



**ELISE DE MATOS PEREIRA**

**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE FISIOLÓGICA  
DE SEMENTES DE PIMENTA E PIMENTÃO  
POR MEIO DA ATIVIDADE RESPIRATÓRIA**

**LAVRAS – MG  
2012**

**ELISE DE MATOS PEREIRA**

**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE FISIOLÓGICA DE SEMENTES DE  
PIMENTA E PIMENTÃO POR MEIO DA ATIVIDADE RESPIRATÓRIA**

Dissertação 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 Mestre.

Orientador  
Dr. Renato Mendes Guimarães

**LAVRAS - MG  
2012**

**Ficha Catalográfica Elaborada pela Divisão de Processos Técnicos da  
Biblioteca da UFLA**

Pereira, Elise de Matos.

Avaliação da qualidade fisiológica de sementes de pimenta e  
pimentão por meio da atividade respiratória / Elise de Matos Pereira.  
– Lavras : UFLA, 2012.

69 p. : il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Lavras, 2012.

Orientador: Renato Mendes Guimarães.

Bibliografia.

1. *Capsicum* sp. 2. Respiração de sementes. 3. Vigor. I.  
Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD – 631.521

**ELISE DE MATOS PEREIRA**

**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE FISIOLÓGICA DE SEMENTES DE  
PIMENTA E PIMENTÃO POR MEIO DA ATIVIDADE RESPIRATÓRIA**

Dissertação 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 Mestre.

APROVADA em 29 de fevereiro de 2012

Dr. Antonio Rodrigues Vieira

EPAMIG

Dra. Édila Vilela de Resende Von Pinho

UFLA

Dra. Juliana de Fátima Sales

IFGoiano- Campus Rio Verde

Dr. Renato Mendes Guimarães

Orientador

**LAVRAS - MG**

**2012**

*A Deus pela vida e por me dar forças para vencer mais esta etapa.  
Ao meu filho Felipe por fazer parte da minha vida e me fazer a pessoa mais feliz  
do mundo.  
A minha mãe, Elisa, pelo total apoio sobre minhas decisões. Pelos conselhos,  
pelo carinho, amor e dedicação.  
Ao meu pai, Antonio Alvim, por ser, para mim, um exemplo de vida a ser  
seguido. Pelo amor, apoio e dedicação.  
As minhas irmãs, minhas melhores amigas, pela cumplicidade, pelo carinho e  
atenção nos momentos em que mais necessitei.*

**DEDICO**

## AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Lavras (UFLA), em especial ao Dep. de Agricultura, Setor de Sementes, pela oportunidade e apoio durante o período de realização dos trabalhos.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnologia (CNPq), pela concessão da bolsa de estudos.

Ao meu orientador, Prof. Renato Mendes Guimarães, pela confiança, orientação, conhecimentos, paciência e profissionalismo.

Ao pesquisador Antonio Rodrigues Vieira, a Prof<sup>a</sup>. Édila Vilela de Resende Von Pinho, ao Prof. João Almir Oliveira e a Prof<sup>a</sup>. Maria Laene Moreira de Carvalho pela amizade, dedicação e ensinamentos que contribuíram em grande parte para minha formação profissional.

À professora Juliana de Fátima Sales pela disponibilidade e atenção.

À grande amiga, companheira do dia a dia, doutoranda Helô, pelos conselhos, por se fazer sempre presente e pela grande ajuda durante o planejamento e realização do trabalho, e principalmente, por me escutar com toda paciência, você é muito especial.

À Thaís, Sophia e Marcela por serem amigas extraordinárias e pela companhia durante os melhores momentos da minha vida.

Aos amigos (as) do Setor de Sementes que fizeram parte desses momentos sempre me ajudando e incentivando, especialmente Bruno, Flávia, Lalá, Luis Otavio, Rucyan, Tiago e Vivian.

Aos amigos Gustavo Milani e Luiz Hildebrando pela amizade, apoio, incentivo e ensinamentos.

Aos funcionários do Setor de Sementes, Dona Elza, Wilder, Walbert, Elenir e Dalva, pelo apoio, auxílio, amizade e disposição de sempre.

A todos os colegas e professores da pós-graduação em Fitotecnia pelo convívio e aprendizado.

A todos que de alguma forma me ajudaram nessa fase, mesmo que não citados, meus agradecimentos.

**MUITO OBRIGADA!**

## RESUMO

Métodos rápidos e reproduzíveis para a avaliação da qualidade fisiológica de sementes são cada vez mais necessários para a tomada de decisões durante as etapas da produção de sementes. Objetivou-se neste trabalho avaliar o método físico-químico de Pettenkofer e o método da Titulação para a diferenciação de seis lotes de sementes de pimenta habanero, seis lotes de sementes do híbrido de pimentão Konan R. e seis lotes do híbrido Magnata Super em função do vigor. A qualidade das sementes foi ainda avaliada pelos testes de: teor de água, germinação, primeira contagem da germinação, índice de velocidade de germinação, emergência, estande inicial, índice de velocidade de emergência e condutividade elétrica. O delineamento estatístico utilizado foi o inteiramente casualizado. Também foram feitas análises das isoenzimas esterase (EST), álcool desidrogenase (ADH) e endo- $\beta$ -mananase. Houve correlação entre a atividade respiratória, avaliada pelos métodos físico-químico de Pettenkofer e da Titulação com os testes utilizados para avaliação da qualidade fisiológica das sementes e com a enzima endo- $\beta$ -mananase, pela análise de correlação simples (r). Os resultados para o método de Pettenkofer correlacionaram de forma significativa com o método da Titulação, com correlação linear simples (r) de -0,9393 para pimenta Habanero, -0,9069 para o híbrido de pimentão Konan R. e de -0,9501 para o híbrido Magnata Super. Com esses resultados, conclui-se que o método de Pettenkofer e da Titulação mostram-se promissores para a avaliação do nível de deterioração e discriminação de lotes de pimenta e híbridos de pimentão com diferentes níveis de vigor.

Palavras-chave: *Capsicum sp.* Respiração de sementes. Vigor de sementes.

## ABSTRACT

Rapid methods and reproducible for assessing seed physiological quality are increasingly required to make decisions during the production seed stages. The objective of this study was to evaluate the physico-chemical Pettenkofer method and the Titulation for differentiation of six seeds Habanero pepper lots, six seeds Konan R. pepper hybrid lots and six Magnata Super hybrid lots in function to vigor. Seed quality was evaluated by testing: water content, germination, first germination count, index germination speed, emergence, initial stand, emergency index speed and electrical conductivity. The statistical design was completely randomized. It also was analyzed the esterase isozymes (EST), dehydrogenase alcohol (DHA) and endo- $\beta$ -mannanase. There was a correlation between the respiratory activity, evaluated by physical-chemical Pettenkofer method and Titulation with the tests used to evaluate the physiological quality seeds and with the endo- $\beta$ -mannanase enzyme, by simple analysis correlation ( $r$ ). The results for the Pettenkofer method correlated significantly with the Titulation method with a simple linear correlation ( $r$ ) of -0.9393 for Habanero pepper, -0.9069 for the Konan R. pepper hybrid, and -0.9501 for the Magnata Super hybrid. With these results, the conclusion is that the Pettenkofer and Titulation method shown to be promising for the deterioration assessment level and discrimination of pepper lots and pepper hybrids with different levels of vigor.

Keywords: *Capsicum sp.* Seed respiration. Seeds vigor.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 Padrões enzimáticos de álcool desidrogenase (ADH) em sementes de pimenta habanero, secas e embebidas (A); sementes de pimentão Konan R.(B) e sementes de pimentão Magnata Super (C)..... 47
- Figura 2 Padrões enzimáticos de esterase (EST) em sementes de pimenta habanero, secas e embebidas (A); sementes de pimentão Konan R.(B) e sementes de pimentão Magnata Super (C)..... 49
- Figura 3 Atividade, em gel de agarose, da enzima endo- $\beta$ -mananase em sementes de diferentes lotes de pimenta Habanero..... 52
- Figura 4 Atividade, em gel de agarose, da enzima endo- $\beta$ -mananase em sementes de diferentes lotes de pimentão Konan R..... 53
- Figura 5 Atividade, em gel de agarose, da enzima endo- $\beta$ -mananase em sementes de diferentes lotes de pimentão Magnata Super ..... 54

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Grau de umidade médio de sementes de pimenta Habanero, híbridos de pimentão Konan R. e Magnata Super .....	37
Tabela 2	Dados médios da germinação, primeira contagem da germinação e índice de velocidade de germinação de lotes de sementes de pimenta Habanero, híbridos de pimentão Konan R. e Magnata Super .....	38
Tabela 3	Dados médios do estande inicial, emergência, e índice de velocidade de emergência, de lotes de sementes de pimenta Habanero, híbridos de pimentão Konan R. e Magnata Super .....	41
Tabela 4	Dados médios de condutividade elétrica e atividade respiratória pelo método de Pettenkofer e pelo método da Titulação, de seis lotes de sementes de pimenta Habanero, híbridos de pimentão Konan R. e Magnata Super .....	42
Tabela 5	Atividade da enzima endo $\beta$ mananase de lotes de sementes de pimenta Habanero, híbridos de pimentão Konan R. e Magnata Super .....	51

## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	12
2	REFERENCIAL TEÓRICO.....	14
2.1	Gênero <i>Capsicum</i> .....	14
2.2	Testes de vigor .....	19
2.3	Respiração .....	23
2.4	Análise eletroforética de isoenzimas.....	26
3	MATERIAL E MÉTODOS .....	30
3.1	Local e materiais .....	30
3.2	Determinação do teor de água .....	30
3.3	Teste de germinação .....	30
3.4	Teste de emergência de plântulas .....	31
3.5	Teste de condutividade elétrica.....	31
3.6	Respiração pelo método de Pettenkofer.....	32
3.7	Respiração pelo método da titulação.....	33
3.8	Análise estatística .....	34
3.9	Análise de enzimas .....	34
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	37
4.1	Avaliação dos testes físicos e fisiológicos.....	37
4.2	Análise isoenzimática.....	46
5	CONCLUSÕES .....	56
	REFERÊNCIAS.....	57
	ANEXOS.....	66

## 1 INTRODUÇÃO

O setor de hortaliças está em pleno crescimento e movimentando milhões de reais anualmente, em toda a sua cadeia, por ser uma atividade agroeconômica que possibilita elevada produção e rendimento por hectare/ano<sup>-1</sup> (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE SEMENTES E MUDAS - ABRASEN, 2009).

No Brasil, a área ocupada com hortaliças atualmente é de 779 mil hectares e a produção de 17 milhões de toneladas que incluem mais de 80 espécies cultivadas e uma grande segmentação de mercado, devido a diferentes tipos de produto e formas de oferecê-lo ao mercado (CAMARGO FILHO; CAMARGO, 2011). De todo esse volume de produção 75% concentra-se nas regiões sudeste e sul enquanto o nordeste e o centro-oeste respondem pelos 25% restantes (MELO, 2008).

Sendo assim, para suprir a crescente demanda, cerca de R\$307 milhões foram comercializados em sementes no país só no ano de 2008 (ABRASEN, 2009). No entanto, é importante ressaltar que as sementes de hortaliça devem ter alta qualidade e vigor, uma vez que apresentam custo elevado, principalmente em se tratando de híbridos.

Para se avaliar a qualidade fisiológica de lotes de sementes, vários testes podem ser empregados. O teste de germinação é oficial e realizado em laboratórios para avaliar o potencial fisiológico das sementes. Esse método não reflete o comportamento das sementes em condições de campo e ainda não detecta diferenças de qualidade entre lotes com alta germinação. Por isso, têm sido desenvolvidos testes de vigor com o objetivo de identificar possíveis diferenças no potencial fisiológico de lotes de sementes e apresentarem características como simplicidade, rapidez, objetividade e reprodutibilidade,

fornecendo informações complementares às obtidas no teste de germinação (CASTRO, 2011).

Um dos primeiros sinais de deterioração de sementes é o rápido aumento na taxa respiratória (GUIMARÃES, 1999). Sendo assim, uma das alternativas para a avaliação do vigor de sementes seria submeter essas a medição da atividade respiratória em condição de laboratório.

A determinação da atividade respiratória de sementes de pimenta e pimentão pelos métodos físico-químicos de Pettenkofer e da Titulação, e a correlação dos resultados com outros testes de determinação da qualidade fisiológica de sementes, tanto testes de vigor quanto marcadores moleculares podem constituir uma alternativa promissora para a adoção de mais um teste rápido de vigor, de baixo custo e de fácil execução.

Neste contexto, o trabalho será realizado com o objetivo de separar lotes de sementes de pimenta Habanero e pimentão em diferentes níveis de qualidade, por meio da quantificação da atividade respiratória e enzimática pelos métodos de Pettenkoffer e da Titulação.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 Gênero *Capsicum*

As espécies domesticadas do gênero *Capsicum* são autógamas, com baixa taxa de polinização cruzada dependendo da população entomófila da região de cultivo. Apresentam ciclo de vida perene ou anual, em função da região de cultivo. São plantas arbustivas, com caule semilenhoso, chegando a ultrapassar um metro de altura, com ampla ramificação lateral. Com sistema radicular pivotante, apresenta elevado número de ramificações laterais, podendo atingir de 70 a 120 cm de profundidade. As folhas apresentam tamanho, coloração, formato e pilosidade variáveis, entretanto a cor predominante é verde. Quanto ao formato, as folhas podem variar de ovaladas ou lanceoladas a deltoides. As hastes podem apresentar ou não antocianina ao longo de seu comprimento e/ou nos nós, podendo variar de glabras até pilosas (CARVALHO; BIANCHETTI, 2008).

Os frutos, seu principal produto, são bagas, glabros, decíduos ou persistentes; são alongados, arredondados, triangulares ou cônicos, campanulados, quadrados ou retangulares; e apresentam-se vermelhos ou amarelos quando maduros, podendo ser alaranjados, roxos e até pretos. Sua principal característica é o sabor pungente, devido à presença do alcaloide capsaicina, presente no tecido da superfície da placenta, que é liberado ao se cortar o fruto (CARVALHO; BIANCHETTI, 2008).

Dentre os 5 táxons do gênero *Capsicum* que são domesticados, dois deles têm sido mais explorados comercialmente no Brasil, *C. chinenses* e *C. annuum*.

As pimentas são, possivelmente, originárias da América tropical, e veem sendo cultivadas desde as primeiras civilizações. Tem-se registro da existência do uso de pimenta-de-cheiro a 4000 anos na América Central, possivelmente o

primeiro aditivo alimentar das antigas civilizações do México e América Central. Sua origem exata é controversa, sendo que alguns pesquisadores acreditam que elas surgiram na Bacia Amazônica, enquanto outros afirmam que se originaram na América Central ou México. Atualmente, estão disseminadas por quase todo o mundo, e a expansão do seu cultivo deu-se, principalmente devido à sua capacidade de adaptação a diferentes condições ambientais.

A pimenta habanero é originária do Caribe e da Costa Norte do México e foi a primeira pimenta a ser cultivada pelos Maias. É bastante difundida desde o Caribe até o Brasil, sendo consumida preferencialmente *in natura*, e é considerada uma das pimentas mais picantes.

O Brasil é o centro secundário de diversidade da espécie *Capsicum chinenses* que tem a bacia amazônica como área de maior diversidade (REIFSCHNEIDER, 2000), sendo representada pelas pimentas conhecidas como habanero, pimenta-de-bode, cumari, murupi, pimenta-de-cheiro, biquinho, entre outras (CARVALHO; BIANCHETTI, 2008). É uma espécie não climatérica (LURIE; SHAPIRO; BEN-YEHOSHUA, 1986; SALTVEIT JÚNIOR, 1977) apresentando variedades que diferem em formato, cor, sabor entre outros aspectos. De acordo com as características organolépticas existem duas principais categorias de pimentas denominadas doces e quentes (BASU; DE, 2003). Geralmente as pimentas são verdes quando imaturas e após a maturação tornam-se vermelhas. No entanto foram obtidas novas cultivares que apresentam outras cores quando maduras assim como amarela, laranja, roxa ou marrom. O conhecimento aprofundado das características, cultivo, fisiologia, bioquímica, biotecnologia, usos e outros aspectos da pimenta foram recentemente obtidos (DE, 2003; MATEOS, 2006).

Vale ressaltar que as pimentas da espécie *C. chinenses* são facilmente confundidas com as da espécie *Capsicum frutescens* e isso se deve a grande proximidade genética entre as duas espécies. A principal distinção morfológica

entre elas é a presença de uma constrição anelar, localizada entre o cálice e o pedúnculo, encontrada nos frutos de *C. chinenses* (CARVALHO; BIANCHETTI, 2008).

A água é o principal componente dos frutos de pimenta com 89,9% a 92,7% da matéria fresca, os carboidratos estão como o segundo componente mais abundante. O teor de sólidos solúveis é diferente em relação à maturidade dos frutos numa escala de 4,3 Brix em frutos imaturos e 7,0 Brix em frutos maduros (MARTÍNEZ et al., 2007). De acordo com Nielson (1991) esse aumento nos sólidos solúveis em pimentas maduras é provavelmente atribuído ao aumento de hexoses durante a maturação.

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 essa fase é caracterizada pelo amolecimento da polpa, desenvolvimento do aroma e do sabor dos frutos. Em frutos de pimenta habanero (*C. chinenses* Jacquin), foram identificados 102 diferentes compostos voláteis responsáveis pelo aroma dos frutos verde-maduros e maduros, com predominância de diferentes tipos de alcoóis, aldeídos e cetonas que conferem aroma distinto em cada estágio de amadurecimento (PINO; SAURI-DUCH; MARBOT, 2006). Apresentam sementes reniformes, aplanadas, claras, pequenas e em grande número; o embrião é curvo. O número cromossômico pode ser igual a 12 ou 13 (CARVALHO; BIANCHETTI, 2008).

O cultivo de pimentas ocorre praticamente em todas as regiões do país e é um dos melhores exemplos de agricultura familiar e de integração do pequeno agricultor com a agroindústria (REIFSCHNEIDER, 2000).

As principais regiões brasileiras produtoras de pimenta são sudeste, nordeste e centro-oeste, com destaque para os Estados de Minas Gerais, Goiás, São Paulo, Ceará e Rio Grande do Sul.

O mercado para pimentas no Brasil é muito segmentado e diverso, em razão da grande variedade de produtos e subprodutos, usos e formas de consumo. Dentre esses tem destaque o de pimentas comercializadas *in natura*, em pequenas quantidades, no atacado e no varejo, em todos os estados brasileiros (HENZ; RIBEIRO, 2008). Esse mercado vem sofrendo grandes modificações pela exploração de novas variedades e pelo desenvolvimento de produtos com grande valor agregado, impulsionado o aumento da área cultivada e o estabelecimento de agroindústrias, tornando o agronegócio de pimentas um dos mais importantes do país (RUFINO; PENTEADO, 2006).

Os diferentes tipos de pimentas têm várias formas de preparo e modos de consumo, sendo uma das hortaliças mais versáteis para a indústria de alimentos (SARTORI, 2009).

Apesar de muitos cultivos serem feitos de maneira rudimentar, é um mercado que movimenta valores em torno de 80 milhões de reais/ano, incluindo o consumo interno e as exportações.

Com o aumento do mercado, tem-se aumentado também a área plantada, o que exige maior demanda por sementes de qualidade. Apenas a comercialização de sementes é responsável por um mercado de 3 milhões de reais/ano (ABRASEN, 2009).

No Brasil é cultivado anualmente cerca de 13 mil ha de pimentas e pimentões, gerando uma produção estimada em 280 mil toneladas, sendo 2.000 ha, ocupados com pimentas doces e picantes (HENZ, 2004; REIFSCHNEIDER; RIBEIRO; LOPES, 1998). O tamanho real e a relevância dessas informações são difíceis de estimar, principalmente por falta de estatísticas confiáveis e de informações sistematizadas (HENZ; RIBEIRO, 2008).

A produção de pimentas *C. chinenses* apresenta pouca relevância no cenário mundial das pimentas. Porém esse quadro está sendo revertido pela importância recente que as pimentas alcançam como umas das poucas hortaliças

nacionais exportadas e pela sua associação com pequenas agroindústrias de conserva. Além disso, a exploração de novos tipos de pimentas e o desenvolvimento de produtos com alto valor agregado tem gerado novas oportunidades de negócios, aumentando assim a prospecção de mercado e a exploração de nichos especializados.

*Capsicum annuum* é a espécie mais cultivada e inclui as variedades mais comuns desse gênero, como pimentões e pimentas doces para páprica e consumo fresco e pimentas picantes como Jalapeño, Cayenne entre outras, e algumas cultivares ornamentais (EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA, 2012).

Os pimentões (nome científico *Capsicum annuum*, família Solanaceae) são originários do Sul do México e da América Central (ISLA SEMENTES, 2012).

O pimentão é uma das dez hortaliças mais importantes do mercado brasileiro, destacando-se a região sudeste como a principal região produtora. É uma cultura de retorno rápido, dessa forma é largamente explorada por pequenos e médios produtores (FILGUEIRA, 2003).

Em relação às características morfológicas pode-se afirmar que geralmente apresenta uma flor por nó, raramente mais de uma e ocasionalmente fasciculadas. Na antese, os pedicelos podem ser eretos, pendentes ou inclinados. A corola é branca (raramente violeta), sem manchas na base dos lobos das pétalas. As anteras são geralmente azuladas. Os cálices dos frutos maduros são pouco dentados e não possuem constrição anelar na junção do pedicelo. Os frutos são de várias cores e formas, geralmente pendentes, persistentes, com polpa firme; as sementes são cor de palha (EMBRAPA, 2012).

Apresentam frutos grandes e largos (10-21 cm de comprimento x 6-12 cm de largura), formato quadrado a cônico, paladar não pungente (doce), além de serem habitualmente consumidos na forma de saladas, cozidos ou recheados. A consistência também pode ser mais tenra ou mais dura. Tudo isso varia de

acordo com as características da cultivar e também pelo fato de serem comuns ou híbridos (ISLA SEMENTES, 2012).

Sementes de pimentão são descritas com aspecto reniforme, e coloração amarelo-acinzentada, possuem de 3 a 5mm de diâmetro. O embrião fica disposto internamente sob forma de espiral. Apresentam endosperma bem definido, não amiláceo (GROOT; KARSSSEN, 1987; WATKINS et al., 1985).

Sudré et al. (2012) observaram grande variabilidade quanto ao peso de 1000 sementes de pimentão (2,55 a 6,77g), comprimento do fruto (1,16 a 16,55 cm), diâmetro (0,62 a 5,58 cm) e número de sementes por fruto (15 a 214).

O cultivo de pimentão no Brasil apresenta excelentes perspectivas de expansão, principalmente considerando-se os diferentes nichos de mercados disponíveis. Além de serem consumidos frescos como em saladas, refogados, fritos e como temperos também podem ser processados pela indústria de alimentos, na forma de páprica (corante natural ou condimento), molhos, escabeches, conservas e geleias (RIBEIRO; CRUZ, 2002).

Em função da demanda por sementes de alta qualidade é imprescindível o conhecimento de métodos seguros visando à avaliação da qualidade fisiológica de sementes.

## **2.2 Testes de vigor**

As técnicas de análise de sementes desempenham um papel fundamental na produção e comercialização de sementes de alta qualidade, pois é por meio de testes que é possível minimizar o risco de produzir sementes sem valor agronômico e comercial, sendo também importante em muitas etapas, desde a colheita até a semeadura.

As informações fornecidas pelos testes fisiológicos de sementes podem ajudar na tomada de decisões, tais como, em qual região do país o determinado

lote terá melhor desempenho, se o lote vai ser descartado, se o determinado lote de sementes pode ser armazenado, entre outras (MCDONALD, 1995).

Como o custo da semente representa uma proporção relativamente pequena do custo total da produção agrícola, o uso de sementes de alta qualidade é um investimento necessário. Dessa forma empresas estão adequando testes eficientes para o conhecimento da qualidade dos lotes de sementes produzidos (SEED NEWS, 2011).

A qualidade de sementes pode ser expressa pela interação de quatro componentes: genético, físico, fisiológico e sanitário (AMBROSANO et al., 1999). O componente fisiológico pode ser influenciado pelo ambiente em que as sementes se formam. Portanto, deve-se considerar a germinação e o vigor, procurando-se diferenciar sementes com maior potencial fisiológico, em função de tratos culturais aplicados (PERIN; ARAÚJO; TEIXEIRA, 2002).

Fazer uso de sementes de alto vigor resulta em bom desempenho das culturas no campo através do melhor estabelecimento de plântulas e sobrevivência de mudas (FINCH-SAVAGE, 2000).

A resistência das sementes de alta qualidade a condições adversas de campo, ou seja, capazes de emergirem plantas normais e alta produção, tem grande importância na agricultura atual. Assim, o vigor de sementes tem sido objetivo básico na pesquisa, que vem procurando obter informações sobre novas técnicas para detecção do vigor de lotes de sementes de inúmeras espécies e sobre o manejo de lotes durante o beneficiamento e armazenamento das sementes, de modo a possibilitar a manutenção do vigor pelo maior período possível (GHASSEMI-GOLEZANI et al., 2010).

Para se avaliar a qualidade fisiológica de lotes de sementes, vários testes podem ser empregados. O teste de germinação é utilizado em laboratórios para avaliar o potencial fisiológico das sementes, sendo conduzido em condições

favoráveis de temperatura, umidade e luminosidade, o que permite ao lote expressar o potencial máximo de produzir plântulas normais.

O teste de germinação considerado o método rotineiro para determinar a qualidade das sementes embora, muito útil necessita um prazo de 7 a 28 dias para informar os resultados, período considerado longo, para atender aos interesses comerciais dos produtores de sementes (RAS, 2009).

Segundo Hampton e Tekrony (1995), uma das limitações desse teste é sua inabilidade para detectar diferenças de qualidade entre lotes com alta germinação. Outra limitação é por fornecer resultados que superestimam o potencial fisiológico das sementes, devido ao fato de ser conduzido sob condições ideais e artificiais.

As condições adversas como umidade do solo, clima, competição, entre outras, podem impor uma desuniformidade entre o teste de germinação e os resultados de campo (HILHORST et al., 2001). Portanto, esse teste, aplicado isoladamente, muitas vezes não é eficiente para predizer o comportamento das sementes no campo (BYRUM; COPELAND, 1995).

Por isso, têm sido desenvolvidos testes de vigor com o objetivo de identificar possíveis diferenças no potencial fisiológico de lotes que apresentam porcentagem de germinação semelhante, fornecendo informações complementares às obtidas no teste de germinação (CASTRO, 2011). Para complementar as informações do teste de germinação criou-se o conceito de vigor. Vários testes de vigor foram então desenvolvidos procurando precisar o comportamento de lotes de sementes em campo com dados obtidos em laboratório (MCDONALD, 1979).

Novas técnicas foram e ainda têm sido formuladas, essas mais sensíveis para a diferenciação da qualidade das sementes. A *International Seed Testing Association - ISTA* e *Association of Official Seed Analysts - AOSA*, são os comitês a frente desse desenvolvimento (MCDONALD et al., 1979).

O vigor é definido pela AOSA (1983) como as propriedades da semente que determinam o potencial para emergência rápida e uniforme, com o crescimento de plântulas normais, sob ampla faixa de condições do ambiente.

Já a ISTA (2006) define vigor como um índice do grau de deterioração fisiológica e/ou integridade mecânica de um lote de sementes de alta germinação, representando sua ampla habilidade de estabelecimento no ambiente.

O vigor das sementes é um dos parâmetros importantes de qualidade de sementes que pode, potencialmente, influenciar no rendimento das culturas, afetando o estabelecimento das plântulas, especialmente sob condições ambientais adversas (GHASSEMI-GOLEZANI et al., 2010). Assim, o potencial fisiológico das sementes deve ser comprovadamente elevado, o que exige o uso rotineiro de testes de vigor em programas de controle de qualidade, com benefícios para todos os segmentos da produção de grandes culturas e de hortaliças (MARCOS FILHO, 1998).

A qualidade da semente utilizada no processo de produção agrícola é um dos principais fatores a ser considerado para a implantação da cultura e há consenso entre os pesquisadores, tecnólogos e produtores de sementes sobre a importância do vigor de sementes e da necessidade de avaliá-lo.

Para algumas culturas, testes específicos têm mostrado eficiência, como o de frio para sementes de milho (*Zea mays* L.), o de envelhecimento acelerado para soja (*Glycine max* L. Merrill), condutividade elétrica para ervilha (*Pisum sativum* L.) e como o método de Pettenkofer, que consiste na mensuração da respiração em sementes, o qual tem se mostrado promissor para avaliação do vigor de lotes de sementes de milho (CASTRO, 2011), sementes de soja e de arroz (MENDES, 2008).

Por outro lado, poucos estudos têm sido conduzidos sobre o uso dos testes de vigor para avaliação do potencial fisiológico de sementes de hortaliças,

com exceção do teste de deterioração controlada, desenvolvido por Matthews (1980).

Para monitorar a qualidade fisiológica das sementes torna-se imprescindível a necessidade de se obter resultados confiáveis em um curto período de tempo para a eficiente tomada de decisão no sistema de produção de sementes (CASTRO, 2011).

Um teste de vigor deve basicamente registrar índices de qualidade de sementes mais sensíveis que o teste de germinação, separar lotes de sementes em termos de potencial de desempenho, ser objetivo, rápido, simples e economicamente viável; ser reproduzível e interpretável de maneira objetiva (HAMPTON; COOLBEAR, 1990). E com as finalidades de avaliar o potencial de lotes para fins de semeadura, controle de qualidade para comercialização e também para fins de pesquisa.

Os testes rápidos mais estudados estão relacionados com os eventos iniciais da sequência de deterioração como a degradação das membranas celulares, atividade respiratória e diminuição da biossíntese. A maioria dos métodos possui certas limitações de ordem prática, técnica ou econômica, mas todos apresentam potencialidades variáveis, que precisam ser trabalhadas, mesmo porque a pesquisa relativa a testes rápidos, ainda, não foi completamente esgotada (AMARAL, 1994).

### **2.3 Respiração**

A respiração é a oxidação completa de compostos de carbono a  $\text{CO}_2$  e água, através de uma série de reações, usando oxigênio como acceptor final de elétrons. Sucintamente, é a oxidação de compostos orgânicos para a produção de energia e compostos secundários. A energia é liberada e conservada na forma de

ATP, o qual pode ser prontamente utilizado para a manutenção e o desenvolvimento da planta ou da semente (TAIZ; ZEIGER, 2009).

Os substratos respiratórios podem ser carboidratos como amido, sacarose, frutose, glicose e outros açúcares; lipídios; ácidos orgânicos e proteínas (MARENCO; LOPES, 2007).

A medição da atividade respiratória de sementes em condições de laboratório é uma técnica utilizada na determinação do vigor pela alta relação com a qualidade de semente. Esse procedimento não é comum, mas pode se tornar uma importante ferramenta de auxílio à tomada de decisões sobre a qualidade de um lote de sementes (MENDES et al., 2009). Dessa forma é a liberação de CO<sub>2</sub> que tem sido a principal forma de quantificar a respiração de sementes.

O processo de germinação de uma semente inicia-se com a embebição de água, seguida pelo desencadeamento de uma série de alterações metabólicas representadas pela hidrólise de compostos armazenados na semente (TAIZ; ZEIGER, 2009).

Com a absorção de água, por embebição, ocorre a reidratação dos tecidos e, por consequência, a intensificação da respiração e de todas as outras atividades metabólicas, resultando com o fornecimento de energia e nutrientes necessários para a retomada de crescimento por parte do eixo embrionário.

Piña-Rodrigues, Figliolia e Peixoto (2004) relatam que a primeira atividade metabólica das sementes, logo após a reidratação, é a respiração. De quase nula, ela passa a valores elevados em relativamente pouco tempo, dependendo da espécie. A atividade e integridade das mitocôndrias de embriões viáveis aumentam a partir do início da embebição, tornando mais eficiente a produção de Adenosina trifosfato (ATP – forma de armazenamento de energia), refletindo a elevação do consumo de oxigênio e por consequência maior liberação de CO<sub>2</sub> (BEWLEY; BLACK, 1994).

Na respiração, a atividade de enzimas e de organelas e a síntese de proteínas são eventos fundamentais para o desenvolvimento normal do processo de germinação e preparo para o crescimento subsequente do embrião. Importantes macromoléculas, como DNA e RNA, proteínas, lipídios, clorofilas, carotenoides e fitormônios, são formadas por esqueletos carbonados desviados da via respiratória. Para a síntese desses novos materiais indispensáveis ao crescimento, são necessárias também substâncias de alto poder redutor (NADH, FADH<sub>2</sub>) e elevado conteúdo energético (ATP). Portanto, nem todo carbono contido no substrato respiratório é liberado na forma de CO<sub>2</sub>, e nem todos os elétrons contidos nos nucleotídeos reduzidos (NADH, FADH<sub>2</sub>) se combinarão com O<sub>2</sub> para produzir H<sub>2</sub>O (MARENCO; LOPES, 2007).

O grau de umidade, a temperatura, permeabilidade das membranas, tensão de oxigênio e gás carbônico e a luz, são fatores que influenciam a velocidade respiratória da semente. O aumento da atividade respiratória da semente pode ser avaliado pela quantidade de gás carbônico liberado, pela quantidade de oxigênio consumido ou pela relação entre CO<sub>2</sub> liberado e O<sub>2</sub> consumido, denominada quociente respiratório (QR) (POPINIGIS, 1977).

Métodos para a medição da respiração estão relacionados com a perda de massa seca e/ou com trocas gasosas. No entanto, medir a variação de massa seca das sementes requer grande quantidade de material e implica na sua destruição (MARENCO; LOPES, 2007). Já os métodos baseados em trocas gasosas requerem menos materiais e não são destrutivos.

Os métodos mais utilizados, baseados em trocas gasosas, são o respirômetro de Warburg e o eletrodo de Clark, que consistem na medição manométrica do O<sub>2</sub> consumido, e o analisador de gás infravermelho (IRGA) e os métodos físico-químicos que se baseiam na retenção de CO<sub>2</sub> em uma base e em sua determinação por titulometria, colorimetria ou condutivimetria (MAESTRI; ALVIM; SILVA, 1998).

Os testes de Pettenkofer e da Titulação têm como princípio a quantificação do CO<sub>2</sub> proveniente da respiração das sementes.

A determinação da atividade respiratória de sementes de pimenta e pimentão pelo método físico-químico de Pettenkofer e pelo método da Titulação, e a correlação dos resultados com outros testes de determinação da qualidade fisiológica de sementes, pode constituir uma alternativa promissora para a adoção de mais um teste rápido de vigor, de baixo custo e de fácil execução.

A determinação da atividade respiratória de sementes de milho pelo método físico-químico de Pettenkofer, em que se avalia a quantidade de CO<sub>2</sub> liberado pela respiração das sementes por grama de semente por hora, foi eficiente para separar estatisticamente lotes com diferentes níveis de vigor (CASTRO, 2011).

Crispin et al. (1994), utilizando o método de titulação para a avaliação da respiração em sementes de soja observaram resultados compatíveis com outros testes para determinação da qualidade fisiológica de sementes.

O método de Pettenkofer para determinar a taxa respiratória é um método alternativo, simples prático e barato para diferenciar lotes de sementes de arroz quanto ao vigor (MENDES, 2008).

#### **2.4 Análise eletroforética de isoenzimas**

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). Desse modo os marcadores de proteínas se constituem em ferramentas de grande valor, pois além de auxiliar no diagnóstico do estado

fisiológico de sementes, pode, em determinados casos, ajudar na inferência sobre as causas da perda de vigor e viabilidade.

O estudo dos processos enzimáticos é uma das formas de se avaliar a qualidade das sementes (MUNIZ et al., 2007).

Nesse sentido, utilizando-se das técnicas da eletroforese para a detecção de atividade enzimática, a qualidade das sementes terá uma colocação mais realista, sendo possível determinar alterações bioquímicas que ocorrem nas sementes.

Por meio da detecção de alterações na composição proteica e de enzimas específicas pode-se acompanhar o controle da qualidade das sementes, permitindo diagnosticar o estado fisiológico da semente e em determinados casos, inferir sobre as causas da perda de sua viabilidade e vigor.

Entre as enzimas mais pesquisadas como marcadores de qualidade fisiológica estão aquelas que atuam no processo de respiração, a exemplo da malato desidrogenase e álcool desidrogenase, enzimas envolvidas no metabolismo de ligação nitrogênio-carbono, (fundamental no processo de germinação de sementes) ou ainda aquelas que possuem funções específicas no metabolismo dos lipídeos como é o caso das esterases, que também estão ligadas a desestruturação do sistema de membranas (CASTRO, 2011). Enzimas envolvidas na respiração podem ser ativadas em sementes de reduzida qualidade, conforme Shatters et al. (1994).

A enzima Álcool Desidrogenase (ADH) atua no metabolismo anaeróbico, em que o acetaldeído é reduzido a etanol (BUCHANAN et al., 2005). Os produtos finais desse metabolismo fermentativo são tóxicos para as células, sendo o etanol um produto do metabolismo fermentativo menos deletério quando comparado ao acetaldeído (ZHANG et al., 1994). Dessa forma, a álcool desidrogenase pode ser considerado um marcador de qualidade fisiológica, por sua baixa atividade representar um risco para a semente.

Essa enzima é de vital função durante o ciclo da glicose em condições anaeróbicas, devido a que é encarregada pela reciclagem do  $\text{NAD}^+$ , reduzindo o piruvato para etanol (SACHS; FREELING, 1978). O processo de acumulação de etanol envolve a oxidação de NADH e resulta na produção de pequenas quantidades de ATP, fundamental para a sobrevivência de varias espécies sob condições de anôxia (KENNEDY; RUMPHO; FOX, 1992).

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 pelo álcool desidrogenase (FERREIRA et al., 2007).

O perfil eletroforético da enzima ADH para lotes de sementes de milho submetidos à avaliação da atividade respiratória apresentou diminuição da intensidade para o lote com qualidade fisiológica inferior (CASTRO, 2011).

A Esterase (EST) é uma enzima envolvida em reações de hidrólise de ésteres e está diretamente ligada ao metabolismo de lipídios e ao processo degenerativo de membranas. Com isso observa-se que alterações nos padrões dessa enzima são evidências da ocorrência de eventos deteriorativos, (SANTOS; MENEZES; VILLELA, 2004).

A enzima endo- $\beta$ -mananase constitui-se em importante mecanismo regulador da germinação (QUEIROZ, 2009). A atividade dessas enzimas que hidrolisam a parede celular é muito pesquisada em sementes de várias espécies como o tomate, café e alface.

O processo de amolecimento do endosperma é desempenhado por várias enzimas, principalmente, a endo- $\beta$ -mananase. Esse se correlaciona com o aumento da atividade da enzima endo- $\beta$ -1,4-mananase (GROOT et al., 1988; NONOGAKI; MATSUSHIMA; MOROHASHI, 1992). Dessa forma, o

amolecimento é considerado uma consequência da atividade das enzimas, as quais hidrolisam a parede celular.

### **3 MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1 Local e materiais**

A pesquisa foi conduzida no Laboratório Central de Sementes do Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras (UFLA), em Lavras, MG.

Foram utilizados seis lotes de sementes de pimenta Habanero, seis lotes do híbrido de pimentão Magnata Super e seis lotes do híbrido Konan R., com diferentes níveis de qualidade fisiológica, provenientes da empresa Agristar® Seeds.

As sementes foram submetidas aos seguintes testes e determinações:

#### **3.2 Determinação do teor de água**

O teor de água das sementes foi determinado pelo método de estufa a  $105\pm 3^{\circ}\text{C}$  durante 24 horas, utilizando-se duas subamostras para cada tratamento, conforme as Regras para Análise de Sementes – RAS (BRASIL, 2009). Os resultados foram expressos em porcentagem

#### **3.3 Teste de germinação**

O teste de germinação foi realizado com quatro repetições de 50 sementes semeadas sobre duas folhas de papel mata-borrão, umedecidas com água na proporção de três vezes o peso do substrato seco, em caixas plásticas tipo *gerbox*. Essas foram mantidas em câmaras germinadoras tipo BOD sob regime alternado de temperatura e luz, sendo  $20^{\circ}\text{C}/16\text{h}$  no escuro e  $30^{\circ}\text{C}/8\text{h}$  na presença de luz. As contagens foram efetuadas aos sete e 14 dias após a

semeadura (BRASIL, 2009) e os resultados, expressos em porcentagem de plântulas normais.

### **3.4 Teste de emergência de plântulas**

Para a emergência foram utilizadas quatro repetições de 50 sementes distribuídas em bandejas multicelulares de poliestireno com células separadas, contendo substrato comercial tipo Plantimax-hortaliça. As bandejas foram mantidas em casa de vegetação dotada de sistema de nebulização intermitente, à temperatura de 25 a 30 °C. Foram realizadas avaliações diárias a partir do início da emergência de plântulas, computando-se o número de plântulas emersas até a estabilização do estande. Foi computada a porcentagem de plântulas normais aos 30 dias. Para o cálculo do índice de velocidade de emergência, segundo Maguire (1962), foi realizada leituras diárias do número de plântulas com as folhas cotiledonares acima do solo.

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

Foi conduzido no sistema de massa com quatro repetições de 50 sementes. Essas 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 a temperatura de 25 °C, a condutividade elétrica foi determinada com auxílio de um condutivímetro 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 Respiração pelo método de Pettenkofer

A atividade respiratória foi determinada por meio do aparelho de Pettenkofer. Esse é constituído por quatro frascos, sendo que os dois primeiros contêm hidróxido de sódio (NaOH), no terceiro são acondicionadas as sementes em análise e no quarto contêm hidróxido de bário ( $\text{Ba}(\text{OH})_2$ ). Os frascos foram vedados com rolhas de silicone, interligados por uma mangueira e o fluxo de ar controlado por meio de uma torneira. Após duas horas de exposição das sementes, retirou-se duas alíquotas do sobrenadante para titulação.

Em cada alíquota foram adicionadas duas gotas de reagente de cor fenolftaleína e em seguida submetida à titulação com ácido clorídrico (HCl). O volume de HCl utilizado até o ponto de viragem é proporcional à quantidade de  $\text{BaCO}_3$  presente na solução, que também é proporcional à quantidade de  $\text{CO}_2$  proveniente da atividade respiratória das sementes. A partir dos cálculos estequiométricos foi possível obter a quantidade de  $\text{CO}_2$  liberada no processo de respiração das sementes. O resultado foi expresso em quantidade de dióxido de carbono liberado por grama de semente por hora ( $\mu\text{g CO}_2 \text{ g semente}^{-1} \text{ h}^{-1}$ ).

A fórmula, já simplificada, é a seguinte:

$$(L_b - L_a) * \frac{1,1 \cdot 10^5}{h * g}$$

onde:

L<sub>b</sub>: leitura da prova em branco (mL)

L<sub>a</sub>: leitura da amostra (mL)

h: tempo de permanência no aparelho (horas)

g: massa de sementes usada (gramas)

### 3.7 Respiração pelo método da titulação

O método para a condução do teste de respiração é constituído de caixas de plástico transparente tipo *gerbox*, contendo bandeja de tela fina, utilizada como suporte para as sementes. No fundo de cada *gerbox* foram colocados 40 mL de solução de KOH a 0,1N. Para evitar trocas gasosas com o meio, cada *gerbox* foi vedado com plástico tipo rolopac. Cada uma das quatro repetições de 50 sementes foi colocada sobre a tela contendo uma folha de papel mata-borrão umedecido 2x o seu peso seco. Os *gerboxes* foram mantidos em câmara de germinação, tipo BOD, por um período de 24h à temperatura constante de 25°C.

Após esse período, uma amostra de 25 mL da solução de KOH, por repetição, recebeu gotas do corante de cor fenolftaleína, e submetida à titulação com HCl 0,1N. No ponto de viragem, foi registrado o volume de HCl gasto em cada uma das repetições testadas. Esse volume de HCl que é diretamente relacionado com a quantidade de CO<sub>2</sub> fixado pela solução de KOH, é proveniente da respiração. O resultado foi expresso em mg de CO<sub>2</sub> por grama de semente seca (CRISPIM et al., 1994).

A fórmula já simplificada é a seguinte:

$$\frac{(B - L) \times C}{MS},$$

onde:

B: leitura da prova em branco

L: leitura do volume de HCl gasto para neutralizar o KOH submetido a respiração

C: fator de correção (3,52)

MS: matéria seca das sementes

### 3.8 Análise estatística

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado com 4 repetições em todos os testes. Foi feita a análise de correlação de cada teste de vigor com o teste de Pettenkofer e o método de Titulação. Os dados foram submetidos à análise de variância, com auxílio do *software* Sisvar® (FERREIRA, 2000) e comparados pelo teste de Scott- Knott aos 5% de probabilidade.

### 3.9 Análise de enzimas

Foram utilizadas duas amostras de 200 sementes de cada tratamento e armazenadas à temperatura de - 86°C em *deep freezer*, para análise de enzimas por meio da técnica de eletroforese.

Para análise eletroforética de enzimas as sementes foram trituradas na presença de PVP, e nitrogênio líquido em cadinho de porcelana e posteriormente armazenadas 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 250 µL por 100 mg de sementes. O material foi homogeneizado em vórtex 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 álcool desidrogenase e esterase, conforme Alfenas et al. (1991) e Alfenas et al. (2006).

Para a extração da enzima endo- $\beta$ -mananase, em cada microtubo com 100mg de pó de cada amostra, foram adicionados 300  $\mu$ L do tampão de extração contendo 0,1 M Hepes e 0,5 M de NaCl (pH 8,0) mais ácido ascórbico na proporção de 5 mg do ácido para cada ml de tampão, em três repetições. Em seguida, os microtubos contendo as amostras foram agitados em vórtex por 1 minuto e levados para centrifuga a 10.000g por 30 minutos a 4°C. O sobrenadante foi aplicado em gel confeccionado com 6 mL de LBG (Locust Bean Gum-Sigma nr 0753), 0,24 g de agarose (Qbiogene) e 24 mL de tampão pH 5,0. O LBG 0,5% foi preparado aquecendo a solução por 2 horas a 80°C, seguida de resfriamento em temperatura ambiente. Já o tampão pH 5,0 foi preparado adicionando-se 11 mL de ácido cítrico 1M, 50 mL de Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> e 149 mL de água destilada, num total de 210 mL. Os suportes do gel com U-frame (Pharmacia 8001106-89) (vidros) foram limpos com etanol. Esse suporte foi coberto com *Gelbond film* (Pharmacia nr 80-112932), ficando o lado hidrofóbico em contato com o primeiro vidro, para que o lado hidrofílico fique em contato com o gel. O *Gelbond* foi coberto com o segundo suporte e esses suportes foram unidos por prendedores. Antes de aplicar o gel ele foi aquecido em microondas por 1 minuto até a total dissolução da agarose. Pelo mesmo período, o suporte foi aquecido em estufa a 80°C para que não haja perigo de trincas no vidro por diferenças de temperatura entre o vidro e o gel. A aplicação foi realizada em temperatura ambiente.

Após a solidificação, armazena-se o gel em geladeira por um período de 24 horas. O gel foi furado com furador de 2 mm de diâmetro e esses furos foram succionados para retirada de restos de gel com bomba a vácuo.

Foram aplicados 2  $\mu$ L do extrato da amostra por furo, em 3 repetições de cada amostra. O gel foi transferido para um germinador a 25 °C por período de 21 horas, no escuro, em câmara úmida.

Para a revelação, o gel foi inicialmente lavado em água destilada, lavado em tampão (tampão do gel) por 30 minutos e novamente lavado em água destilada. Logo após, o gel foi coberto com o corante vermelho congo a 0,5% por 30 minutos e colocado em etanol por 10 minutos para a remoção do corante. Removido o etanol com água destilada, foi adicionada uma solução de 1M de NaCl até a observação visual da formação de halos brancos nos furos que vão conter as amostras. Nesse momento, foi feita a medição do diâmetro dos halos em duas direções com um paquímetro resultando em uma média. Para o cálculo da atividade da enzima, foi feita uma comparação com a curva padrão gerada pela endo- $\beta$ -mananase comercial de *Aspergillus niger* (Megazyme). O cálculo da atividade da enzima endo- $\beta$ -mananase é realizado segundo Downie, Hillhorst e Bewley (1994).

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Avaliação dos testes físicos e fisiológicos

O grau de umidade das sementes provenientes de seis lotes de pimenta Habanero, seis lotes do híbrido de pimentão Magnata Super e seis lotes do híbrido Konan R (Tabela 1) foram semelhantes para todos os lotes, não havendo diferença. Isso é importante para a execução dos testes para avaliação da qualidade de sementes, considerando que a uniformidade do grau de umidade é imprescindível para a padronização das avaliações e obtenção de resultados consistentes (LOEFFLER et al., 1988).

Tabela 1 Grau de umidade médio de sementes de pimenta Habanero, híbridos de pimentão Konan R. e Magnata Super

Espécie	Lotes	Seca (%)	Embebida (%)
Pimenta Habanero	1	8,5	24
	2	8,4	22
	3	8,2	20
	4	8,3	20
	5	8,5	23
	6	8,4	22
Pimentão Konan R.	1	9,1	23
	2	8,9	24
	3	9,0	24
	4	8,9	22
	5	8,8	22
	6	9,0	24
Pimentão Magnata Super	1	9,2	25
	2	9,3	24
	3	9,0	22
	4	9,1	24
	5	9,0	23
	6	9,2	24

Foi possível separar os lotes de sementes da pimenta Habanero e das duas cultivares de pimentão por meio dos testes de germinação e vigor (Tabelas

2 e 3). Tais resultados condizem com os relatados por Von Pinho et al. (2011) onde trabalharam com híbridos de pimentão.

O teste de germinação para as sementes de pimenta Habanero permitiu agrupar os lotes em dois níveis de vigor, sendo os lotes 01, 02, 03 e 04 superiores aos demais e o lote 06 com qualidade reduzida (Tabela 2). Dutra (2011) observou que o comportamento entre lotes dessa pimenta foi significativamente diferente quando avaliados pelo teste de germinação.

Tabela 2 Dados médios da germinação, primeira contagem da germinação e índice de velocidade de germinação de lotes de sementes de pimenta Habanero, híbridos de pimentão Konan R. e Magnata Super

Espécie	Lotes	Germinação (%)	Primeira Contagem de Germinação (%)	IVG
Pimenta Habanero	1	76,0 a	28,0 c	21,9 a
	2	77,0 a	25,0 c	15,9 b
	3	87,0 a	41,0 b	25,8 a
	4	86,0 a	52,0 a	28,1 a
	5	48,0 b	21,0 d	14,8 b
	6	46,0 b	16,0 d	7,5 c
	CV (%)	12.97	11.63	17.70
Pimentão Konan R.	1	58,0 b	55,0 a	27,6 a
	2	57,0 b	47,0 a	26,6 a
	3	68,0 a	33,0 b	23,1 b
	4	55,0 b	50,0 a	30,3 a
	5	69,0 a	58,0 a	35,3 a
	6	39,0 c	32,0 b	18,0 b
	CV (%)	13.08	17.92	17.42
Pimentão Magnata Super	1	55,0 c	29,0 c	20,6 d
	2	67,0 b	53,0 b	31,4 c
	3	85,0 a	76,0 a	49,1 b
	4	87,0 a	81,0 a	50,9 b
	5	93,0 a	89,0 a	59,0 a
	6	62,0 b	52,0 b	30,7 c
	CV (%)	6.38	11.91	7.87

Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste Scott Knott a 5% de probabilidade

Já para o híbrido Konan R. (Tabela 2) o teste de germinação diferenciou os lotes em três níveis, onde a germinação das sementes do lote 04 foi estatisticamente superior e a do lote 06 inferior. Comportamento semelhante foi observado para o híbrido Magnata Super, sendo observada no lote 05 maior porcentagem de germinação e no lote 01 menor porcentagem de germinação. Os resultados dos testes de vigor, quando comparados entre si, foram consistentes, ou seja, os lotes foram classificados da mesma forma pela maioria dos testes. Essa observação é diferente à relatada por Caliari e Silva (2001) e Castro (2011) que estudaram 45 e 16 lotes, respectivamente, de sementes de milho, e obtiveram resultados discrepantes, dependendo do teste de vigor.

O teste de primeira contagem de germinação, geralmente é utilizado como um teste de vigor, devido à sua simplicidade e por ser conduzido juntamente com o teste de germinação. A velocidade de germinação pode ser utilizada para identificar cultivares com sementes que apresentam emergência mais rápida em campo ou em estufa, minimizando assim as condições adversas que ocorrem durante a germinação e estabelecimento de plântulas (STEINER et al., 2009).

Por meio dos testes de primeira contagem de germinação e índice de velocidade de germinação (IVG) os lotes de pimenta Habanero (Tabela 2) foi possível separar os lotes 04 como de melhor qualidade e o lote 06 como de pior qualidade, e seus resultados correlacionaram de forma significativa e positiva com o teste de germinação (Anexo- Tabela 1A), com correlação linear simples ( $r$ ) de 0,8276 para primeira contagem e 0.8827 para IVG.

Em relação a cultivar Konan R. (Tabela 2) maior vigor foi observado em sementes do lote 05 e menor no lote 06.

Os resultados dos testes de primeira contagem de germinação e IVG para os lotes do híbrido Magnata Super (Tabela 2) apresentaram a mesma tendência, os quais diferenciaram os lotes em quatro níveis, e seus resultados

também se correlacionaram de forma significativa e positiva com o teste de germinação (Anexo- Tabela 1C), com correlação linear simples ( $r$ ) de 0,9823 para primeira contagem e 0.9939 para IVG. A média mais alta foi do lote 05 com 89% de plântulas normais ao sétimo dia e a mais baixa foi a do lote 01 com apenas 29%.

Esses resultados eram esperados, uma vez que, as avaliações dos três testes são feitas na mesma amostra de sementes e foram conduzidos sob as mesmas condições. E ainda foram semelhantes aos observados por Von Pinho et al. (2011) em sementes dos mesmos híbridos de pimentão.

Em relação aos testes de vigor estande inicial (EI), emergência e índice de velocidade de emergência (IVE) ocorreu baixa variação entre os lotes de pimenta Habanero, destacando o lote 04, como superior e o lote 06, como inferior aos demais (Tabela 3).

Para o híbrido Konan R. foram observados resultados semelhantes aos dos testes de primeira contagem de germinação e IVG (Tabela 2).

Os testes de emergência, estande inicial e IVE (Tabela 3) separaram os lotes do híbrido de pimentão Magnata Super em dois níveis estatisticamente distintos, com destaque para os lotes 05 mais vigoroso e o lote 01 menos vigoroso. Os resultados dos testes se correlacionaram de forma significativa e positiva (Anexo - Tabela 1C).

Vale ressaltar que a propagação de pimenta e pimentão é feita por sementes. No entanto há a necessidade de se adotar a prática de transplântio de mudas, assim, os testes de emergência, IVE e estande inicial são fundamentais para presumir o desempenho das sementes no estabelecimento de plântulas.

Tabela 3 Dados médios do estande inicial, emergência, e índice de velocidade de emergência, de lotes de sementes de pimenta Habanero, híbridos de pimentão Konan R. e Magnata Super

Espécie	Lotes	Estande Inicial (%)	Emergência (%)	IVE
Pimenta Habanero	1	48,0 a	52,0 a	9,4 a
	2	48,0 a	53,0 a	9,8 a
	3	49,0 a	51,0 a	9,4 a
	4	51,0 a	56,0 a	9,0 a
	5	47,0 a	53,0 a	9,5 a
	6	35,0 b	40,0 b	6,2 b
	CV (%)	12.38	12.46	12.17
Pimentão Konan R.	1	44,0 a	49,0 a	8,1 a
	2	31,0 b	31,0 b	5,7 b
	3	34,0 b	44,0 a	7,1 b
	4	32,0 b	39,0 b	6,3 b
	5	44,0 a	49,0 a	8,9 a
	6	29,0 b	32,0 b	5,7 b
	CV (%)	14.29	14,70	14.84
Pimentão Magnata Super	1	36,0 b	40,0 b	6,7 b
	2	44,0 b	47,0 b	8,4 b
	3	78,0 a	79,0 a	16,3 a
	4	75,0 a	76,0 a	14,5 a
	5	84,0 a	87,0 a	19,0 a
	6	37,0 b	43,0 b	7,4 b
	CV (%)	17.48	20.85	19.45

Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste Scott-Knott a 5% de probabilidade

O comportamento entre lotes de pimenta Habanero não foi significativamente diferente quando avaliados pelo teste de condutividade elétrica (Tabela 4). Esse teste também não foi capaz de separar, pelo método individual, lotes de mamona (SOUZA, 2007) nem de soja (DIAS; MARCOS FILHO, 1996).

Tabela 4 Dados médios de condutividade elétrica e atividade respiratória pelo método de Pettenkofer e pelo método da Titulação, de seis lotes de sementes de pimenta Habanero, híbridos de pimentão Konan R. e Magnata Super

Espécie	Lotes	Condutividade	Pettenkofer	Titulação
		( $\mu\text{S cm}^{-1} \text{ g}^{-1}$ )	( $\mu\text{g CO}_2 \text{ g semente}^{-1} \text{ h}^{-1}$ )	( $\text{mg CO}_2 \text{ g semente}^{-1}$ )
Pimenta Habanero	1	21,4 a	29,30 c	46,15 c
	2	21,9 a	28,35 d	49,73 d
	3	23,8 a	39,80 a	30,13 b
	4	24,4 a	37,38 b	25,48 a
	5	23,7 a	16,60 e	55,60 e
	6	22,9 a	14,33 f	59,15 f
	CV (%)	7.76	1.00	3.73
Pimentão Konan R.	1	32,9 a	37,07 d	72,75 c
	2	47,5 b	37,73 c	73,50 d
	3	79,4 c	36,08 e	74,00 e
	4	47,5 b	40,98 b	67,25 b
	5	48,4 b	42,00 a	65,50 a
	6	29,0 a	17,90f	81,00 f
	CV (%)	7.13	0.81	3.56
Pimentão Magnata Super	1	41,2 a	23,95 f	78,23 f
	2	30,8 a	34,00 d	72,45 d
	3	88,1 b	47,00 c	67,35 c
	4	83,6 b	49,30 b	57,90 b
	5	79,3 b	52,80 a	55,05 a
	6	33,8 a	28,40 e	75,10 e
	CV (%)	14,33	0.58	2,54

Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste Scott-Knott a 5% de probabilidade

O teste de condutividade elétrica (Tabela 4) para Konan R. e Magnata Super distinguiu os lotes em duas classes pelo nível de vigor.

Em geral, tem-se verificado que teores de água muito baixos menor ou igual aos 10%, ou muito altos, maior ou igual aos 17%, influenciam significativamente nos resultados da condutividade elétrica e que, portanto, devem ser ajustados para uma faixa de teor de água entre 10% e 17% antes de se efetuar o teste (AOSA, 1983; CARVALHO, 1994; CASTRO, 2011; HAMPTON; JOHNSTONE; EUA-UMPON, 1992).

Os resultados obtidos nesta pesquisa podem ser explicados pelo fato de que esse teste foi realizado com sementes secas que não apresentavam esses padrões de umidade (Tabela 1), estando sujeito a interferências. Dessa forma no teste de condutividade elétrica foi observada baixa correlação com os resultados dos demais testes realizados.

Pelos resultados da atividade respiratória pelo método físico- químico de Pettenkofer (Tabela 4), por meio do qual se avalia a quantidade de CO<sub>2</sub> liberado pela respiração das sementes por grama de semente por hora, foi possível separar estatisticamente todos os lotes em seis níveis de vigor, independentemente da espécie. Comportamento semelhante encontrado por Castro (2011) em sementes de milho onde o método de Pettenkofer separou estatisticamente 16 lotes em cinco níveis de vigor.

Os resultados encontrados no teste apresentaram mesma tendência que nos demais testes de vigor utilizados para expressar o desempenho da qualidade fisiológica, bem como distinguiu os lotes de sementes de pimenta e pimentão em diferentes níveis de vigor. Mendes (2008) verificou mesmo comportamento tanto para soja como para arroz.

Alterações responsáveis pela queda do vigor reduzem a taxa respiratória e a atividade de enzimas. Em pesquisas também tem sido observado que os mitocôndrios em sementes secas e no início do processo de embebição, não têm um sistema organizado de membranas. A recuperação estrutural ocorre à medida que a hidratação prossegue e os mitocôndrios se tornam mais eficientes na fosforilação oxidativa. O desempenho do lote pode ser visualizado como consequência do período de tempo necessário para que os mitocôndrios fiquem mais eficientes, passem a executar funções respiratórias e o sistema de membranas se torne melhor organizado (MARCOS FILHO, 2005).

A atividade e integridade dos mitocôndrios de embriões viáveis aumentam a partir do início da embebição, o que torna mais eficiente a produção

de ATP, refletindo a elevação do consumo de oxigênio e conseqüente elevação na produção de gás carbônico (BEWLEY; BLACK, 1994). Sendo assim, o lote mais vigoroso tende a respirar mais do que um lote com menor vigor, em um mesmo período de tempo. Ainda podemos inferir que o tempo de embebição das sementes (duas horas) e de permanência no aparelho de Pettenkofer (duas horas) foi suficiente para permitir a separação dos lotes, levando em conta a sua qualidade fisiológica identificada por meio dos testes de referência utilizados neste trabalho.

Para sementes de pimenta Habanero o lote 06 se destacou por apresentar a menor respiração, com  $14,33 \mu\text{g CO}_2 \text{ g semente}^{-1} \text{ h}^{-1}$ , e foi estatisticamente inferior aos demais lotes evidenciando o baixo desempenho desse lote também nos demais testes de vigor (Tabela 4).

O valor de correlação entre a germinação e o teste de Pettenkofer (Anexo- Tabela 1A) foi alto ( $r = 0.9793$ ), ou seja, seu desempenho foi bom em condições favoráveis e como o método de Pettenkofer também oferece essas condições (temperatura e umidade ideais), o resultado foi coerente (CASTRO, 2011).

Em relação às sementes do híbrido Konan R. (Tabela 4) o lote 05 se destacou por apresentar a maior média,  $42,0 \mu\text{g CO}_2 \text{ g semente}^{-1} \text{ h}^{-1}$  e o lote 06 apresentou menor média,  $17,9 \mu\text{g CO}_2 \text{ g semente}^{-1} \text{ h}^{-1}$ , apresentando mesma disposição que os testes de vigor utilizados. A elevada respiração do lote 05 pode ser explicada devido à rápida retomada da atividade dessas sementes (CASTRO, 2011; DUTRA, 2011).

Comportamento semelhante foi observado para o híbrido de pimentão Magnata Super (Tabela 4) sendo que o lote 05 foi estatisticamente superior aos demais com uma respiração de  $58,80$  e o lote 01 inferior com respiração de  $23,95 \mu\text{g CO}_2 \text{ g semente}^{-1} \text{ h}^{-1}$ . A correlação entre o teste de Pettenkofer e os

todos os outros testes foi significativa e positiva, sendo superiores a  $r = 0.89$  (Anexo- Tabela 1C).

Pela taxa de respiração determinada pelo método da titulação (Tabela 4), em que se avalia a quantidade de  $O_2$  liberado pela respiração das sementes, foi possível separar estatisticamente todos os lotes em seis níveis de vigor, independentemente da espécie, como observado para o teste de Pettenkofer.

Quanto aos lotes de pimenta Habanero (Tabela 4) os resultados observados tiveram a mesma tendência que os resultados dos testes fisiológicos, com uma correlação linear simples ( $r$ ) de  $-0,9393$ , e para os testes de germinação, primeira contagem de emergência e IVG com ( $r$ ) de  $-0,8729$ ,  $-0,9869$  e  $-0,9433$  respectivamente (Anexo- Tabela 1A).

Os resultados da atividade respiratória por meio do método de Titulação das sementes do híbrido Konan R. (Tabela 4), corroboraram com os demais testes de vigor (Tabelas 2 e 3) e com o método de Pettenkofer, utilizados para expressar o desempenho da qualidade fisiológica. A correlação foi significativa para o teste de IVG apresentando um ( $r$ ) de  $-0,9666$  e também para o método de Pettenkofer com ( $r$ ) de  $-0,9069$  (Anexo- Tabela 1C).

O método de titulação teve correlação significativa para todos os testes utilizados com exceção da condutividade elétrica para o híbrido de pimentão Magnata Super (Tabela 4). Essa afirmativa pode ser observada claramente pela correlação entre os testes (Anexo- Tabela 1C) onde observa-se que todas correlações foram maiores do que  $0,9$ , valor aceito como uma boa correlação. Destacando o lote 05 com melhor média e o lote 01 com a pior média (Tabela 4).

O método de titulação indicou resultados compatíveis com outros testes para determinação da qualidade fisiológica de sementes de soja e é viável sua utilização para a avaliação da taxa respiratória (CRISPIM et al., 1994).

Neste trabalho ficou caracterizada a importância de se avaliar a atividade respiratória de sementes em complemento aos outros testes de germinações e vigor, para a avaliação da qualidade fisiológica de sementes. Confirmando que os métodos de Pettenkofer e da Titulação para determinar a taxa respiratória são métodos simples, práticos e baratos para diferenciar lotes de sementes em se tratando de vigor.

#### **4.2 Análise isoenzimática**

Para muitos autores, os primeiros sinais de redução na qualidade de sementes estão relacionados com a alteração ou perda da integridade das membranas celulares. Contudo, estudos recentes indicam que mesmo antes desse fenômeno, a perda ou aumento da atividade respiratória poderão estar contribuindo para a redução da qualidade fisiológica em sementes.

Segundo Delouche e Baskin (1973), as atividades de enzimas ligadas ao processo de respiração podem indicar transformações degenerativas nas sementes. Os mitocôndrios dos eixos embrionários são responsáveis pelo fornecimento de energia usada no alongamento da radícula e, se a taxa respiratória diminuir a emergência e crescimento das plântulas também diminuem. Desse modo, pelo fato dos mitocôndrios serem o centro da respiração, fica evidente a importância dos efeitos da deterioração sobre o desempenho germinativo de sementes quando são consideradas as modificações ocorridas nessa organela (SALINAS et al., 1998).

Quando a via aeróbica é comprometida, a via anaeróbica da respiração é acionada 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 pelo álcool desidrogenase (TIMÓTEO, 2011).

Nesta pesquisa foram observadas alterações significativas na atividade da enzima álcool desidrogenase (ADH) tanto em sementes secas quanto em embebidas para todos os lotes de sementes de pimenta e pimentão (Figura 1), esses resultados foram semelhantes aos encontrados por Bock (1999), que verificou uma alta atividade da enzima álcool desidrogenase em sementes de soja, indicando aumento na respiração em função do acréscimo no grau de hidratação das sementes e níveis de deterioração. Mesmo padrão observado por Brandão Júnior, Carvalho e Vieira (1999) que obtiveram relação positiva entre a viabilidade de sementes de milho e atividade da enzima álcool desidrogenase.

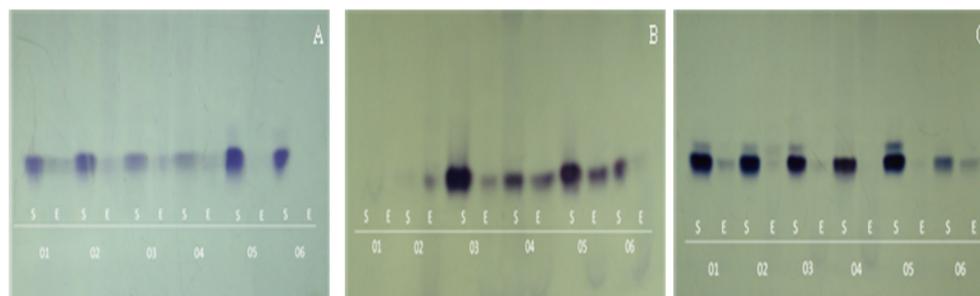


Figura 1 Padrões enzimáticos de álcool desidrogenase (ADH) em sementes de pimenta habanero, secas e embebidas (A); sementes de pimentão Konan R.(B) e sementes de pimentão Magnata Super (C)

Foi possível observar que para as sementes, independentemente da espécie, houve uma alta atividade da enzima álcool desidrogenase para as sementes secas. Ressalta-se que essa enzima 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) portanto, com o aumento da atividade da ADH, as sementes ficam mais protegidas contra a ação deletérica desse composto.

Albuquerque et al. (2009) estudando sementes de sucupira-preta observaram que à medida que as sementes eram expostas a embebição, o tegumento tornava-se mais permeável, permitindo, dessa forma, o suprimento de oxigênio, justificando a diminuição da intensidade das bandas da enzima álcool desidrogenase.

Para sementes de café a atividade da ADH é menos intensa quando as sementes são submetidas a 4 dias de embebição a 15°C, comparadas com as sementes secas (LIMA et al., 2004).

No caso de pimenta e pimentão, a enzima álcool desidrogenase não se mostrou um bom indicador de redução na qualidade da semente, pelos testes fisiológicos foram observadas alterações significativas nos níveis de qualidade dos lotes de sementes. Resultado semelhante foi encontrado para milho doce para o qual os perfis isoenzimáticos revelaram para a álcool-desidrogenase (ADH) a ausência de alteração no número e na intensidade de bandas que pudesse estar associada à redução observada na qualidade fisiológica da semente (CAMARGO; CARVALHO, 2008).

Em sementes de arroz foram observados dois alelos da enzima ADH, com expressão exclusiva nas sementes secas, evidenciando que à medida que o processo de germinação avança e o processo aeróbico de geração de energia começa a ser predominante, a enzima ADH não é mais necessária (MALONE et al., 2007)

A esterase é uma enzima-chave nas reações de hidrólise de ésteres, estando inteiramente ligada ao metabolismo dos lipídios, como os fosfolipídios totais de membrana (SANTOS; MENEZES; VILLELA, 2004).

Pelos padrões eletroforéticos da enzima esterase nota-se maior atividade dessa enzima em sementes embebidas, em todos os lotes, nas três cultivares e com aparecimento de isoformas (Figura 2). Segundo Menezes (2005), padrões

isoenzimáticos de esterase apresentam-se polimórficos em sementes de cultivares de milho com diferentes níveis de qualidade fisiológica.

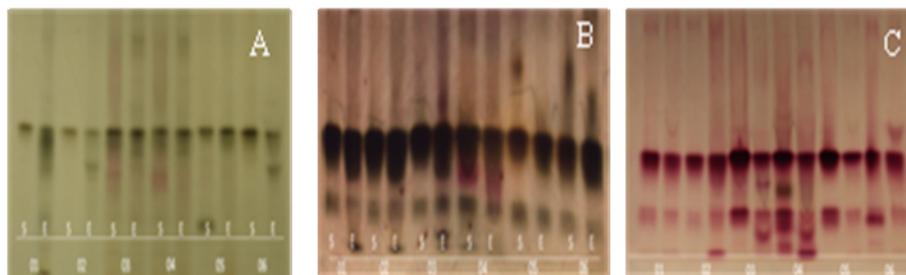


Figura 2 Padrões enzimáticos de esterase (EST) em sementes de pimenta habanero, secas e embebidas (A); sementes de pimentão Konan R.(B) e sementes de pimentão Magnata Super (C)

A atividade dessa enzima foi reduzida nos lotes com menor qualidade fisiológica (Figura 3). Resultados, então, semelhantes aos descritos por Padilha et al. (2001), onde foi observada a diminuição na atividade da esterase com o aumento do processo de deterioração em sementes de milho.

Avaliando a atividade de esterases, durante a deterioração de sementes de amendoim, Aung e McDonald (1995), observaram decréscimo na sua atividade total, com o aumento de deterioração tanto em sementes embebidas como não embebidas.

Basavarajappa, Shetty e Prakash (1991), afirmam que a peroxidação de lipídios é um evento que associado a danos de membrana de sementes, e que alterações nos padrões da esterase evidenciam a ocorrência de eventos deteriorativos, que podem contribuir para a redução da germinação das sementes. Essa enzima é acumulada antes do processo para prevenir a ação de radicais livres no início da deterioração, podendo reduzir sua expressão durante esse processo devido à sua ação hidrolítica na liberação de ácidos graxos que são usados na beta oxidação, como fonte de energia para a germinação. Ressalta-se

ainda que muitos desses lipídeos são constituintes de membranas, cuja degradação aumenta com a deterioração (MARCOS FILHO, 2005).

Em sementes de pimenta Habanero (Figura 2A) pode-se observar aumento na atividade da esterase nos lotes 03 e 04 os quais apresentaram maiores valores de germinação e vigor. Esse grande grupo de enzimas hidrolíticas libera ácidos graxos dos lipídeos, que são usados na  $\beta$  - oxidação, como fonte de energia para os eventos germinativos (SILVA et al., 2008). Dessa forma, infere-se que os lipídeos presentes nas sementes tenham sido utilizados como fonte de energia durante o processo de germinação. Resultado semelhante encontrado em sementes de pimenta malagueta durante o desenvolvimento e o armazenamento (CAIXETA, 2009).

Observa-se pelos resultados que há diferenças na atividade da enzima endo- $\beta$ -mananase, quando essa atividade é determinada em sementes secas e germinadas (Tabela 5). E quando as sementes são consideradas germinadas, a atividade da enzima é notadamente superior à atividade nas sementes secas. Comportamento semelhante observado por Pereira et al. (2011), onde verificaram que a atividade da enzima endo- $\beta$ -mananase em sementes de café secas é inferior à de sementes germinadas.

A enzima endo- $\beta$ -mananase constitui-se em importante mecanismo regulador da germinação (QUEIROZ, 2009). O processo de amolecimento do endosperma é desempenhado por várias enzimas, principalmente, a endo- $\beta$ -mananase. Esse se correlaciona com o aumento da atividade da enzima endo-b-1,4-mananase quando as sementes estão germinando (GROOT et al., 1988; NONOGAKI; MATSUSHIMA; MOROHASHI, 1992).

Tabela 5 Atividade da enzima endo  $\beta$  mananase de lotes de sementes de pimenta Habanero, híbridos de pimentão Konan R. e Magnata Super

	Atividade da enzima endo $\beta$ mananase (picomol.min <sup>-1</sup> g <sup>-1</sup> )		
	Lotes	Sementes secas (8%)	Sementes Germinadas (4 dias)
Pimenta Habanero	1	10,47 c	19,34 c
	2	10,34 c	18,80 c
	3	12,50 a	23,97 a
	4	12,14 b	22,97 b
	5	8,47 d	16,57 d
	6	7,30 e	15,47 e
	CV (%)	4.59	3.08
Pimentão Konan R.	1	22,74 c	61,54 b
	2	22,34 c	66,97 b
	3	41,25 a	86,94 a
	4	23,47 b	60,23 c
	5	41,74 a	87,50 a
	6	17,34 d	54,30 d
	CV (%)	4.17	3.51
Pimentão Magnata Super	1	14,87 e	39,37 f
	2	32,67 d	65,50 e
	3	41,37 b	85,50 b
	4	40,07 c	83,24 c
	5	50,54 a	114,54 a
	6	32,94 d	67,80 d
	CV (%)	4.19	3.61

Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste Scott-Knott a 5% de probabilidade

A atividade da enzima endo- $\beta$ -mananase (Tabela 5) dos lotes de sementes de pimenta Habanero, pimentão Konan R. e Magnata Super foi coerente com os testes de germinação e de vigor utilizados. Dessa forma, a determinação da atividade dessa enzima em sementes secas e nas germinadas permite a diferenciação de lotes de sementes com diversos níveis de qualidade fisiológica.

Essa observação é diferente à relatada por Pereira et al. (2011). Segundo esses autores que estudaram sementes de café, nos tratamentos onde se utilizou sementes secas, não foi possível diferenciar a qualidade fisiológica dos lotes de sementes.

Maiores atividades da enzima endo- $\beta$ -mananase foram verificadas em sementes de café que apresentaram piores desempenhos fisiológicos, avaliados pelos testes de germinação e de vigor. Segundo os autores isso se deve ao fato de que as maiores atividades da enzima endo- $\beta$ -mananase podem estar relacionadas com o estado de deterioração, ou seja, com a degradação das paredes celulares resultante do processo de deterioração das sementes (SANTOS et al., 2011).

Os lotes 04 e 06 de sementes de pimenta Habanero, respectivamente, foram considerados como de maior e menor vigor (Tabelas 2, 3 e 4). O mesmo foi observado ao avaliar a atividade da enzima endo- $\beta$ -mananase (Figura 3), os resultados foram correlacionados de forma significativa com os testes de germinação, primeira contagem de germinação, IVG, estande inicial, método da Titulação e com o método de Pettenkofer. A correlação entre esse método de Titulação e a atividade da enzima foi a maior observada ( $r$ ) de 0,9932 (Anexo - Tabela 1A).

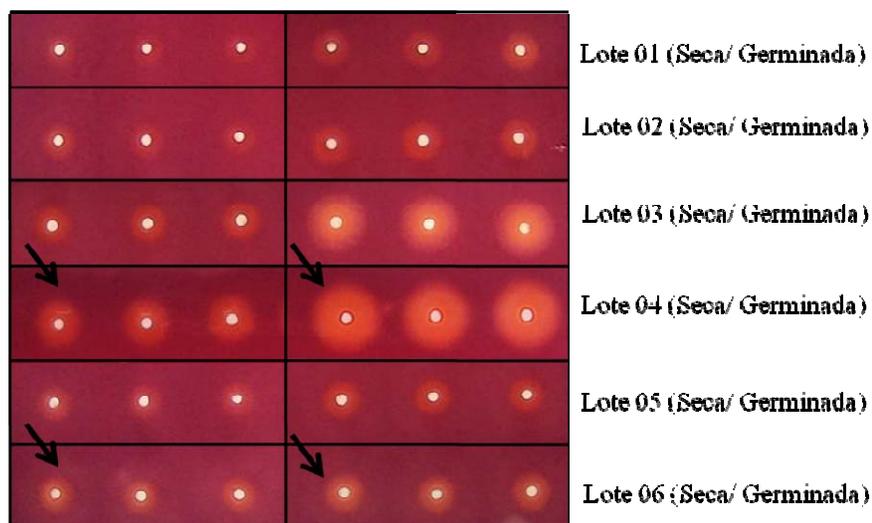


Figura 3 Atividade, em gel de agarose, da enzima endo- $\beta$ -mananase em sementes de diferentes lotes de pimenta Habanero

Em relação ao híbrido de pimentão Konan R. os resultados da qualidade fisiológica (Tabelas 2, 3 e 4) corroboraram com os resultados da atividade da enzima endo- $\beta$ -mananase em sementes (Figura 4). Entretanto no teste de correlação linear simples houve significância somente para a germinação com (r) igual a 0,8929 (Anexo-Tabela 1B), valor próximo ao aceito como uma boa correlação.

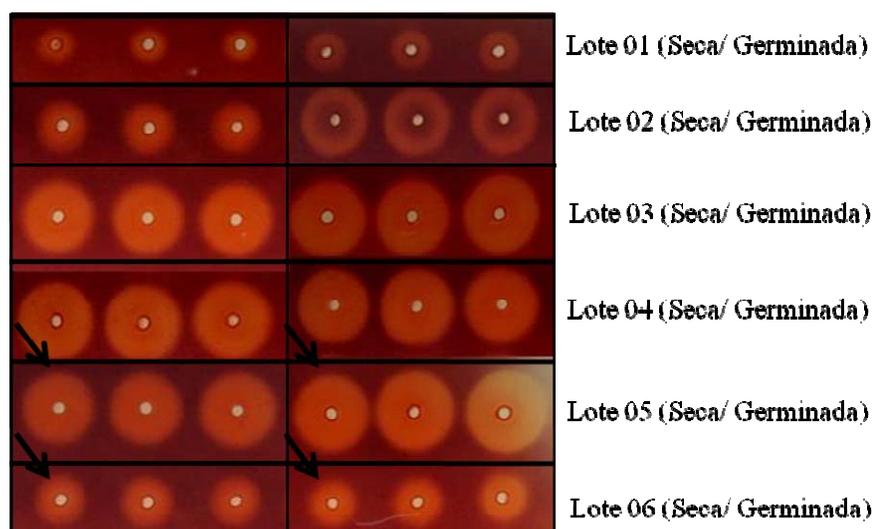


Figura 4 Atividade, em gel de agarose, da enzima endo- $\beta$ -mananase em sementes de diferentes lotes de pimentão Konan R

Assim como para as sementes das outras espécies, os resultados dos testes de vigor para o híbrido de pimentão Magnata Super, quando comparados com a atividade da enzima endo- $\beta$ -mananase, foram consistentes, ou seja, os lotes foram classificados de maneira semelhante por todos os testes (Figura 3). Com destaque para os lotes 05 mais vigoroso e o lote 01 menos vigoroso (Tabelas 2, 3 e 4).

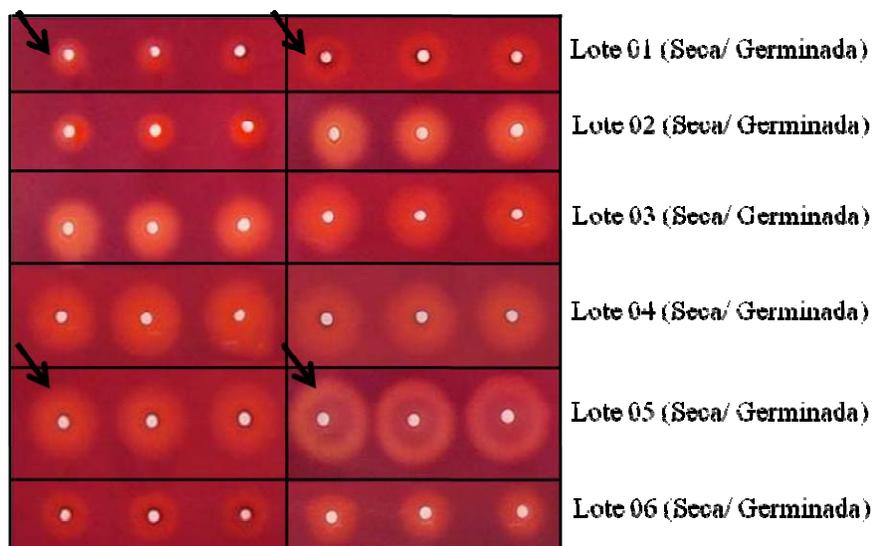


Figura 5 Atividade, em gel de agarose, da enzima endo- $\beta$ -mananase em sementes de diferentes lotes de pimentão Magnata Super

Os valores dos testes de vigor e da atividade da endo- $\beta$ -mananase correlacionaram bem entre si (Anexo-Tabela 1C) com valores de  $r$  entre 0,87 e 0,96, com exceção do teste de condutividade elétrica. A correlação entre IVG e a atividade dessa enzima foi a maior observada ( $r=0,9543$ ). Dessa forma infere-se que um aumento na atividade da enzima, pode facilitar a protrusão radicular e, como consequência, elevar o IVG das plântulas, já que a enzima endo- $\beta$ -mananase é essencial no processo de germinação de sementes (SANTOS et al., 2011).

De acordo com Albuquerque et al. (2010) foi observado em sementes de tomate que maior atividade dessa enzima coincidiu com um aumento no IVE das plântulas, pois sabe-se que a endo- $\beta$ -mananase é uma das principais enzimas de degradação de reservas em sementes de tomate, por possuir endosperma rico em glucomananos (LIMA, 2000).

Em síntese observa-se que por meio da atividade da enzima endo- $\beta$ -mananase é possível diferenciar lotes de sementes de pimenta e pimentão em

níveis de qualidade fisiológica. Maior expressão da enzima endo- $\beta$ -mananase é observada em sementes germinadas.

Pode-se considerar que a avaliação do vigor de sementes de pimenta Habanero e híbridos de pimentão pelo uso dos métodos de Pettenkofer e da Titulação são promissores, porque permite obter resultados mais rapidamente quando comparados aos testes de germinação e vigor. Enquanto que para o teste de germinação são necessários sete dias até o resultado final, pelo método de Pettenkofer, resultados são obtidos em apenas quatro horas. Já o método da Titulação permite obtenção de resultados confiáveis em período de tempo relativamente curto, 24 horas após a montagem do teste.

## 5 CONCLUSÕES

O método de Pettenkofer é eficiente para avaliar o vigor em sementes de pimenta Habanero e em híbridos de pimentão.

O método de Titulação é eficiente para a avaliação do vigor em sementes de pimenta Habanero e em híbridos de pimentão.

Há correlação entre os resultados obtidos nos testes fisiológicos e os dos testes de Pettenkofer e da Titulação.

Há variação na expressão da enzima endo- $\beta$ -mananase em sementes com diferentes níveis de qualidade fisiológica

## REFERÊNCIAS

ALBUQUERQUE, K. A. D. et al. Armazenamento e qualidade de sementes de tomate enriquecidas com micronutrientes e reguladores de crescimento. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 34, n. 1, p. 20-28, jan./fev. 2010.

ALBUQUERQUE, K. S. et al. Alterações fisiológicas e bioquímicas durante a embebição de sementes de sucupira-preta (*Bowdichia virgilioides* Kunth.). **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 31, n. 1, p. 12-19, 2009.

ALFENAS, A. C. et al. **Eletroforese de proteínas e isoenzimas de fungos e essências florestais**. Viçosa, MG: UFV, 1991. 242 p.

ALFENAS, A. C. et al. **Eletroforese e marcadores bioquímicos em plantas e microorganismos**. 2. ed. Viçosa, MG: UFV, 2006. 627 p.

AMARAL, A. S. **Desenvolvimento de testes para avaliação rápida da qualidade fisiológica de sementes de arroz (*Oryza sativa* L.)**. 1994. 52 f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Sementes) - Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 1994.

AMBROSANO, E. J. et al. Efeitos da adubação nitrogenada e com micronutrientes na qualidade de sementes do feijoeiro cultivar IAC – Carioca. **Bragantia**, Campinas, v. 58, n. 2, p. 393-399, 1999.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DO COMÉRCIO DE SEMENTES E MUDAS. **Pesquisa de mercado de sementes de hortaliças**. 2009. Disponível em: <[http://www.abcsem.com.br/docs/pesquisa\\_mercado\\_2009.pdf](http://www.abcsem.com.br/docs/pesquisa_mercado_2009.pdf)>. Acesso em: 8 dez. 2011.

ASSOCIATION OF OFFICIAL SEED ANALYSTS. **Seed vigor test committee: seed vigor testing handbook**. Lincoln, 1983. 88 p. (Contribution, 32).

AUNG, U. T.; MCDONALD, M. B. Changes in esterase activity associated with peanut (*Arachis hipogaea* L.) seed deterioration. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 23, n. 1, p. 101-111, 1995.

BASAVARAJAPPA, B. S.; SHETTY, H. S.; PRAKASH, H. S. Membrane deterioration and other biochemical changes, associated with accelerated ageing of maize seeds. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 19, n. 2, p. 279-286, 1991.

BASU, S. K.; DE, A. K. Capsicum: historical and botanical perspectives. In: DE, A. K. (Ed.). **Capsicum**. London: Taylor & Francis, 2003. p. 1-15.

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

BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. Coordenação de Laboratório Vegetal. **Regras para análise de sementes**. Brasília, 2009.

BYRUM, J. R.; COPELAND, L. O. Variability in vigour testing of maize (*Zea mays* L.) seed. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 23, n. 2, p. 543-549, 1995.

CAIXETA, F. **Alterações fisiológicas e bioquímicas durante o desenvolvimento, a germinação e o armazenamento em sementes de pimenta Malagueta (*Capsicum frutescens* L.) e Habanero yellow (*Capsicum chinenses*)**. 2009. 98 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2009.

CALIARI, M. F.; SILVA, W. R. Interpretação de dados de testes de vigor na avaliação da qualidade fisiológica de sementes de milho. **Revista Brasileira de Sementes**, Campinas, v. 23, n. 1, p. 239-251, jul. 2001.

CAMARGO FILHO, W. P.; CAMARGO, F. P. **Acomodação da produção olerícola no Brasil e em São Paulo, 1990-2010: análise prospectiva e tendências 2015**. São Paulo: Secretaria de Agricultura e Abastecimento. Coordenadoria de Assistência Técnica Integral. Instituto de Economia Agrícola. Disponível em: <<http://www.cati.sp.gov.br/projetolupa>>. Acesso em: 20 jan. 2012.

CAMARGO, R.; CARVALHO, M. L. M. Armazenamento a vácuo de semente de milho doce. **Revista Brasileira de sementes**, Londrina, v. 30, n. 1, p. 131-139, 2008.

CARVALHO, N. M. **Testes de vigor em sementes**. Jaboticabal: FUNEP, 1994. p. 1-30.

CARVALHO, S. I. C.; BIANCHETTI, L. Botânica e recursos genéticos. In: RIBEIRO, C. S. C. et al. (Ed.). **Pimentas capsicum**. Brasília: Embrapa Hortaliças, 2008. p. 39-54.

CARVALHO, S. I. C. et al. **Catálogo de germoplasma de pimentas e pimentões (Capsicum spp.) da Embrapa Hortaliças**. Brasília: Embrapa Hortaliças, 2003. 49 p.

CASTRO, M. B. **Avaliação da qualidade fisiológica de sementes de milho por meio da atividade respiratória**. 2011. 67 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2011.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento da safra brasileira, junho 2009**. Brasília, 2009.

CRISPIN, J. E. et al. determinação da taxa de respiração em sementes de soja pelo método da titulação. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 29, n. 10, p. 1517-1521, out. 1994.

DE, A. K. Capsicum: the genus Capsicum. In: **MEDICINAL and aromatic plants: industrial profiles**. London: Taylor and Francis, 2003. v. 33.

DIAS, D. C. F. S.; MARCOS FILHO, J. Teste de condutividade elétrica para avaliação do vigor de sementes de soja. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 53, n.1, p. 31- 42, jan./abr. 1996.

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.

DUTRA, S. M. F. **Qualidade fisiológica de sementes de pimenta Habanero (Capsicum chinenses Jacquin)**. 2011. 47 p. Monografia (Graduação em Agronomia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2011.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Disponível em: <[http://www.cnph.embrapa.br/paginas/sistemas\\_producao/cultivo\\_da\\_pimenta/cultivares.htm](http://www.cnph.embrapa.br/paginas/sistemas_producao/cultivo_da_pimenta/cultivares.htm)>. Acesso em; 15 jan. 2012.

FERREIRA, D. F. Análises estatísticas por meio do SISVAR para Windows® versão 4.0. In: **REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA**, 45., 2000, São Carlos. **Programas e Resumos...** São Carlos: UFSCar, 2000. p. 235.

FERREIRA, L. A. et al. Bioestimulante e fertilizante associados ao tratamento de sementes de milho. **Revista Brasileira de sementes**, Londrina, v. 29, n. 2, p. 80-89, Aug. 2007 .

FILGUEIRA, F. A. R. **Novo manual de olericultura**: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças. 2. ed. Viçosa, MG: UFV, 2003.

GHASSEMI-GOLEZANI, K. et al. Seed vigor and field performance of winter oilseed rape (*Brassica napus* L.) Cultivars. **Notulae Botanicae Horti agrobotanici**, Cluj-Napoca, v. 38, n. 3, p. 146-150, 2010.

GROOT, S. P. C. et al. Gibberellin-induced hydrolysis of endosperm cell walls and gibberellin-deficient tomato seeds prior to radicle protrusion. **Planta**, Berlin, v. 174, n. 4, p. 500-504, Aug. 1988.

GROOT, S. P. C.; KARSSSEN, C. M. Gibberellins regulate seed germination in tomato by endosperm weakening: a study with gibberellin-deficient mutants. **Planta**, Berlin, v. 171, p. 525-531, 1987.

GUIMARÃES, R. M. **Fisiologia de sementes**. Lavras: UFLA/FAEPE, 1999. 81 p.

HAMPTON, J. G.; COOLBEAR, P. Potential versus actual seed performance can vigour testing provide an answer? **Seed Science and Technology**, Zürich, v.18, n. 2 , p. 215- 228, 1990.

HAMPTON, J. G.; TEKRONY, D. M. Controlled deterioration test. In: \_\_\_\_\_. (Ed.). **Handbook of vigour test methods**. Zurich: ISTA, 1995. p. 70-78.

HENZ, G. P. Perspectivas e potencialidades do mercado de pimentas. ENCONTRO NACIONAL DO AGRONEGÓCIO PIMENTAS (*CAPSICUM* SPP.), 1., 2004, Brasília. **Mostra Nacional de Pimentas e Produtos Derivados**. Brasília: Embrapa Hortaliças, 2004. 1 CD ROM.

HENZ, G. P.; RIBEIRO, C. S. C. Mercado de comercialização. In: RIBEIRO, S. C.; LOPES C. A.; CARVALHO. **Pimentas *Capsicum*** . Brasília: Embrapa Hortaliças, 2008. 200 p.

HILHORST, H. W. et al. **Curso avançado em fisiologia e tecnologia de sementes**. Lavras: UFLA, 2001. 74 p.

INTERNATIONAL SEED TESTING ASSOCIATION. **International rules for seed testing**. Basseldorf, 2006. 303 p.

ISLA SEMENTES. Disponível em: <[http://www.isla.com.br/cgi-bin/artigo.cgi?id\\_artigo=444](http://www.isla.com.br/cgi-bin/artigo.cgi?id_artigo=444)>. Acesso em: 20 jan. 2012.

- KENNEDY, R. A.; RUMPHO, M. E.; FOX, T. C. Anaerobic metabolism in plants. **Plant Physiology**, Rockville, v. 100, p. 1-6, 1992.
- LIMA, D. U. Polissacarídeos de reserva de parede celular em sementes: estrutura, metabolismo, funções e aspectos ecológicos. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Londrina, v. 12, p. 137-162, 2000. Edição especial.
- LIMA, S. M. P. et al. Efeitos de tempos e temperaturas de condicionamento sobre a qualidade fisiológica de sementes de cafeeiro (*Coffea arabica*, L.) sob condições ideais e de estresse térmico. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 28, n. 3, p. 505-514, June 2004 .
- LOEFFLER, T. M.; TEKRONY, D. M.; EGLI, D. B. The bulk conductivity test as an indicator of soybean seed quality. **Journal of Seed Technology**, Springfield, v. 12, n. 1, p. 37-53, 1988.
- LURIE, S.; SHAPIRO, B.; BEN-YEHOSHUA, S. Effects of water stress and degree of ripeness on rate of senescence of harvested bell pepper fruit. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 111, p. 880-885, 1986.
- MAESTRI, M.; ALVIM, P. T.; SILVA, M. A. P. **Fisiologia vegetal: exercícios práticos**. Viçosa, MG: UFV, 1998. 91 p. (Cadernos didáticos, 20).
- MAGUIRE, J. D. Speed of germination: aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, Madison, v. 2, n. 2, p. 176-177, Mar./Apr. 1962.
- MALONE, G. et al. Expressão diferencial de isoenzimas durante o processo de germinação de sementes de arroz em grandes profundidades de semeadura. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 29, n. 1, Apr. 2007.
- MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba: FEALQ, 2005. 495 p.
- MARCOS FILHO, J. O valor dos testes de vigor. **Seed News**, Pelotas, n. 6, p. 32, jun./jul. 1998.
- MARENCO, R. A.; LOPES, N. F. **Fisiologia vegetal: fotossíntese, respiração, relações hídricas e nutrição mineral**. 2. ed. Viçosa, MG: UFV, 2007. 469 p.

MARTÍNEZ, S. et al. The composition of Arnoia peppers (*Capsicum annum* L.) at different stages of maturity. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, Basingstoke, v. 58, p. 150-161, Mar. 2007.

MATEOS, R. M. **Antioxidantes de pimiento (*Capsicum annum* L.): estudio bioquímico y molecular de la maduración del fruto y de la respuesta a estrés abiótico**. 2006. Tesis (Doctoral) - Universidad de Granada, Granada, 2006.

MATTHEWS, S. Controlled deterioration: a new vigour test for crop seeds. In: HEBBLETHWAITE, P. D. (Ed.). **Seed production**. London: Butterworths, 1980. p. 647-660.

McDONALD, M. B. Standardization of seed vigour tests. In: CONGRESS OF THE INTERNATIONAL SEED TESTING ASSOCIATION, 24., Copenhagen. **Proceedings...** Copenhagen: ISTA, 1995. p. 88-97.

MCDONALD JUNIOR, M. B.; WILSON, D. O. An assessment of the standardization and ability of the ASA-610 to rapidly predict potential soybean germination. **Journal of Seed Technology**, Springfield, v. 4, n. 2, p. 1-11, 1979.

MENDES, C. R. **Atividade respiratória como método alternativo na diferenciação do vigor de lotes de sementes**. 2008. 29 p. Tese (Doutorado em Fisiologia Vegetal) - Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2008.

MENDES, C. R. et al. Respiratory activity for the differentiation of vigor on soybean seeds lots. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelota, v. 31, n. 2, p. 171-176, 2009.

MENEZES, M. **Identificação de cultivares de milho, feijão, algodão e soja por meio de enzimas e de proteínas resistentes ao calor**. 2005. 92 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2005.

MUNIZ, F. R. et al. Qualidade fisiológica de sementes de milho, feijão, soja e alface na presença de extrato de tiririca. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 29, n. 2, p. 195-204, ago. 2007.

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

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

PEREIRA, D. M. et al. Atividade da enzima endo- $\beta$ -mananase em diferentes partes de semente de café, antes e após a germinação. In: SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL, 7., 2011, Araxá. **Anais...** Araxá: Embrapa, 2011.

PERIN, A.; ARAÚJO, A. P.; TEIXEIRA, M. G. Efeito do tamanho da semente na acumulação de biomassa e nutrientes e na produtividade do feijoeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 37, n. 12, p. 1711-1718, dez. 2002.

PIÑA-RODRIGUES, F. C. M.; FIGLIOLIA, M. B.; PEIXOTO, M. C. Testes de qualidade. In: FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2004. p. 283-297.

PINO, J.; SAURI-DUCH, E.; MARBOT, R. Changes in volatile compounds of Habanero chile papper (*Capsicum chinense* Jack. cv. Habanero) at two ripening states. **Food Chemistry**, Oxford, v. 94, n. 3, p. 394-398, Feb. 2006.

POPINIGIS, F. **Fisiologia da semente**. Brasília: Agiplan, 1977. 289 p.

QUEIROZ, L. A. F. **Estádio de maturação e secagem na qualidade fisiológica de sementes de pimentas Habanero e Yellow (*Capsicum chinense* Jacquin) e Malaqueta (*Capsicum frutescen L.*)**. 86 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2009.

REIFSCHNEIDER, F. J. B. (Org.). ***Capsicum*: pimentas e pimentões do Brasil**. Brasília: Embrapa Hortaliças, 2000. 113 p.

REIFSCHNEIDER, F. J. B.; RIBEIRO, C. S. C.; LOPES, C. A. Pepper production and breeding in Brazil, and a word on eggplants. ***Capsicum and Eggplant***, Newsletter, v. 17, p. 13-18, 1998.

RIBEIRO, C. S. C.; CRUZ, D. M. R. Tendências de mercado. **Revista Cultivar Hortaliças e Frutas**, Pelotas, n. 14, p. 16-19, jun./jul. 2002.

RUFINO, J. L. S.; PENTEADO, D. C. S. Importância econômica, perspectivas e potencialidades do mercado para pimenta. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 27, p. 7-15, 2006.

- SACHS, M. M.; FREELING, M. Selective synthesis of alcohol dehydrogenase during anaerobic treatment of maize. **Molecular and General Genetics**, Göteborg, v. 161, p. 111-115, 1978.
- SALTVEIT JÚNIOR, M. E. Carbon dioxide, ethylene and color development in ripening mature green bell peppers. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 102, p. 523-525, 1977.
- SANTOS, C. M. R.; MENEZES, N. L.; VILLELA, F. V. Alterações fisiológicas e bioquímicas em sementes de feijão envelhecidas artificialmente. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v. 26, n. 1, p. 110-119, 2004.
- SANTOS, F. C. et al. Atividade de endo-  $\beta$ -mananase em sementes de café colhidas em diferentes estádios fenológicos. In: SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL, 7., 2011, Araxá. **Anais...** Araxá: Embrapa, 2011. 1 CD ROM.
- SILVA, T. T. A. et al. Qualidade fisiológica de sementes de milho na presença de bioestimulantes. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 32, n. 3, p. 840-846, maio/jun. 2008.
- SHATTERS, R. G. et al. Soybean seed deterioration and response to osmotic priming: changes in specific enzyme activities in extracts from dry and germination seeds. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 4, n. 1, p. 33-41, Mar. 1994.
- SOUZA, L. A. **Teste de condutividade elétrica para avaliação da qualidade de sementes de mamona**. 2007. 54 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2007.
- STEINER, F. et al. Germinação de sementes de rabanete sob temperaturas adversas. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, Recife, v. 4, p. 430-434, 2009.
- SUDRÉ, C. P. et al. **Caracterização morfoagronômica da coleção de germoplasma de pimenta e pimentão da UENF, utilizando descritores quantitativos**. Disponível em: <<http://www.abhorticultura.com.br/biblioteca/arquivos/Download/Biblioteca/olme4011c.pdf>>. Acesso em: 30 jan. 2012.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 819. p. 2009.

TIMÓTEO, T. S. **Condições de armazenamento e conservação do potencial fisiológico de sementes de diferentes genótipos de milho**. 2011. 91 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, 2011.

VON PINHO, I. V. et al. Testes fisiológicos e físico-químico de Pettenkofer para a diferenciação do vigor de lotes de sementes de pimentão. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 51., 2011, Viçosa, MG. **Anais...** Viçosa, MG: UFV, 2011.

WATKINS, J. T. et al. Gibberellic acid stimulated degradation of endosperm in pepper. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 110, n. 1, p. 61-65, jun. 1985.

ZHANG, M. et al. A mechanism of seed deterioration in relation to volatile compounds evoked by dry seeds themselves. **Seed Science Research**, Wellingford, v. 4, n. 1, p. 49-56, Mar. 1994.

**ANEXOS**

## ANEXO A

Tabela 1A Coeficientes de correlação linear simples (r) entre os testes analisados para sementes de pimenta Habanero

	l cont	IVG	E. inicial	Emerg.	IVE	Cond.	Pett.	Titulação	Endo β
Germinação	0,8276 *	0,8827 *	0,7594 <sup>ns</sup>	0,6256 <sup>ns</sup>	0,5767 <sup>ns</sup>	-0,0529 <sup>ns</sup>	0,9793 **	-0,8729*	0,9681 **
1 Contagem		0,9304**	0,7083 <sup>ns</sup>	0,6249 <sup>ns</sup>	0,3837 <sup>ns</sup>	-0,5450 <sup>ns</sup>	0,8901*	-0,9869**	0,8990*
IVG			0,8527*	0,7476 <sup>ns</sup>	0,6104 <sup>ns</sup>	-0,3357 <sup>ns</sup>	0,9279**	-0,9433**	0,9506**
EI				0,9705**	0,9180*	-0,1722 <sup>ns</sup>	0,7551 <sup>ns</sup>	-0,7014 <sup>ns</sup>	0,8213*
Emerg					0,9039*	-0,1753 <sup>ns</sup>	0,6061 <sup>ns</sup>	-0,5833 <sup>ns</sup>	0,6860 <sup>ns</sup>
IVE						-0,0711 <sup>ns</sup>	0,5413 <sup>ns</sup>	-0,3980 <sup>ns</sup>	0,6186 <sup>ns</sup>
Cond							0,2208 <sup>ns</sup>	-0,5013 <sup>ns</sup>	0,2566 <sup>ns</sup>
Pett								-0,9393**	0,9932**
Titulação									0,9406**

\* Significativo pelo teste t aos 5% de probabilidade; \*\* Significativo pelo teste t a 1% de probabilidade; <sup>ns</sup> Não significativo pelo teste t

## ANEXO B

Tabela 1B Coeficientes de correlação linear simples (r) entre os testes analisados para sementes de sementes do híbrido de pimentão Konan R

	l cont.	IVG	E. inicial	Emerg.	IVE	Cond.	Pett.	Titulação	Endo $\beta$
Germinação	0,4251 <sup>ns</sup>	0,6610 <sup>ns</sup>	0,6007 <sup>ns</sup>	0,6982 <sup>ns</sup>	0,6964 <sup>ns</sup>	-0,7052 <sup>ns</sup>	0,8181*	-0,6975 <sup>ns</sup>	0,8929*
1 Contagem		0,8998*	0,7385 <sup>ns</sup>	0,5360 <sup>ns</sup>	0,6260 <sup>ns</sup>	-0,2828 <sup>ns</sup>	0,7294 <sup>ns</sup>	-0,7917 <sup>ns</sup>	0,1158 <sup>ns</sup>
IVG			0,6303 <sup>ns</sup>	0,5778 <sup>ns</sup>	0,6619 <sup>ns</sup>	-0,0774 <sup>ns</sup>	0,8700*	-0,9666**	0,4348 <sup>ns</sup>
EI				0,9087*	0,9605**	-0,0746 <sup>ns</sup>	0,5204 <sup>ns</sup>	-0,5498 <sup>ns</sup>	0,4256 <sup>ns</sup>
Emerg					0,9523**	-0,2144 <sup>ns</sup>	0,5391 <sup>ns</sup>	-0,5695 <sup>ns</sup>	0,5489 <sup>ns</sup>
IVE						-0,1101 <sup>ns</sup>	0,5189 <sup>ns</sup>	-0,5938 <sup>ns</sup>	0,6041 <sup>ns</sup>
Cond							0,4184 <sup>ns</sup>	-0,2442 <sup>ns</sup>	0,7675 <sup>ns</sup>
Pett								-0,9069*	0,5084 <sup>ns</sup>
Titulação									0,4706 <sup>ns</sup>

\* Significativo pelo teste t aos 5% de probabilidade; \*\* Significativo pelo teste t a 1% de probabilidade; <sup>ns</sup> Não significativo pelo teste t

## ANEXO C

Tabela 1C Coeficientes de correlação linear simples (r) entre os testes analisados para sementes do híbrido de pimentão Magnata Super

	l cont.	IVG	E. inicial	Emerg.	IVE	Cond.	Pett.	Titulação	Endo $\beta$
Germinação	0,9823**	0,9939**	0,9839**	0,9858**	0,9743**	-0,8940*	0,9985**	-0,9495**	0,9253**
1 Contagem		0,9900**	0,9389**	0,9467**	0,9343**	-0,8288*	0,9768**	-0,9372**	0,9527**
IVG			0,9705**	0,9787**	0,9724**	-0,8736*	0,9870**	-0,9506**	0,9543**
EI				0,9982**	0,9883**	-0,9494**	0,9822**	-0,9106*	0,8735*
Emerg					0,9940**	-0,9411**	0,9812**	-0,9174*	0,8955*
IVE						-0,9142*	0,9665**	-0,9012*	0,9149*
Cond							0,8917*	-0,8021 <sup>ns</sup>	0,7096 <sup>ns</sup>
Pett								-0,9501**	0,9096*
Titulação									0,9147*

\* Significativo pelo teste t aos 5% de probabilidade; \*\* Significativo pelo teste t a 1% de probabilidade; <sup>ns</sup> Não significativo pelo teste t