



**MARCUS VINICIUS PRADO ALVES**

**CARACTERIZAÇÃO FÍSICA E FISIOLÓGICA  
DE SEMENTES DE JILÓ (*Solanum gilo*) EM  
DIFERENTES ESTÁDIOS DE  
DESENVOLVIMENTO**

**LAVRAS - MG  
2016**

**MARCUS VINICIUS PRADO ALVES**

**CARACTERIZAÇÃO FÍSICA E FISIOLÓGICA DE SEMENTES DE  
JILÓ (*Solanum gilo*) EM DIFERENTES ESTÁDIOS DE  
DESENVOLVIMENTO**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia, área de concentração em Produção Vegetal, para a obtenção do título de Doutor.

Dra. Édila Vilela de Resende Von Pinho

Orientadora

Dr. Luiz Antônio Augusto Gomes

Dra. Heloisa Oliveira dos Santos

Co-orientadores

**LAVRAS - MG  
2016**

**Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca  
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).**

Alves, Marcus Vinicius Prado.

Caracterização física e fisiológica de sementes de jiló  
(*Solanum gilo*) em diferentes estádios de desenvolvimento / Marcus  
Vinicius Prado Alves. – Lavras : UFLA, 2016.

103 p. : il.

Tese(doutorado)–Universidade Federal de Lavras, 2016.

Orientador(a): Édila Vilela de Resende Von Pinho.

Bibliografia.

1. Qualidade de sementes. 2. Germinação. 3. Enzimas. 4.  
Análise de Imagem. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

**MARCUS VINICIUS PRADO ALVES**

**CARACTERIZAÇÃO FÍSICA E FISIOLÓGICA DE SEMENTES DE  
JILÓ (*Solanum gilo*) EM DIFERENTES ESTÁDIOS DE  
DESENVOLVIMENTO**

**PHYSICAL AND PHYSIOLOGICAL CHARACTERIZATION OF JILÓ  
(*Solanum gilo*) SEEDS IN DIFFERENT DEVELOPMENT STAGES**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia, área de concentração em Produção Vegetal, para a obtenção do título de Doutor.

APROVADA em 07 de outubro de 2016

Dra. Leidiane Aparecida Ferreira da Silva	MAPA
Dr. Luiz Antônio Augusto Gomes	UFLA
Dra. Maria Laene Moreira de Carvalho	UFLA
Dr. José Márcio Rocha Faria	UFLA

Dra. Édila Vilela de Resende Von Pinho  
Orientadora

**LAVRAS - MG  
2016**

*Aos meus Pais; Laércio Gonçalves Alves e Terezinha Prado Alves (in memoriam), responsáveis pela minha existência e perseverança!*

***Dedico***

*Aos meus irmãos, Marco Antônio, Júlio Cesar, Otávio Henrique e especialmente ao Augusto Cesar e Alessandro Livio.*

*A minha orientadora Édila por me dar a oportunidade de aprender coisas novas.*

***Agradeço***

## AGRADECIMENTOS

À Deus, por me dar ciência e sabedoria!

À Universidade Federal de Lavras, especialmente ao Departamento de Agronomia/Fitotecnia (Setor de Sementes), pela oportunidade.

A Capes (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior); Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG).

A minha orientadora, professora Édila Vilela de Resende Von Pinho, por seu exemplo profissional, dedicação e incentivo durante a minha jornada acadêmica.

A minha Co-orientadora Heloisa, pela ajuda e presteza em todos os momentos.

Aos membros da banca examinadora: professores Édila Vilela de Resende Von Pinho, Maria Laene M. de Carvalho, Leidiane Aparecida Ferreira Queiroz, Luiz Antônio Augusto Gomes, José Márcio Rocha Ferreira.

Aos professores do Setor de Sementes, Laene, Renato e João Almir, pela disponibilidade e contribuição na minha formação.

A minha amiga e professora de inglês Eliany, pelos ensinamentos e amor a profissão.

Aos funcionários da Hortiagro Paulo, Moretto, Ná e Vicente pela ajuda e ensinamentos.

A Marli, secretária da pós-graduação e aos funcionários do Laboratório de Sementes, Antônio, Elenir, Geraldo, Dalva e D. Elza, por toda a ajuda e amizade.

Aos colegas e amigos Franklin, Gustavo, Everton, Rucyan, Jodson, Diego, Janaína, Isabel, Dayliane, Marina, Raquel, Bárbara, Vivi e Valkíria.

A todos aqueles que de maneira direta ou indireta, contribuíram para a realização desta pesquisa. Muito Obrigado!

*“O insigne na ciência da pesquisa não são apenas os resultados que se obtêm, mas sim as indagações que os resultados proveem, tornando-se a pesquisa uma ciência infinita”.*

**(M. V. P. A)**

## RESUMO

A avaliação da qualidade de sementes durante o processo de desenvolvimento é importante para a definição do momento da colheita. Neste contexto, o objetivo neste trabalho foi avaliar a qualidade de sementes de jiló durante o desenvolvimento por meio de testes fisiológicos, do padrão eletroforético de enzimas e da análise de imagens das sementes. Foram utilizados seis materiais genéticos, o JIL branco, JIL 001, JIL 005, JIL 006, H1 e H2. Os frutos foram colhidos aos 35, 40, 45 dias após a antese (DAA) e frutos colhidos aos 45 DAA e que ficaram em repouso por sete dias (45 DAAr). As sementes em cada estágio de maturação foram extraídas dos frutos e avaliadas por meio do teor de água, peso de mil sementes, condutividade elétrica, protrusão radicular, índice de velocidade de protrusão radicular, germinação, índice de velocidade de germinação, emergência de plântulas, índice de velocidade de emergência de plântulas, matéria fresca e seca de plântulas. Foram avaliadas ainda as composições químicas das sementes. Assim como a expressão das enzimas esterase (EST), isocitrato liase (ISO) malato desidrogenase (MDH), álcool desidrogenase (ADH), superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), peroxidase (PO) e da endo-  $\beta$ - mananase. A análise de imagem das sementes foi feita por meio de radiografias e com o auxílio do software ImageJ<sup>®</sup>. Os maiores valores de germinação e vigor foram observados em sementes colhidas aos 45 DAA e 45 DAAr. A expressão da enzima endo- $\beta$ -mananase aumentou com o avanço do estágio de maturação das sementes de jiló. A análise das imagens radiográficas de sementes de jiló com o auxílio do software ImageJ<sup>®</sup>, permitiu mensurar as áreas internas livres em diferentes estádios de maturação.

**Palavras-chave:** Qualidade de sementes. Germinação. Enzimas. Análise de Imagem.

## ABSTRACT

The evaluation of seed quality during the development process is important to the harvest time definition. In this context, the objective of this study was to evaluate the quality of eggplant seeds during their development through physiological tests, enzymes electrophoretic pattern and analysis seed images. Six genetic materials were used, white JIL, JIL 001 JIL 005 JIL 006, H1 and H2. Fruits were harvested at 35, 40, 45 days after anthesis (DAA) and fruits harvested at 45 DAA and which stayed at rest for seven days (45DAAr). In each maturity stage seeds were extracted from fruits and evaluated for water content, thousand seed weight, electrical conductivity, root protrusion, root protrusion velocity index, germination, germination speed index, seedlings emergency, emergency speed index seedlings, seedlings fresh and dry weight. The seeds chemical compositions also evaluated. As well as the expression of esterase (EST), isocitrate lyase (ISO) malate dehydrogenase (MDH), alcohol dehydrogenase (ADH), superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), horseradish peroxidase (PO) and endo- $\beta$ -mannanase. The seeds image analysis was done by means of X-rays with the help of software ImageJ<sup>®</sup>. The highest germination and vigor values were observed in seeds harvested at 45 DAA and 45 DAAr. The eggplant seeds expression of the endo- $\beta$ -mannanase enzyme increased as the advance of maturity stage. The eggplant seeds advanced radiographic image analysis with the help of software ImageJ<sup>®</sup> allowed the measurement the free internal areas at different stages of maturation.

**Keywords:** Seeds Quality. Germination. Enzymes. Image Analysis.

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>12</b>
<b>2</b>	<b>REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	<b>14</b>
<b>2.1</b>	<b>Características, Mercado, e importância de Jiló</b> .....	<b>14</b>
<b>2.2</b>	<b>Desenvolvimento e qualidade fisiológica de sementes</b> .....	<b>17</b>
<b>2.3</b>	<b>Maturação de sementes</b> .....	<b>20</b>
<b>2.4</b>	<b>Expressões Enzimáticas em Sementes de Jiló</b> .....	<b>25</b>
<b>2.5</b>	<b>Análise de imagens radiográficas, qualidade e germinação de sementes de jiló</b> .....	<b>29</b>
<b>3</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>32</b>
<b>3.1</b>	<b>Experimentos Laboratoriais</b> .....	<b>34</b>
<b>3.2</b>	<b>Testes para avaliação da qualidade fisiológica das sementes</b> .....	<b>35</b>
<b>3.3</b>	<b>Teor de água</b> .....	<b>35</b>
<b>3.4</b>	<b>Peso de 1.000 sementes</b> .....	<b>35</b>
<b>3.5</b>	<b>Teste de condutividade elétrica</b> .....	<b>35</b>
<b>3.6</b>	<b>Teste de protrusão da radícula, índice de velocidade de protrusão da radícula, germinação, índice de velocidade de germinação, emergência e índice de velocidade de emergência</b> .....	<b>36</b>
<b>3.7</b>	<b>Matéria fresca e seca de plântulas de jiló</b> .....	<b>37</b>
<b>3.8</b>	<b>Composição química de sementes de jiló</b> .....	<b>37</b>
<b>3.9</b>	<b>Análise estatística</b> .....	<b>38</b>
<b>4</b>	<b>ANÁLISE DE ENZIMAS</b> .....	<b>38</b>
<b>5</b>	<b>ANÁLISE RADIOGRÁFICA E TESTE DE GERMINAÇÃO</b> .....	<b>39</b>
<b>5.1</b>	<b>Mensuração da área interna livre de sementes de Jiló</b> .....	<b>40</b>
<b>6</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>41</b>
<b>6.1</b>	<b>Teor de água</b> .....	<b>42</b>
<b>6.2</b>	<b>Peso de mil sementes</b> .....	<b>43</b>
<b>6.3</b>	<b>Condutividade elétrica</b> .....	<b>44</b>
<b>6.4</b>	<b>Protrusão da radícula, índice de velocidade de protrusão da radícula, 1ª contagem de germinação, germinação, índice de velocidade de germinação, emergência e índice de velocidade de emergência</b> .....	<b>46</b>

<b>6.5</b>	<b>Matéria fresca e seca de plântulas de jiló .....</b>	<b>53</b>
<b>7</b>	<b>COMPOSIÇÃO QUÍMICA DE SEMENTES DE JILÓ .....</b>	<b>56</b>
<b>8</b>	<b>ANÁLISE DAS EXPRESSÕES ENZIMÁTICAS.....</b>	<b>60</b>
<b>9</b>	<b>ANÁLISE DE IMAGEM RADIOGRÁFICA E GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE JILÓ .....</b>	<b>76</b>
<b>10</b>	<b>CONCLUSÕES.....</b>	<b>88</b>
	<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>89</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O jiloeiro (*Solanum gilo* Raddi), originário da África e introduzido no Brasil por escravos, pertence à família Solanaceae, seu fruto é consumido verde com sementes ainda tenras.

Os frutos apresentam significativa quantidade de carboidratos, proteínas e vitaminas A, C e do complexo B e fonte de sais minerais como cálcio, fósforo e ferro (APHORTESP, 2013).

As cultivares disponíveis no mercado brasileiro são em pequeno número e compreendem, basicamente, dois tipos: um deles com fruto comprido verde-claro preferido nos mercados dos estados de Minas Gerais, Rio de Janeiro e Goiás e outro com tipo redondo verde-escuro, preferido no mercado paulista. Há também a variedade de coloração branca.

A produção e a comercialização do jiló se expandiram para outros países onde a imigração brasileira é alta. O exemplo disso é o estado de Massachusetts, nos Estados Unidos, onde a forte imigração brasileira incentivou a produção de hortaliças antes não comercializadas ali, como é o caso do jiló, da taioba e do maxixe (MANGAN et al., 2009).

O consumo de jiló tem aumentado principalmente na região sudeste do país. Em consequência disso à demanda por sementes de alta qualidade para a formação de mudas também tem aumentado.

Dados do setor de Informações de Mercado da Ceasa informou que em abril de 2010, o preço médio do jiló foi de R\$ 1,09 o quilo no atacado, com a caixa de 16 quilos sendo comercializada a R\$ 17,44. Segundo o órgão, foi apurado um aumento de 25,3% no preço do produto, se comparado com o mesmo período de março, quando era comercializado a R\$ 0,87 o quilo. O aumento foi motivado pelo crescimento da demanda pelo produto em outros estados, principalmente São Paulo e Rio de Janeiro (EMATER, 2010)

Em função da demanda por sementes de alta qualidade é imprescindível o conhecimento dos processos de formação de sementes visando à determinação do momento ideal de colheita. Por meio de estudos relacionados ao desenvolvimento de sementes é possível determinar o ponto no qual a semente é desligada da planta mãe, sem prejuízo para sua qualidade fisiológica, assim como, determinar o momento de colheita.

No início da formação das sementes, ocorrem intensas divisões e expansões celulares, seguidas por aumento progressivo da massa de matéria seca, devido à síntese e deposição de reservas, tais como carboidratos, lipídios e proteínas (BEWLEY et al., 2013). Esses processos ocorrem em organelas específicas que podem estar presentes no embrião e/ou nos tecidos de reserva, tais como endosperma ou perisperma.

O desenvolvimento dos frutos nas plantas é desuniforme, o que dificulta a definição do momento da colheita.

Em geral, o desenvolvimento do fruto e da semente ocorrem simultaneamente e de forma sincronizada. O acompanhamento do desenvolvimento das sementes é feito com base nas modificações que ocorrem em algumas características físicas e fisiológicas, como tamanho, cor do fruto, teor de água, conteúdo de matéria seca acumulada, germinação e vigor.

As sementes geralmente adquirem a máxima qualidade próxima à maturidade fisiológica, período em que ocorre o máximo acúmulo de massa seca, promovendo formação completa dos sistemas bioquímico, morfológico e estrutural. Esta etapa é variável entre espécies e, dentro da mesma espécie, e nem sempre é de fácil detecção (CARVALHO; NAKAGAWA, 2012).

Portanto, o conhecimento do processo de maturação das sementes é de fundamental importância para a orientação dos produtores de sementes, auxiliando no controle de qualidade, principalmente no que se refere ao

planejamento e a definição da época ideal de colheita, visando alta qualidade fisiológica e produtividade elevada.

A falta de informações sobre tecnologias de produção de sementes de jiló demonstra a necessidade de pesquisas visando principalmente à determinação do momento de colheita dos frutos, um fator determinante e ainda não totalmente estabelecido.

Assim, a avaliação da qualidade fisiológica por meio de testes fisiológicos e bioquímicos e de análise de imagens durante o desenvolvimento de sementes de jiló (*Solanum gilo*), torna-se importante para a definição do momento da colheita.

Neste contexto, o objetivo nesta pesquisa foi avaliar a qualidade fisiológica de sementes de jiló durante o desenvolvimento por meio de testes fisiológicos, do padrão eletroforético de enzimas e da análise de imagens.

## **2 REFERENCIAL TEÓRICO**

### **2.1 Características, Mercado, e importância de Jiló**

Originário da África e introduzido no Brasil por escravos, o jiloeiro (*Solanum gilo* Raddi) é uma hortaliça tropical exigente em calor. Pertence à família Solanaceae, seus frutos são de coloração verde-clara ou verde-escura quando imaturos, tornando-se laranja avermelhados quando maduros. É uma hortaliça de grande aceitação no mercado brasileiro, principalmente na região sudeste. A planta é herbácea, anual, muito semelhante à berinjela, mas os frutos são bem menores, arredondados ou alongados e de sabor amargo característico.

As folhas são de tamanho médio a grande, inteiras e a sua coloração, dependendo da variedade, pode variar de verde-clara a verde-escura. As flores

são hermafroditas, pois têm os dois sexos na mesma flor e são autoférteis (FILGUEIRA 2000, 2003).

A planta se desenvolve bem em condições de temperatura amena a quente e com boa disponibilidade de água durante todo o ano, mas tolera bem a seca em comparação com a berinjela. A propagação é feita através de sementes. Em geral, as mudas são formadas em bandejas especiais de isopor, em copinhos contendo um substrato ou preparadas em canteiros.

As variedades com frutos alongados ou arredondados são de coloração verde-clara, verde-escura ou intermediária entre as duas. Dentre as diversas variedades existentes destacam-se: fruto redondo verde escuro e Comprido Verde-claro (FILGUEIRA 2000).

As flores são brancas dispostas em pequenos racemos, 2 a 3 flores curtopedunculadas, porém como em geral, apenas uma se torna fecundada. Os frutos são solitários e o pedúnculo alonga-se até 5 cm de comprimento, conservando-se recurvado até a maturação. Cálice monófilo-5-laciniado, sendo que as lacínias ficam persistentes sobre o fruto e desenvolvem-se com ele. Corola rotácea 5-fida, com lacínias linear-lanceoladas e azuladas.

O fruto-baga obovóide-piriforme (forma de uma pequena berinjela), até 5 cm de diâmetro, de cor vermelho-vivo ou cinábrio, quando completamente maduro, sem máculas verdes e sempre lisas, raríssimas vezes com 1 ou 2 sulcos mais ou menos profundos. Sementes achatadas, redondas e amareladas, semelhantes às do tomate comum (CORREA, 1926; MELO; ALMEIDA, 1993; FILGUEIRA 2000, 2003).

Em 2012 no CEASA Minas no entreposto Grande BH foram comercializadas 219 toneladas de jiló, com uma porcentagem de 5% de comercialização entre outros grupos de hortaliças, superando em venda hortaliças como o pepino com (4%), tomate santa cruz (2%) e abobrinha menina (2%).

Morgado e Dias (1992) relataram que, em relação ao formato dos frutos, 61% são redondos, 20% achatados, 9,5% alongados e 9,5% ovais.

A maioria dos frutos comercializados é de cor verde-clara ou escura quando imaturos, sendo apreciados por seu sabor amargo característico e suas propriedades digestivas (CARVALHO; RIBEIRO, 2002).

Segundo (ODETOLA et al., 2004), plantas de jiló contêm flavonóides, alcalóides e esteróides e seus frutos têm propriedades antioxidantes com habilidade de abaixar o nível de colesterol. Os frutos contêm aproximadamente 92,5% de água, 1% de proteína, 0,3% de gordura e 6% de carboidrato.

O consumo desta hortaliça não se restringe apenas ao Brasil. De acordo com o Consulado Brasileiro em Boston, estima-se que mais de 250.000 brasileiros se encontram no estado americano de Massachusetts. Assim como outros grupos étnicos que moram fora de seu país de origem, os brasileiros desejam comer as hortaliças que compõem sua cultura alimentar.

Dessa forma, pesquisadores da Universidade de Massachusetts (UMass) procuraram identificar as hortaliças que os brasileiros gostariam de obter no mercado local. Em 2002, a UMass iniciou suas pesquisas sobre os vegetais da culinária brasileira. De acordo com os resultados, Minas Gerais é o estado brasileiro com maior número de imigrantes que se concentram em Massachusetts e, por essa razão, as culturas escolhidas para a pesquisa foram o jiló, maxixe, taioba, abóbora e quiabo (MANGAN et al., 2007).

Embora o jiloeiro seja cultivado em várias regiões, pesquisas relacionadas à produção e tecnologia de sementes inerentes a esta cultura são restritas. Sabe-se que a utilização de sementes de alta qualidade é fundamental para o estabelecimento de plantas no campo e para garantir alta produtividade.

Um dos fatores que interferem na qualidade de sementes é a colheita, assim conhecer as mudanças que ocorrem durante o desenvolvimento de sementes é importante para a definição do momento ideal de colheita.

Porém, de forma geral, o jiló é uma espécie pouco estudada, principalmente na área de sementes (ALVES, GODOY et al. 2012).

## **2.2 Desenvolvimento e qualidade fisiológica de sementes**

Em função da demanda por sementes de alta qualidade é imprescindível o conhecimento dos processos de formação de sementes visando à determinação do estágio de colheita. Por meio de estudos relacionados ao desenvolvimento de sementes é possível determinar o ponto no qual a semente é desligada da planta mãe, sem prejuízo para sua qualidade fisiológica, assim como, determinar o momento de colheita.

Muitos critérios já foram pesquisados para indicar o momento ideal da colheita de sementes como a mudança na cor do fruto (MIYAJIMA, 1997), o estágio de maturidade (LAWRENCE, 1960), grau de umidade (GARCIA-DIAZ ;STEINER, 2000), acúmulo dos graus-dias (BERDAHL e FRANK, 1998), ou dias após antese (LEMKE et al., 2003).

Em hortaliças de frutos carnosos, como jiló, berinjela, e tomate (DEMIR ;ELLIS, 1992a,b), melão (WELBAUM; BRADFORD, 1988) e abóbora (DEMIR; ELLIS, 1993), as sementes são viáveis com teor de água relativamente elevado, cerca de 35-40%, dentro do fruto durante o desenvolvimento e, em seguida, diminui gradualmente, enquanto a semente continua a acumular matéria seca.

A umidade de sementes de berinjela reduz progressivamente de 53% quando a matéria seca é máxima, cerca de 45% aos 50 DAA e, em seguida se mantém inalterada (DEMIR et al., 2002).

Durante o desenvolvimento das sementes há também a expressão de proteínas específicas que podem estar associadas à tolerância à dessecação,

germinação e dormência de sementes. Em algumas espécies essas proteínas já foram descritas.

De acordo com (CAIXETA, 2009) há variação na atividade de enzimas como esterase, superóxido dismutase, peroxidase, malato desidrogenase, álcool desidrogenase e endo  $\beta$  mananase, durante o desenvolvimento de sementes de pimenta habanero.

A qualidade das sementes está diretamente relacionada ao momento de colheita, quando colhidas em épocas inadequadas, imaturo ou colhidas após a completa maturidade, geralmente, possuem menor percentual de germinação e vigor, se comparadas às sementes maduras (MAZORRA et al., 2003; PÉREZ CAMACHO et al., 2012). Em geral, a maturação dos frutos coincide com o desenvolvimento das sementes com maior germinabilidade.

A qualidade fisiológica das sementes é influenciada também por outros fatores, desde a fertilização até o momento da semeadura, como: genótipo, condições ambientais durante o desenvolvimento das sementes, posição da semente na planta mãe, época e técnicas de colheita, condições de armazenamento e tratamentos pré-semeadura (BASU, 1995).

As variações das condições ambientais nas quais as sementes estão sujeitas durante os processos de maturação e armazenamento, podem interferir diretamente na qualidade fisiológica causando alterações metabólicas degenerativas, como atraso no processo germinativo, redução no crescimento das plântulas, lixiviação de solutos, mudanças na atividade enzimática e perda da compartimentalização celular, fatores estes que caracterizam a deterioração das sementes e, por consequência, acarretam problemas na produtividade das culturas (SILVA et al., 2011)

A qualidade fisiológica é adquirida durante os processos de desenvolvimento e pode ser perdida por processos deteriorativos, que podem iniciar ainda nessa fase (HALMER; BEWLEY, 1984).

De acordo com (BEWLEY; BLACK, 1994), o desenvolvimento das sementes pode ser dividido em três fases: a primeira fase, caracterizada por inúmeras divisões celulares após a fertilização do óvulo; a segunda fase, em que há o aumento no acúmulo de matéria seca no endosperma e/ou embrião; e a terceira fase, quando ocorre a dessecação ou secagem, caracterizada pela redução no teor de água da semente.

Em geral, o desenvolvimento do fruto e da semente ocorre simultaneamente e de forma sincronizada (CARVALHO; NAKAGAWA, 2000). O acompanhamento do desenvolvimento das sementes é feito com base nas modificações que ocorrem em algumas características físicas e fisiológicas, como tamanho, teor de água, conteúdo de matéria seca acumulada, germinação e vigor (DIAS, 2001).

O desenvolvimento das sementes é caracterizado por uma série de alterações físicas, morfológicas, fisiológicas e bioquímicas, que são iniciadas a partir da fecundação do óvulo (BERGER et al., 2008; HEHENBERGER et al., 2012).

No início da formação das sementes, ocorrem intensas divisões e expansões celulares, seguidas por aumento progressivo da massa de matéria seca, devido à síntese e deposição de reservas, tais como carboidratos, lipídios e proteínas (BEWLEY et al., 2013). Esses processos ocorrem em organelas específicas que podem estar presentes no embrião e/ou nos tecidos de reserva, tais como endosperma ou perisperma.

O início do desenvolvimento das sementes é caracterizado pelo acúmulo relativamente lento de matéria seca, pois nessa fase predominam a divisão e a expansão celulares, responsáveis pela constituição da estrutura adequada para receber as substâncias transferidas da planta mãe. Vencida essa etapa o fluxo de acúmulo de matéria seca é intensificado até atingir o máximo; nesse momento, em que a identificação precisa é relativamente complexa, considera-se que as

sementes desligam-se fisiologicamente da planta mãe, passando a atuar como indivíduos independentes (MARCOS FILHO, 2005).

Durante a maturação das sementes, mecanismos de proteção são iniciados para preservar a integridade dos componentes celulares quando a água for removida durante a secagem (HOEKSTRA et al., 2001). As sementes entram em estado de repouso, permitindo assim sua manutenção e sobrevivência sob uma gama de condições ambientais (LEPRINCE; BUITINK, 2010).

A colheita no momento ideal pode minimizar os efeitos de deterioração que são causados pela maior permanência da semente no campo. Evita, também, a colheita precoce, para reduzir a quantidade de sementes imaturas (VIDIGAL et al., 2008).

### **2.3 Maturação de sementes**

A maturação das sementes é um dos principais fatores que determinam a qualidade destas em olerícolas, o que é um pré-requisito para a germinação e emergência das plântulas. Vários estudos têm demonstrado que a ocorrência da máxima qualidade das sementes durante o desenvolvimento é diferente entre as espécies de plantas (PIETA FILHO; ELLIS, 1991; DEMIR; ELLIS, 1992, 1993).

O processo de maturação tem início logo com a fertilização do óvulo. A partir, ocorre uma série de transformações morfológicas e fisiológicas, principalmente aquelas envolvidas na aquisição do potencial germinativo.

No início da formação da semente, a umidade é alta (de 70% a 80%), posteriormente, inicia-se uma lenta diminuição do grau de umidade, cujo período varia entre as espécies e as cultivares. Ocorre, então, uma desidratação, até que atinja a maturidade fisiológica. A partir daí, podem ocorrer variações na

umidade por influências do clima. A tendência da semente é entrar em equilíbrio higroscópico com o meio (GRESTA et al., 2007).

Segundo (CARVALHO; NAKAGAWA, 2000), o alto teor de água nos estádios iniciais de formação das sementes é necessário para que ocorram a translocação e a deposição do material fotossintetizado nos tecidos de reserva.

As sementes, à semelhança dos demais órgãos da planta, apresentam composição química bastante variável. Durante o seu desenvolvimento, acumulam reservas de nitrogênio, carboidratos, lipídios e minerais (JACOBNETO; ROSSETO, 1998).

O conhecimento da composição química é de interesse para a tecnologia de sementes, pois influi tanto no vigor quanto no potencial de armazenamento das mesmas. Quanto maior o teor de reservas das sementes, maior será o vigor das plântulas resultantes (ROSSETTO et al., 1994).

As sementes atingem tamanho máximo em um período curto com relação à duração do processo de maturação. Este rápido crescimento é decorrente da intensa multiplicação e expansão celular nas primeiras fases do desenvolvimento. Em algumas espécies pode ocorrer redução do tamanho no final do processo devido ao período de rápida e intensa desidratação (CARVALHO; NAKAGAWA, 2012).

O conteúdo de água se mantém elevado enquanto as sementes acumulam reservas; a desidratação é acelerada quando ocorre o máximo acúmulo de matéria seca (MARCOS FILHO, 2005).

A maturidade fisiológica de sementes tem sido definida como a ocasião em que cessa o fluxo de substâncias fotossintetizadas da planta para a semente, ou seja, quando o conteúdo de matéria seca é máximo (CARVALHO; NAKAGAWA, 2000). Esta característica é melhor e mais seguro indicativo da ocorrência da maturidade fisiológica. Em geral, o ponto máximo de germinação e vigor ocorrem, quando a semente atinge o máximo conteúdo de matéria seca.

O reconhecimento prático do ponto de maturidade fisiológica assume grande importância, pois caracteriza o momento em que a semente deixa de receber nutrientes da planta e passa a sofrer influência do ambiente (NASCIMENTO et al., 2006).

Informações sobre a maturação fisiológica das sementes possibilitam a realização da colheita no momento adequado (SHARMA; SARDANA; KANDHOLA, 2013), o que pode influenciar na qualidade. O ponto ideal de colheita está associado ao estágio de maturidade em que as sementes se encontram (DEMIR; ASHIROV; MAVI, 2008). Na maturidade fisiológica tem-se a máxima viabilidade e vigor (NAUTIYAL; MISRA; ZALA, 2010).

Após a maturidade fisiológica, as sementes podem ficar sujeitas às alterações de natureza física, bioquímica e fisiológica que promovem a redução da qualidade (SEDIYAMA et al., 2012).

Por outro lado, segundo (OLASOJI et al., 2012), a realização da colheita antecipada (antes da maturidade fisiológica), reduz drasticamente a produção, a qualidade e a longevidade, por apresentar um grande número de sementes com as estruturas essenciais parcialmente desenvolvidas.

Portanto, um aspecto primordial em qualquer cultura é a busca da determinação correta da maturidade fisiológica e o momento ideal para a realização da colheita, a fim de se obter lotes com a máxima viabilidade e vigor.

Após a colheita, as sementes ortodoxas devem permanecer úmidas o menor tempo possível, haja vista que a alta umidade é o fator que mais influencia a qualidade fisiológica (PESKE, 2006). A intensidade respiratória nessa fase mantém-se alta, o que aumenta as taxas de degradação de substâncias de reservas e liberação de grande quantidade de calor, que deixarão de ser usadas para nutrir o eixo embrionário (BEWLEY et al., 2013).

Em hortaliças de frutos carnosos, como jiló, berinjela e tomate, a maturidade das sementes geralmente coincide com o início da mudança de

coloração dos frutos. Vale salientar ainda que as sementes podem atingir a maturidade após a colheita dos frutos, quando estes passam por um período de descanso ou repouso, que varia de 7 a 10 dias, em local fresco e ventilado, antes da extração das sementes. Neste caso, sementes imaturas ainda presentes no fruto completam o seu desenvolvimento, resultando em melhor qualidade fisiológica e maior rendimento (DIAS, 2001).

As fases de desenvolvimento dos frutos são caracterizadas por alterações, tanto na estrutura como na fisiologia e na bioquímica das células que culminam com a maturação, o amadurecimento e finalmente a senescência. O amadurecimento constitui a fase final da maturação e esta fase é caracterizada pela alteração da cor, consistência da polpa, desenvolvimento do aroma e do sabor dos frutos.

Segundo Nascimento e Freitas (2006), em espécies cujas sementes estão contidas em frutos carnosos, como no jiló, os valores máximos de germinação, vigor e acúmulo de matéria seca ocorrem quando as sementes atingem a maturidade fisiológica. A partir desse ponto, a germinação e o vigor geralmente declinam.

No entanto, nem sempre o máximo acúmulo de matéria seca coincide com a máxima qualidade fisiológica da semente, o que foi constatado em experimentos com pimentão (Oliveira et al., 1999) e tomate (KNOW e BRADFORD, 1987; DIAS et al., 2006).

Oliveira et al. (1999), concluíram que, aos 55 DAA, as sementes de pimentão atingiram a maturidade fisiológica, e o maior peso de matéria seca, coincidindo com o melhor ponto para a colheita.

Em algumas espécies de *Capsicum*, sabe-se que o ponto de maturidade fisiológica ocorre por volta de 55 a 65 dias após a antese. Gonçalves (1997) verificou que o ponto de maturidade fisiológica de sementes de pimentão (*C. annuum* L.) ocorreu a partir dos 55 dias após a antese, ou seja, quando os frutos

estavam com 100 dias de idade. Nesse estágio de maturação, foram observados valores máximos de vigor, peso seco e germinação das sementes.

Sanchez et al. (1993), estudando a influência da maturidade do fruto, armazenamento e tratamento de maturação pós-colheita na qualidade de sementes de pimentão, concluíram que as sementes extraídas de frutos maduros e excessivamente maduros apresentaram maior peso seco e maior porcentagem de germinação, sendo que estes frutos foram colhidos aos 50 e 60 dias após a antese, respectivamente.

Em pimenta (*Capsicum annuum L.*) por meio de avaliações de germinação, vigor e sistemas enzimáticos, foi observado que sementes provenientes de frutos colhidos aos 60 e 70 dias após a antese (DAA) sem repouso apresentam resultados superiores às sementes colhidas aos 40 e 50 DAA sem repouso e mesmo após o repouso das mesmas quando se aumentou o vigor e a germinação, os valores não se aproximaram dos valores obtidos em colheitas realizadas aos 60 e 70 DAA (VIDIGAL et al., 2009).

Dias et al. (2006) demonstraram que sementes de tomate de diferentes estágios de maturidade têm similar qualidade fisiológica. Os autores observaram ainda que no armazenamento pós-colheita houve aumento da germinação e vigor das sementes.

Em estudo realizado por (VILELA, 2012) na cultivar de berinjela Embu, a maturidade fisiológica das sementes encontra-se no intervalo de 68 a 82 dias após a antese e o período de máxima qualidade fisiológica, melhor ponto de colheita, foi aos 82 dias após a antese, quando as mesmas apresentam melhor germinação e vigor, considerando, principalmente, a capacidade de gerar plântulas normais. A conclusão foi válida tanto para sementes frescas quanto para sementes secas.

Em estudo realizado por (SANTOS et al., 2015), maiores valores de germinação e vigor de sementes de pimenta habanero foram observados em

sementes extraídas de frutos colhidos aos 70 DAA e submetidos ao repouso por sete dias.

Poucos estudos foram encontrados na presente revisão de literatura sobre o desenvolvimento e maturação fisiológica de sementes de jiló. Fazendo-se necessárias pesquisas científicas no âmbito fisiológico e bioquímico, desde a produção de mudas, frutos e sementes de boa qualidade.

#### **2.4 Expressões Enzimáticas em Sementes de Jiló**

As isoenzimas são produtos da expressão gênica e, conseqüentemente, altamente influenciadas pelo ambiente, pois os genes que controlam a sua expressão manifestam-se em determinados estádios do desenvolvimento e em órgãos e tecidos específicos, ou, ainda, sob um determinado estímulo (RAMÍREZ et al., 1991). De maneira simplificada, as isoenzimas podem ser consideradas variações de uma dada enzima, dentro de um organismo, que apresentam uma mesma especificidade de substrato.

De acordo com (PEIRCE e BREWBAKER, 1973), a intensidade das bandas e o perfil isoenzimático são específicos para uma determinada parte da planta, tecido e estágio de desenvolvimento.

As enzimas são proteínas com função específica de acelerar reações químicas. Elas aceleram a velocidade das reações químicas em sistemas biológicos, quando comparadas com as reações correspondentes não catalisadas.

Segundo Taiz e Zeiger (2009), as enzimas catalisam praticamente todas as reações bioquímicas do metabolismo celular, acelerando a velocidade das reações, sem, no entanto, participar delas como reagente ou produto. Atuam também como reguladoras do complexo de reações, sendo consideradas como unidades funcionais do metabolismo celular.

A análise de isoenzimas por meio de técnicas de eletroforese é utilizada em estudos relacionados com a regulação gênica, bioquímica e ontogênica e também em relação às mudanças na qualidade fisiológica de sementes (ISTA, 1993).

Dentre as principais alterações envolvidas na deterioração, destaca-se o esgotamento das reservas; a alteração da composição química, como a oxidação dos lipídios, das enzimas envolvidas na deterioração de sementes e a quebra parcial das proteínas; a alteração nas membranas celulares, com redução da integridade, aumento da permeabilidade e desorganização das membranas celulares (IBRAHIM; ROBERTS, 1983).

A perda da viabilidade das sementes no processo de deterioração é precedida por redução na capacidade de sintetizar proteínas, devido ao declínio de componentes como ribossomos, RNA mensageiro e alterações na transcrição e na tradução, com o envelhecimento das sementes (VIEIRA, 2002) e esta associada a degradação de macromoléculas, tais como: proteínas, lipídeos, ácidos nucleicos e, conseqüentemente, a diminuição de atividades bioquímicas de sementes (COOLBEAR, 1995).

Com a deterioração das sementes, as membranas tornam-se fracas, as enzimas perdem a atividade catalítica e os cromossomos sofrem mutações. Muitas mudanças bioquímicas ocorrem nas sementes que estão deteriorando, sendo difícil discriminar entre os eventos primários e secundários.

O mecanismo de degradação de membranas e macromoléculas durante o envelhecimento tem sido objeto de pesquisas nas últimas décadas. Uma variedade de oxidações enzimáticas e espontâneas pode ocorrer para gerar radicais livres, que podem causar a destruição de grandes polímeros, incluindo os lipídios de membranas. Os radicais livres são grupo de átomos com um elétron não pareado, o que os tornam altamente reativos e instáveis.

Os mais importantes nesse contexto são os radicais hidroxila (OH), superóxido ( $O_2^-$ ) e o peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ). Uma vez, presente na célula, esses radicais livres podem iniciar reações oxidativas em cadeia, altamente danosas, especialmente com ácidos graxos polinsaturados, formando hidroperóxidos de lipídios (COOLBEAR, 1995; DESAI; KOTECHA; SALUNKHE, 1997). Em sementes colhidas precocemente pode haver um aumento significativo da frequência respiratória e a consequente deterioração (GALVÃO et al., 2014).

Pesquisadores têm demonstrado que proteínas podem ser bons marcadores do estágio de deterioração em sementes.

As superóxidos dismutase (SOD) são um grupo de enzimas encontradas no citoplasma celular e na matriz mitocondrial. Estas catalisam a reação de dismutação de radicais superóxidos livres ( $O_2^-$ ) produzidos em diferentes locais na célula, para oxigênio molecular ( $O_2$ ) e peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) (SCANDÁLIOS, 1993).

De acordo com Halliwell e Gutteridge (1989), a SOD exerce um importante papel em proteger a célula contra os efeitos deletérios de radicais superóxidos livres, sendo considerada chave na regulação de concentrações intracelulares de radicais superóxidos e peróxidos.

O principal papel da SOD é transformar o superóxido em peróxido de hidrogênio cujo composto é muito menos reativo. Porém, o acúmulo de peróxido na célula também é tóxico a ela, podendo levá-la à morte, principalmente na presença de ferro (EATON, 1991).

Para reduzir o efeito fitotóxico do peróxido de hidrogênio na célula, as enzimas catalase e peroxidase começam a atuar. A catalase (CAT) é uma enzima capaz de realizar a desintoxicação de  $O_2^-$  e  $H_2O_2$ . Ela está presente nos peroxissomas das células, decompondo o peróxido de hidrogênio em oxigênio molecular e água, sem a produção de radicais livres. Em outros compartimentos,

como no citosol e na matriz mitocondrial, o peróxido de hidrogênio é removido pelas peroxidases (MCDONALD, 1999).

Danos oxidativos pode ser minimizados pela ação de enzimas removedoras de radicais livres, como a superóxido dismutase, a catalase e a peroxidase, que integram o sistema de defesa antioxidante presente em sementes (KRANNER; BIRTIC, 2005; SPANÒ et al., 2011).

A superóxido dismutase realiza a dismutação do radical superóxido ( $O_2^-$ ) a peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ). As enzimas catalase e peroxidase, por sua vez, promovem a conversão do  $H_2O_2$  a água e oxigênio molecular, ambas não danosas às células (MITTLER, 2002).

A enzima malato desidrogenase (MDH) apresenta importantes funções fisiológicas dentro da célula, como enzima do ciclo de Krebs, além de atuar como papel central na maioria das rotas bioquímicas da célula. A enzima MDH, catalisa a conversão de malato em oxalacetato, tendo uma importante função de produção de NADH para o Ciclo de Krebs e geração de oxalacetato para biossínteses de aminoácidos.

A enzima catalase (CAT), está envolvida nos processos de remoção de radicais livres e a avaliação da sua atividade serve de indicativo da qualidade fisiológica das sementes. A função da CAT é catalisar a conversão do peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) em água ( $H_2O$ ), protegendo as células de danos oxidativos (SCANDALIOS, 2005).

Segundo (SANTOS; MENEZES e VILLELA, 2004), a atuação da esterase (EST) está associada com as reações de hidrólise de ésteres, se correlacionando com o metabolismo de lipídios.

Em culturas como a alface e café, em que as pesquisas já estão mais elucidadas, a endo- $\beta$ -mananase é apontada como chave no processo de germinação, tendo influência na velocidade de germinação, por promover o enfraquecimento das paredes celulares do endosperma (SILVA et al., 2004).

Veiga et al. (2007), observaram em café, maior atividade da enzima endo- $\beta$ -mananase e maior potencial fisiológico em sementes de frutos colhidos nos estádios mais avançados de desenvolvimento em relação aos estádios mais precoces (TUNES et al., 2011).

## **2.5 Análise de imagens radiográficas, qualidade e germinação de sementes de jiló**

Avanços na área de produção e tecnologia de sementes têm ocorrido constantemente. Análises que permitam avaliações rápidas e seguras têm sido buscadas para uso em programas de controle de qualidade de sementes.

A tecnologia de sementes tem evoluído constantemente nos últimos anos, com isso, o potencial fisiológico segue o mesmo ritmo impulsionado pelos avanços tecnológicos influenciados pela pesquisa. Constatou-se, porém que no processo de formação das sementes, colheita, transporte e beneficiamento, várias injúrias são ocasionadas à semente. Para identificar quais as partes da semente são mais afetadas, novos testes e técnicas surgem constantemente, proporcionando cada vez mais exatidão nas análises realizadas (LIMA et al., 2013).

Em razão do que foi exposto surgiram os testes de vigor (SCHUCH et al., 2013). O vigor de sementes reflete um conjunto de propriedades que determinam o potencial dos lotes, com germinação aceitável, para a emergência rápida e uniforme de plântulas, sob ampla variação de condições de ambiente (TEKRONY, 2003).

Atualmente, a análise de imagens de sementes e plântulas tem-se mostrado eficiente para a avaliação dos componentes fisiológicos e físicos de sementes, os quais influenciam na qualidade dos lotes (SILVA et al., 2013).

A análise de sementes é considerada uma atividade dinâmica constantemente evoluída, caracterizada pelas melhorias contínuas do

desenvolvimento de processos e padronização. Para (GUEDES et al., 2011), a padronização desses métodos deve ser constantemente reavaliada mediante aplicação de testes de referência, de testes alternativos e da determinação de novas metodologias.

A análise de sementes por meio das imagens radiográficas é uma alternativa relativamente recente para classificar os diversos aspectos das sementes, como a sua morfologia interna, danos mecânicos, danos por insetos, entre outros. Neste sentido, a captura e processamento da imagem radiografada, tem permitido o estabelecimento de relações entre integridade, morfologia e determinação do potencial fisiológico das sementes (MARCOS FILHO et al., 2010).

Com isso, um dos requisitos básicos para a identificação de problemas associados com o potencial fisiológico de sementes é a averiguação da sua morfologia interna. Estudos dirigidos para avaliação da morfologia interna de sementes têm sido executados por meio da técnica de análise de imagens. Dentre os métodos utilizados para esta finalidade, destaca se o teste de raios X (GOMES JUNIOR et al., 2012).

Vários autores descrevem a importância da alta qualidade da semente sendo esta determinante da produção da planta no campo. O grau de maturação das sementes influencia sua qualidade, sendo que as sementes imaturas possuem baixo vigor e poder germinativo (ALVARENGA et al., 1984), (CARVALHO et al., 2009).

Definir o ponto de maturidade fisiológica de sementes é importante para associa-la ao momento de colheita. Para isto é importante avaliar a qualidade fisiológica das sementes. Estas avaliações geralmente têm sido realizadas por meio de testes de germinação e vigor. No entanto, a técnica de raios X tem sido apontada como promissora para avaliação da qualidade de sementes.

A primeira pesquisa relatada na literatura sobre a técnica de raios X para avaliação de sementes foi realizada em 1953 com espécies de coníferas por (SIMAK e GUSTAFSSON, 1953). O teste de raios X consiste na análise radiográfica da estrutura interna das sementes, por meio de sua exposição a uma fonte de baixa energia de raios X. Ao atravessarem as sementes e atingirem o filme, os raios permitem a formação de uma imagem caracterizada por diferentes níveis de cinza.

O princípio da técnica é definido pela absorção de raios X em diferentes quantidades pelos tecidos das sementes, em função de sua estrutura, composição e densidade, além do período de exposição à radiação (ISTA, 2004).

O uso de análise de imagens para a avaliação do potencial fisiológico de sementes pode contribuir para a redução das subjetividades das análises, pois elimina o erro humano, além de tornar o processo rápido e com isso mais eficiente. A análise de imagens de plântulas e de sementes vem se destacando neste sentido. Resultados promissores têm sido relatados na literatura para diversas espécies, porém para sementes de solanáceas, como as de jiló, ainda são escassas as informações.

Além de todas estas possibilidades de uso, o teste de raios X tem sido realizado com sucesso para relacionar a morfologia interna da semente com a germinação ou a morfologia de plântulas de tomate (VAN DER BURG et al., 1994), pimentão (GAGLIARDI; MARCOS FILHO, 2010; DELL'ÁQUILLA, 2007), berinjela (SILVA et al., 2012), melão, abóbora e melancia (GOMES JÚNIOR et al., 2012), *Acca sellowiana* (SILVA et al., 2013), abóbora (SILVA et al., 2014).

Porém, na maioria dos casos, essa avaliação é realizada de forma visual, sendo necessários parâmetros mais precisos para desenvolver modelos mais consistentes de avaliação, para definir categorias de extensão do

desenvolvimento embrionário ou espaço livre no interior das sementes (MARCOS FILHO et al., 2010).

Na literatura, não foram encontrados estudos que relacionem a área interna por imagens de raios X com o estágio de maturação e qualidade de sementes de jiló (*Solanum gilo*).

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi instalado em julho de 2014 no Centro de desenvolvimento e transferência de tecnologia da UFLA / na Empresa Hortiagro Sementes Ltda., localizada no município de Ijaci, MG, a 14 km de Lavras, MG, nas coordenadas 21°14'16" de latitude Sul, 45°08'00" de longitude e altitude média de 918 metros.

Em uma primeira etapa do estudo, em casa de vegetação, foram formadas mudas de jiló para a instalação do experimento e produção de sementes.

Para isso as sementes de jiló (*Solanum gilo*), foram semeadas em bandejas de "isopor" com 128 células, com substrato comercial Tropstrato HA – Hortaliças e coberto com vermiculita. Quarenta dias após a semeadura foi realizado o transplante das mudas para estufa.

Foram utilizados seis materiais genéticos comerciais, o JIL 001, JIL 006, JIL branco e o cultivar JIL – 005 (doador de pólen) e dois híbridos H1 e H2, oriundos dos cruzamentos entre o JIL – 005 (♂) X JIL – 001 (♀) e JIL – 005 (♂) X JIL – 006 (♀). Os cruzamentos foram feitos manualmente, após a emasculação dos parentais femininos.

No Quadro 1 estão apresentados os materiais genéticos das cultivares e linhagens, assim como suas características, sendo que estes materiais foram

utilizados durante o estudo para a produção de sementes e suas respectivas análises.

**Quadro 1** - Materiais genéticos e suas respectivas características

<b>Genótipos</b>	<b>Característica</b>
JIL – 005	Comprido verde claro (CVC)
JIL – 006	Comprido verde claro (CVC)
JIL – 001	Redondo verde escuro (RVE)
JIL Branco	Comprido branco (CB)
(H1) JIL – 005 (♂) X JIL – 001 (♀)	Redondo verde escuro (RVE)
(H2) JIL – 005 (♂) X JIL – 006 (♀)	Comprido verde claro (CVC)

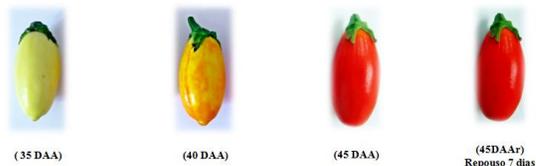
As mudas foram transplantadas em estufa quando apresentaram quatro folhas definitivas. O solo foi preparado e as correções foram feitas de acordo com a análise química do mesmo. A irrigação utilizada foi a de gotejamento.

A adubação de cobertura, assim como, os demais tratamentos culturais foram realizados de acordo com os recomendados para a cultura (TORRES et.al., 2003).

Durante a fase de florescimento, após a emasculação e a polinização manual para produção de híbridos, as flores foram etiquetadas diariamente, no dia da antese, até se obter o número de frutos que garantisse a quantidade de sementes suficiente para todas as análises de cada tratamento.

Foram realizadas colheitas de frutos aos 35, 40, 45 dias após a antese (DAA) da primeira florada. A metade do número de frutos colhidos aos 45 DAA ficou em repouso por sete dias (45DAAr) em local fresco e ventilado, totalizando 24 tratamentos (seis materiais genéticos e 4 estádios de desenvolvimento dos frutos).

Em cada ponto de colheita (estádio de desenvolvimento) os frutos apresentavam-se com as seguintes colorações (verde, laranja, vermelho e vermelho intenso):



O experimento foi instalado em delineamento em blocos casualizados (DBC) com 24 tratamentos e três repetições, onde cada parcela foi composta de 1 linha de 6 metros de comprimento com 10 plantas, espaçadas 1 metro entre linhas e 0,60 m entre plantas.

As sementes dos frutos colhidos aos 35DAA, 40DAA e 45 DAA, e a dos frutos colhidos aos 45 DAA e submetidos a sete de dias repouso (45DAAr), foram extraídas. As sementes foram beneficiadas e lavadas em água corrente.

### 3.1 Experimentos Laboratoriais

A avaliação da qualidade das sementes foi realizada no Laboratório Central de Sementes do Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras (UFLA), em Lavras, MG.

Após a extração manual foi avaliado o teor de água das sementes, na sequência, sementes submetidas aos diferentes tratamentos foram secadas em estufa de circulação de ar, a 35 °C, até aproximadamente 8% de teor de água.

### **3.2 Testes para avaliação da qualidade fisiológica das sementes**

A qualidade das sementes de jiló foi avaliada por meio dos testes de teor de água, peso de mil sementes, condutividade elétrica, protrusão da radícula, índice de velocidade de protrusão da radícula, germinação, índice de velocidade de germinação, emergência, índice de velocidade de emergência de plântula, peso de massa seca e fresca de plântulas. Foram avaliadas ainda as expressões das enzimas catalase, esterase, peroxidase, superóxido dismutase, álcool desidrogenase, malato desidrogenase, isocitrato liase e a endo-  $\beta$  -mananase, além de análises de imagem.

### **3.3 Teor de água**

O teor de água das sementes foi determinado antes da instalação dos experimentos pelo método de estufa a 105 °C, durante 24 horas, utilizando-se duas subamostras de 1 grama para cada tratamento, conforme as Regras para Análise de Sementes – RAS (BRASIL, 2009). Os resultados foram expressos em porcentagem.

### **3.4 Peso de 1.000 sementes**

O peso de 1.000 sementes foi calculado por meio da pesagem de 8 repetições de 100 sementes secas (8% de umidade) de cada tratamento, utilizando-se uma balança com precisão de três casas decimais (BRASIL, 2009).

### **3.5 Teste de condutividade elétrica**

O teste de condutividade elétrica foi conduzido no sistema de massa com oito repetições de 50 sementes, as quais foram pesadas com precisão de

duas casas decimais e, em seguida, colocadas em copos plásticos descartáveis com 25 mL de água destilada.

Após 24 horas de embebição em água deionizada à temperatura de 25 °C, a condutividade elétrica foi determinada com auxílio de um condutivímetro (Digimed<sup>®</sup>) com resultados expressos em  $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$ , de acordo com o método descrito por Panobianco e Marcos Filho (1998).

### **3.6 Teste de protrusão da radícula, índice de velocidade de protrusão da radícula, germinação, índice de velocidade de germinação, emergência e índice de velocidade de emergência**

O teste de germinação e protrusão de radícula foram realizados com oito repetições de 50 sementes, semeadas sobre duas folhas de papel mata borrão umedecidas com água na proporção de 3 vezes o peso do substrato seco, em caixas plásticas tipo gerbox.

As sementes foram mantidas em câmaras germinadoras tipo BOD sob regime alternado de temperatura e luz, sendo 20 °C/16 horas no escuro e 30 °C/8 horas na presença de luz.

As avaliações foram realizadas aos 7 e 14 dias após a semeadura (BRASIL, 2009). Os resultados foram expressos em porcentagem de plântulas normais para germinação e radículas protrusas. Para os cálculos do índice de velocidade de germinação e de protrusão de radícula, foram feitas leituras diárias do número de plântulas normais e de raízes protrundidas, respectivamente. O cálculo foi feito segundo (MAGUIRE, 1962).

Para a emergência foram utilizadas quatro repetições de 50 sementes as quais foram semeadas em substrato comercial Tropstrato HA Hortaliças colocados em bandejas de “isopor” de 128 células. As bandejas foram mantidas em casa de vegetação à temperatura de 25 °C a 30 °C e as irrigações foram feita

diariamente. Foram também realizadas avaliações diárias a partir do início da emergência, computando-se o número de plântulas com as folhas cotiledonares acima do solo até os 14 dias. O cálculo foi feito por meio da porcentagem de plântulas normais aos 14 dias. Para o índice de velocidade de emergência, os cálculos foram feitos segundo (MAGUIRE, 1962).

### **3.7 Matéria fresca e seca de plântulas de jiló**

As plântulas frescas provenientes do experimento de emergência com duas folhas definitivas (10 plântulas por tratamento) foram pesadas em balança de precisão 0,0001g, sendo colocadas em estufa de circulação forçada de ar, por 24 horas, a 70 °C até a estabilização de massa. O cálculo da porcentagem de matéria seca de plântulas foi feito de acordo com a relação do peso de matéria seca final e o peso inicial fresco das plântulas. Para o cálculo de matéria fresca (VIEIRA; CARVALHO, 1994).

### **3.8 Composição química de sementes de jiló**

A determinação da composição química foi realizada no Laboratório de Produtos Vegetais, localizado no Departamento de Ciências dos Alimentos da UFLA. As sementes foram moídas e para cada tratamento foram utilizadas três repetições de cada tratamento. As determinações realizadas foram:

Lipídios - Foram pesados três gramas das amostras secas, e colocados em cartucho de papel de filtro. Posteriormente, o cartucho foi acoplado em aparelho do tipo Soxhlet, juntamente com o balão de fundo chato, previamente secado a 105 °C e pesado. Foram adicionados 200 ml de éter etílico e levado a extração contínua por 8 horas. Finalizado o período de extração, o cartucho foi removido e o éter destilado. Após destilação, o resíduo que contém o óleo foi levado à estufa a 105 °C por uma hora, resfriado em dessecador e pesado em

balança de precisão. Os resultados foram expressos em porcentagem, conforme AOAC (1995).

Proteínas – A fração protéica foi obtida segundo o método Kejedahl, descrito pela AOAC (1990).

Carboidratos – os carboidratos foram determinados pelo cálculo de diferença entre a porcentagem total e o somatório das frações de água, lipídios, proteínas, fibras e resíduo mineral fixo AOAC (1990).

### **3.9 Análise estatística**

Foi realizada a análise de variância para todos os testes, utilizando o programa estatístico Sisvar (FERREIRA, 2008). Para a comparação entre as médias, foi empregado o teste de Scott-Knott (1974), a 5% de probabilidade.

## **4 ANÁLISE DE ENZIMAS**

Foram utilizadas duas amostras de 200 sementes de cada tratamento e armazenadas à temperatura de -86°C.

Para análise eletroforética de enzimas, as sementes foram trituradas na presença de PVP e nitrogênio líquido em cadinho de porcelana sobre gelo e posteriormente armazenado à temperatura de -86 °C.

Para a extração das enzimas, foi utilizado o tampão Tris HCL 0,2M pH 8,0 + (0,1% de mercaptoetanol), na proporção de 250µL por 100mg de sementes. O material foi homogeneizado em vortex e mantido em overnight, em geladeira, seguido de centrifugação a 14.000 rpm por 60 minutos, a 4°C.

A corrida eletroforética ocorreu em sistema de géis de poliacrilamida a 7,5% (gel separador) e 4,5% (gel concentrador). O sistema gel/eletrodo utilizado

foi o Tris-glicina pH 8,9 foram aplicados 50 µL do sobrenadante das amostras no gel e a corrida eletroforética efetuada a 120 V por 5 horas.

Terminada a corrida, os géis foram revelados para as enzimas catalase, esterase, peroxidase, superóxido dismutase, álcool desidrogenas, malato desidrogenase, isocitrato liase, e a endo-β mananase conforme (ALFENAS et al., 2006).

A mensuração do diâmetro dos halos em duas direções com auxílio do *software* ImageJ<sup>®</sup> resultando em uma média.

Para o cálculo da atividade da enzima as sementes foram embebidas por 12 horas a 25 °C. Foi feita uma comparação com a curva padrão gerada pela endo-β-mananase comercial de *Aspergillus niger* (Megazyme). O cálculo da atividade da enzima endo-β-mananase foi realizado segundo Downie (1994).

As enzimas analisadas de cada tratamento por meio de padrões eletroforéticos, catalase, esterase, superóxido dismutase, peroxidase, malato desidrogenase, álcool desidrogenase, e isocitrato liase foram quantificadas com o auxílio do *software* ImageJ<sup>®</sup>, na unidade de mm<sup>2</sup>.

## **5 ANÁLISE RADIOGRÁFICA E TESTE DE GERMINAÇÃO**

Para as análises radiográficas, foram utilizadas quatro repetições de 50 sementes de cada tratamento, colocadas sobre uma fita adesiva transparente (dupla face) e fixadas em lâmina plástica transparente; as sementes de cada tratamento foram numeradas de acordo com a posição ocupada na lâmina, de maneira que pudessem ser identificadas em determinações posteriores.

A lâmina plástica foi colocada no interior do equipamento digital de raios X, marca Faxitron®, modelo MX-20 DC-12, e submetida à radiação por 12 segundos a 26 kV. Em seguida, as imagens geradas foram salvas no disco rígido do computador para sua análise.

As sementes foram retiradas da lâmina transparente e transferidas para caixas acrílicas, tipo gerbox, sendo dispostas na mesma ordem em que estavam nas imagens de raios X. Após esse procedimento, foram conduzidas ao teste de germinação.

O teste de germinação foi realizado sobre duas folhas de papel mataborrão umedecido com água destilada na proporção equivalente a 2,5 vezes a massa do papel e as sementes distribuídas em gerbox nas mesmas posições em que se encontravam nas imagens radiográficas e mantidas em câmaras germinadoras tipo BOD sob regime alternado de temperatura e luz, sendo 20 °C/16 horas no escuro e 30 °C/8 horas na presença de luz. A contagem foi feita aos 14 dias após a semeadura (BRASIL, 2009).

As plântulas normais (PN), anormais (PA) e as sementes mortas (SM), foram fotografadas com auxílio de uma câmera fotográfica digital Canon SX50<sup>®</sup>. As imagens foram salvas no disco rígido do computador para posterior análise.

### **5.1 Mensuração da área interna livre de sementes de Jiló**

As imagens das sementes radiografadas foram salvas no formato JPEG e analisadas com o *software* ImageJ<sup>®</sup>, adaptando-se a metodologia de análise anteriormente utilizada em outras pesquisas para medição de área foliar e área interna de sementes (SOUZA NETO, 2009), (SILVA et al., 2013).

As etapas da análise no programa ImageJ<sup>®</sup> foram assim executadas: abertura da imagem, e sua conversão para o tipo escala de cinza em 8 bits ; deve-se proceder à seleção da área de interesse para a análise, seleção da escala para a calibração da imagem, sendo que neste trabalho foi considerado o valor em milímetros ao quadrado (mm<sup>2</sup>) de cada imagem como referência, que foi de 231 X 210 mm; na escolha dos parâmetros a serem mensurados, foram

escolhidos como a área do objeto, o perímetro, o desvio padrão (*standart deviation*) e a área percentual (*fraction area*), a qual representa as áreas livres internas das sementes; Foi realizado o ajuste de cores, para a separação das áreas de interesse dos demais constituintes da imagem; e por fim, foi efetuada a mensuração dos parâmetros e a obtenção dos resultados. Todos os procedimentos foram executados manualmente para cada semente.

A área livre da cavidade interna das sementes de cada tratamento (n = 200) foi calculada por meio do software ImageJ® em quatro repetições de 50 sementes.

Como poucas sementes tiveram danos devido ao processo de beneficiamento, em função da extração manual, optou-se por avaliar a relação entre as médias de área livre da cavidade interna de sementes, da germinação, de plântulas normais, anormais e sementes mortas de cada tratamento.

## **6 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

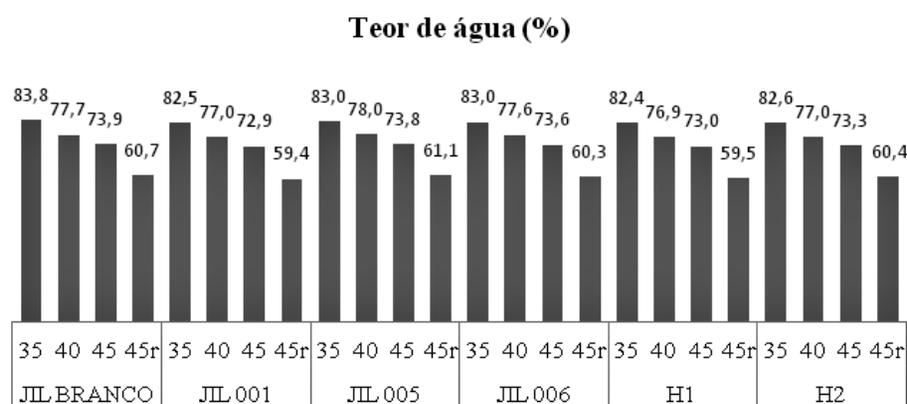
Os resultados a seguir, em relação às sementes de jiló (*Solanum gilo*) obtidas de frutos colhidos em diferentes estádios de maturação de cada material genético, JIL branco; comprido branco (CB); JIL 001: Redondo verde escuro (RVE); JIL 005: comprido verde claro (CVC); JIL 006: comprido verde claro (CVC), e os híbridos H1: redondo verde escuro (RVE) e H2: Comprido verde claro (CVC), aos 35, 40, 45 dias após a antese e sementes obtidas de frutos colhidos aos 45 dias após a antese e que ficaram em repouso por sete dias (45DAAr), serão denominadas como: JIL branco, JIL 001, JIL 005, JIL 006, H1 e H2, e 35DAA, 40DAA, 45DDA e 45DAAr, respectivamente.

## 6.1 Teor de água

O teor de água das sementes foi reduzido durante o desenvolvimento das sementes, sendo em média de 83, 77, 73 e 60%, para as colhidas aos 35DAA, 40DAA, 45DAA e 45DAAr, respectivamente, Gráfico 1.

Importante ressaltar que os teores de água das sementes em diferentes estádios de desenvolvimento não variaram muito, quando se compara os diferentes materiais genéticos utilizados. A maior variação entre os genótipos foi de 1,4; 1,1; 1,0 e 1,7, aos 35 DAA, 40 DAA, 45DAA e 45DAAr, respectivamente.

**Gráfico 1** - Teor de água em sementes de jiló de cada tratamento quando colhidas em diferentes estádios de desenvolvimento



O elevado teor de água na fase inicial de maturação necessário para a expansão celular, translocação de compostos e seu posterior decréscimo durante a maturação está relacionado à importância da água nos processos de formação de sementes. Durante a fase de desenvolvimento, o teor de água da semente permanece alto, há intenso acúmulo de matéria seca, representada por proteínas, açúcares, lipídios e outras substâncias, até as mesmas atingirem a maturidade fisiológica.

No ponto de maturidade fisiológica quando cessa a translocação de fotoassimilados para as sementes ocorre decréscimo do teor de água á medida que a água é substituída pelas reservas sintetizadas (CARVALHO e NAKAGAWA, 2000; DIAS, 2001; MARCOS FILHO 2005; BEWLEY et al., 2013).

## 6.2 Peso de mil sementes

O peso de mil sementes, provenientes de frutos colhidos aos 45DAAr foi estatisticamente superior em relação ao observado em sementes colhidas nos outros estádios de desenvolvimento, exceto das sementes dos híbridos H1 e H2 em que não houve diferença estatística nestes valores aos 45 DAA e 45DAAr. Houve um aumento progressivo do peso de mil sementes, com o avanço da maturação, com diferença mais expressiva entre os valores obtidos aos 35 e 45 DAA, (Tabela 1).

**Tabela 1** - Peso de mil sementes (g) de sementes provenientes de frutos de jiló colhidos aos 35, 40, 45 dias após a antese e 45DAAr

<b>PESO DE MIL SEMENTES (g)</b>				
<b>MAT. GENÉTICO</b>	<b>35 DAA</b>	<b>40 DAA</b>	<b>45 DAA</b>	<b>45DAAr</b>
<b>H1</b>	1,87 cA	2,11 bA	2,37 aA	2,48 aA
<b>H2</b>	1,61 cB	2,14 bA	2,47 aA	2,55 aA
<b>JIL 001</b>	1,55 dB	2,01 cB	2,16 bB	2,33 aB
<b>JIL005</b>	1,55 dB	1,94 cB	2,15 bB	2,32 aB
<b>JIL 006</b>	1,57 dB	2,09 cA	2,29 bB	2,36 aB
<b>JIL BRANCO</b>	0,96 dC	1,49 cC	1,83 bC	2,00 aC
<b>CV (%)</b>	7,62			

Médias seguidas da mesma letra, maiúscula nas colunas e minúscula nas linhas, não diferem entre si pelo Teste Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Já o ganho de peso em sementes extraídas de frutos colhidos aos 45DAAr em relação às sementes extraídas aos 45 DAA, em valores absolutos, foi menor em sementes colhidas nos demais estádios de maturação, as sementes

colhidas aos 45DAAr havia atingido a maturidade fisiológica. No entanto, observa-se que no período de repouso houve aumento do peso seco de sementes.

Essa variação no peso pode ser atribuída a translocação de fotoassimilados dos frutos para as sementes uma vez que estas estavam desligadas da planta.

Em sementes de jiló branco (JIL branco) colhidas nos diferentes estádios de maturação foram observados os menores valores de peso de mil sementes e os maiores foram observados em sementes dos híbridos H1 e H2. Exceção foi observada aos 40 DAA, quando houve menores valores em sementes do jiló branco (JIL branco) e maiores em sementes dos demais materiais genéticos.

Resultados semelhantes foram encontrados com sementes de pepino (*Cucumis Sativus* L.) por (NAKADA et al., 2011), onde verificou-se maiores valores do peso de mil sementes entre os estádios de 45 e 50 dias após antese.

Segundo (CARVALHO e NAKAGAWA, 2000), quanto mais distante da antese, forem retiradas as sementes dos frutos, mais pesadas serão essas sementes até a maturidade fisiológica. (MIRANDA et al., 1992), estudaram a maturação de frutos de berinjela, e concluíram que não houve diferença no ganho de peso seco entre sementes colhidas aos 50 DAA em relação às sementes colhidas aos 60 DAA. (OLIVEIRA et al., 1999), concluíram aos 55 DAA, as sementes de pimentão havia atingido a maturidade fisiológica, sendo este o ponto em que as mesmas atingiram maior peso, coincidindo com o melhor momento para a realização da colheita.

### **6.3 Condutividade elétrica**

Os valores de condutividade elétrica das sementes foram reduzidos com o avanço da maturação, indicando aumento do vigor das sementes (Tabela 2). Os valores de condutividade elétrica de sementes provenientes de frutos colhidos

aos 35 DAA foram os maiores e os menores foram observados em sementes de frutos colhidos aos 45 DAA e que ficaram em repouso por sete dias (45DAAr).

Provavelmente as sementes de frutos colhidos aos 45 DAA, e que ficaram em repouso por sete dias, provavelmente apresentavam sistemas de membranas mais organizados.

**Tabela 2** - Condutividade elétrica ( $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$ ) de sementes provenientes de frutos de jiló colhidos aos 35, 40, 45 dias após a antese e 45DAAr

CONDUTIVIDADE ELÉTRICA ( $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$ )				
MAT. GENÉTICO	35 DAA	40 DAA	45 DAA	45DAAr
H1	29,07 dA	18,49 cA	14,32 bA	11,69 aA
H2	64,24 dC	21,34 cB	18,60 bB	16,00 aB
JIL 001	28,21 dA	20,15 cB	17,50 bB	15,04 aB
JIL005	54,96 dB	31,84 cC	23,96 bD	19,97 aD
JIL 006	52,90 dB	31,56 cC	26,19 bE	18,56 aC
JIL BRANCO	52,60 dB	36,16 cD	21,90 bC	17,85 aC
CV (%)	4,43			

Médias seguidas da mesma letra, maiúscula nas colunas e minúscula nas linhas, não diferem entre si pelo Teste Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Aos 35 DAA, as sementes apresentavam-se mais imaturas, sugerindo uma desorganização de membranas celulares o que favoreceu maior lixiviação de solutos; Com o avanço nos estádios de maturação os sistemas de membranas celulares foram organizados restringindo a lixiviação de solutos.

Houve variações dos valores de condutividade elétrica em sementes dos diferentes materiais genéticos, colhidas em diferentes estádios de maturação.

Os valores de condutividade elétrica variam em função dos diferentes genótipos. Assim torna-se difícil comparar o vigor entre estes diferentes genótipos. Isto tem sido observado em outras pesquisas quando se avalia o vigor por meio deste teste, uma vez que há outros fatores inerentes as sementes também associados ao vigor.

Caixeta et. al., 2014 e Pereira et al., 2014, observaram menor potencial fisiológico em sementes de pimenta habanero, assim como maiores valores de condutividade em sementes imaturas.

Segundo Martins et al. (2012), existe a possibilidade de o sistema de proteção de membranas celulares ser ineficiente nos estágios iniciais do desenvolvimento, quando as membranas ainda não estão bem estruturadas.

#### 6.4 Protrusão da radícula, índice de velocidade de protrusão da radícula, 1ª contagem de germinação, germinação, índice de velocidade de germinação, emergência e índice de velocidade de emergência

##### *Protrusão e índice de velocidade de protrusão*

A porcentagem de protrusão radicular de sementes provenientes de frutos colhidos aos 45DAAr entre os materiais genéticos e nos diferentes estádios de maturação foi estatisticamente superior às sementes de frutos colhidos nos estádios anteriores (35, 40 e 45 DAA), excessão foi observada para os híbridos e JIL 001, pois não houve diferenças estatísticas em relação aos valores observados em frutos colhidos aos 45 DAA e 45DAAr (Tabela 3).

**Tabela 3** - Protrusão radicular de sementes provenientes de frutos de jiló colhidos aos 35, 40, 45 dias após a antese e 45DAAr

<b>PROTRUSÃO (%)</b>				
<b>MAT. GENÉTICO</b>	<b>35 DAA</b>	<b>40 DAA</b>	<b>45 DAA</b>	<b>45DAAr</b>
<b>H1</b>	35 cA	62 bA	100 aA	100 aA
<b>H2</b>	28 cB	46 bB	100 aA	100 aA
<b>JIL 001</b>	22 cC	35 bC	100 aA	100 aA
<b>JIL005</b>	17 dD	34 cC	87 bC	100 aA
<b>JIL 006</b>	13 dD	43 cB	93 bB	100 aA
<b>JIL BRANCO</b>	7 dE	38 cC	94 bB	100 aA
<b>CV (%)</b>	7,18			

Médias seguidas da mesma letra, maiúscula nas colunas e minúscula nas linhas, não diferem entre si pelo Teste Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Os valores de protrusão radicular entre os diferentes genótipos variaram em sementes colhidas aos 35, 40 e 45 DAA. De uma maneira geral maiores valores foram observados em sementes dos híbridos, H1 e H2. Em sementes colhidas aos 35 DAA menor vigor, avaliado pelo teste de protrusão radicular, foi verificado para o material genético JIL branco.

Em sementes extraídas de frutos que ficaram em repouso por sete dias, 45DAAr, não houve diferença significativa de vigor, avaliado pelo teste de protrusão radicular, entre os diferentes materiais genéticos.

Para o índice de velocidade de protrusão (IVP), os maiores valores foram observados em sementes provenientes de frutos colhidos aos 45DAAr (Tabela 4).

Em sementes colhidas aos 35 DAA dias após a antese, houve maiores índices nos materiais híbridos. Esta tendência também foi observada em sementes colhidas nos demais estádios de maturação. Em sementes extraídas de frutos que ficaram submetidas ao repouso por sete dias, menor vigor foi observado em sementes de JIL branco e maior vigor em sementes do híbrido H2.

**Tabela 4** - Índice de velocidade de protrusão radicular (IVP) de sementes provenientes de frutos de jiló colhidos aos 35, 40, 45 dias após a antese e 45DAAr

IVP (%)				
MAT. GENÉTICO	35 DAA	40 DAA	45 DAA	45DAAr
H1	2,0 dA	7,0 cA	9,5 bA	13,3 aB
H2	2,0 dA	3,5 cB	9,6 bA	13,9 aA
JIL 001	0,8 dB	2,5 cC	9,3 bA	11,7 aC
JIL005	1,0 dB	1,8 cC	4,7 bB	9,1 aD
JIL 006	0,8 dB	3,0 cB	5,2 bB	13,0 aB
JIL BRANCO	0,3 dB	2,5 cC	5,2 bB	7,0 aE
CV (%)	12,04			

Médias seguidas da mesma letra, maiúscula nas colunas e minúscula nas linhas, não diferem entre si pelo Teste Scott-Knott a 5% de probabilidade.

### *1ª contagem de germinação*

Verifica-se maiores valores de germinação de sementes de jiló avaliadas na primeira contagem, aos 7 dias, foram superiores de sementes de frutos colhidos aos 45DAAr. Não houve germinação de sementes colhidas aos 35 DAA, independentemente do material genético. Em sementes colhidas aos 45DAAr a maior porcentagem de germinação foi observada em sementes dos H1 e H2. Em estádios mais avançados de maturação, 45DAA e 45DAAr, menores valores de germinação foram observados em sementes do JIL branco (Tabela 5).

**Tabela 5** - Primeira contagem de germinação de sementes provenientes de frutos de jiló colhidos aos 35, 40, 45 dias após a antese e 45DAAr

<b>1ª CONT. GERMINAÇÃO (%)</b>				
<b>MAT. GENÉTICO</b>	<b>35 DAA</b>	<b>40 DAA</b>	<b>45 DAA</b>	<b>45DAAr</b>
<b>H1</b>	0 dA	5 cA	31 bB	45 aB
<b>H2</b>	0 dA	6 cA	43 bA	50 aA
<b>JIL 001</b>	0 dA	5 bA	9 bD	36 aC
<b>JIL005</b>	0 dA	4 cA	8 bD	37 aC
<b>JIL 006</b>	0 dA	3 cB	11 bC	37 aC
<b>JIL BRANCO</b>	0 cA	2 bB	4 bE	26 aD
<b>CV (%)</b>	13,22			

Médias seguidas da mesma letra, maiúscula nas colunas e minúscula nas linhas, não diferem entre si pelo Teste Scott-Knott a 5% de probabilidade.

### *Germinação e índice de velocidade de germinação*

A porcentagem de germinação e o índice de velocidade de germinação, avaliados na segunda contagem, aos 14 dias, a partir de sementes extraídas dos frutos colhidos aos 45 DAA e que ficaram em repouso por sete dias (45DAAr), foram estatisticamente superiores aos das sementes de frutos colhidos nos demais estádios de maturação, considerando os materiais genéticos JIL 001, JIL 005, JIL 006 e JIL branco. Em sementes híbridas H1 e H2 não houve diferença

estatística destes valores em sementes colhidas aos 45 DAA, independentemente de serem submetidas ao repouso.

Entre os materiais genéticos não houve diferença estatística nos valores de germinação e de índice de velocidade de germinação das sementes provenientes de frutos colhidos aos 45DAAr.

Em sementes de frutos colhidos em estádios iniciais de desenvolvimento, aos 35 e 40 DAA, os valores de germinação e velocidade de germinação foram significativamente inferiores aos valores observados em estádios mais avançados de maturação, aos 45 DAA e 45DAAr (Tabelas 6 e 7).

Em sementes híbridas (H1 e H2) foram observados maiores valores de germinação quando as mesmas foram extraídas de frutos em estádios menos avançados de maturação, 35, 40 e 45 DAA (Tabela 6). O maior vigor das sementes híbridas em estádios menos avançados maturação também foi observado pelo teste de IVG em sementes colhidas aos 35 e 45 DAA. (Tabela 6).

**Tabela 6** - Germinação de sementes provenientes de frutos de jiló colhidos aos 35, 40, 45 dias após a antese e 45DAAr

MAT. GENÉTICO	GERMINAÇÃO			
	35 DAA	40 DAA	45 DAA	45DAAr
H1	23 cA	42 bA	100 aA	100 aA
H2	18 cB	34 bB	99 aA	100 aA
JIL 001	12 dC	26 cC	91 bB	100 aA
JIL005	10 dC	27 cC	73 bC	100 aA
JIL 006	7 dD	29 cC	88 bB	100 aA
JIL BRANCO	4 dD	22 cD	87 bB	97 aA
CV (%)	7,88			

Médias seguidas da mesma letra, maiúscula nas colunas e minúscula nas linhas, não diferem entre si pelo Teste Scott-Knott a 5% de probabilidade.

**Tabela 7** - Índice de velocidade germinação (IVG) de sementes provenientes de frutos de jiló colhidos aos 35, 40, 45 dias após a antese e 45DAAr

IVG				
MAT. GENÉTICO	35 DAA	40 DAA	45 DAA	45DAAr
H1	2,0 cA	3,0 bA	7,0 aA	7,0 aA
H2	2,0 cA	2,2 bB	7,0 aA	7,0 aA
JIL 001	1,0 cB	2,0 cB	6,0 bB	7,0 aA
JIL005	0,6 dC	1,9 cB	6,0 bB	7,0 aA
JIL 006	0,4 dC	2,0 cB	6,0 bB	7,0 aA
JIL BRANCO	0,1 dC	2,0 cB	5,0 bC	6,8 aA
CV (%)	13,96			

Médias seguidas da mesma letra, maiúscula nas colunas e minúscula nas linhas, não diferem entre si pelo Teste Scott-Knott a 5% de probabilidade.

### *Emergência e índice de velocidade de emergência*

A porcentagem de emergência e o índice de velocidade de emergência de plântulas provenientes de sementes de frutos colhidos aos 45DAAr foram estatisticamente superiores aos valores observados em sementes colhidas nos demais estádios. Ressalta-se ainda que os maiores valores de emergência e velocidade de emergência foram observados em sementes dos híbridos H1 e H2.

Já em sementes colhidas nos estádios iniciais de desenvolvimento, aos 35 e 40 DAA, não houve emergência de plântulas ou ocorreu com baixos valores de emergência, respectivamente.

Como pode se observar, houve aumento do vigor das sementes com o avanço do processo de maturação, sendo que aos 45 DAA, verificou-se percentual médio de emergência de 86%, e para o tratamento 45DAAr de 95%, Tabelas 8 e 9.

**Tabela 8** - Emergência de plântulas provenientes de sementes de frutos de jiló colhidos aos 35, 40, 45 dias após a antese e 45DAAr

<b>EMERGÊNCIA</b>				
<b>MAT. GENÉTICO</b>	<b>35 DAA</b>	<b>40 DAA</b>	<b>45 DAA</b>	<b>45DAAr</b>
<b>H1</b>	0 dA	53 cA	92 bA	100 aA
<b>H2</b>	0 dA	54 cA	95 bA	100 aA
<b>JIL 001</b>	0 dA	36 cB	75 bD	89 aC
<b>JIL005</b>	0 dA	35 cB	87 bB	95 aB
<b>JIL 006</b>	0 dA	34 cB	81 bC	95 aB
<b>JIL BRANCO</b>	0 dA	17 cC	84 bC	89 aC
<b>CV (%)</b>	3,11			

Médias seguidas da mesma letra, maiúscula nas colunas e minúscula nas linhas, não diferem entre si pelo Teste Scott-Knott a 5% de probabilidade.

**Tabela 9** - Índice de velocidade emergência (IVE) de plântulas de sementes provenientes de frutos de jiló colhidos aos 35, 40, 45 dias após a antese e 45DAAr

<b>IVE (%)</b>				
<b>MAT. GENÉTICO</b>	<b>35 DAA</b>	<b>40 DAA</b>	<b>45 DAA</b>	<b>45DAAr</b>
<b>H1</b>	0 dA	2,1 cB	4,0 bB	5,0 aA
<b>H2</b>	0 dA	2,5 cA	4,0 bA	5,0 aA
<b>JIL 001</b>	0 dA	1,4 cC	3,4 bC	4,7 aB
<b>JIL005</b>	0 dA	1,4 cC	4,0 bB	4,7 aB
<b>JIL 006</b>	0 dA	1,3 cC	4,0 bB	4,8 aB
<b>JIL BRANCO</b>	0 dA	0,7 cD	3,4 bC	4,2 aC
<b>CV (%)</b>	7,14			

Médias seguidas da mesma letra, maiúscula nas colunas e minúscula nas linhas, não diferem entre si pelo Teste Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Em sementes o percentual de emergência foi de 100%, de ambos os híbridos, quando as mesmas foram extraídas de frutos com 45 dias após a antese e submetidos ao repouso. Ressata-se que em sementes submetidas a este mesmo tratamento do material genético JIL branco, verificou-se os menores valores de vigor, avaliados por meio destes testes.

Sementes com elevado vigor possuem um sistema de membranas bem estruturado e todo o aparato pronto para a germinação, o que esta diretamente relacionado com a velocidade de germinação (MARCOS FILHO, 2005).

Na maturidade fisiológica, as sementes atingem o máximo de germinação e vigor, devido à formação completa dos sistemas bioquímico, morfológico e estrutural, segundo (SILVA et al., 2009 ; NAKADA et al., 2011).

Segundo (NASCIMENTO; FREITAS, 2006), em espécies cujas sementes estão contidas em frutos carnosos, como no jiló, os valores máximos de germinação, vigor e acúmulo de matéria seca ocorrem quando as sementes atingem a maturidade fisiológica.

De acordo com estudos sobre a maturação dos frutos de pimenta, (VIDIGAL et al., 2009), colheitas precoces acarretam prejuízos à qualidade fisiológica das sementes, prejudicando a germinação e emergência.

Em estudo realizado por (CASTRO et al., 2004) com a cultivar de jiló Morro Grande, houve aumento nos valores percentuais na primeira contagem de germinação, germinação e índice de velocidade de germinação em função dos diferentes pontos de colheita dos frutos. No mesmo estudo, também foi relatado melhoria na qualidade fisiológica de sementes de jiló provenientes de frutos que ficaram em repouso por 14 dias após a colheita.

Carvalho (2014), em estudo realizado com sementes de pimentão provenientes de frutos colhidos em diferentes estádios de maturação, e que ficaram por sete dias em repouso, encontrou maiores valores de germinação, emergência, índice de velocidade de emergência.

Resultados semelhantes quanto ao aumento gradativo nas porcentagens de germinação, velocidade de germinação e emergência, nos diferentes estádios de maturação foram observados para pimentão, (OLIVEIRA et al., 1999), jiló, (CASTRO et al., 2004), pepino, (*Cucumis sativus* L.) (NAKADA et al., 2011), Pimentão; abóbora, (SILVA et al., 2014), (CARVALHO, 2014), pimenta (*Capsicum baccatum* L.) (PEREIRA et al., 2014); (CAIXETA et al., 2014), (*Capsicum chinense* JACQUIM), (SANTOS et al., 2015), (*Capsicum baccatum* var. *pendulum*), (JUSTINO et al., 2015).

## 6.5 Matéria fresca e seca de plântulas de jiló

Os pesos de matéria fresca e seca de plântulas provenientes de sementes colhidas de frutos colhidos aos 45DAAr, foi estatisticamente superior aos observados nos demais tratamentos. Também os pesos de matéria seca e fresca das plântulas dos híbridos H1 e H2 foram estatisticamente superiores considerando este estágio, 45DAAr. As massas de matéria fresca e seca de plântulas aos 35 DAA foram nulos, pois não houve emergência de plântulas neste estágio de maturação das sementes. O peso de matéria fresca e seca aumentaram com o avanço do estágio de maturação, Tabelas 10 e 11.

**Tabela 10** - Peso de matéria fresca de plântulas a partir de sementes provenientes de frutos de jiló colhidos aos 35, 40, 45 dias após a antese e 45DAAr

<b>MATÉRIA FRESCA DE PLÂNTULAS (g)</b>				
<b>MAT. GENÉTICO</b>	<b>35 DAA</b>	<b>40 DAA</b>	<b>45 DAA</b>	<b>45DAAr</b>
<b>H1</b>	0,000 dA	0,033 cB	0,053 bB	0,076 aA
<b>H2</b>	0,000 dA	0,046 cA	0,064 bA	0,078 aA
<b>JIL 001</b>	0,000 dA	0,031 cB	0,041 bC	0,066 aB
<b>JIL005</b>	0,000 dA	0,031 cB	0,048 bB	0,056 aC
<b>JIL 006</b>	0,000 dA	0,029 cB	0,054 bB	0,061 aC
<b>JIL BRANCO</b>	0,000 dA	0,024 cB	0,031 bC	0,041 aD
<b>CV (%)</b>	21,16			

Médias seguidas da mesma letra, maiúscula nas colunas e minúscula nas linhas, não diferem entre si pelo Teste Scott-Knott a 5% de probabilidade.

**Tabela 11** - Peso de matéria seca de plântulas a partir de sementes provenientes de frutos de jiló colhidos aos 35, 40, 45 dias após a antese e 45DAAr

<b>MATÉRIA SECA DE PLÂNTULAS (g)</b>				
<b>MAT. GENÉTICO</b>	<b>35 DAA</b>	<b>40 DAA</b>	<b>45 DAA</b>	<b>45DAAr</b>
<b>H1</b>	0,000 dA	0,004 cA	0,007 bA	0,008 aA
<b>H2</b>	0,000 dA	0,004 cA	0,006 bA	0,007 aA
<b>JIL 001</b>	0,000 dA	0,003 cB	0,005 bB	0,006 aB
<b>JIL005</b>	0,000 dA	0,003 cB	0,005 bB	0,006 aB
<b>JIL 006</b>	0,000 dA	0,002 cB	0,005 bB	0,006 aB
<b>JIL BRANCO</b>	0,000 dA	0,003 cB	0,004 bC	0,006 aB
<b>CV (%)</b>				16,56

Médias seguidas da mesma letra, maiúscula nas colunas e minúscula nas linhas, não diferem entre si pelo Teste Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Em sementes vigorosas ocorre mais transferência de massa seca de seus tecidos de reserva para o eixo embrionário, na fase de germinação, originando plântulas com maior peso, em função do maior massa seca em razão do maior acúmulo de matéria. (NAKAGAWA, 1999).

Em estudo realizado com sementes de melão (DONATO et. al., 2015), observaram que de acordo com o avanço do estágio de maturação de sementes, obtiveram-se consequentemente valores superiores nos resultados de massa fresca e seca de plântulas.

De maneira geral, os menores valores obtidos nos testes de qualidade fisiológica foram observados em sementes colhidas em estádios iniciais de desenvolvimento, principalmente aos 35 e 40 DAA.

Em sementes provenientes de frutos colhidos aos 45 DAA foram observados valores de germinação e vigor superiores aos observados em sementes colhidas aos 35 e 40 DAA.

Os maiores valores de germinação e vigor foram observados em sementes provenientes de frutos colhidos aos 45DAAr. Foi observado aumento do peso seco de sementes no período de repouso dos frutos, o que provavelmente contribuiu para o aumento da qualidade fisiológica das sementes nesta condições.

Assim, a colheita de sementes imaturas com menor peso seco, com um sistema de membrana celular ainda pouco estruturado influencia na qualidade fisiológica de sementes.

Em estudos relacionados ao desenvolvimento de sementes, tem sido observado que no início do desenvolvimento há acúmulo relativamente lento de massa seca, fase que predominam a divisão e a expansão celulares, responsáveis pela constituição da estrutura adequada para receber as substâncias transferidas da planta-mãe. A fase seguinte é caracterizada pelo fluxo de acúmulo de massa seca que se intensifica até atingir o ponto de maturidade fisiológica.

Na presente pesquisa verificou-se que a condutividade elétrica decresceu com o avanço do estágio de maturação, atingindo os melhores valores em sementes do mesmo material genético colhidas aos 45DAAr, indicando o aumento de vigor destas sementes. Com a permanência das sementes nos frutos por sete dias, provavelmente as membranas foram organizadas de modo a reduzir a lixiviação de solutos.

Em espécies de frutos carnosos, como as solanáceas, o processo de maturação das sementes continua após a colheita dos frutos. Este aspecto é vantajoso, pois permite colher os frutos precocemente, submetendo-os a um período de armazenamento ou repouso pós-colheita suficiente para que as sementes atinjam a qualidade máxima (BARBEDO et al., 1994); (DIAS; NASCIMENTO, 2009).

Assim o processo de maturação das sementes pode se completar quando os frutos colhidos e mantidos por sete a dez dias em repouso, em local fresco e ventilado, antes da extração das sementes. Nesse caso, sementes imaturas ainda presentes no fruto completam o seu desenvolvimento, resultando em melhor qualidade fisiológica e maior produtividade de sementes (DIAS et al., 2006; VIDIGAL et al., 2009).

Ressalta-se ainda que em sementes híbridas (H1 e H2) utilizadas nesta pesquisa houve os maiores valores de peso seco de mil sementes, de vigor e germinação em relação aos observados nos demais materiais genéticos, principalmente em sementes colhidas aos 35 e 40DAA.

## 7 COMPOSIÇÃO QUÍMICA DE SEMENTES DE JILÓ

A composição química de sementes de jiló durante os estádios de maturação (35, 40,45 DAA e 45DAAr), variou em relação aos teores de lipídeo, carboidrato e proteína,

### *Lipídios*

Durante o desenvolvimento das sementes para todos os tratamentos, de maneira geral, houve redução do teor de lipídeo, sendo que os maiores valores foram observados aos 35 DAA, e reduziu em sementes colhidas nos estádios mais avançados de maturação. Para os demais materiais genéticos houve importante variação dos teores de lipídeo em sementes em diferentes estádios de maturação (Tabela 12).

**Tabela 12** - Teores de lipídeo em sementes de jiló provenientes de frutos colhidos aos 35, 40, 45 dias após a antese e 45DAAr

MAT. GENÉTICO	LIPÍDEO (%)			
	35 DAA	40 DAA	45 DAA	45DAAr
H1	8,51 aE	8,02 aB	8,10 aB	4,73 bA
H2	17,40 aB	14,28 bA	5,14 cC	4,86 cA
JIL 001	10,70 aD	7,66 bB	5,08 cC	5,13 cA
JIL005	14,06 aC	8,43 bB	7,45 cB	2,21 dB
JIL 006	17,36 aB	8,32 bB	7,56 cA	4,00 dA
JIL BRANCO	20,66 aA	14,43 bA	8,88 cA	4,73 dA
CV (%)	5,09			

Médias seguidas da mesma letra, maiúscula nas colunas e minúscula nas linhas, não diferem entre si pelo Teste Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Os lipídios são considerados fontes de energia mais eficientes que os carboidratos, durante a germinação e também podem ter função de reserva e estrutural. Além dos lipídios de reserva, são também importantes os fosfolipídios polares, constituintes essenciais do sistema de membranas celulares, incluindo as de organelas.

Dessa forma, infere-se que os lipídeos presentes nas sementes mais imaturas tenham sido utilizados como fonte de energia durante o processo de desenvolvimento nos estádios de maturação.

A organização das membranas lipoproteicas afeta diretamente a normalidade dos processos fisiológicos em sementes, como a germinação, a dormência, a manifestação do vigor, a tolerância à dessecação e o condicionamento fisiológico (MARCOS FILHO, 2005).

### *Carboidratos*

Os teores de carboidrato, de maneira geral, aumentam com o avanço do processo de maturação das sementes, independentemente do material genético utilizado.

Os maiores valores de carboidratos foram observados em sementes extraídas de frutos de jiló que foram colhidos aos 45DAAr. Houve variação significativa dos teores de carboidratos entre as sementes de diferentes materiais genéticos. No início do processo de desenvolvimento de sementes, 35 e 40 DAA menores valores de carboidratos foram observados em sementes de JIL branco e maiores em sementes do H1 (Tabela 13).

**Tabela 13** - Teores de carboidrato em sementes de jiló provenientes de frutos colhidos aos 35, 40, 45 dias após a antese e 45DAAr

CARBOIDRATO (%)				
MAT. GENÉTICO	35 DAA	40 DAA	45 DAA	45DAAr
H1	43,96 cA	46,55 bA	47,91 bA	51,07 aA
H2	36,86 dC	39,49 cB	49,15 bA	51,78 aA
JIL 001	40,76 bB	41,19 bB	45,89 aB	45,87 aB
JIL005	34,4 dD	40,61 cB	44,44 bB	51,49 aA
JIL 006	30,34 cE	47,16 bA	45,35 bB	53,36 aA
JIL BRANCO	25,67 dF	37,23 cD	43,37 bB	48,12 aB
CV (%)	3,15			

Médias seguidas da mesma letra, maiúscula nas colunas e minúscula nas linhas, não diferem entre si pelo Teste Scott-Knott a 5% de probabilidade.

### *Proteínas*

Em geral, os teores de proteína nas sementes de jiló, foram reduzidos em sementes submetidas ao tratamento 45DAAr (45 DAA submetidas ao repouso por sete dias) em relação às sementes colhidas aos 35 DAA, com exceção dos valores observados para o material genético JIL 001, (Tabela 14).

**Tabela 14** - Teores de carboidrato em sementes de jiló provenientes de frutos colhidos aos 35, 40, 45 dias após a antese e 45DAAr

PROTEINA (%)				
MAT. GENÉTICO	35 DAA	40 DAA	45 DAA	45DAAr
H1	16,91 aA	16,91 aC	15,80 bB	15,86 bA
H2	16,62 aA	17,03 aC	15,92 bB	15,16 cB
JIL 001	15,45 cC	18,66 aA	16,38 bA	15,86 cA
JIL005	16,27 bB	17,49 aB	15,16 cC	14,46 dC
JIL 006	17,32 aA	15,80 bD	16,27 bA	15,22 cB
JIL BRANCO	17,08 aA	16,38 aD	16,56 aA	15,75 bA
CV (%)	2,55			

Médias seguidas da mesma letra, maiúscula nas colunas e minúscula nas linhas, não diferem entre si pelo Teste Scott-Knott a 5% de probabilidade.

O desenvolvimento da maioria das sementes pode ser dividido em três fases confluentes: crescimento inicial do embrião (embriogênese); acúmulo de

reservas, com a síntese de compostos como amido, proteínas e lipídeos (fase intermediária de maturação); e desidratação das sementes (término do desenvolvimento). Na fase de acúmulo de reservas, o embrião apresenta elevado potencial germinativo. Durante a maturação das sementes são iniciados mecanismos de proteção, para preservar a integridade dos componentes celulares, quando a água for removida durante a secagem (BEWLEY et al., 2013).

Além disso, os compostos de reserva permanecem intactos durante a fase de dessecação (GRAHAM, 2008). No término do desenvolvimento, as sementes entram em estado de repouso, o que permite sua sobrevivência em diferentes condições ambientais (GUTIERREZ et al., 2007; LEPRINCE; BUITINK, 2010).

Na presente pesquisa houve variações importantes na composição lipídeos, carboidratos e proteínas durante o desenvolvimento de sementes dos materiais genéticos avaliados. De uma maneira geral houve aumento dos teores de carboidratos, e redução dos teores de lipídios e proteínas com o avanço da maturação das sementes. Provavelmente estas alterações estejam associadas às variações observadas também nos valores de germinação e vigor destas sementes.

Em estudo realizado por (ABUD et al., 2013), Nas primeiras fases dedesenvolvimento das sementes, a massa de matéria seca aumentou rapidamente. Essas fases são caracterizadas pela histodiferenciação, morfogênese e pela síntese e deposição de reservas, como carboidratos, lipídeos e proteínas (LIMA et al., 2008; BEWLEY et al., 2013).

## 8 ANÁLISE DAS EXPRESSÕES ENZIMÁTICAS

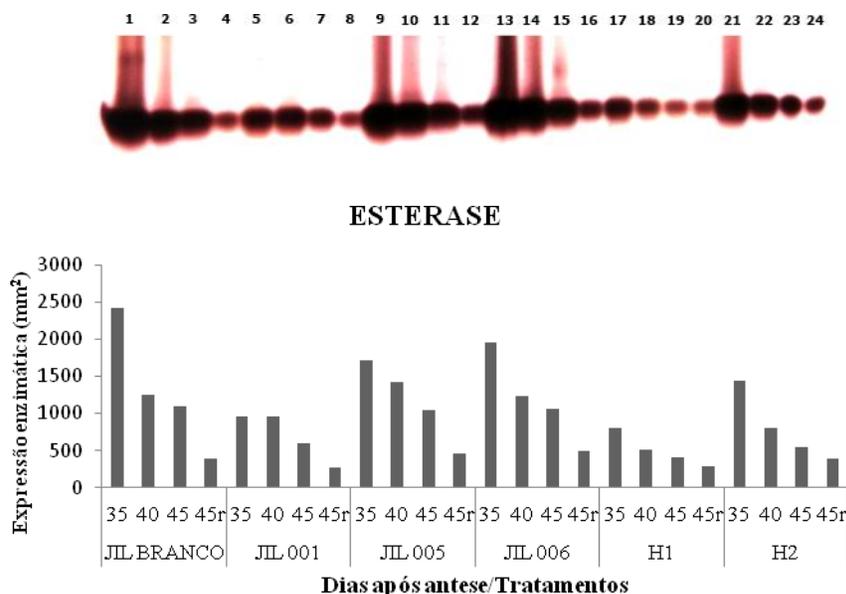
Por meio da análise dos padrões enzimáticos de sementes de jiló, observou-se variações das expressões das enzimas avaliadas em sementes colhidas em diferentes estádios de maturação. Também foram observadas variações das expressões de enzimas em sementes dos diferentes materiais genéticos avaliados.

As expressões das isoenzimas Esterase (EST), Isocitrato Liase (ISO), Superóxido Dismutase (SOD), Catalase (CAT), Peroxidase (PO), Malato Desidrogenase (MDH), Álcool Desidrogenase (ADH), foram analisadas de acordo com a intensidade das bandas e também quantitativamente por meio do software ImageJ<sup>®</sup>. Para a enzima endo-  $\beta$  -mananase a expressão foi avaliada segundo Downie (1994).

### *Esterase*

Pela análise eletroforética da enzima esterase (EST), pode-se observar que as expressões foram decrescentes com o avanço do processo de maturação, (35, 40, 45 DAA e 45DAAr), em sementes de todos os materiais genéticos avaliados. (Figura 1).

**Figura 1** - Expressões da enzima esterase (EST) de sementes de jiló das variedades (JIL branco, JIL 001, JIL 005, JIL 006, H1 e H2), colhidas em diferentes estádios de maturação (35, 40, 45 DAA e 45DAAr)



As maiores expressões da enzima esterase (EST), ocorreram principalmente em sementes colhidas nos estádios de 35, 40 e 45 DAA, e menor expressão em sementes colhidas aos 45DAAr e mantidas em repouso nos frutos por sete dias. A colheita precoce de sementes no início de desenvolvimento (imaturas), pode ter contribuído com o processo de deterioração destas e com o consequente aumento na expressão da isoenzima esterase (EST) nos estádios iniciais de maturação.

Resultados semelhantes foram encontrados por (NAKADA et al., 2011; QUEIROZ et al., 2011) com sementes de pepino e pimenta, respectivamente, onde as maiores expressões da enzima esterase foram verificadas nos estádios iniciais de maturação (35 e 35 DAA).

A esterase é uma enzima que participa da hidrólise de ésteres de membrana. Esse fato demonstra maior peroxidação de lipídios, uma vez que esta

enzima está envolvida em reações de hidrólise de ésteres estando diretamente ligada ao metabolismo de lipídios (SANTOS et al., 2004). Muitos desses lipídios são constituintes de membranas, cuja degradação aumenta com a deterioração.

É importante salientar que nas fases iniciais de desenvolvimento das sementes há um processo de diferenciação de tecidos metabolicamente ativos (anabolismo), intensas divisões celulares e com um sistema estrutural ainda não totalmente formado, principalmente o sistema de membrana celular, cuja degradação aumenta com a desorganização do sistema de membranas. Esta condição leva às alterações das expressões da esterase (EST) observadas durante o processo de maturação das sementes.

Assim torna-se importante resaltar que em sementes de jiló mais imaturas foram observados os maiores teores de lipídeos (Tabela 12). Estes teores foram reduzidos com o avanço do processo de maturação, principalmente em sementes colhidas aos 45 DAA e que permaneceram nos frutos por sete dias. Comparando estes resultados com a expressão da enzima esterase, constatou-se que quanto maior o teor de lipídios em sementes, maior será a expressão da enzima esterase.

Também foi observado menor expressão desta enzima em sementes dos híbridos (H1 e H2) e em sementes da cultivar JIL 001, principalmente quando colhidas imaturas (35DAA).

Menores expressões enzimáticas ocorreram em sementes colhidas aos 45 DAA e principalmente naquelas submetidas aos 45DAAr, nestas últimas também foram observados menores valores de condutividade elétrica e maiores percentuais de germinação e emergência, em relação às sementes colhidas nos estádios menos avançados de maturação.

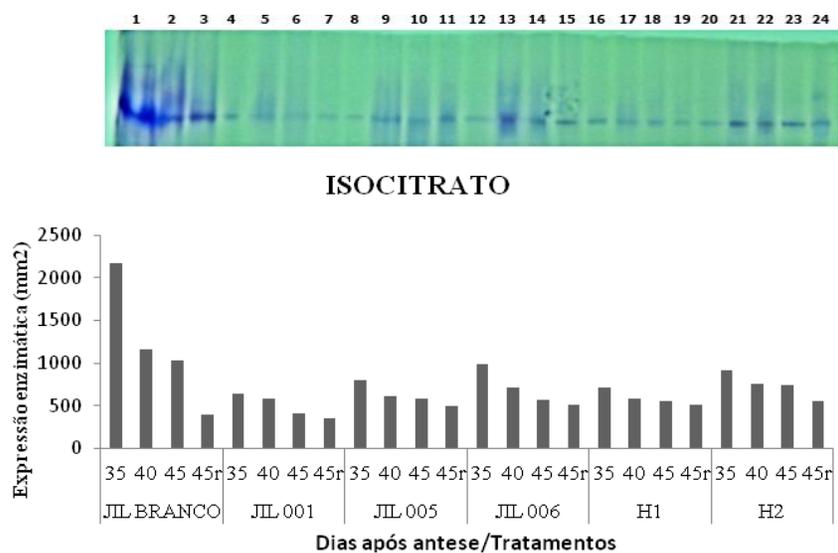
### *Isocitrato Liase*

Assim como para a esterase (EST), as expressões da enzima isocitrato liase (ISO) ocorreram de maneira decrescente para todos os materiais genéticos utilizados nesta pesquisa com o avanço do processo de maturação (35, 40, 45 DAA e 45DAAr) (Figura 2).

A isocitrato-liase é uma enzima chave na regulação do ciclo do glioxilato e esta envolvida no metabolismo de lipídios e no desenvolvimento das atividades no glioxissomos (BEWLEY; BLACK, 1994).

Além da variação da expressão da enzima isocitrato liase em sementes colhidas em diferentes estádios de maturação, houve variação da expressão desta enzima em sementes dos materiais genéticos avaliados. A maior expressão foi observada em sementes de jiló branco (JIL branco), principalmente as colhidas aos 35 dias após a antese.

**Figura 2** - Expressões da enzima isocitrato liase (ISO) de sementes de jiló das variedades (JIL branco, JIL 001, JIL 005, JIL 006, H1 e H2), colhidas em diferentes estádios de maturação (35, 40, 45 DAA e 45DAAr)



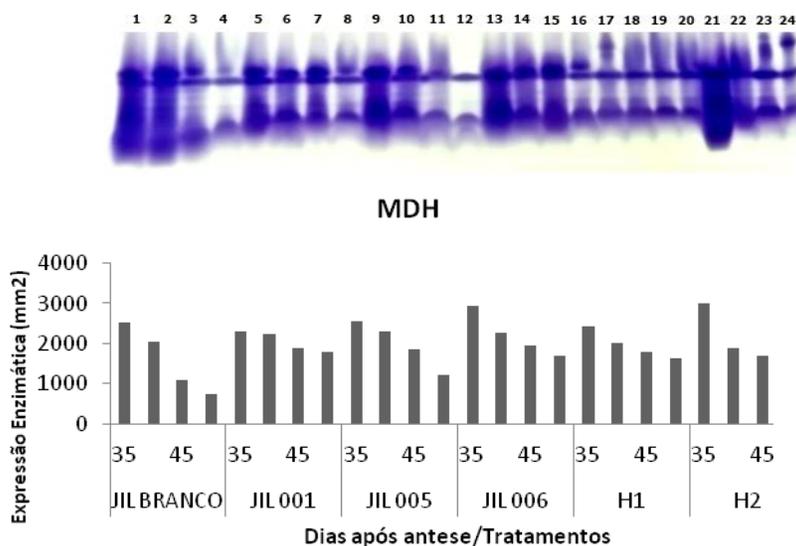
Provavelmente as maiores expressões da enzima isocitrato liase nos estádios iniciais, estejam associadas aos maiores teores de lipídios observados em sementes de jiló, principalmente nos estádios iniciais de maturação. Observou-se ainda maior oxidação de lipídios em sementes mais imaturas, refletindo no processo de deterioração de sementes.

Resultados contrários foram encontrados por (SANTOS et al., 2015), onde as maiores expressões da enzima isocitrato liase foram observadas em sementes de pimenta habanero, durante os estádios mais avançados de desenvolvimento.

### *Malato Desidrogenase*

Em relação às expressões da enzima malato desidrogenase (MDH), houve maiores expressões em sementes colhidas aos 35 DAA em todos os materiais genéticos (Figura 3). A expressão reduziu em sementes mais maduras, principalmente quando os frutos foram colhidos aos 45 dias após antese e submetidos ao repouso por sete dias (45DAAr).

**Figura 3** - Expressões da enzima malato desidrogenase (MDH) de sementes de jiló das variedades (JIL branco, JIL 001, JIL 005, JIL 006, H1 e H2), colhidas em diferentes estádios de maturação (35, 40, 45 DAA e 45DAAr)



A malato desidrogenase (MDH) desempenha papel significativo no ciclo de Krebs, uma vez que catalisa a conversão de malato a oxaloacetato, produzindo NADH, que é um produto fundamental na produção de ATP e de compostos intermediários essenciais ao funcionamento das células (TAIZ e ZEIGER, 2004).

A interrupção do processo de maturação devido à antecipação da colheita, provavelmente acelerou o processo de deterioração e a taxa respiratória das sementes, ocorrendo assim maiores expressões da MDH em sementes provenientes de frutos colhidos nos estádios iniciais de maturação.

Durante o desenvolvimento das sementes, na fase em que está ocorrendo o acúmulo de matéria seca, o teor de água é mantido em altos níveis. Por outro lado, à medida que as sementes mantêm alto teor de água e seu conteúdo de massa seca aumenta a intensidade respiratória também aumenta (CARVALHO; NAKAGAWA, 2000).

Nos estádios iniciais de desenvolvimento, as sementes de jiló apresentavam alto teor de água (Gráfico 1) e também houve aumento progressivo de matéria seca (Tabela 1), corroborando assim com as informações de (CARVALHO; NAKAGAWA, 2000), descritas acima.

Taiz e Zeiger (2004) relataram que os órgãos de reserva em desenvolvimento necessitam de maior suprimento energético e com isso, a atividade respiratória nesses tecidos é mais intensa. De acordo com (PESKE et al., 2006) o alto teor de água das sementes causa também aumento significativo da taxa respiratória.

Assim, observou-se que o aumento nas expressões enzimáticas da MDH nos estádios iniciais de desenvolvimento das sementes de jiló, e com uma progressiva diminuição da expressão enzimática com o avanço da maturação, estão relacionadas ao fato de que no início do desenvolvimento das sementes (35 e 40 DAA), há maior teor de água, aumento de massa seca e alta atividade respiratória. Já em sementes colhidas mais maduras (40 DAA e 45DAAr), há menor teor de água, estabilização do acúmulo de matéria seca e a semente apresenta-se em estado de quiescência com menor atividade respiratória e metabólica.

Em estudos realizados por (VIDIGAL et al., 2009; QUEIROZ et al., 2011), não foram observadas alterações nas expressões enzimáticas durante os estádios de maturação de sementes de pimenta (*Capsicum annuum* L.) e (*Capsicum frutescens* L.).

Portanto, esta enzima poderia se constituir em interessante marcador da respiração aeróbica das sementes durante os estádios de maturação.

Por se tratar de uma enzima importante a respiração celular, o aumento da expressão em diferentes compartimentos celulares pode estar relacionado ao aumento da respiração, que ocorre em sementes que se encontram em processo de deterioração, uma vez que enzimas envolvidas na respiração podem ser ativadas em sementes de potencial fisiológico reduzido (SHATTERS et al., 1994). Em sementes colhidas nos estádios iniciais de maturação foram observados os menores valores de germinação e vigor.

Ressalta-se ainda que a atividade da malato desidrogenase (MDH) se dá continuamente, uma vez que a energia gerada no ciclo de Krebs é fundamental, tanto para as reações de biossíntese de produtos quanto à degradação de compostos para o crescimento da plântula (MORELAND; NOVITZKY, 1988).

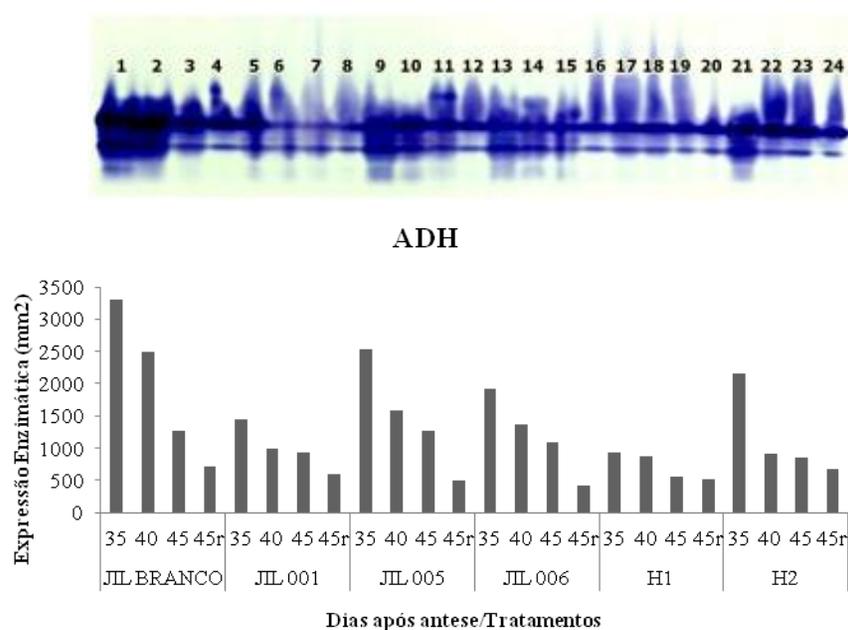
### ***Álcool Desidrogenase***

Outra enzima envolvida no processo de respiração é a álcool desidrogenase, ADH.

Nesta pesquisa as expressões da enzima álcool desidrogenase, variaram nos diferentes estádios de maturação. As maiores expressões para todos os materiais genéticos utilizados foram observadas em sementes colhidas nos estádios iniciais de desenvolvimento (35 e 40DAA), e as menores ocorreram em sementes mais maduras (45 DAA e 45DAAr).

O aumento da atividade da enzima álcool desidrogenase (ADH) pode estar relacionado ao aumento da respiração anaeróbica devido à presença de elevadas taxas de acetaldeído, o que favorece a produção de etanol, o qual também é tóxico para as células (figura 4).

**Figura 4 -** Expressões da enzima álcool desidrogenase (ADH) de sementes de jiló das variedades (JIL branco, JIL 001, JIL 005, JIL 006, H1 e H2), colhidas em diferentes estádios de maturação (35, 40, 45 DAA e 45DAAr).



A ADH está relacionada à respiração anaeróbica, promovendo redução do acetaldeído a etanol (BUCHANAN et al., 2005). O acetaldeído acelera a deterioração das sementes (ZHANG et al., 1994), com o aumento da atividade da ADH, as sementes ficam mais protegidas contra a ação deletéria deste composto, a qual é maior quando comparada a do etanol.

Em sementes colhidas nos estádios de maturação mais avançados, provavelmente as menores expressões da ADH, esteja relacionada à redução da

respiração anaeróbica (BUCHANAN et al, 2005). Menores expressões da enzima ADH foram verificadas em sementes colhidas em estádios mais avançados de maturação, aos 40 DAA e 45DDAr, respectivamente.

Além da variação da expressão desta enzima em sementes com diferentes níveis de maturação, também houve variação da expressão em sementes de diferentes materiais genéticos. Maior expressão foi observada em sementes da cultivar de jiló branco (JIL branco) e menor em sementes do híbrido (H1), considerando as sementes em diferentes níveis de maturação.

Quando a via aeróbica é comprometida, a via anaeróbica da respiração é ativada e produtos tóxicos às células como acetaldeído e etanol são acumulados. No metabolismo anaeróbico, o piruvato, primariamente produzido na glicólise, é convertido para acetaldeído pela ação da enzima piruvato descarboxilase e o acetaldeído é, então, reduzido para etanol pela enzima álcool desidrogenase (ADH).

Em estudo realizado por Zhang et al. (1994), foi observada, em função do metabolismo anaeróbico, a ocorrência da produção de compostos voláteis pelas sementes, cuja presença pode acelerar o seu processo de deterioração. De acordo com esses autores, entre os compostos voláteis, o acetaldeído foi o que proporcionou mais efeitos danosos independentemente do ambiente de armazenamento, o que acelerou o processo de deterioração.

Em estudo realizado por (VIDIGAL et al., 2009), observaram maior expressão em sementes de pimenta obtidas de frutos colhidos em estádios mais avançados de maturação (60 e 70 DAA - frutos vermelhos).

Segundo Santos et al. (2005), há aumento da respiração nas sementes que se encontram em processo deteriorativo, uma vez que as enzimas envolvidas na respiração, como a ADH e a MDH, podem ser ativadas em sementes com reduzida qualidade fisiológica.

Vieira (1996) afirmou que enzimas envolvidas na respiração podem apresentar alta atividade em sementes com potencial fisiológico reduzido e ser um possível marcador molecular para deterioração de sementes.

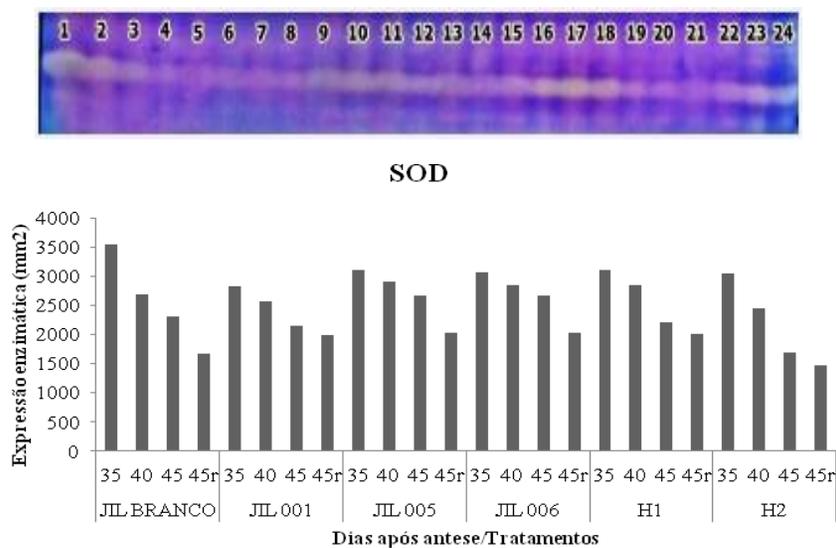
***Superóxido Dismutase ; Catalase e Peroxidase:***

Em relação às enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e a peroxidase (PO), estas apresentaram comportamento semelhantes em relação à expressão das mesmas. Houve maior expressão destas enzimas em sementes colhidas nos estádios iniciais de maturação, principalmente aos 35 e 40 DAA.

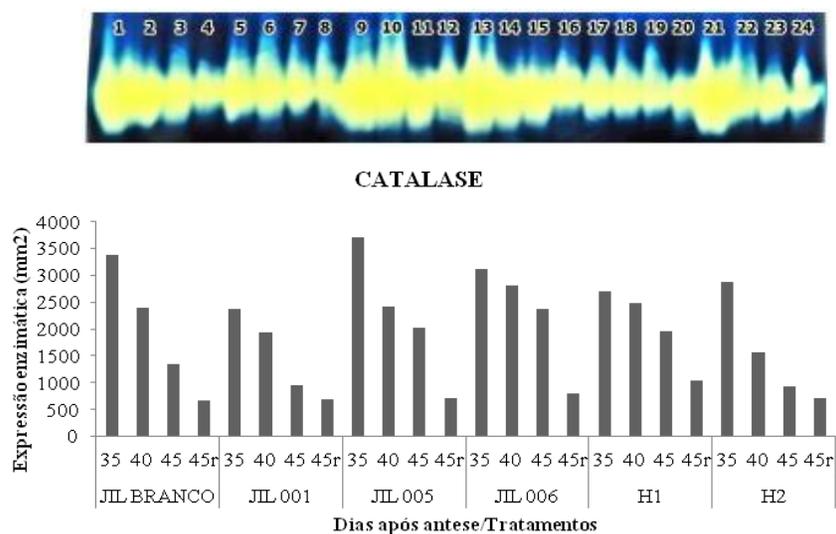
Reduções das expressões destas ocorreram com o avanço da maturação das sementes, aos 45 DAA e 45DAAr.

Houve variações das expressões destas três enzimas também em sementes dos diferentes materiais genéticos utilizados. Para a peroxidase, catalase e superóxido dismutase, por exemplo, menor expressão foi observada em sementes do híbrido H2, (Figuras 5, 6 e 7).

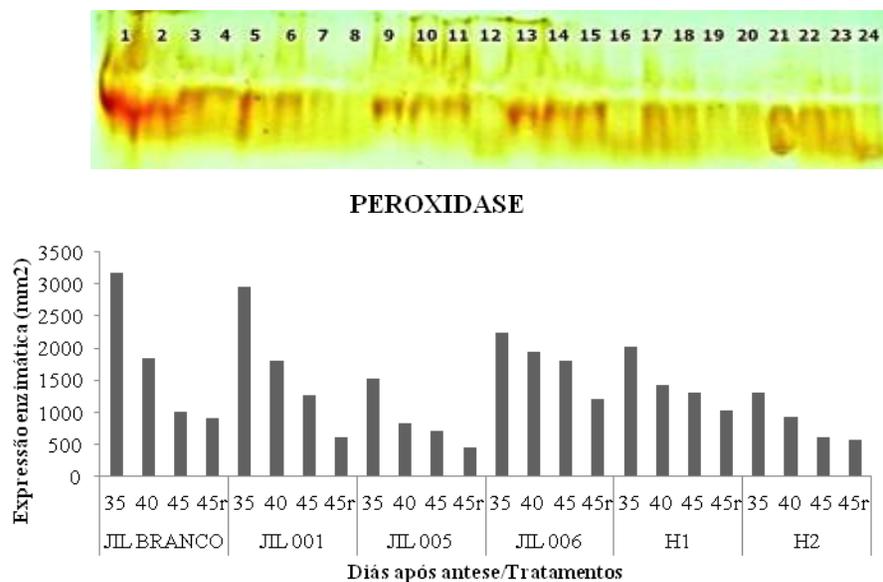
**Figura 5** - Expressões da enzima superóxido dismutase (SOD), de sementes de jiló das variedades (JIL branco, JIL 001, JIL 005, JIL 006, H1 e H2), colhidas em diferentes estádios de maturação (35, 40, 45 DAA e 45DAAr)



**Figura 6** - Expressões da enzima catalase (CAT) de sementes de jiló das variedades (JIL branco, JIL 001, JIL 005, JIL 006, H1 e H2), colhidas em diferentes estádios de maturação (35, 40, 45 DAA e 45DAAr)



**Figura 7 -** Expressões da enzima peroxidase (PO) de sementes de jiló das variedades (JIL branco, JIL 001, JIL 005, JIL 006, H1 e H2), colhidas em diferentes estádios de maturação (35, 40, 45 DAA e 45DAAr)



As maiores expressões da enzima (SOD) ocorreram nas fases iniciais do processo de maturação das sementes (35 e 40 DAA), indicando que sua ação de defesa, para redução de superóxido ( $O_2^-$ ), e consequente redução da formação de radicais livres, foi mais demandada, seja em função do processo de deterioração ou pela imaturidade das sementes nos estádios iniciais.

Em consequência há ação da SOD, que converte o  $O_2^-$  em  $H_2O_2$  e  $O_2$ , as enzimas (CAT) e (PO) irão converter o  $H_2O_2$  que também pode ser prejudicial às células vegetais em  $O_2$  e  $H_2O$ . Neste processo há o envolvimento destas enzimas, e que pode ser observado por meio dos padrões da SOD, CAT, e PO.

Espécies reativas de oxigênio (EROs) têm um duplo papel na fisiologia de sementes, apresentando efeitos benéficos ou prejudiciais fornecendo informações importantes para a melhoria na manutenção do vigor e qualidade de

sementes de plantas cultivadas, assim como um papel importante durante a germinação (KUMAR et al., 2015).

A superóxido dismutase (SOD) é a primeira enzima na linha de defesa das plantas na eliminação das EROs, convertendo  $O_2^-$  em  $H_2O_2$  e  $O_2$ . Entretanto o  $H_2O_2$  também pode ser prejudicial às células vegetais, dessa forma a catalase (CAT) a peroxidase (PO) podem converter o  $H_2O_2$  em  $O_2$  e  $H_2O$ .

Marcos Filho (2005) relata que o aumento da atividade dessas enzimas esta associada à deterioração das sementes em função da necessidade de atividade mais intensa das enzimas participantes do complexo antioxidante.

As sementes provenientes de frutos colhidos nos estádios iniciais de desenvolvimento 35 e 40 DAA, provavelmente ficaram mais expostas ao estresse oxidativo, favorecendo a peroxidação lipídica, o que corrobora com as afirmações de (YAMAUCHI et al., 2008; MONTEIRO et al., 2011), assim, as maiores expressões das isoenzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e a peroxidase (PO) provavelmente estiveram associadas a função de defesa as espécies reativas de oxigênio (EROs), convertendo  $O_2^-$  em  $H_2O_2$  e  $O_2$  e o  $H_2O_2$  em  $O_2$  e  $H_2O$ , sucessivamente, principalmente em sementes imaturas.

Em sementes provenientes de frutos colhidos nos estádios mais avançados de maturação, as expressões destas enzimas foram menores aos 45DAA e 45DAAr.

Por meio dos resultados observados nos testes para a avaliação da qualidade das sementes, menores valores de condutividade elétrica, maiores peso de mil sementes, de matéria fresca e seca de plântulas, e maiores e máximos valores de germinação, IVG, emergência e IVE, foram observados em sementes submetidas ao tratamento 45DAAr.

Acredita-se que as sementes que se encontram em processo de maturação precoce estão sujeitas a ação de um sistema antioxidante acentuado, evidenciando que estas sementes teriam maior produção de EROs e,

consequentemente, menor qualidade (El-Shabrawi et al. 2010, Deuner et al. 2011).

Condições de estresse abiótico podem favorecer o aumento na formação de espécies reativas de oxigênio (GILL; TUTEJA, 2010; GOMES; GARCIA, 2013). O aumento das EROs podem reagir com ácidos graxos insaturados das membranas celulares, promovendo a peroxidação lipídica (YAMAUCHI et al., 2008; MONTEIRO et al., 2011).

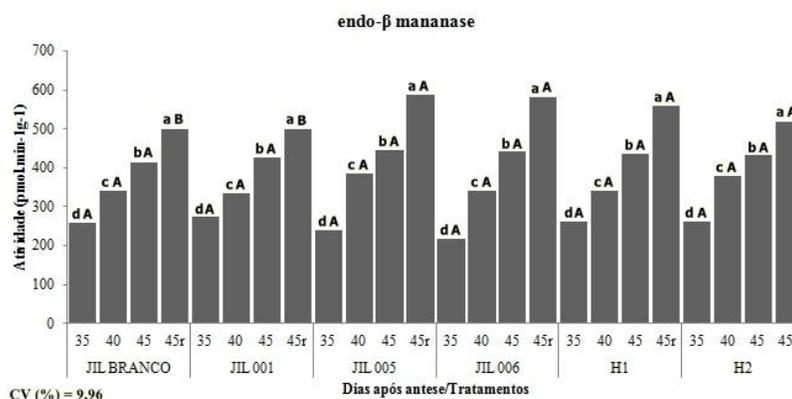
As enzimas envolvidas na degradação, tais como esterase (EST), malato desidrogenase (MDH), álcool desidrogenase (ADH), catalase (CAT) e da peroxidase (PO) têm grande potencial como marcadores moleculares para monitorar e caracterizar a qualidade fisiológica das sementes (VEIGA et al., 2010), além de proporcionar uma compreensão das causas de vigor e reduzida viabilidade (GALVÃO et al., 2014).

### *Endo $\beta$ mananase*

Em relação à atividade da enzima endo- $\beta$ -mananase, pode-se verificar maior expressão desta em sementes provenientes de frutos colhidos 45DAAr (frutos colhidos aos 45 DAA e que ficaram 7 dias em repouso).

A expressão da enzima endo- $\beta$ -mananase em sementes provenientes de frutos colhidos aos 45DAAr para todos os materiais genéticos avaliados foi estatisticamente superior às sementes colhidas em estádios menos avançados de maturação. Pela interação entre os materiais genéticos e os estádios de maturação, a maior expressão da endo- $\beta$ -mananase foi observada em sementes das cultivares submetidas ao tratamento aos 45DAAr, (Figura 8).

**Figura 8** - Expressão da enzima endo  $\beta$  mananase de sementes de jiló das variedades (JIL branco, JIL 001, JIL 005, JIL 006, H1 e H2), colhidas em diferentes estádios de maturação (35, 40, 45 DAA e 45DAAr)



O aumento das expressões enzimáticas da endo- $\beta$ -mananase de acordo com o avanço dos estádios de maturação (dos 35 DAA aos 45DAAr), em sementes de todos os materiais genéticos pode ser associado aos resultados obtidos nos testes para a avaliação da qualidade fisiológica. Houve aumento progressivo dos valores de protrusão radicular, germinação e emergência de plântulas com o avanço do processo de maturação de sementes.

A ruptura do endosperma é a principal limitação durante a germinação das sementes de solanáceas e nesse caso é necessário o enfraquecimento do endosperma micropilar que envolve a extremidade da radícula, ou seja, ocorre hidrólise da parede celular do endosperma por enzimas hidrolíticas, como a endo- $\beta$ -mananase (MO e BEWLEY, 2003), (KUCERA; COHN; LEUBNER-METZGER, 2005), (CAIXETA et al., 2014).

Caixeta (2014) e (QUEIROZ et al., 2011), trabalhando com sementes de pimenta habanero e malagueta, colhidas em diferentes estádios de desenvolvimento, observaram o aumento da expressão da enzima endo- $\beta$ -

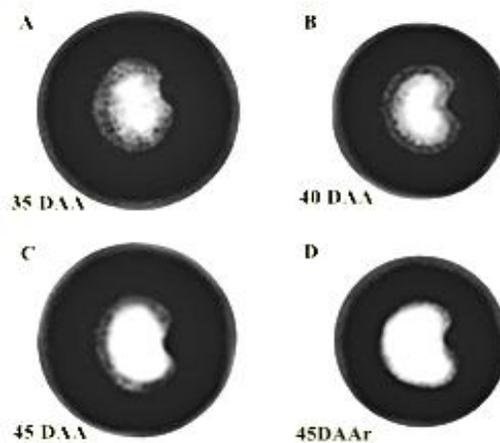
mananase em sementes colhidas nos estádios de desenvolvimento mais avançados.

Também em sementes de tomate, o amolecimento do endosperma está diretamente ligado ao aumento da expressão da enzima endo- $\beta$ -mananase (NONOGAKII et al., 1992).

## 9 ANÁLISE DE IMAGEM RADIOGRÁFICA E GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE JILÓ

Por meio da análise das imagens radiográficas foi possível observar a área interna das sementes de jiló (*Solanum gilo*) e identificar diferentes percentuais de áreas livres entre o tegumento e o endosperma, em diferentes estádios de maturação. As áreas livres no interior das sementes foram visualizadas em todos os materiais genéticos. Na Figura 9 estão representadas de uma maneira geral, as áreas livres em cada estágio de maturação durante o desenvolvimento das sementes.

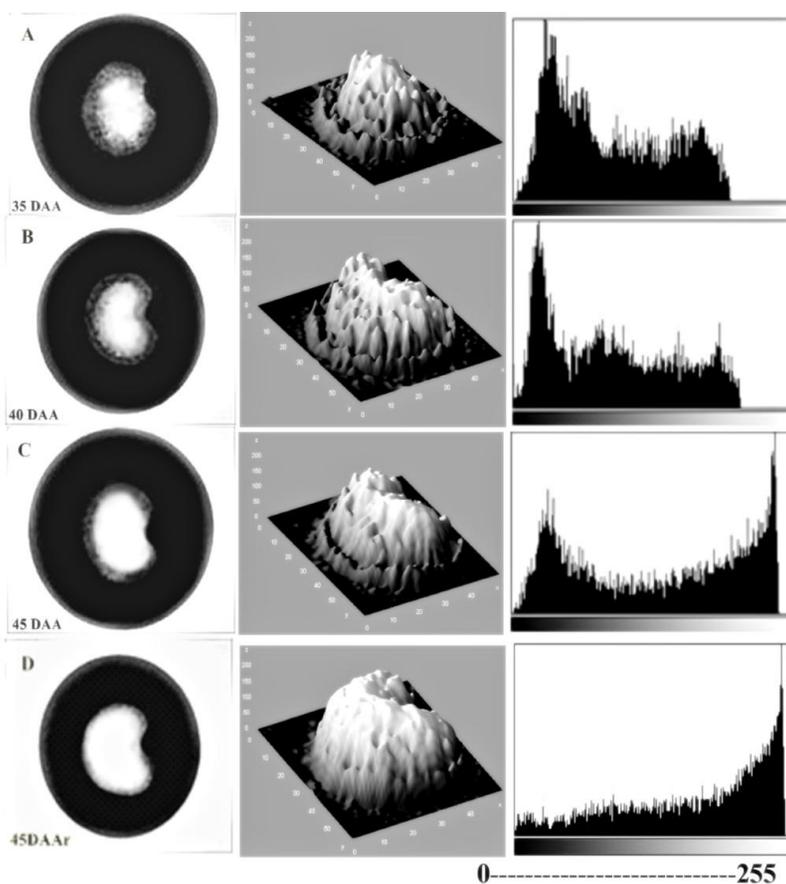
**Figura 9** - Sequência de imagens radiográficas de sementes de jiló durante o processo de maturação, A (35 DAA), B (40 DAA), C (45 DAA), e D (45DAAr)



A tonalidade observada na análise de imagens radiográficas é definida em função do nível de absorção da radiação em regiões distintas da semente, que é determinada pela espessura, densidade e composição dos tecidos da semente (SIMAK, 1991; ISTA, 1993). Assim, sementes que não possuem tecido embrionário, por não apresentarem resistência à passagem dos raios X, fornecem imagens escuras.

Após a obtenção das imagens radiográficas foi possível visualizar com o auxílio do software ImageJ<sup>®</sup>, imagens em 3D e seus histogramas em sementes de jiló colhidas em diferentes estádios de maturação (Figura 10).

**Figura 10** - Imagens radiográficas, e suas respectivas imagens em 3D e seus histogramas em pixels (0 a 255) de sementes de jiló em diferentes estádios de maturação (35, 40, 45 DAA e 45DAAr)



De acordo com a Figura 10, nos estádios iniciais de maturação das sementes (35 e 40 DAA), verifica-se que as imagens radiográficas (A e B) apresentam maiores áreas escuras, com um maior número de cavidades nas imagens em 3D, sendo que os picos nos histogramas ocorrem do lado esquerdo, com tonalidades mais escuras (maiores áreas livres internas). Já em sementes colhidas aos 45 DAA e aos 45DAAr, as imagens radiográficas (C e D) apresentam-se mais claras e com menores áreas livres internas. Pelas imagens

em 3D nestes estádios observa-se diminuição do número de cavidades nas sementes (preenchimento das sementes), e os picos nos histogramas se deslocaram para a direita (sementes com menores áreas livres).

Em outras pesquisas também foi verificado a eficiência da análise de imagens de raios X para a avaliação da área interna de sementes de canfístula (OLIVEIRA et al., 2003), mamona (ALVES et., al 2007), pimentão (GAGLIARDI; MARCOS FILHO, 2011), berinjela (SILVA et al., 2012), melão, abóbora e melancia (GOMES JÚNIOR et al., 2012) e abóbora (SILVA et al., 2014).

Pela análise das imagens radiográficas com o auxílio do software ImageJ® foi possível a mensuração das áreas livres internas das sementes e, desta forma, permitiu avaliar a relação entre a área interna livre das sementes e a germinação.

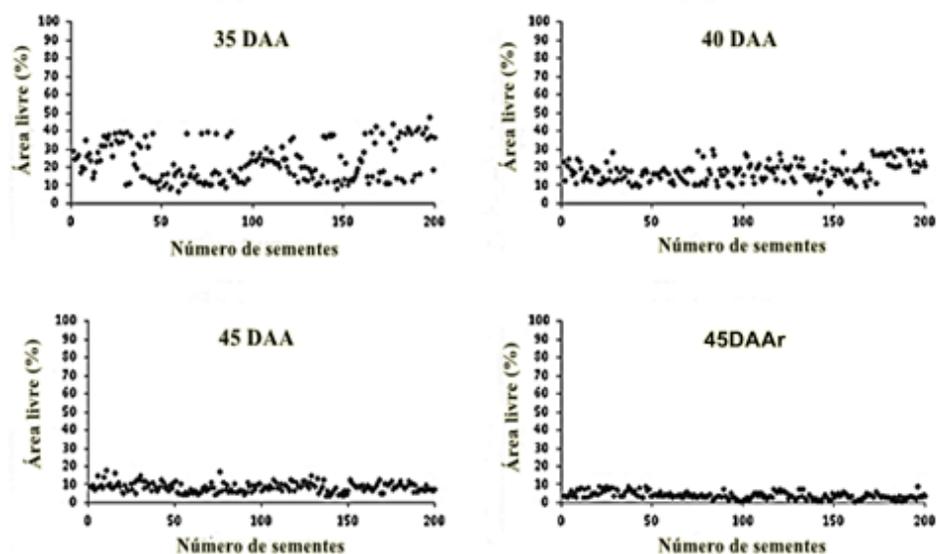
Esse resultado é interessante, pois os softwares indicados na literatura para esse tipo de análise, são o Tomato Analyzer® (MARCOS FILHO et al., 2010) e o Image ProPlus® (DELL'ÁQUILA, 2007; (SILVA et al., 2012), sendo que em revisão na literatura atual, não foram encontrados trabalhos de análise de imagens em sementes de jiló (*solanum gilo*) utilizando o software ImageJ®, apenas em sementes de *Acca sellowiana* (SILVA et., al 2013).

Diante do exposto o software pode ser uma alternativa para pesquisas em diferentes espécies de sementes nesta linha de estudo, uma vez que métodos computadorizados que utilizam alta velocidade de captura e processamento de imagens são as técnicas mais avançadas que podem prover alto nível de eficiência para análise de qualidade de sementes (DELL'ÁQUILA, 2009).

Com base nos resultados obtidos na análise das imagens com o software ImageJ®, constatou-se que houve diminuição progressiva da área livre interna das sementes (embrião – endosperma) em todos os materiais genéticos com o processo de maturação das sementes.

A distribuição média geral da área livre no interior de cada semente (n=200) dos materiais genéticos JIL branco, JIL 001, JIL 005, JIL 006, H1 e H2, estão representadas na Figura 11.

**Figura 11** - Área livre interna média (%) ocupada pelo embrião e o endosperma de cada semente de jiló (*Solanum gilo*) numa amostra de 200 sementes, representando todos os materiais genéticos aos 35, 40, 45 DAA e 45DAAr



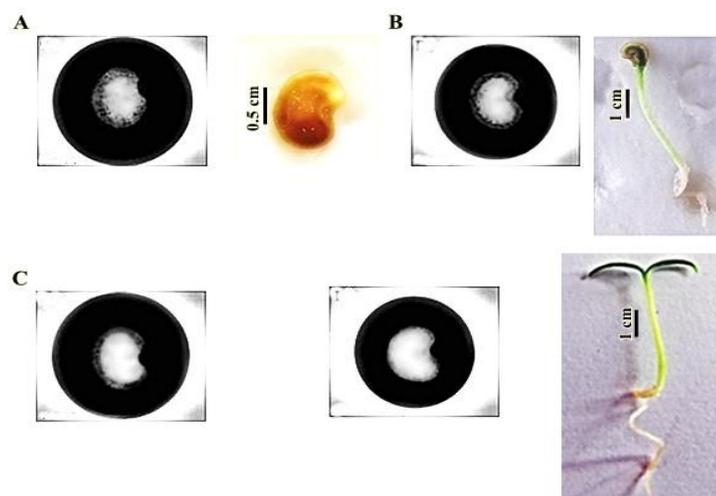
Segundo (CARVALHO ; NAKAGAWA, 2000), quanto mais distante da antese, forem a colheita dos frutos, mais pesadas serão essas sementes MIRANDA et al. (1992), estudando a maturação de frutos de berinjela, concluíram que não houve diferença no ganho de peso seco entre sementes colhidas aos 50 DAA em relação às sementes colhidas aos 60 DAA. (OLIVEIRA et al. 1999), trabalhando com sementes de pimentão, concluíram que, aos 55 DAA, as sementes havia atingido a maturidade fisiológica, sendo este o ponto em que as sementes atingiram maior massa seca, coincidindo com o melhor ponto para a colheita.

Assim verifica-se que com o avanço no estágio de maturação das sementes de jiló, houve um aumento de massa seca e conseqüente diminuição da área livre interna.

A avaliação da morfologia interna de sementes é imprescindível tanto para a caracterização de espécies pouco estudadas quanto para a melhoria da qualidade de lotes de sementes, no que se diz respeito ao seu atributo físico e fisiológico, visto que a informação sobre a existência de sementes defeituosas e vazias é desejável porque podem influenciar nos resultados de germinação (GOMES JUNIOR, 2010).

Ao final do teste de germinação, 14 dias após a semeadura, foram contabilizadas com o auxílio das imagens digitais a porcentagem de plântulas normais, anormais e sementes mortas de todos os materiais genéticos nos diferentes estágios de maturação (35, 40, 45 DAA e 45DAAr), respectivamente, a exemplo da Figura 12.

**Figura 12** - A – Sementes de jiló mortas (35DAA), com área livre interna média de 25%; B - Plântulas anormais (40DAA), com área livre interna média de 18%; C - (45DAA) e (45DAAr), Plântulas normais com área livre interna média de 10% e 4%, respectivamente



Foi possível relacionar os resultados do teste de germinação com a porcentagem de área livre interna das sementes, plântulas normais, anormais e sementes mortas.

Em sementes de todos os materiais genéticos colhidos aos 35 DAA, não ocorreu a germinação, com 100% de sementes mortas e a porcentagem média de área livre no interior da semente foi de 25%.

Aos 40 DAA em sementes dos materiais genéticos JIL branco, JIL 001, JIL 005 e JIL 006, houve porcentagem média de área livre no interior da semente de 18%, e porcentagem de germinação média de 10%, sem a formação de plântulas normais, com média geral de 21% de plântulas anormais, e 75% de sementes mortas.

Já para os híbridos H1 e H2, aos 40 DAA, houve germinação de 35 e 25%, respectivamente, entretanto com um baixo percentual de plântulas normais (15 e 5%) e com a formação de plântulas anormais (10 e 20%), respectivamente.

Aos 45 dias após antese (45 DAA), houve porcentagem de germinação de sementes de JIL branco, JIL 001, JIL 005 e JIL 006, H1 e H2 de 80, 86, 55, 84, 98 e 96%, respectivamente, com a mesma porcentagem de plântulas normais, não ocorreu a formação de plântulas anormais e com 20, 14, 45, 16, 2 e 4% de sementes mortas.

Já em sementes provenientes de frutos colhidos aos 45 DAA e que ficaram em repouso por sete dias, aos 45DAAr, houve porcentagem média de área livre no interior da semente de 4%, e 100% de germinação e de plântulas normais, exceto para a cultivar JIL branco em 95% de germinação, Tabela 15.

**Tabela 15** - Área livre no interior da semente de jiló (AL), germinação (G), percentual de plântulas normais (PN), plântulas anormais (PA) e sementes mortas (SM)

<b>JIL branco</b>					
<b>Estádio</b>	<b>Área livre (%)</b>	<b>G (%)</b>	<b>PN (%)</b>	<b>PA (%)</b>	<b>SM (%)</b>
35 DAA	32 d	0 c	0	0	100
40 DAA	24 c	0 c	0	25	75
45 DAA	10 b	80 b	80	0	20
45DAAr	5 a	95 a	95	0	5
<b>CV</b>	8,1	9,4			
<b>JIL 001</b>					
<b>Estádio</b>	<b>Área livre (%)</b>	<b>G (%)</b>	<b>PN (%)</b>	<b>PA (%)</b>	<b>SM (%)</b>
35 DAA	21 d	0 d	0	0	100
40 DAA	17 c	10 c	0	20	80
45 DAA	10 b	86 b	86	0	14
45DAAr	5 a	100 a	100	0	0
<b>CV</b>	6,8	5,2			
<b>JIL 005</b>					
<b>Estádio</b>	<b>Área livre (%)</b>	<b>G (%)</b>	<b>PN (%)</b>	<b>PA (%)</b>	<b>SM (%)</b>
35 DAA	26 d	0 c	0	0	100
40 DAA	21 c	0 c	0	25	75
45 DAA	10 b	55 b	55	0	45
45DAAr	5 a	100 a	100	0	0
<b>CV</b>	13,3	12,7			

Cont.

<b>JIL 006</b>					
<b>Estádio</b>	<b>Área livre (%)</b>	<b>G (%)</b>	<b>PN (%)</b>	<b>PA (%)</b>	<b>SM (%)</b>
35 DAA	23 d	0 d	0	0	100
40 DAA	18 c	9 c	0	17	83
45 DAA	9 b	84 b	84	0	16
45DAAr	4 a	100 a	100	0	0
<b>CV</b>	7,9	5,5			
<b>H1</b>					
<b>Estádio</b>	<b>Área livre (%)</b>	<b>G (%)</b>	<b>PN (%)</b>	<b>PA (%)</b>	<b>SM (%)</b>
35 DAA	22 c	0 c	0	0	100
40 DAA	13 b	35 b	15	10	75
45 DAA	4 a	98 a	98	0	2
45DAAr	3 a	100 a	100	0	0
<b>CV</b>	14,7	4,6			
<b>H2</b>					
<b>Estádio</b>	<b>Área livre (%)</b>	<b>G (%)</b>	<b>PN (%)</b>	<b>PA (%)</b>	<b>SM (%)</b>
35 DAA	23 d	0 d	0	0	100
40 DAA	15 c	25 c	5	20	75
45 DAA	5 a	96 a	96	0	4
45DAAr	3 a	100 a	100	0	0
<b>CV</b>	6,6	7,2			

As sementes provenientes de frutos colhidos aos 45DAAr das cultivares JIL branco, JIL 001, JIL 005 e JIL 006 foram estaticamente superior as sementes colhidas aos (35, 40 e 45 DAA), nestas sementes foram observadas maiores porcentagens de germinação e as menores porcentagens de área livre no interior das sementes, exceto em sementes dos híbridos H1 e H2, nas quais não houve diferenças estatísticas da porcentagem de área livre no interior das sementes e da germinação.

Houve relação direta entre a germinação e a área livre no interior das sementes, uma vez que em sementes com menor área livre interna foi observada maior germinação.

Em sementes dos híbridos, H1 e H2, verificou-se os menores valores de área livre interna e maiores valores de germinação a partir do estágio de 45 DAA.

Resultados semelhantes relacionados à redução de área livre e o aumento na germinação provenientes de frutos colhidos em diferentes estágios de maturação em espécies de pimentas foram verificados por OLIVEIRA et al. (1999), (CARVALHO; NAKAGAWA, 2000) (NAKADA et al., 2011), (H.O. SANTOS et al., 2015).

Em geral para todos os materiais genéticos estudados, (JIL branco, JIL 001, JIL 005, JIL 006, H1 e H2), as sementes provenientes de frutos colhidos aos 35 DAA, com área livre média (embrião – endosperma)  $\geq 21\%$ , não germinaram e 100% das sementes eram mortas.

As sementes provenientes de frutos colhidos aos 40 DAA, com área livre média  $\geq 15\%$  produziram somente plântulas anormais para materiais genéticos JIL branco, JIL 001, JIL 005, JIL 006, e com uma porcentagem média de 80% de sementes mortas. Já para as sementes dos híbridos H1 e H2 houve germinação aos 40 DAA, porém muito baixa e com a presença de plântulas anormais.

As sementes provenientes de frutos colhidos aos 45 DAA, com área livre média  $\leq 10\%$  produziram em média 84% de plântulas normais, e não houve a formação de plântulas anormais. Já em sementes provenientes de frutos colhidos aos 45DAA e que ficaram em repouso por sete dias, houve 100% de plântulas normais, e área livre média de 4%.

É importante enfatizar que a presença de plântulas anormais para os materiais genéticos, JIL branco, JIL 001, JIL 005, JIL 006, aos 35 e 40 DAA, podem estar diretamente relacionadas à imaturidade das sementes e a alta porcentagem de área livre no interior das sementes. Isto pode ser verificado na

avaliação de imagens de raios X, juntamente com o programa ImageJ<sup>®</sup>, e associados aos resultados de qualidade fisiológica.

Em estudo semelhante, foi verificado que em sementes de pimentão, quando o espaço livre entre o embrião e o endosperma foi superior a 2,7%, ou seja, sementes com área do endosperma e embrião inferior a 97,3%, houve redução da germinação com o aumento do porcentual de plântulas anormais ou não germinadas (DELL'ÁQUILA, 2007).

Em vários trabalhos de pesquisa tem sido relatado que sementes parcialmente formadas não foram capazes de originar plântulas normais no teste de germinação, como *Cecropia pachystachya* Trec (PUPIM et al., 2008), aroeira (MACHADO; CICERO, 2003), pimentão, Dell'Áquila (2007), berinjela (SILVA et al., 2012), melância (GOMES JÚNIOR et al., 2012) e abóbora (SILVA et al., 2014).

No entanto, para muitas espécies de frutos carnosos, a colheita do fruto seguida por um período de tempo em repouso por 7 ou 10 dias, interfere positivamente na qualidade das sementes (ARAÚJO et al., 1982); (BARBEDO et al., 1994); (DIAS; NASCIMENTO, 2009).

Diante do exposto, verifica-se que a análise de imagens radiográficas juntamente com o software ImageJ<sup>®</sup> é uma boa alternativa para a identificação de áreas internas livres em sementes de jiló (*Solanum gilo*), podendo-se associar o maior ou menor potencial fisiológico de lotes em diferentes estádios de maturação.

O uso de sistemas de análise de imagens como o relatado neste trabalho, pode contribuir para o aprimoramento da qualidade de lotes, permitindo a identificação de sementes com menor potencial e o descarte destas antes da comercialização, auxiliando no controle de qualidade.

A análise das imagens radiográficas de sementes de jiló (*solanum gilo*), com o auxílio do software ImageJ<sup>®</sup>, permitiu mensurar as áreas internas livres

em diferentes estádios de maturação, assim como determinar a relação entre estas e a germinação.

Em sementes provenientes de frutos colhidos aos 45 DAA e com sete dias em repouso, verificou-se menor área livre interna e uma formação de 100% de plântulas normais.

## 10 CONCLUSÕES

Em sementes extraídas de frutos colhidos aos 45 dias após a antese e submetidos ao repouso por sete dias (45DAAr) foram observados maiores valores de germinação, vigor e peso seco.

Em sementes mais imaturas de Jiló são observadas os maiores valores de lipídios e de proteínas e menores de carboidratos.

Em sementes imaturas são observadas maior expressão das enzimas Esterase, Isocitrato Liase, Malato Desidrogenase, Álcool Desidrogenase, Superóxido Dismutase, Catalase e Peroxidase.

A expressão da enzima endo- $\beta$ -mananase aumenta com o avanço do estágio de maturação, com maior expressão aos 45DAAr.

## REFERÊNCIAS

- ABUD, H. F. et al. Qualidade fisiológica de sementes das pimentas malagueta e biquinho durante a ontogênese. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 48, n. 12, p. 1546-1554. 2013.
- ALFENAS, A. C. (Ed.). Eletroforese e marcadores bioquímicos em plantas e microrganismos. 2. ed. ampl. e atual. Viçosa, MG: UFV, 627 p. 2006.
- ALVARENGA, et al. Influência da idade e armazenamento pós-colheita dos frutos de sementes de melancia. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.2, n.2. p. 5-8. 1984.
- ALVARENGA, et al. Maturação fisiológica de sementes de abóbora italiana. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.13, n.2, p.147-150.1991.
- ALVES, C. Z., A. R. Godoy, A. C. d. S. Candido and N. C. d. Oliveira. "Qualidade fisiológica de sementes de jiló pelo teste de envelhecimento acelerado." **Ciência Rural**, Santa Maria, v.42, p. 58-63. 2012.
- ALVES, R. A. et al. Análise de imagens radiografadas de sementes de diferentes cultivares de mamona. In: **4º Congresso de Plantas Oleaginosas, Óleos, Gorduras e Biodiesel**. Varginha. Biodiesel: combustível ecológico, 2007. p. 516-523.
- APHORTESP - Associação dos Produtores e Distribuidores de Hortifruti do Estado de São Paulo, 2013. disponível em:  
<http://www.aphortesp.com.br/index.html>. Acesso em: 15 nov. 2013.
- ARAÚJO, E.P.; MONTOVANI, E. C.; SILVA R. F. Influência da idade e armazenamento dos frutos na qualidade de sementes de abóbora. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.4, n.1, p. 77- 87. 1982.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis of AOAC International**. 16th ed. Arlington, v. 2. 559 p. 1995.
- BARBEDO, A.S.C.; ZANIN, A.C.W.; BARBEDO, C.J.; NAKAGAWA, J. Efeitos da idade e do período de repouso pós-colheita dos frutos sobre a qualidade de sementes de berinjela. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 12, n. 1, p. 14-18. 1994.

BARBEDO, C.J.; BARBEDO, A.S.C.; NAKAGAWA, J.; SATO, O. Efeito da idade e do repouso pós-colheita de frutos de pepino na semente armazenada.

**Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.34, n.5, p.839-847. 1999.

BASU, R. N. Seed viability. In: BASRA, A.S. **Seed quality**: basic mechanisms and agricultural implications. New York, 1995.p.1-42.

BERGER, F.et. al. Double fertilization - caught in the act. **Oin Plant Science**,oxford, v.13, p.437-443, 2008.

BERDAHL, J. D. & Frank, A. B. Seed Maturity in Four Cool-Season Forage Grasses. *Agron J*, 90, p.483-488. 1998.

BEWLEY, J. D.; BLACK, A.M. **Seeds - Physiology of development and germination**. New York: Plenum Press. 2nd ed., 445p. 1994.

BEWLEY, J.D. et. al **Seeds**: physiology of development, germination and dormancy. 3. ed., New York: Springer, 392 p. 2013.

BRASIL, Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Regras para análise de sementes**. Brasília: SNAD/DNPV/CLAV, 365p. 1992.

BRASIL. Ministério da Agricultura e da Reforma Agrária. **Regras para análise de sementes**. Brasília: Secretaria Nacional de Agropecuária/Departamento Nacional de Defesa Vegetal, 399 p. 2009.

BUCHANAN, B. B.; GRUISSEM, W.; JONES, R. L. **Biochemistry e molecular biology of plants**. Rockville: American Society of Plant Physiologists, 1367.p .2005.

CAIXETA, F. Modificações fisiológicas e proteínas durante o desenvolvimento, germinação e armazenamento de sementes de pimenta malagueta (*Capssicum frutescens* L.) e habanero yellow (*Capssicum chinense*). 2009. 98 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2009.

CAIXETA, F. et .al. Determinação de ponto de colheita na produção de sementes de pimenta malagueta e alterações bioquímicas durante o armazenamento e a germinação. **Científica** (Jaboticabal. Online), v. 42, p. 187, 2014.

CARVALHO, A. C. P. P.; RIBEIRO, R. L. D. Análise da capacidade combinatória em cruzamentos dialélicos de três cultivares de jiloeiro. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 20, n. 1, p. 48-51, mar. 2002.

CARVALHO, L. R. D.; CARVALHO, M. L. M. D.; DAVIDE, A. C. Utilização do teste de raios X na avaliação da qualidade de sementes de espécies florestais de Lauraceae. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 31, p. 57-66, 2009.

CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. Sementes: **ciência, tecnologia e produção**. 4. ed. Jaboticabal: FUNEP, 2000. 588 p.

CARVALHO, N.M.; NAKAGAWA, J. Sementes: ciência, tecnologia e produção. 5. ed. Jaboticabal: FUNEP, 2012. 590 p.

CASTRO, M. M.; GODOY, A. R.; CARDOSO, A. I. I. Qualidade de sementes de jiló „Morro Grande,“ em função da idade e do armazenamento dos frutos., **Horticultura Brasileira**, Brasília, Suplemento, v.22, n.2, p. 418. 2004.

CEASA MINAS. Preço dos frutos de jiló redondo e comprido verde-claro no decorrer do ano. Disponível em: <[http://minas.ceasa.mg.gov.br/detec/Oferita\\_preco/prc\\_medio\\_prd\\_var/prc\\_medio\\_prd\\_var.php](http://minas.ceasa.mg.gov.br/detec/Oferita_preco/prc_medio_prd_var/prc_medio_prd_var.php)>. Acesso em: 13 nov. 2013.

CENTRAIS DE ABASTECIMENTO DE MINAS GERAIS. Preço dos frutos de jiló redondo verde-escuro e comprido verde-claro no decorrer do ano. Disponível em: <http://www.ceasaminas.com.br/precosgeral.asp> Acesso em: 25 maio 2014.

COOLBEAR, P. Mechanisms of seed deterioration. In: BASRA, A. S. **Seed quality: basic mechanisms and agricultural implications**. New York: Food Products, 1995. p. 223-275.

CORREA, M.P, Dicionário das Plantas Úteis no Brasil e das Exóticas Cultivadas. IV –Rio de Janeiro, Imprensa Nacional, 1926-1978.gilo Raddi). 1973. 88 p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento dePlantas) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.

DELL'AQUILA, A. Pepper seed germination assessed by combined X-radiography and computer-aided imaging analyses. **Biologia Plantarum**, v. 51, p. 777-781. 2007.

DELL'AQUILA, A. Digital imaging information technology applied to seed germination testing. A review. **Agronomy for Sustainable Development**, Paris, v.29, p.213 – 221. 2009.

DEMIR I, ASHIROV AM, MAVI K. Effect of seed production environment and time of harvest on tomato (*Lycopersicon esculentum*) **seedling growth**. Res J Seed Sci. p.1-10. 2008.

DEMIR, I. and Ellis, R.H., Changes in potential seed longevity and seedling growth during seed development and maturation in marrow. **Seed Science Research** 3, 247-257. 1993.

DEMIR, I.; ELLIS, R.H. Changes in seed quality during seed development and maturation in tomato. **Seed Science Research**, Inglaterra. v.2, p.81-87, 1992.

DEMIR, I.; Mavi, K.; Sermenli, T.; Ozcoban, M. Seed development and maturation in Aubergine (*Solanum melongena* L.). *Gartenbauwissenschaft* 67: 148-154. 2002.

DESAI, B. B.; KOTECHA, P. M.; SALUNKHE, D. K. **Seeds handbook**. New York: M. Dekker, 1997. 627 p.

DIAS, D.C.F.S. Maturação fisiológica de sementes: O processo. **Seed News**, v.5, n.6, p.22- 24, 2001.

DIAS, D.C.F.S.; NASCIMENTO, W.M. Desenvolvimento, maturação e colheita de sementes de hortaliças. In: NASCIMENTO, W.M. (Ed.). Tecnologia de sementes de hortaliças. **Embrapa Hortaliças**, Brasília:, cap. 1, 2009. p. 11-76.

DIAS, D.C.F.S.et .al. Tomato seed quality in relation to fruit maturation and post-harvest storage. **Seed Science and Technology**, Surich, v. 34, n.3, p.691-699, 2006.

DONATO, L. M. S.; RABELO, M. M. ; DAVID, A. M. S. S. ; ROCHA, A. F. ; ROCHA, A. S. ; BORGES, G. A. . Qualidade fisiológica de sementes de melão em função do estágio de maturação dos frutos. **Comunicata Scientiae** (Online), v. 6, p. 49-56, 2015.

DOWNIE, B.; HILLHORST, H. W. M.; BEWLEY, J. D. A new assay for quantifying endo- $\beta$ -mannanase activity using Congo Red dye. **Phytochemistry**, New York, v. 36, p. 829-835, 1994.

EATON, J. W. Catalases and peroxidases and glutathione and hydrogen peroxide: mysteries of the bestiary. **Journal of Laboratory and Clinical Medicine**, Saint Paul, v. 118, n. 1, p. 3-4, July 1991.

ELLIS, R.H.; PIETA FILHO, C. The development of seed quality in spring and winter cultivars of barley and wheat. **Seed Science Research**, n.2, p.9-15. 1992.

EMATER - MG. Agricultores apostam no cultivo de jiló, considerado rentável – 1 p.2010.

FERREIRA, Daniel Furtado . SISVAR: um programa para análises ensino de estatística. **Revista Symposium** (Lavras), v. 6, p. 36-41, 2008.

FILGUEIRA, F. A. R. Novo manual de olericultura: **Agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças**. 2º Ed. Viçosa: UFV, 412p. 2003.

FILGUEIRA, F. A. R. Novo manual de olericultura: **agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças**. Viçosa, UFV: 2000. 333p.

FILGUEIRA, F. A. R.. Agrotecnologia moderna na produção de tomate, batata, pimentão, pimenta, berinjela e jiló. SOLANÁCEAS. UFLA. Lavras: 2003. 333p.

GAGLIARDI, B.; MARCOS FILHO, J. Relationship between germination and bell pepper seed structure assessed by the X-ray test. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.68, n.4, p.411- 416. 2011.

GALVÃO, J. C. C. et al. Alterações fisiológicas e enzimáticas em sementes de milho submetidas a diferentes épocas de colheita e métodos de debulha. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 13, n. 1, p. 14-23, 2014.

GARCIA-DIAZ, C.A., and J.J. STEINER. Birdsfoot trefoil seed production: II. Plant-water status on reproduction and seed yield. **Crop Science** 40: 449-456 p. 2000.

GILL, S. S.; TUTEJA, N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, Paris, 2010.p. 909-930,

GOMES JUNIOR, F.G. Aplicação da análise de imagens para avaliação da morfologia interna de sementes. **Informativo Abrates**, Londrina, v. 20, n. 3p33-39. 2010.

GOMES JÚNIOR, F.G.; YAGUSHI, J.T.; BELINI, U.L.; CICERO, S.M.; TOMAZELLO-FILHO, M. X-ray densitometry to assess internal seed morphology and quality. **Seed Science and Technology**, Zurich, v.40, p. 102-107. 2012.

GOMES, M. P.; GARCIA, Q. S. Reactive oxygen species and seed germination. *Biologia.*, v. 68, n. 3, p.351-357, 2013.

GOMES, S.M.S. Influência da idade, coloração externa e armazenamento dos frutos na qualidade de sementes de pepino (*Cucumis sativus* L.). 1995. 80f. Dissertação (Mestrado em fitotecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

GONÇALVES, C. P. Desenvolvimento e maturação fisiológica da semente de pimentão cv. all Big. 1997. 66 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal da Paraíba, Areia.

GRAHAM, I.A. Seed storage oil mobilization. **Annual Review of Plant Biology**, v.59, p.115-142, 2008.

GRESTA, F. et al. Effect of maturation stage, storage time and temperature on seed germination of *Medicago* species. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 35, n. 3, p. 698-708, Oct. 2007.

GUEDES, R. S.; ALVES, E. U.; GONÇALVES, E. P.; FRANÇA, P. R. C.; MOURA, M. F.; SANTOS, S. S. Germination of *Dalbergia nigra* (Vell.) Fr. All. seeds. **Acta Scientiarum: Biological Sciences**, Vol. 33, N. 4, p. 445, 2011.

GUTIERREZ, L.; VAN WUYTSWINKEL, O.; CASTELAIN, M.; BELLINI, C. Combined networks regulating seed maturation. **Trends in Plant Science**, Oxford, v.12, p.294-300, 2007

HALMER, P.; BEWLEY, J.D. A physiological perspective on seed vigour testing. **Seed Science Technology**, Zurich, 12:561-575.1984.

HALLIWELL, B. & GUTTERIDGE, J.M.C. **Free Radical in Biology and Medicine**. 2<sup>o</sup> ed. Oxford, University Press. 543pp. 1989.

HEHENBERGER, E.; KRADOLFER, D.; KÖHLER, C. Endosperm cellularization defines an important developmental transition for embryo development. *Development*, v.139, p.2031-2039, 2012.

HOEKSTRA, F.A.; GOLOVINA, E.A.; BUITINK, J. Mechanisms of plant desiccation tolerance. **Trends in Plant Science**, Oxford v. 6, n. 9, p. 431-438, 2001.

IBRAHIM, A.E.; ROBERTS, E.H. Viability of lettuce seeds: I. Survival in hermetic storage. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v.34, n.142, p.620-630, 1983.

IMAGEJ, IMAGE PROCESSING AND ANALYSIS IN JAVA. Disponível em: <https://imagej.nih.gov/ij/>. Acesso em 19/05/2016.

ISTA - International Rules for Seed Testing. **Seed Science and Technology** 21: 1993. 363p.

ISTA. **Rules for seed testing**. Zurich: International Seed Testing Association, 2004. 174p.

JACOB-NETO, J. e ROSSETTO, C.A.V. - Concentração de nutrientes nas sementes: o papel do molibdênio. **Floresta e Ambiente**, Seropédica, v.5, n. 1, p. 171-183. 1998.

JUSTINO, E. V. et al. Determinação da maturidade fisiológica de sementes de pimenta dedo de moça *Capsicum baccatum* var. *pendulum*. **Horticultura Brasileira**, Brasília v. 33, p. 324-331, 2015.

KNOW, O. S.; BRADFORD, K. J. Tomato seed development and quality as influenced by preharvest treatment with ethephon. **HortScience**, Alexandria, v. 22, n. 3, p. 588-591, 1987.

KRANNER, I.; BIRTIC, S. A modulating role for antioxidants in desiccation tolerance. **Integrative and Comparative Biology**, Oxford, v. 45, n. 5, p. 734-740, Nov. 2005.

KUCERA, B.; COHN, M.A; LEUBNER-METZGER, G. Plant hormone interactions during seed dormancy release and germination. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 15, n. 4, p. 281-307, 2005.

KUMAR, S. P. J.; PRASAD, S. R.; BANERJEE, R.; THAMMINENI, C. Seed birth to death: dual functions of reactive oxygen species in seed physiology. **Annals of Botany**. London, v. 116, n. 6, p. 663-668, 2015.

LAWRENCE, T. Quality of Russian wild ryegrass seed as influenced by time and method of harvesting. *Can. J. Plant Sci.* 40:474-481p.1960.

LEMKE, B.M.; GIBSON, L.R.; KNAPP, A.D.; DIXON, P.M.; MOORE, K.J; HINTZ, R. Maximizing seed production in eastern Gamagrass. **Agronomy Journal**, Madson, v.95, p.863-869, 2003.

LEPRINCE, O.; BUITINK, J. Desiccation tolerance: From genomics to the field. **Plant Science**, v. 179, n. 6, p. 554-564, 2010.

LIMA, R.B.S.; GONÇALVES, J.F. de C.; PANDO, S.C.; FERNANDES, A.V.; SANTOS, A.L.W. dos. Primary metabolite mobilization during germination in rosewood (*Aniba rosaeodora* Ducke) seeds. **Revista Árvore**, Viçosa, v.32, p.19-25, 2008.

LIMA, L.K.S.; DUTRA, A.S.; SANTOS, C.C.; BARROS, G.L. Utilização de Técnicas na Avaliação de Sementes por Imagem. **Revista Agropecuária Científica no Semiárido**, v.9, n.3, p 01-06, jul – set, 2013.

MACHADO, C.F.; CÍCERO, M.S. Metodologia para a condução do teste de germinação e utilização de raios-X para a avaliação da qualidade de sementes de aroeirabranca (*Lithraea molleoides* (Vell.) Engl.). **Informativo ABRATES**, v.12, n.123, p.28-34. 2003.

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

MANGAN, F.; MOREIRA, M.; MARTUSCELLI, T. Produtividade e comercialização de sementes à população de falantes de português em Massachusetts. Amherst: University of Massachusetts, 2007. 4 p. Disponível em:<[MANGAN, F.; MOREIRA, M.; MARTUSCELLI, T. Produção e comercialização de sementes à população de falantes de português em Massachusetts. University of Massachusetts. 2009. Amherst. Disponível em: \[http://www.umassvegetable.org/growers\\\_services/pdf\\\_files/portuguese\\\_crops\\\_portuguese.pdf\]\(http://www.umassvegetable.org/growers\_services/pdf\_files/portuguese\_crops\_portuguese.pdf\). Acesso em 13-11-2015. 3p.](http://www.umassvegetable.org/growers_services/pdf_files/portugu se. Acesso em: 30 jun.2015.</a></p></div><div data-bbox=)

MARCOS FILHO, J. Fisiologia de sementes de plantas cultivadas. Piracicaba: Fealq, 2005. 496p.

MARCOS-FILHO, J.; GOMES JUNIOR, F.G.; BENNETT, M.A.; WELLS, A.A.; STIEVE, S. Using tomato analyzer software to determine embryo size in x-rayed seeds. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina-PR, v.32, n.2, p.146-153. 2010.

MARTINS, D. C. et al. Physiological maturity of eggplant seeds. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 34, n. 4, p. 534-540, 2012.

MAZORRA, M.F.; QUINTANA, A.P.; MIRANDA, D.; FISCHER, G.; CHÁVES, B. Análisis sobre el desarrollo y la madurez fisiológica del fruto de la uchuva (*Physalis peruviana* L.) en la zona de Sumapaz (Cundinamarca). **Agronomía Colombiana**, v. 21, n. 3, p. 175-189. 2003.

MCDONALD, M. B. Seed deterioration: physiology, repair and assessment. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 27, n. 1, p. 177-237, 1999.

MELLO, A. C. & ALMEIDA, E., R. **Plantas medicinais brasileiras**. São Paulo: Hemus, p. 20, 1993.

MIRANDA, Z. F. S. et al. Avaliação da qualidade de sementes de berinjela (*Solanum melongena* L.). **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 14, n. 2, p. 125-129. 1992.

MITTLER, R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. Trends in Miyajima, D. Zinnia seed harvest time affects germination and plant growth. **Hort. Science**. 32(4): 687-689. 1997.

MO, B.; BEWLEY, J.D. The relationship between b-mannosidase and endo-b-mannanase activities in tomato seeds during and following germination: a comparison of seed populations and individual seeds. **Journal of Experimental Botany**, v.54, n.392, p.2503-2510, 2003.

MONTEIRO, C. C. et al. Biochemical responses of ethylene-insensitive Neve ripe tomato mutant subjected to cadmium and sodium stress. 107 **Environmental and Experimental Botany**. Elmsford, v. 71, n. 2, p.306-320, 2011.

MORELAND, D. E.,NOVITZKY, W. P. Interference by flavone and flavonols with chloroplast-mediated electron transport and phosphorylation. *Phytochemistry*, 27(v.11), p.3359–3366. 1988.

MORGADO, H. S.; DIAS, M. J. V. Caracterização da coleção de germoplasma de jiló no CNPH/Embrapa. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 10, n. 2, p. 86-88, 1992. *Plant Science*, Oxford, v. 7, n. 9, p. 405-410, Sept. 2002.

NAKADA, P. G.; OLIVEIRA, J. A.; MELO, L. C.; GOMES, L. A. A.; VON PINHO, E. V. R. Desempenho fisiológico e bioquímico de sementes de pepino nos diferentes estádios de maturação. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 33, n. 1, p. 113-122, 2011.

NAKAGAWA, J. Testes de vigor baseados na avaliação de plântulas. In: KRZYZANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA-NETO, J.B. (Ed.). Vigor de sementes: conceitos e testes. Londrina: **ABRATES**, 1999. p.2:1- 2:21.

NASCIMENTO, W. M.; FREITAS, R. A. Produção de sementes de pimentas. In: RIBEIRO, C. S. C.; HENZ, G. P.; CARVALHO, S. I. C.; LOPES, C. A. (Org.). Cultivo de pimentas (*Capsicum* spp.) no Brasil. **Embrapa Hortaliças**, Brasília: p. 30-39. 2006.

NAUTIYAL, P. C.; MISRA, J. B.; ZALA, P. V. Influence of seed maturity stages on germinability and seedling vigor in groundnut. **Journal of SAT Agricultural Research**, Andhra Pradesh, v. 8, n. 1, p. 1-10, 2010.

NONOGAKI, H.; MATSUSHIMA, H.; MOROHASHI, Y. Galactomannan hydrolyzing activity develops during priming in the micropylar endosperm tip of tomato seeds. **Physiologia Plantarum**, copenhagen, v.85, n.2, p.167-172, 1992.

ODETOLA, A.A.; IRANLOYE, Y.O.; AKINLOYE, O. Hypolipidaemic potentials of *Solanum melongena* and *Solanum giloon* hypercholesterolemic rabbits. **Pakistan Journal of Nutrition**, v.3 n.3, p.180-187, 2004.

OLASOJI, O. J. et al. Variation in germination and seed longevity of kenaf (*Hibiscus cannabinus*) as affected by different maturity and harvesting stages. **Journal of Stored Products and Postharvest Research**, Sapele, v. 3, n. 12, p.167-171, 2012.

OLIVEIRA, A. P. et al. Maturação fisiológica de sementes de pimentão, em função da idade dos frutos após a antese. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 21, n. 2, p. 88-94. 1999.

OLIVEIRA, et. al, Utilização do teste de raios-X na avaliação da qualidade de sementes de canafistula (*Peltophorum dubium* (Sprengel) Taubert. **Rev. bras. sementes**, Pelotas , v. 25, n. 1, p. 116-120, jul. 2003 .

PANOBIANCO, M.; MARCOS FILHO, J. Comparação entre métodos para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de pimentão. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.20, n.2, p.306-310, 1998.

PEIRCE LC & BREWBAKER JL Applications of isozyme analysis in horticultural science. *Hort Science*, 8:17-22.1973.

PEREIRA, F. E. C. B. et al. Qualidade fisiológica de sementes de pimenta em função da idade e do tempo de repouso pós-colheita dos frutos. **Revista Ciência Agronômica**, v. 45, p. 737-744, 2014.

PÉREZ-CAMACHO, I.et. al. Calidad fisiológica de semillas de *Physalis ixocarpa* en función de madurez a cosecha y condiciones de almacenamiento. **Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas**, v.3, n.1, p. 67-78, 2012.

PESKE, S.T. Sementes: fundamentos científicos e tecnológicos. 2. ed. Pelotas: Editora Universitária, 2006. 470 p.

PUPIM, T.L.; NOVENBRE, A.D.L.C.; CARVALHO, M.L.M.; CICERO, S.M. Adequação do teste de raios x para a avaliação da qualidade de sementes de embaúba (*Cecropia pachystachya* Trec.). **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina-PR, v. 30, n. 2, p.28-32. 2008.

QUEIROZ, L.A.F.et. al. Época de colheita e secagem na qualidade de sementes de pimenta habanero yellow. **Revista Brasileira de Sementes**, v.33, p.472-481, 2011.

RAMÍREZ H, Calderon A & Rocca W.Técnicas moleculares para evaluar y mejorar el germoplasma vegetal. In: Rocca W & Mroginski L (Ed.) Cultivo de tejidos en la agricultura, fundamentos y plicaciones. Cali, CIAT. 1991. p.825-856.

ROSSETTO, C.A.V.; NAKAGAWA, J. e ROSOLEM, C.A.V. - Efeito do momento de colheita e da calagem na qualidade fisiológica de sementes de amendoim (*Arachis hypogaea* L.) cv **Revista Brasileira de Sementes**, . Botucatu, vol. 16, n. 2, p. 138-146.1994.

SANCHEZ, V. M. et. al. Fruit maturity, storage and posharvest maturation treatments affect bell pepper (*Capsicum annuum* L.) seed quality. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 54, n. 3, p. 191-201, June 1993.

SANTOS, C. M. R.; MENEZES, N. L.; VILELA, F. A. Alterações fisiológicas e bioquímicas em sementes de feijão envelhecidas artificialmente. **Revista Brasileira de Sementes**, Viçosa, MG, v.26, n.1, p.110-119, 2004.

SANTOS, C. M. R.; MENEZES, N. L.; VILELA, F. A. Modificações fisiológicas e bioquímicas em sementes de feijão no armazenamento. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 27, n. 1, p. 104-114, jan./fev. 2005.

SANTOS, H.O. et. al. Physiological quality and gene expression during the development of habanero pepper (*Capsicum chinense* Jacquin) seeds. **Genetics and Molecular Research**, v. 14, p. 5085-5098, 2015.

SCANDALIOS, J. G. Isozymes in development and differentiation. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 25, n. 1, p. 225-258, 1974.

SCOTT, A.; KNOTT, M. Cluster-analysis method for grouping means in analysis of variance. **Biometrics**, Washington D.C., v.30, n.3, 1974. p. 507-512.

SHARMA, P.; SARDANA, V.; KANDHOLA, S. S. Effect of sowing dates and harvesting dates on germination and seedling vigor of groundnut (*Arachis hypogaea*) cultivars. **Research Journal of Seed Science**, Berlin, v. 6, n. 1, p. 1-15, 2013.

SCHUCH, L.O.B.; VIEIRA, J.F.; RUFINO, C.A.; JUNIOR, J.S.A. **Produção, qualidade e inovações tecnológicas**. Pelotas –RS. Ed. Gráfica Universitária, 2013. P.571.

SEDIYAMA, M.A.N.; CASALI, V.W.D.; SILVA, E.A.M.; CARDOSO, A.A.; SILVA, R.F. Influência da época de colheita e estágio de maturação na germinação de sementes de mandioquinha-salsa (*Arracacia xanthorrhiza* BANC). **Revista Brasileira de Sementes**, Lavras, v. 13, n. 1, 1991. p. 69-71.

SHATTERS, R.G.JR.; ABDELGHANY, A.; ELBAGOURY, O.; WEST, S.H. Soybean seed deterioration and response to priming: changes in specific enzyme activities in extracts from dry and germinating seeds. **Seed Science Research**, Wallingford, v.4, p.33-41, 1994.

SILVA, E. A. A.; TOOROP, P. E.; AELST, A. C.; HILHORST, H. W. M. Abscisic acid controls embryo growth potential and endosperm cap weakening during coffee (*Coffea arabica* cv. Rubi) **seed germination**. *Planta*, Berlin, v.220, n.2, p.251-261, 2004.

SILVA, V. N.; CICERO, S. M.; BENNETT, M. Relationship between eggplant seed morphology and germination. **Revista Brasileira de Sementes**, Viçosa, MG, v. 34, n. 4, p. 597-604. 2012.

SILVA, Vanessa Neumann ; SARMENTO, M.B. ; SILVA, A.C.S. ; SILVA, C.S. ; Cicero, Silvio Moure . Avaliação da morfologia interna de sementes de *Acca sellowiana* O. Berg por meio de análise de imagens. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das almas, v. 35, p.1158-1169. 2013.

SILVA, P. P., et al. Análise de imagens no estudo morfológico e fisiológico de sementes de abóbora. **Horticultura Brasileira**, Barsilia, v. 32, 2014. P. 210-214.

SILVA, R. F.; ARAÚJO, E. F.; VIGGIANO, J. Extração de sementes de frutos carnosos de hortaliças. In: NASCIMENTO, W.M. Tecnologia de sementes de hortaliças. Brasília: **EMBRAPA Hortaliças**, Brasília, 2009.

SILVA, R. P. da, TEIXEIRA, I. R., DEVILLA, I. A., REZENDE, R. C. & DA SILVA, G. C. Qualidade fisiológica de sementes de soja (*Glycine max* L.) durante o beneficiamento. *Semina: Ciências Agrárias*, Botucatu, 32(4): 1219-1230. 2011.

SILVA, V.N.; SARMENTO, M.B.; SILVEIRA, A.C.; SILVA, C.S.; CICERO, S.M. Avaliação da morfologia interna de sementes de *Acca sellowiana* O. Berg por meio de análise de imagens. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal - SP, v. 35, n. 4, p. 1158- 1169, dez 2013.

SILVA, P. P. et al. Análise de imagens no estudo morfológico e fisiológico de sementes de abóbora. **Horticultura Brasileira**, Brasilia, v. 32, p. 210-214, 2014.

SIMAK, M. Testing of forest tree and shrub seeds by X-radiography. In: GORDON, A.G.; GOSLING, P.; WANG, B.S.P. (Ed.) **Tree and shrub seed handbook**. Zurich: ISTA, 1991. p.14-28.

SOUZA NETO, A. G. S. Avaliação da área foliar de cinco espécies florestais ocorrentes no semiárido paraibano. 2009. 37f. Monografia (Engenharia Florestal) - Universidade Federal de Campina Grande, Patos, 2009.

SPANÒ, C. et al. Responses to desiccation injury in developing wheat embryos from naturally and artificially dried grains. **Plant Physiology and Biochemistry**, New Delhi, v. 49, n. 4, p. 363-367, Apr. 2011.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. Fisiologia vegetal. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2009. 722 p.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. Plant Physiology. Califórnia: Cummings, 2004. 565p.

TORRES, J.L.R.; FABIAN, A.J.; POCAI, V.G. Níveis de adubação nitrogenada nas características morfológicas e produtividade do jiló. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 21, n.2, p.166-169, 2003.

TeKRONY, D.M. Precision is an essential component in seed vigour testing. **Seed Science and Technology**, Zurich, v.31, p.435-447, 2003.

TUNES, L. M. et al. Influência dos diferentes períodos de colheita na expressão de isoenzimas em sementes de cevada. **Revista Ceres**, Viçosa, MG, v. 58, n. 2, p. 178-184, 2011.

VAN DER BURG, W.J.; AARTSE, J.W.; ZWOL, R.A van; JALINK, H.; BINO, R.J. Predicting tomato seedling morphology by X-ray analysis of seeds. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 119, n. 2, p. 258-263. 1994.

VIDIGAL, D. S. Alterações fisiológicas e bioquímicas em sementes de pimenta em função do estágio de maturação dos frutos. 2008. 77 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

VIDIGAL, D.S.; DIAS, D.C.F.S.; VON PINHO, E.V.R.; DIAS, L.A.S. Alterações fisiológicas e enzimáticas durante a maturação de sementes de pimenta (*Capsicum annum* L.). **Revista Brasileira de Sementes**, v.31, n.2, p.129-136, 2009.

VIEIRA, R. D.; CARVALHO, N. M. Testes de vigor em sementes. Jaboticabal SP: FUNEP/UNESP, 1994, 164p.

VEIGA, A. D. et al. Armazenabilidade de sementes de café colhidas em diferentes estágios de maturação e submetidas a diferentes métodos de secagem. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 29, n. 1, p. 83-91, jan./fev. 2007.

VEIGA, A. D. et al. Influência do potássio e da calagem na composição química, qualidade fisiológica e na atividade enzimática de sementes de soja. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 34, n. 4, p. 953-960, set./out. 2010.

VIEIRA, M.G.G.C. Utilização de marcadores moleculares no monitoramento da qualidade sanitária e nível de deterioração de sementes de algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L.). 1996. 114f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 1996.

VIEIRA, R. D. et al. Condutividade elétrica e teor de água inicial das sementes de soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 37, n. 9, p. 1333-1338, set. 2002

VILELA, X. M. S.. "\_Maturação fisiológica de sementes de berinjela. (Dissertação de Mestrado) Universidade Federal de Lavras – UFLA". 2012. 59p.

WELBAUM, G.E; Bradford, K.J. Water relations of seeds development and germination in muskmelon (*Cucumis melo* L.). I. Water relations of seeds and fruit development. **Plant Physiology**, Paris, 86: 1988. 406-411p.

YAMAUCHI, Y.; FURUTERA, A.; SEKI, K.; TOYODA, Y.; TANAKA, K.; SUGIMOTO, Y. Malondialdehyde generated from peroxidized linolenic acid causes protein modification in heat-stressed plants. **Plant Physiology and Biochemistry**. Paris, v. 46, n. 1, p. 786-793, 2008.