nos tratamentos de conservação no vapor, sem imersão no nitrogênio líquido, a temperatura é estimada em -150°C . O período de conservação foi de 48 horas, iniciando-se, então, o reaquecimento, das seguintes formas:

- a) reaquecimento em banho-maria a 40°C por 60 segundos;
- b) reaquecimento a -20°C por 18 horas, seguido de descongelamento à temperatura ambiente pelo mesmo período de tempo.

Após o reaquecimento e descongelamento, as sementes foram testadas quanto ao seu poder germinativo. Os resultados obtidos foram comparados entre si e com os dados obtidos com os testes de germinação iniciais.

Além das amostras para avaliação através de testes de germinação, foram criopreservadas, das mesmas formas, amostras adicionais para avaliação através de teste de tetrazólio no caso do surgimento de diferenças entre os efeitos dos tratamentos.

Das observações apresentadas na tabela 1, conclui-se que a criopreservação de sementes inteiras de mamão tem potencial para aplicação na conservação a longo prazo de germoplasma dessa espécie, e que a velocidade do reaquecimento é determinante para a manutenção da viabilidade das sementes criopreservadas. O reaquecimento rápido afeta negativamente o poder germinativo ao ocasionar danos físicos às sementes. Os testes de tetrazólio das sementes não germinadas após os tratamentos envolvendo reaquecimento rápido revelaram lesões nos cotilédones.

Uma vez que as diferenças quanto à natureza das células e tecidos das sementes criopreservadas e a adequação dos processos utilizados podem alterar as suas características funcionais ou mesmo causar a perda total da viabilidade, pode-se assumir que o material criopreservado e reaquecido é sempre um material potencialmente diferente do original, sendo necessário desenvolver protocolos específicos no sentido de reduzir ao máximo estas diferenças potenciais.

A avaliação da eficiência dos procedimentos para testados através dos testes de germinação pode não estar revelando efeitos que podem se manifestar posteriormente nas plantas em condições normais de crescimento, dependendo da extensão de eventuais danos ocasionados pelo processo e da capacidade dos mecanismos de regeneração da própria planta, ficando sugeridas ações de pesquisa que envolvam observações ao longo do ciclo de vida das plantas.

Tabela 1. Médias de germinação de sementes de mamão submetidas a diferentes formas de congelamento em nitrogênio líquido e subsequente reaquecimento.

Controle e congelamento	Reaquecimento	Germinação (%)
Germinação inicial	—	87 a ¹
Vapor (-150°C)	Rápido (40°C)	26 b
Lento (-140/-196°C)	Rápido	36 b
Rápido (-196)	Rápido	32 b
Vapor (-150°C)	Lento (-20°C)	90 a
Lento (-140/-196°C)	Lento	88 a
Rápido (-196°C)	Lento	84 a

¹Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de significância de 5%.

Comitê de Publicações

Presidente: José Manuel Cabral de Sousa Dias

Secretária Executiva: Miraci de Arruda Camara Pontual

Membros: Antônio Costa Allem

Edna Stella Brito Garcia Costa Manso

Maria Regina Jorge Soares

Marcos Rodrigues de Faria

Marisa de Goes

Suplentes: Antônio Emídio Dias F. da Silva

Rui Américo Mendes

Editora Chefe : Marisa de Goes

Tratamento Editorial e

Normalização Bibliográfica: Maria Regina Jorge Soares

Miraci de Arruda Camara Pontual

Editoração Eletrônica: Roger Anderson Mayeda

