

**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*)**

**FRANCIELE CAIXETA**

**2009**

**FRANCIELE CAIXETA**

**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*)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração Fitotecnia, para obtenção do título de “Mestre”.

Orientadora

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Édila Vilela de Resende Von Pinho

LAVRAS  
MINAS GERAIS – BRASIL  
2009

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da  
Biblioteca Central da UFLA**

Caixeta, Franciele.

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*) / Franciele Caixeta. – Lavras : UFLA, 2009.

98 p. : il.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, 2009.

Orientador: Édila Vilela de Resende Von Pinho.

Bibliografia.

1. Pimenta. 2. Qualidade de sementes. 3. Maturação de sementes. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD – 631.531

**FRANCIELE CAIXETA**

**ALTERAÇÕES FISIOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS DURANTE O  
DESENVOLVIMENTO, GERMINAÇÃO E ARMAZENAMENTO EM  
SEMENTES DE PIMENTA MALAGUETA (*Capsicum frutescens* L.) E  
HABANERO YELLOW (*Capsicum chinenses*)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal  
de Lavras, como parte das exigências do  
Programa de Pós-Graduação em Agronomia,  
área de concentração Fitotecnia, para obtenção  
do título de “Mestre”.

APROVADA em 18 de Fevereiro de 2009

Prof. Dr. João Almir de Oliveira

UFLA

Pesq. Dr. Edvaldo Aparecido Amaral da Silva

DCF/CNPq

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Édila Vilela de Resende Von Pinho  
UFLA  
(Orientadora)

LAVRAS  
MINAS GERAIS – BRASIL

A Deus, aos meus familiares e amigos que sempre estiveram do meu lado.

**OFEREÇO.**

Aos meus pais, José Balbino e Marta, aos meus irmãos Bruno e Diego e a vovô Antônio, vovó Maria (*in memoriam*), vovô Getúlio (*in memoriam*) e vovó Leontina.

**DEDICO.**

## **AGRADECIMENTOS**

À Universidade Federal de Lavras e ao Departamento de Fitotecnia pela, oportunidade de realização do curso.

À Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes), pela concessão da bolsa de estudos.

À Professora Dr<sup>a</sup>. Édila Vilela de Resende Von Pinho, pela orientação, pelos ensinamentos e confiança durante a realização do trabalho.

Aos demais professores do setor de sementes Dr. Renato Mendes Guimarães, Dr. João Almir Oliveira e Dr<sup>a</sup>. Maria Laene Moreira de Carvalho, pela amizade, ensinamentos de vida, caráter e dedicação e por todas as sugestões preciosas durante a execução deste trabalho.

Às funcionárias do Laboratório de Análise de Sementes, Elza, Dalva, Elenir e Laís, pela disponibilidade e atenção durante a realização do curso.

Ao Prof. Edvaldo Aparecido Amaral da Silva, do Departamento de Ciências Florestais, pelo auxílio e orientação nos trabalhos.

À Alexana, ao Pedro e demais estagiários do laboratório de sementes, pela amizade, compromisso, dedicação e fundamental ajuda na execução do trabalho.

Os meus colegas de curso pela amizade, união e perseverança de vencer, em especial Aline Clemente, Ísis, Dani e Fred, pelo companheirismo em todas as horas.

As minhas “irmãs lavrenses”; Néia, Déia, Aline Marchese e Pauline, pelo carinho incondicional, pelo convívio, incentivo, amor e amizade, amigas para sempre. Amo vocês!!!

Ao Demétrius, pelo companheirismo, carinho e apoio e por ensinar-me a controlar os pensamentos em direção da harmonia e felicidade.

Às minhas amigas Vivi e Dessa, pelo apoio, pelo incentivo, pelos conselhos e pela forte amizade.

A todos que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho.

**MUITO OBRIGADA.**

## SUMÁRIO

|                                                                                                                                                                                                                      | <b>Página</b> |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------|
| RESUMO GERAL .....                                                                                                                                                                                                   | i             |
| GENERAL ABSTRACT .....                                                                                                                                                                                               | iii           |
| CAPÍTULO 1 .....                                                                                                                                                                                                     | 01            |
| 1 Introdução geral .....                                                                                                                                                                                             | 01            |
| 2 Referencial teórico .....                                                                                                                                                                                          | 02            |
| 2.1 Características da cultura e mercado.....                                                                                                                                                                        | 02            |
| 2.2 Desenvolvimento e qualidade fisiológica de sementes.....                                                                                                                                                         | 05            |
| 2.3 Germinação de sementes .....                                                                                                                                                                                     | 09            |
| 2.4 Armazenamento e deterioração de sementes .....                                                                                                                                                                   | 16            |
| 3 Referências bibliográficas.....                                                                                                                                                                                    | 18            |
| CAPÍTULO 2: Alterações fisiológicas e bioquímicas durante o desenvolvimento e o armazenamento em sementes de pimenta malagueta ( <i>Capsicum frutescens</i> L.) e habanero yellow ( <i>Capsicum chinenses</i> )..... | 23            |
| 1 Resumo .....                                                                                                                                                                                                       | 23            |
| 2 Abstract.....                                                                                                                                                                                                      | 25            |
| 3 Introdução .....                                                                                                                                                                                                   | 26            |
| 4 Material e métodos.....                                                                                                                                                                                            | 27            |
| 4.1 Análise da qualidade das sementes .....                                                                                                                                                                          | 29            |
| 4.1.1 Grau de umidade.....                                                                                                                                                                                           | 29            |
| 4.1.2 Teste de germinação .....                                                                                                                                                                                      | 29            |
| 4.1.3 Teste de emergência.....                                                                                                                                                                                       | 30            |
| 4.1.4 Teste de condutividade elétrica.....                                                                                                                                                                           | 30            |
| 4.1.5 Teste de envelhecimento acelerado .....                                                                                                                                                                        | 31            |
| 4.1.6 Análise de enzimas .....                                                                                                                                                                                       | 31            |
| 4.1.7 Delineamento experimental .....                                                                                                                                                                                | 33            |
| 5 Resultados e discussão.....                                                                                                                                                                                        | 34            |



|                                                                                                                                                                                                                       |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 6 Conclusões .....                                                                                                                                                                                                    | 51 |
| 7 Referências bibliográficas.....                                                                                                                                                                                     | 52 |
| CAPÍTULO 3: Alterações fisiológicas e bioquímicas durante a<br>germinação e o armazenamento em sementes de pimenta malagueta<br>( <i>Capsicum frutescens</i> L.) e habanero yellow ( <i>Capsicum chinenses</i> )..... |    |
| 1 Resumo .....                                                                                                                                                                                                        | 57 |
| 2 Abstract.....                                                                                                                                                                                                       | 59 |
| 3 Introdução .....                                                                                                                                                                                                    | 60 |
| 4 Material e métodos.....                                                                                                                                                                                             | 61 |
| 5 Resultados e discussão.....                                                                                                                                                                                         | 67 |
| 6 Conclusões .....                                                                                                                                                                                                    | 90 |
| 7 Referências bibliográficas.....                                                                                                                                                                                     | 91 |
| ANEXOS .....                                                                                                                                                                                                          | 96 |

## RESUMO GERAL

CAIXETA, Franciele. **Alterações fisiológicas e bioquímicas durante desenvolvimento, germinação e armazenamento em sementes de pimenta malagueta (*Capsicum frutescens* L.) e habanero yellow (*Capsicum chinenses*)**. 2009. 98 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.\*

O cultivo de pimentas, considerado até pouco tempo como atividade secundária, tem passado por grandes transformações e assumido grande importância no país, o que acarretou aumento significativo na demanda por sementes de qualidade. Por ser um mercado emergente existe a necessidade de pesquisas para a avaliação de tecnologias a serem utilizadas nas diferentes etapas de produção de sementes. Para a definição do momento de colheita das sementes é importante conhecer as alterações fisiológicas durante o desenvolvimento assim como o desempenho dessas sementes no armazenamento. Nessa pesquisa foram avaliadas as alterações fisiológicas e bioquímicas durante o desenvolvimento e o armazenamento de sementes de pimenta malagueta e habanero yellow, visando à determinação do ponto de colheita das mesmas. Foram estudados, ainda, as alterações enzimáticas durante a germinação das sementes processadas em diferentes estádios de maturação. Os ensaios foram realizados na área experimental e no Laboratório Central de Sementes do Departamento de Agricultura da UFLA. Para a instalação dos experimentos, visando à produção de sementes, foram formadas mudas em casa de vegetação, com posterior transplantio das mesmas no campo. As sementes, das duas espécies, foram extraídas manualmente de frutos em três estádios de desenvolvimento: E1(frutos com os primeiros sinais de amarelecimento), E2(frutos maduros) e E3(Frutos maduros e submetidos a sete dias de repouso). Após a extração as sementes foram secadas em estufa com circulação de ar a 35°C até atingirem 8% de teor de água. Após a secagem, as sementes foram acondicionadas em embalagens plásticas impermeáveis e armazenadas em câmara fria a 10°C e 50% de umidade relativa por períodos de zero, quatro e oito meses. Após cada período de armazenamento a qualidade das sementes foi avaliada por meio de testes de germinação, vigor e atividade das enzimas esterase, superóxido desmutase (SOD), peroxidase, malato desidrogenase (MDH), álcool desidrogenase (ADH) e endo- $\beta$ -mananase. Para a avaliação da

---

\* Comitê Orientador: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Édila Vilela de Resende Von Pinho – UFLA (Orientadora), Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Maria Laene Moreira de Carvalho – UFLA (Co-orientadora), Prof. Dr. Renato Mendes Guimarães – UFLA (Co-orientador).

atividade das enzimas esterase, MDH, ADH,  $\alpha$ -amilase e endo- $\beta$ -mananase, durante a germinação das sementes, de cada tratamento, as sementes foram amostradas, por períodos de 0, 48, 96 e 144 horas após a semeadura. O delineamento estatístico utilizado para as análises dos dados dos testes fisiológicos foi o de blocos casualizados em esquema fatorial 3x3 cujos fatores foram estádios de desenvolvimento e períodos de armazenamento. Menores valores de germinação e vigor foram observados em sementes processadas a partir de frutos com os primeiros sinais de amarelecimento (E1). Em sementes recém-armazenadas, maiores valores de germinação e vigor foram observados em sementes processadas a partir de frutos que permaneceram em repouso por sete dias. Foi observada dormência principalmente em sementes recém armazenadas e superação da mesma aos quatro meses de armazenamento. A qualidade fisiológica das sementes durante o armazenamento variou com os estádios de desenvolvimento nas quais foram processadas e com o período de armazenamento. Houve variações na atividade das enzimas esterase, SOD, peroxidase, MDH, ADH e endo- $\beta$ -mananase durante o desenvolvimento e das enzimas esterase, MDH, ADH,  $\alpha$ -amilase e endo- $\beta$ -mananase durante a germinação. As enzimas  $\alpha$ -amilase e endo- $\beta$ -mananase são importantes no processo de germinação de sementes de pimenta malagueta e habanero.

## GENERAL ABSTRACT

CAIXETA, Franciele. **Physiological and biochemical changes during development, storage and germination in seeds of chilli pepper (*Capsicum frutescens* L.) and yellow habanero (*Capsicum chinenses*).** 2009. 98 p. Dissertation (Master in Agronomy) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.\*

The cultivation of peppers, considered until recently as a secondary activity, has undergone major transformations and assumed great importance in the country, which led to significant increase in demand for seed quality. Being an emerging market is the need for research for the evaluation of technologies to be used in different stages of seed production. To define the moment of harvesting the seeds is important to know the physiological changes during development as well as the performance of seeds in storage. In this research the physiological and biochemical changes during development and storage of seeds of chilli pepper and yellow habanero were evaluated, aiming to determine the point of collection of them. It were also studied the enzyme changes during seed germination process at different stages of maturation. The tests were performed in the experimental area and the Central Laboratory of the Department of Agriculture Seeds of UFLA. For the installation of the experiments, to the production of seeds, were formed seedlings in the greenhouse and later transplanted to the same field. The seeds of two species, were extracted manually from fruits in three developmental stages: E1 (fruit with the first signs of yellowing), E2 (ripe fruit) and E3 (mature fruit and subjected to seven days of rest). After extraction the seeds were dried in an oven with circulating air at 35 °C until they reach 8% of water content. After drying, the seeds were packed in waterproof plastic and stored in cold chamber at 10 °C and 50% relative humidity for periods of zero, four and eight months. After each period of storage, seed quality was evaluated by testing germination, vigor and enzymes activity; esterase, superoxide dismutase (SOD), peroxidase, malate dehydrogenase (MDH), alcohol dehydrogenase (ADH) and endo- $\beta$ -mannanase. For assessing the activity of enzymes esterase, MDH, ADH,  $\alpha$ -amylase and endo- $\beta$ -mannanase during germination of seeds of each treatment, seeds were sampled for periods of 0, 48, 96 and 144 hours after sowing. The design used for statistical analysis of data from physiological tests was randomized blocks in

---

\* Guidance Committee: Dr<sup>a</sup>. Édila Vilela de Resende Von Pinho – UFLA (Adviser), Dr<sup>a</sup>. Maria Laene Moreira de Carvalho – UFLA (Co-adviser), Dr. Renato Mendes Guimarães – UFLA (Co-adviser).

factorial scheme 3x3, which factors were: stage of development and periods of storage. Lower values of germination and vigor were observed in seeds from fruits processed with the first signs of yellowing (E1). In newly-stored seeds, higher germination and vigor were observed in processed seeds from fruits that remained at rest for seven days. Was observed mainly in seed dormancy and overcoming newly stored on the same four months of storage. The physiological quality of seeds during storage varied with the stages of development which were processed and the period of storage. There were variations in the activity of enzymes; esterase, SOD, peroxidase, MDH, ADH, and endo- $\beta$ -mannanase during development and esterase enzymes, MDH, ADH,  $\alpha$ -amylase and endo- $\beta$ -mannanase during germination. The enzymes  $\alpha$ -amylase and endo- $\beta$ -mannanase are important in the germination of seeds of chilli pepper and habanero.

## CAPÍTULO 1

### 1 INTRODUÇÃO GERAL

Dentre as principais espécies domesticadas de pimenta, encontra-se a malagueta (*Capsicum frutescens* L.) e a habanero yellow (*Capsicum chinense*), que integram o grupo de espécies botânicas originárias da América Latina, que descobertas por Cristóvão Colombo, foram levadas para a Europa em 1493 e passaram a ser cultivadas naquele continente e na Ásia. São plantas arbustivas, perenes com caule semilenhoso, podendo ultrapassar um metro de altura, com ampla ramificação lateral. Apesar de serem espécies autógamas, a polinização cruzada pode ocorrer com frequência em função da fauna entomófila presente na região de cultivo.

O cultivo de pimentas, considerado até pouco tempo como atividade secundária, tem passado por grandes transformações e assumido grande importância no país. Essas transformações visam atender às demandas internas e externas do mercado consumidor. A agregação de valor ao produto seja na forma de molhos, conservas, geléias, pimenta desidratada em pó para fabricação de corantes e temperos, dentre outras tem contribuído para a ampliação do setor. As pimentas são consideradas estimulantes do apetite e auxiliam na digestão, além de serem fontes de proteínas, glicídios, lipídeos, minerais e vitaminas, sobretudo vitaminas C e E.

Em consequência do aumento no mercado de pimentas tem sido observado aumento na área plantada o que conseqüentemente exige maior demanda por sementes de qualidade.

Por ser um mercado recente e emergente existe grande necessidade de pesquisa em tecnologia de produção de sementes para a obtenção de sementes com alta qualidade genética, física, fisiológica e sanitária, com maior

uniformidade e vigor das plântulas e conseqüentemente maior produtividade final do produto. Sabe-se que a época de colheita, o processo de secagem e o armazenamento das sementes podem influenciar sobremaneira na qualidade das sementes.

No entanto, deve ser ressaltado que para a avaliação de tecnologias relacionadas à colheita, secagem, armazenamento e à análise de sementes há a necessidade de conhecer as modificações que ocorrem nas sementes em nível fisiológico durante o desenvolvimento, a germinação e o armazenamento de sementes dessas espécies.

Assim nessa pesquisa foram avaliadas as alterações fisiológicas e bioquímicas durante desenvolvimento, germinação e armazenamento de sementes de pimenta malagueta (*Capsicum frutescens* L.) e habanero yellow (*Capsicum chinenses*).

## **2 REFERENCIAL TEÓRICO**

### **2.1 Características da cultura e mercado**

O gênero *Capsicum* é originário da América tropical e possui uma grande variabilidade distribuída em ampla zona geográfica. Compreende cinco espécies domesticadas (*C. annum*, *C. baccatum*, *C. chinenses*, *C. frutescens*, *C. pubescens*) e aproximadamente 30 espécies selvagens.

As pimentas apresentam flores perfeitas (hermafroditas) e reproduzem-se preferencialmente por autofecundação. Entretanto a quantidade de polinização cruzada pode variar com a cultivar, local, época, condições climáticas, população de insetos, etc (Tanksley, 1984; George, 1985). Em estudos tem sido observado que a polinização cruzada pode ocorrer em uma faixa de 2% a 90% (Tanksley, 1984; Pickersgill, 1997). As flores de algumas cultivares de pimentas ardidas possuem um estilete mais comprido e, assim, a

possibilidade de autopolinização é menor em detrimento de uma maior polinização cruzada. Odland & Porter (1941), em estudo com *Capsicum frutescens*, verificaram taxa de cruzamento natural, de 9% a 38%, dependendo da cultivar testada. Portanto, o isolamento e/ou a colocação de barreiras naturais é importante durante a produção de sementes de duas diferentes cultivares de pimenta. Esse isolamento funciona como um mecanismo de controle da qualidade genética das sementes.

A pungência é uma característica marcante do gênero *Capsicum*, atribuída a substâncias alcalóides, mais especificamente a dois capsaicinóides: a capsaicina e a dihidrocapsaicina. Esses alcalóides se acumulam na superfície do mesocarpo e são liberados quando o fruto sofre qualquer dano físico. A capsaicina é largamente utilizada na medicina para aliviar dores musculares e nos tratamentos de artrite e artrose.

Existe grande variabilidade genética entre as espécies do gênero *Capsicum*, observada principalmente nos frutos que podem apresentar diferentes formatos, coloração, tamanho e pungência. Duas das principais espécies domesticadas deste gênero é a malagueta (*Capsicum frutescens* L.) e a habanero (*Capsicum chinense*).

A pimenta malagueta é cultivada praticamente em todo país e é a pimenta mais cultivada na Zona da Mata mineira, cuja produção é destinada tanto para o consumo *in natura*, quanto para a fabricação de molhos e de conservas. As plantas são arbustivas, vigorosas com altura de 0,9 a 1,2 m e bastante ramificadas, principalmente quando o trato cultural de cortar o ápice da planta é utilizado, eliminando dormência apical. Os frutos são, geralmente, filiformes com 1,5 a 3 cm de comprimento e 0,4 a 0,5 de largura. São de coloração verde quando imaturos, passando diretamente para a coloração vermelha quando maduros. Geralmente, existem dois a cinco frutos por inserção os quais são muito picantes. A colheita inicia-se aos 110-120 dias após a semeadura nas



regiões Sudeste e Centro Oeste do país. Após esse período, os frutos começam a perder água intensamente, exibindo murchamento e até deformação (Souza & Casali, 1984).

A pimenta habanero possui frutos pendentes e em formas retangulares, outros são afilados na ponta. É conhecida desde o Caribe até o Brasil, sendo considerada uma das pimentas mais picantes. Os frutos possuem de 2 a 4 cm de comprimento e 2 a 6 cm de largura, verdes, quando imaturos, tornando-se vermelhos, laranjas, amarelos, brancos ou até mesmo de cor púrpura e marrom, quando maduros (Carvalho et al., 2003). São preferencialmente consumidos *in natura*.

No mundo 89% da área cultivada com pimentas, concentra-se no Continente Asiático, sendo os principais produtores Índia, Coréia, Tailândia, China, Vietnã, Srilanka e Indonésia. A segunda região mais importante no cultivo de pimentas compreende os Estados Unidos e o México, com cerca de 7% do total plantado com essa cultura em todo mundo. E os 4% restantes de área cultivada estão nos países da Europa, África e Oriente Médio (Rufino & Penteadó, 2006).

No Brasil, as pimentas estão difundidas em todas as regiões, sendo as principais produtoras as Regiões Sudeste e o Centro Oeste. Os principais Estados produtores são Minas Gerais, Goiás, São Paulo, Ceará e Rio Grande do Sul (Pinto et al., 2006).

As pimentas constituem importantes segmentos do setor de hortaliças, tanto para a agricultura, quanto para a indústria alimentícia. São especiais para a produção de condimentos, devido a características como cor dos frutos e princípios ativos, que lhes conferem aroma e sabor. Do ponto de vista social, o agronegócio da pimenta tem importância, principalmente, em função de requerer grande quantidade de mão-de-obra, em especial durante a colheita. Além disso, o mercado de pimenta abrange a comercialização de frutos para consumo *in*

*natura* e conservas caseiras até a exportação de páprica, pó de pimentão ou pimenta doce madura vermelha. Os frutos de pimenta picantes podem ser desidratados e comercializados inteiros, em flocos e em pó ou, ainda, em conservas e em molhos líquidos (Moreira et al., 2006).

Tem sido observado aumento no mercado de pimentas e com isso aumentou-se também a área plantada o que exige maior demanda por sementes de qualidade.

No entanto, existem poucas informações sobre as tecnologias a serem utilizadas nas etapas do processo de produção. Além disso, para a adoção de novas tecnologias de colheita e de processamento há a necessidade de conhecer as alterações fisiológicas dessas sementes durante o desenvolvimento, a germinação e o armazenamento das mesmas.

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

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

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

O processo de desenvolvimento das sementes ocorre basicamente em três estágios, sendo o primeiro caracterizado pela fertilização, divisão celular e histodiferenciação dos principais tecidos. Na fertilização uma das células espermáticas do grão de pólen funde-se à oosfera para formar o zigoto, e a outra célula espermática funde-se a um tecido formado a partir da diferenciação dos

dois núcleos polares, dando origem a uma estrutura triplóide, que formará o endosperma (Roveri José, 2003).

Durante o segundo estágio ocorre grande acúmulo de proteína, lipídeo e amido, que pode ser comprovado pelo aumento no peso seco das sementes. No terceiro estágio as sementes atingem o ponto de maturidade fisiológica, que culmina com a dessecação e paralisação da deposição de reserva (Raghavan, 1986; Adams & Rinne, 1980). Por meio de estudos relacionados ao desenvolvimento de sementes é possível determinar o ponto no qual a semente é desligada da planta mãe, sem prejuízo para sua qualidade fisiológica, assim como, determinar o momento de colheita.

O início do desenvolvimento das sementes é caracterizado pelo acúmulo relativamente lento de matéria seca, pois nessa fase predominam a divisão e a expansão celulares, responsáveis pela constituição da estrutura adequada para receber as substâncias transferidas da planta mãe. Vencida essa etapa o fluxo de acúmulo de matéria seca é intensificado até atingir o máximo; nesse momento, em que a identificação precisa é relativamente complexa, considera-se que as sementes desligam-se fisiologicamente da planta mãe, passando a atuar como indivíduos independentes (Marcos Filho, 2005).

Em sementes de pimenta a matéria seca acumulada no endosperma consisti em de 26,10% de óleo, 6,25% de umidade e 67, 65% de extratos secos, sendo estes 28,92% proteína, 29,10% fibra, 5,61% cinza e 36,37% carboidratos (Bosland & Votava, 1999).

As pimentas são plantas de crescimento indeterminado com floração contínua, apresentam, na época de colheita, frutos e, em consequência, sementes em diversos estádios de desenvolvimento e graus de maturidade fisiológica. A maturidade fisiológica de sementes tem sido definida como a ocasião em que cessa o fluxo de substâncias fotossintetizadas da planta para a semente, ou seja, quando o conteúdo de matéria seca é máximo (Carvalho & Nakagama, 2000).

Esta característica é o melhor e mais seguro indicativo da ocorrência da maturidade fisiológica. Em geral, o ponto máximo de germinação e vigor ocorrem, quando a semente atinge o máximo conteúdo de matéria seca, mas em sementes de pimenta habanero e malagueta o ponto de maturidade fisiológica não acontece máximo de vigor e germinação com o máximo de matéria seca por causa da ocorrência de dormência nas sementes destas duas espécies. O reconhecimento prático da maturidade fisiológica assume grande importância, pois caracteriza o momento em que a semente deixa de receber nutrientes da planta e passa a sofrer influência do ambiente (Nascimento et al., 2006).

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

Em hortaliças de frutos carnosos, como pimentão e tomate, a maturidade das sementes geralmente coincide com o início da mudança de coloração dos frutos, ou seja, frutos verdes com manchas avermelhadas. É importante destacar que nem sempre há necessidade de esperar pela maturação completa dos frutos para a extração das sementes. Muitas vezes, sementes provenientes de frutos ainda em maturação já atingiram a maturidade fisiológica. Outro aspecto interessante e já comprovado é que a maturidade fisiológica das sementes se completa quando os frutos colhidos passam por um período de descanso ou repouso, que varia de 7 a 10 dias, em local fresco e ventilado, antes da extração das sementes. Neste caso, sementes imaturas ainda presentes no fruto completam o seu desenvolvimento, resultando em melhor qualidade fisiológica e maior rendimento (Dias, 2001).

As fases de desenvolvimento dos frutos são caracterizadas por alterações, tanto na estrutura como na fisiologia e na bioquímica das células que culminam com a maturação, o amadurecimento e finalmente a senescência. O amadurecimento constitui a fase final da maturação e esta fase é caracterizada pelo amolecimento da polpa, desenvolvimento do aroma e do sabor dos frutos. Em frutos de pimenta *C. chinense*, habanero, 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 para cada estágio de desenvolvimento (Pino et al., 2006).

Durante a fase de crescimento do fruto das pimentas há acúmulo de capsaicina e dihidrocapsaicina, os dois principais alcalóides produzidos pelos frutos, porém, o conteúdo decresce com o amadurecimento do fruto na planta (Contreras-padilha & Yahia, 1998). Estes autores observaram que a queda no conteúdo das capsaicinas teve correlação com o aumento da atividade da peroxidase.

O incremento da atividade da peroxidase provavelmente está relacionado com a competição por intermediários da rota dos fenilpropanóides, necessários na síntese de capsaicinóides e de compostos fenólicos componentes da parede celular dos frutos (Bernal et al., 1995).

Como as espécies de pimenta apresentam um florescimento contínuo, a mesma planta apresenta frutos em diferentes estádios de maturação, o que dificulta determinar a época de colheita, visando à obtenção de sementes de alta qualidade. A idade e a coloração dos frutos têm sido os principais parâmetros empregados para identificar em campo não só a ocorrência da maturidade fisiológica das sementes, mas também o ponto ideal para colheita. É importante salientar que frutos imaturos, de coloração verde, geralmente produzem

sementes com baixo vigor e poder germinativo ou até inférteis (Nascimento et al., 2006).

### **2.3 Germinação de sementes**

O encerramento do período de repouso fisiológico é sucedido pelo início do processo de germinação, o qual pode ser conceituado de diferentes maneiras dependendo da forma de abordagem da questão. Sob o aspecto fisiológico o processo de germinação se encerra com a protrusão da raiz primária, enquanto, sob o ponto de vista tecnológico, a germinação inclui o desenvolvimento da estrutura embrionária e a formação de uma plântula em que sejam evidentes as suas partes constituintes (Marcos Filho, 2005).

O processo germinativo, do ponto de vista fisiológico, pode ser dividido em três fases: embebição, alongamento celular e divisão celular. No entanto, por meio de uma classificação mais detalhada, em nível fisiobioquímico, o processo de germinação é dividido nas fases de reidratação, aumento da respiração, formação de enzimas, digestão enzimática de reservas, mobilização e transporte de reservas, assimilação metabólica e crescimento e diferenciação dos tecidos (Castro et al., 2004).

Bewley & Black (1994) propõem um padrão trifásico de absorção de água para as diferentes espécies (Figura 1). Na primeira fase, a absorção de água pelas sementes é rápida, devido à diferença de potencial matricial encontrada nos tecidos da semente. Nesta fase, as sementes mortas também absorvem água. Há também nesta fase a retomada do crescimento do embrião, em consequência do início da degradação de reservas.

Já na fase II, há indicações de que esteja ocorrendo um transporte ativo de substâncias desdobradas na fase anterior, do tecido de reserva para o tecido meristemático. Nesta fase, os potenciais hídricos do substrato e das sementes são semelhantes, fazendo com que a absorção de água seja quase nula. Neste

momento, o teor de água das sementes endo espermáticas chega a valores entre 25% e 30% e para as cotiledonares entre 35% a 40% (Bewley & Black, 1994).

No final da fase II, há acréscimo repentino do teor de água das sementes, chegando as sementes endoespermáticas a possuírem valores de 35% a 40% e as cotiledonares entre 50% a 60%.

A fase III é caracterizada pela germinação visível e pelo início do crescimento do eixo embrionário. Porém, para chegar à protrusão, mudanças no nível bioquímico acontecem, ou seja, as substâncias desdobradas na fase I e transportadas na fase II são reorganizadas em substâncias mais complexas que formam o citoplasma, o protoplasma e as paredes celulares (Bewley & Black, 1994).

Sementes de diversas espécies são capazes de germinar logo após a colheita, bastam, para isso, que sejam fornecidos requisitos básicos para a germinação, principalmente suprimento adequado de umidade, temperatura e oxigênio. Para outras espécies, entretanto, a germinação é desuniforme ou simplesmente não ocorre, mesmo que as condições de ambiente sejam favoráveis. Tais sementes são ditas dormentes, pois embora estejam vivas e sob condições de ambiente que normalmente favorecem o processo de germinação, não germinam por terem alguma restrição interna impedindo o desenvolvimento do embrião. Nessas sementes, a germinação só ocorrerá quando tal restrição for naturalmente superada, o que pode levar dias, meses ou anos, dependendo da espécie, ou então, se forem utilizados tratamentos específicos capazes de promover a superação da dormência (Nascimento et al., 2006).

A dormência é comum, principalmente em sementes de hortaliças, forrageiras, fruteiras e de espécies arbóreas e ornamentais, que não germinam logo após a colheita devido aos mecanismos internos, de natureza física ou fisiológica, que bloqueiam a germinação. Esses mecanismos são genéticos e ocorrem durante a maturação das sementes, de modo que, logo após a dispersão,

a semente ainda não estará apta para germinar. Essa dormência, que se instala na fase de maturação da semente, é denominada primária. No entanto, em algumas espécies, o bloqueio à germinação se estabelece após a dispersão da semente, induzido por certas condições de estresse ou por um ambiente desfavorável à germinação, caracterizando outro tipo de dormência, denominada secundária. Sementes não dormentes de alface podem entrar em dormência secundária, quando colocadas para germinar sob temperaturas altas (Dias, 2005).

Os mecanismos de dormência podem ser físicos, relacionada à impermeabilidade do envoltório da semente à água, fisiológico, relacionada aos processos fisiológicos que bloqueiam o crescimento do embrião e morfológico, relacionado à imaturidade do embrião. Algumas espécies apresentam o envoltório impermeável à água, devido a presença de lignina, suberina e outros compostos, sendo necessário rompê-lo ou torná-lo mais permeável, o que se consegue através de tratamentos de escarificação, utilizando-se lixa, areia grossa, imersão em água quente ou em produtos químicos abrasivos. Este mecanismo, de natureza física, é típico de algumas famílias, tendo como destaque as leguminosas, cujas sementes, na maioria das vezes, devem ser submetidas aos tratamentos específicos antes da semeadura para a superação da dormência (Marcos Filho, 2005).

Na dormência fisiológica, o embrião, apesar de fisicamente estruturado não germina por razões tais como balanço hormonal inadequado, impermeabilidade do envoltório a trocas gasosas (oxigênio e, ou gás carbônico) ou presença de compostos químicos inibidores. A superação dessa dormência envolve modificações hormonais no embrião, ou seja, tanto a redução da concentração dos inibidores como a síntese de fitohormônios, promotores da germinação. Assim, métodos que atuem impedindo a ação dos primeiros ou que aumentem a concentração dos promotores são os mais recomendados. A



embebição direta das sementes em solução de GA pode ser eficaz para algumas espécies (Dias, 2005).

O período de duração da dormência é bastante variável entre as espécies. Sementes de algumas espécies, especialmente hortaliças e gramíneas forrageiras têm um período curto de dormência, geralmente, cerca de três a seis meses, de modo que o intervalo de tempo compreendido entre a colheita das sementes e a semeadura é suficiente para que, por ocasião do plantio, não tenham mais dormência (Nascimento, 1998).

Sementes recém-colhidas de espécies do gênero *Capsicum* podem apresentar dormência (Lakshmanan & Berke, 1998; Bosland, 1999; Nascimento, 1998). Em diversas pesquisas tem sido relatado que a emergência das plântulas de pimenta é lenta e irregular mesmo sob condições favoráveis (Gerson & Honma, 1978; Randle & Honma, 1981; Edwards & Sundstrom, 1987; Lakshmanan & Berke, 1998).

Randle & Honma (1981) avaliaram 19 cultivares de pimentas representantes de quatro gêneros, e observaram que a emergência de plântulas ocorreu de 14 a 23 dias. Belletti & Quagliotti (1989) relataram que é alta a porcentagem de sementes que não germinam até 14 dias, após a semeadura, podendo ser necessário um período de até 45 dias para que a maioria das sementes de um lote germine satisfatoriamente. Assim em algumas situações, o atraso na germinação e as reduções no estande final têm sido atribuídos à ocorrência de dormência nas sementes. No entanto, o período de duração dessa dormência é relativamente curto, no máximo três meses, de modo que o intervalo de tempo compreendido entre a colheita das sementes e a semeadura é suficiente para que, por ocasião da semeadura, não tenha mais dormência. Para se ter garantia de uma emergência rápida e uniforme das plântulas, recomenda-se que, após a colheita dos frutos, extração e secagem das sementes, estas sejam mantidas armazenadas, em condições ambientes, por um período de, pelo

menos, seis semanas, para que a dormência seja totalmente superada (Randle & Honma, 1981).

É importante ressaltar, no entanto, que apesar dos relatos sobre a ocorrência de dormência em sementes de pimenta (Randle & Honma, 1981; Edwards & Sundstrom, 1987), há também referências nas quais é mencionado o sucesso no estabelecimento de plântulas em casa de vegetação, quando as sementes de determinadas cultivares são extraídas de frutos completamente maduros e semeadas em seguida (Bosland, 1999). Randle & Honma (1981) verificaram em trabalho com diferentes cultivares do gênero *Capsicum*, que o genótipo e a idade do fruto influenciam na intensidade de dormência das sementes. Os autores afirmam que sementes extraídas de frutos supermaduros germinam mais rapidamente, havendo aumento da intensidade de dormência com o decréscimo da idade do fruto.

Vale destacar que há diferenças entre os genótipos quanto à velocidade de germinação e à intensidade de dormência nas sementes (Lakshmanan & Berke, 1998). A porcentagem de germinação e a velocidade de emergência de plântulas de pimenta malagueta (*C. frutescens* L.), geralmente, são menores do que em outros tipos de pimenta (Rivas et al., 1984; Edwards & Sundstrom, 1987).

As sementes da maioria das espécies de *Capsicum* spp., desde que não estejam dormentes, germinam adequadamente sob temperatura constante na faixa de 25°C a 30°C (Nascimento, 1998). Contudo, temperaturas alternadas, na faixa de 15°C-30°C, por 8 horas e 16 horas, respectivamente, a cada 24 horas, promovem a germinação de sementes dormentes de *C. baccatum*, *C. chinense*, *C. frutescens* e *C. pubescens* (Gerson & Honma, 1978; Bosland, 1999). Esses resultados indicam que a alternância de temperatura tem-se mostrado benéfico para superação da dormência das sementes de diversas espécies de pimenta.

Sementes de pimenta osmocondicionadas germinam mais rápidas, principalmente em condições subótimas de temperatura (10°C-15°C) (Rivas et al., 1984). Sundstrom et al. (1987) também observaram que o condicionamento osmótico acelerou a velocidade de germinação de sementes de *Capsicum frutescens*.

É importante ressaltar que os estudos referentes à dormência em sementes de pimentas ainda não são conclusivos. Não se pode deixar de considerar também que a aplicação de tratamentos para superação da dormência em sementes de pimenta só se faz necessária, quando há interesse na avaliação do potencial máximo de germinação de sementes recém-colhidas, as quais podem apresentar dormência. Uma vez constatada a ocorrência de dormência, as sementes deverão ser armazenadas por determinado período, geralmente de três a quatro meses, para que o fenômeno seja superado. Assim a semeadura de sementes de pimenta recém-extraídas do fruto pode representar um risco para a obtenção de estandes uniformes, contribuindo para a elevação do gasto de sementes (Nascimento et al., 2006).

Recentemente, foram publicados diversos artigos evidenciando a existência de uma estreita relação entre o enfraquecimento do endosperma, a atividade da enzima endo- $\beta$ -mananase, a produção de etileno, e a germinação das sementes de alface sob altas temperaturas (Nascimento et al., 2001).

Em outras pesquisas tem sido mencionado que atividades do ciclo celular, incluindo reparo e replicação de DNA, atividades de enzimas e níveis de proteínas específicas têm grande potencial como marcadores, para monitorar e caracterizar a qualidade fisiológica de sementes. Os marcadores 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 (Faria et al., 2003).

Como exemplo desses marcadores encontram-se as enzimas superóxido desmutase, catalase, glutamato peroxidase e glutamato redutase que são enzimas capazes de eliminar radicais livres presentes nas células. Estes são causadores da destruição de grandes polímeros, como lipídios de membrana, com subsequente degradação das membranas (McDonald, 1999; Bailly et al., 2002). As enzimas malato desidrogenase e álcool desidrogenase estão envolvidas com o processo de respiração aeróbica e anaeróbica, respectivamente, e uma vez que a germinação envolve processos que dependem de energia obtida por meio da respiração, estas enzimas também são bons marcadores para verificar problemas no metabolismo respiratório de sementes com problemas de germinação (Bewley & Black, 1994).

Em sementes onde a germinação é limitada pela presença do endosperma há necessidade do enfraquecimento desse tecido para que haja a protrusão da radícula. Esse papel é desempenhado por várias enzimas, como, por exemplo, a endo-  $\beta$  -mananase, que está presente no endosperma em diferentes isoformas, sendo duas dessas inibidas pelo ácido abscísico na fase de enfraquecimento do endosperma na região próxima à radícula, inibindo o potencial de pressão da radícula (Silva, 2004). Atividade de endo-  $\beta$  -mananase foi primeiramente verificada em sementes de tomate. Nesta espécie, Groot et al. (1988) e Nonogakii (1992) verificam que o enfraquecimento do endosperma está diretamente ligado ao aumento da atividade da enzima endo-  $\beta$  -mananase.

Trabalhos com a enzima endo-  $\beta$  -mananase em outras espécies são elaborados principalmente para verificar a influência da temperatura e de “priming” na germinação e na atividade da enzima. Sementes de gergelin, somente em temperatura supraótima, tiveram a atividade de endo-  $\beta$  -mananase aumentada, na região micropilar do endosperma, anterior à germinação (Carvalho et al., 2001). Já em sementes de alface, a técnica de priming supera o

efeito inibidor da alta temperatura em sementes termossensíveis dessa espécie, devido ao aumento da atividade de endo-  $\beta$  -mananase (Nascimento et al., 2001).

#### **2.4 Armazenamento e deterioração de sementes**

As sementes perdem qualidade fisiológica progressivamente, pelo processo de envelhecimento ou deterioração, que envolve uma seqüência de eventos bioquímicos, os quais culminam com a perda de viabilidade da semente. Segundo McDonald (1998), macromoléculas essenciais para a germinação são degradadas durante o envelhecimento.

O processo pelo qual as sementes deterioram e morrem tem recebido atenção considerável na literatura. Em vários trabalhos têm sido descritas as mudanças fisiológicas, que são ao mesmo tempo, causa e conseqüência do envelhecimento (Coolbear, 1995; Smith & Berjak, 1995; Walters, 1998). Com o envelhecimento das sementes, as membranas se tornam fracas, as enzimas perdem a atividade catalítica e os cromossomos acumulam mutações. Tem sido também proposto que reservas nutritivas também são esgotadas enquanto a semente deteriora e que subprodutos de reações catabólicas são tóxicos, favorecendo a deterioração. Por meio de pesquisas recentes, tem sido apontado um conjunto de enzimas críticas, que são inativadas com o tempo e suscetíveis à degradação (Zhang et al., 1994; Sun & Leopold, 1995).

No processo de deterioração as sementes perdem vigor progressivamente, apresentando redução na velocidade e uniformidade de emergência de plântulas, menor resistência as condições adversas, decréscimo na proporção de plântulas normais e, finalmente, perdem a viabilidade ou capacidade de germinar (Halmer & Bewley, 1984).

Durante o período de armazenamento de sementes, é necessário manter condições adequadas de temperatura e umidade, na tentativa de preservar a qualidade destas. Muitas vezes, a falta de conhecimento das condições ideais de

armazenamento torna-se difícil a manutenção da qualidade fisiológica das sementes, pois o envelhecimento é um processo natural. Um dos primeiros eventos da deterioração de sementes é a perda da integridade das suas membranas, o que afeta a permeabilidade, a compartimentalização e a separação dos sistemas metabólicos (Basu, 1995). De acordo com esse autor, muitas enzimas estão associadas aos sistemas de membranas, e qualquer mudança nessa integridade teria consequências fisiológicas e bioquímicas. Além da perda da integridade das membranas, observam-se redução na produção de ATP e na síntese de proteínas e ácidos nucleicos e degeneração cromossômica (Bewley & Black, 1994).

No caso de sementes, os marcadores isoenzimáticos têm sido empregados em estudos de viabilidade, pois são eficientes para o conhecimento de eventos importantes relacionados à deterioração e a perda de qualidade das sementes (Basu, 1995).

As perdas na qualidade de sementes estão relacionadas à degradação de macromoléculas, tais como: proteínas, lipídios, ácidos nucleicos e, conseqüentemente à diminuição de atividades bioquímicas de sementes (Coolbear, 1995).

Diante do exposto, observa-se que há a necessidade de conhecer as diversas reações metabólicas que envolvem síntese e degradação de moléculas durante o desenvolvimento, a germinação e a deterioração de sementes visando identificar marcadores da qualidade fisiológica de sementes. Essas informações possibilitam o desenvolvimento de tecnologias de produção, secagem e armazenamento que garantam a obtenção de sementes com alta qualidade.

### 3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, C. A.; RINNE, R. M. Moisture content as a controlling factor in seed development and germination. **International Review Experimental Pathology**, San Diego, v. 68, p. 1-8, 1980.

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

BAILLY, C.; BOGATEK-LESZCZYNSKA, R.; CÔME, D.; CORBINEAU, F. Changes in activities of antioxidant enzymes and lipoxygenase during growth of sunflower seedlings from seeds of different vigour. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 12, n. 1, p. 47-55, Mar. 2002.

BELLETTI, P.; QUAGLIOTTI, L. Problems of seed production and storage of pepper. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON INTEGRATED MANAGEMENT PRACTICES, Tainan, Taiwan, 1988. **Tomato and pepper production in the tropics**. Taipei: Asian Vegetable Research and Development Center, 1989. p.28-41.

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

BOSLAND, P. W.; VOTAVA, E. J. **Peppers**: vegetable and spice capsicums. Wallingford: CAB International, 1999. 204 p. (CAB. Crop Production Science in Horticulture, 12).

CARVALHO, I. C. S.; BIANCHETTI, L. B.; BUSTAMANTE, P. G.; SILVA, D. B. **Catálogo de germoplasma de pimentas e pimentões (*Capsicum spp.*) da Embrapa Hortaliças**. Brasília: Embrapa Hortaliças, 2003. 49 p. (Embrapa Hortaliças. Documento, 49).

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

CARVALHO, P. G. B.; BORGHETTI, F.; BUCKERIDGE, M. S.; MORHY, L.; FERREIRA FILHO, E. X. T. Temperature dependent germination and endo-βmananase activity in sesame seeds. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Londrina, v. 13, n. 2, p. 139-148, ago. 2001.

- CASTRO, R. D.; BRADFORD, K. J.; HILHORST, H. W. M. Embebição e reativação do metabolismo. In: FERREIRA, A. G. ; BORGHETTI, F. (Ed). **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2004. p.149-162.
- CONTRERAS-PADILHA, M.; YAHIA, E. M. Changes in capsaicinoids during development, maturation, and senescence of chile peppers and relation with peroxidase activity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 46, n. 6, p. 2075-2079, 1998.
- COOLBEAR, P. Mechanisms of seed deterioration. In: BASRA, A. S. (Ed.). **Seed quality: basic mechanisms and agricultural implications**. New York: Food Products, 1995. p. 223-275.
- COOLBEAR, P. Dormência em Sementes: mecanismos de sobrevivência das espécies. **Seed News** , Pelotas, v. 9, n. 4, p. 24-28, jul./ago. 2005.
- DIAS, D.C.F. Maturação de sementes. **Seed News**, Pelotas, v.5, n.6, p.22-24. 2001.
- EDWARDS, R. S.; SUNDSTROM, F. J. After-ripening and harvesting effects on Tabasco pepper seed germination performance. **HortScience**, Alexandria, v. 22, n. 3, p. 473-475, 1987.
- FARIA, M.A.V. de R.; PINHO, R. G. von.; PINHO, E. V. de R. von.; GUIMARÃES, R. M. **Marcadores moleculares da qualidade fisiológica de sementes**. Lavras: UFLA/FAEPE, 2003.
- GEORGE, R. A. T. **Vegetable seed production**. New York: Longman, 1985. 318 p.
- GERSON, R.; HONMA, S. Emergence response of the pepper at low soil temperature. **Euphytica**, Dordrecht, v. 27, n. 1, p. 151-156, Feb. 1978.
- GROOT, S. P. C.; KIELISZEWSKA-ROKICKA, B.; VERMEER, E.; KARSSSEN, C. M. Gibberellin-induced hydrolysis of endosperm cell walls in gibberellin-deficient tomato seed prior to radicle protrusion. **Planta**, Berlin, v. 174, n. 4, p. 500-504, July 1988.
- HALMER, P.; BEWLEY, D. A physiological perspective on seed vigour testing. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 12, n. 2, p. 561-575, 1984.



LAKSHMANAN, V.; BERKE, T. G. Lack of primary seed dormancy in pepper (*Capsicum* spp.). **Capsicum and Eggplant Newsletter**, Turim, v. 17, n. 1, p. 72-75, 1998.

MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba: Fundação de Estudos Agrários Luiz de Queiroz - FEALQ, 2005. v. 12, 495 p.

McDONALD, M. B. Seed quality assessment. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 8, n. 2, p. 265-275, June 1998.

MOREIRA, G. R.; CALIMAN, F. R. B.; SILVA, D. J. H. RIBEIRO, C. S. C. Espécies e variedades de pimenta. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 27, n. 235, p. 16-29, nov./dez. 2006.

NASCIMENTO, W. M. Condicionamento osmótico de sementes de hortaliças: potencialidades e implicações. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 16, n. 12, p. 106-109, nov. 1998.

NASCIMENTO, W. M.; CANTLIFFE, D. J.; HUBER, D. J. Endo- $\beta$ -mannanase activity and seed germination of thermosensitive and thermotolerance lettuce genotypes in response to seed priming. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 11, n. 3, p. 255-264, 2001.

NASCIMENTO, W. M.; DIAS, D. C. F. S.; FREITAS, A. F. Produção de sementes de pimentas. **Informe Agropecuário** – EPAMIG, Belo Horizonte, v. 27, n. 235, p. 30-39, nov./dez. 2006.

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

ODLAND, M. L.; PORTER, A. M. A study of natural crossing in peppers (*Capsicum frutescens*). **Proceedings of the American Society for Horticultural Science**, New York, v. 38, p. 585-588, June 1941.

OLIVEIRA, J. A.; VIEIRA, M. G. G. C.; CARVALHO, M. L. M. **Teste de vigor de sementes**: produção e tecnologia de sementes. Lavras: UFLA/ FAEPE, 2004. Curso de pós-graduação “lato sensu” (Curso de especialização em Sementes).

- PICKERSGILL, B. Genetic resources and breeding of *Capsicum* spp. **Euphytica**, Dordrecht, v. 96, n. 1, p. 129-133, July 1997.
- 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.
- PINTO, C. M. F.; PUIATTI, M.; CALIMAN, F. R. B.; MOREIRA, G. M. R.; MATTOS, R. N. Clima, época de semeadura, produção de mudas, plantio e espaçamento na cultura da pimenta. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 27, n. 235, p. 40-49, nov./dez. 2006.
- RAGHAVAN, V. **Embryogenesis in angiosperms: a developmental and experimental study**. Cambridge: Cambridge University, 1986.
- RANDLE, W. M.; HONMA, S. Dormancy in peppers. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 14, n. 1, p. 19-25, 1981.
- RIVAS, M.; SUNDSTROM, F. J.; EDWARDS, R. L. Germination and crop development of hot pepper after seed priming. **HortScience**, Alexandria, v. 19, n. 2, p. 279-281, 1984.
- ROVERI JOSÉ, S. C. B. **Tolerância a alta temperatura de secagem de sementes de milho**. 2003. 149 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.
- RUFINO, J. L. S.; PENTEADO, D. C. S. Importância econômica, perspectivas e potencialidades do mercado de pimenta. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 27, n. 235, p. 7-15, nov./dez. 2006.
- SILVA, E. A. A. da. **Coffee (Coffee arabica L., cv. Rubi) seed germination: mechanism and regulation**. 2002. 105 p. Thesis (Ph. D.) – Wageningen University, Wageningen.
- SMITH, M. T.; BERJAK, P. Deteriorative changes associated with lost of viability of store desiccations tolerat and desiccations sensitive seeds. In; KIGEL, J.; GALILI, G. **Seed development and germination**. New York: Basel-Hang Yong, 1995. p. 701-746.
- SOUZA, R. J. de; CASALI, V. W. D. Cultivares de pimentão e pimenta. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 10, n. 113, p. 14-18, maio 1984.

SUN, W. Q.; LEOPOLD, A. C. The maillard reaction and oxidative stress during aging of soybean seeds. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 94, p. 94-104, 1995.

SUNDSTROM, F. J.; READER, R. B.; EDWARDS, R. L. Effect of seed treatment and planting method of Tabasco pepper. **Journal of American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 112, n. 4, p. 641-644, 1987.

TANKSLEY, S. D. High rates of cross-pollination in Chile pepper. **HortScience**, Alexandria, v. 19, n. 4, p. 580-582, 1984.

TORRES, S. B. Envelhecimento acelerado em sementes de pimenta-malagueta (*Capsicum frutescens* L.). **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 36, n. 1, p. 98-104, jan./abr. 2005.

WALTERS, C. Understanding the mechanisms and kinetics of seed aging. **Seed Science Research**, Wellengford, v. 8, n. 2, p. 23-44, June 1998.

ZHANG, M.; MAEDA, Y.; FUTIHATA, Y.; NORRAMURA, Y. I.; ESASHI, Y. A mechanism of seed deterioration in relation to volatile compounds evoked by dry seeds themselves. **Seed Science Research**, Wellengford, v. 4, n. 1, p. 49-56, Mar. 1994.

## CAPÍTULO 2

### 1 RESUMO

A produção de sementes é uma atividade especializada o que demanda a adoção de tecnologias avançadas em todas as etapas do processo de produção para assegurar a obtenção de sementes com alta qualidade. Um dos fatores que interfere na qualidade das sementes é o ponto de colheita, sendo que em espécies com frutos carnosos, e com maturação desuniforme dos frutos, a exemplo de pimenta, existe dificuldade na definição do mesmo. Para isso há a necessidade de avaliar as modificações fisiológicas durante o desenvolvimento e o armazenamento de sementes. Nessa pesquisa foram avaliadas as alterações fisiológicas e bioquímicas durante o desenvolvimento e o armazenamento de sementes de pimenta malagueta e habanero yellow, visando à determinação do ponto de colheita das mesmas. Os ensaios foram realizados na área experimental e no Laboratório Central de Sementes do Departamento de Agricultura da UFLA. Para a instalação dos experimentos, visando à produção de sementes, foram formadas mudas em casa de vegetação, com posterior transplantio das mesmas no campo. As sementes, das duas espécies, foram extraídas manualmente de frutos em três estádios de desenvolvimento: E1(frutos com os primeiros sinais de amarelecimento), E2(frutos maduros) e E3 (Frutos maduros e submetidos a sete dias de repouso). Após a extração as sementes foram secadas em estufa com circulação de ar a 35 C até atingirem 8% de teor de água. Após a secagem, as sementes foram acondicionadas em embalagens plásticas impermeáveis e armazenadas em câmara fria a 10°C e 50% de umidade relativa por períodos de zero, quatro e oito meses. Após cada período de armazenamento a qualidade das sementes foi avaliada por meio de testes de germinação, vigor e atividade das enzimas esterase, superóxido desmutase (SOD), peroxidase, malato desidrogenase (MDH), álcool desidrogenase (ADH) e endo-β-mananase. O delineamento estatístico utilizado para as análises dos dados dos testes fisiológicos foi o de blocos casualizados em esquema fatorial 3x3 cujos fatores foram estádios de desenvolvimento e períodos de armazenamento. Menores valores de germinação e vigor foram observados em sementes processadas a partir de frutos com os primeiros sinais de amarelecimento (E1). Em sementes recém-armazenadas, maiores valores de germinação e vigor foram observados

---

\* Comitê Orientador: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Édila Vilela de Resende Von Pinho – UFLA (Orientadora), Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Maria Laene Moreira de Carvalho – UFLA (Co-orientadora), Prof. Dr. Renato Mendes Guimarães – UFLA (Co-orientador).

em sementes processadas a partir de frutos que permaneceram em repouso por sete dias. Foi observada dormência principalmente em sementes recém armazenadas e superação da mesma aos quatro meses de armazenamento. A qualidade fisiológica das sementes durante os diferentes períodos de armazenamento variou com os estádios de desenvolvimento nas quais foram processadas. Houve variações na atividade das enzimas esterase, SOD, peroxidase, MDH, ADH e endo- $\beta$ -mananase durante o desenvolvimento e o armazenamento das sementes.

## 2 ABSTRACT

Seed production is a specialized activity which demands the adoption of advanced technologies at all stages of the production process to ensure the collection of seeds with high quality. One of the factors that affect the quality of seed is the harvest, and in species with fleshy fruits, and fruit ripening uniformity, like pepper, there is difficulty in defining the same. For this there is a need to evaluate the physiological changes during development and storage of seed. In this research evaluated the physiological and biochemical changes during development and storage of seeds of chilli pepper and yellow habanero aimed at determining the point of collection of them. The tests were performed in the experimental area and the Central Laboratory of the Department of Agriculture Seeds of UFLA. For the installation of the experiments, to the production of seeds, were formed seedlings in the greenhouse and later transplanted to the same field. The seeds of two species, were extracted manually from fruits in three developmental stages: E1 (fruit with the first signs of yellowing), E2 (ripe fruit) and E3 (mature fruit and subjected to seven days of rest). After extraction the seeds were dried in an oven with circulating air at 35 °C until they reach 8% of water content. After drying, seeds were packed in waterproof plastic and stored in cold chamber at 10 °C and 50% relative humidity for periods of zero, four and eight months. After each period of storage seed quality was evaluated by testing the germination, vigor and activity of esterase enzymes, superoxide dismutase (SOD), peroxidase, malate dehydrogenase (MDH), alcohol dehydrogenase (ADH) and endo- $\beta$ -mannanase . The statistical design used for the analysis of data from physiological tests was randomized blocks in factorial scheme 3x3 which factors were stage of development and periods of storage. Lower values of germination and vigor were observed in seeds from fruits processed with the first signs of yellowing (E1). In newly-stored seeds, higher germination and vigor were observed in processed seeds from fruits that remained at rest for seven days. Was observed mainly in seed dormancy and overcoming newly stored on the same four months of storage. The physiological quality of seeds during different periods of storage varied with the stages of development which were processed. There were variations in the activity of esterase enzymes, SOD, peroxidase, MDH, ADH, and endo- $\beta$ -mannanase during seed development and storage.

---

\* Guidance Committee: Dr<sup>a</sup>. Édila Vilela de Resende Von Pinho – UFLA (Adviser), Dr<sup>a</sup>. Maria Laene Moreira de Carvalho – UFLA (Co-adviser), Dr. Renato Mendes Guimarães – UFLA (Co-adviser).

### 3 INTRODUÇÃO

A produção de sementes é uma atividade especializada e cuidados devem ser tomados em todas as fases de produção para assegurar a obtenção de lotes de sementes com alta qualidade. Um dos fatores que interfere na qualidade de sementes é o ponto de colheita, sendo que em espécies com frutos carnosos e com maturação desuniforme dos frutos, a exemplo de pimenta, existe dificuldade na definição do mesmo. Nessas espécies há a necessidade de avaliar a alteração fisiológica das sementes durante o desenvolvimento fornecendo subsídios para a determinação do momento de colheita das sementes.

As sementes se desenvolvem a partir de óvulos fertilizados, que passam por uma série de transformações morfológicas, fisiológicas e funcionais até que a maturidade fisiológica seja atingida, quando cessa a translocação de assimilados da planta para a semente. Neste ponto, o conteúdo de matéria seca da semente é máximo (Carvalho & Nakagawa, 2000). Contudo, a semente pode ou não ter atingido os valores máximos de germinação e vigor. Segundo Demir & Ellis (1992), para algumas espécies, a qualidade máxima da semente é obtida simultaneamente ao ponto em que a matéria seca é máxima, enquanto que para outras pode ser verificado antes ou após tal ponto. Assim, um aspecto importante da produção de sementes é a determinação da maturidade fisiológica e do momento ideal de colheita, visando obter sementes de alta qualidade.

Como as espécies de pimenta apresentam florescimento contínuo, na mesma planta existem frutos em diferentes estádios de maturação, o que dificulta a determinação da época de colheita, visando à obtenção de sementes de alta qualidade. A idade e a coloração dos frutos têm sido os principais parâmetros empregados para identificar em campo não só a ocorrência da maturidade fisiológica das sementes, mas também o ponto ideal para colheita.

Sementes recém-colhidas de espécies do gênero *Capsicum* podem apresentar dormência (Lakshmanan & Berke, 1998; Bosland, 1999; Nascimento, 1998). Assim em algumas situações, o atraso na germinação e as reduções no esdante final têm sido atribuídos à ocorrência de dormência nas sementes. No entanto, o período de duração dessa dormência é relativamente curto, e pode ser superada com o armazenamento.

É importante ressaltar, no entanto, que apesar dos relatos sobre a ocorrência de dormência em sementes de pimenta (Randle & Honma, 1981; Edwards & Sundstrom, 1987), há também referências de sucesso no estabelecimento de plântulas em casa de vegetação, quando as sementes de determinadas cultivares são extraídas de frutos completamente maduros e semeadas em seguida (Bolsland, 1999). Randle & Honma (1981) verificaram em diferentes cultivares do gênero *Capsicum*, influência do genótipo e da idade do fruto na intensidade de dormência das sementes. Os autores afirmaram que sementes extraídas de frutos maduros germinam mais rapidamente, havendo aumento da intensidade de dormência com o decréscimo da idade do fruto. Ressalta-se ainda que o estágio de desenvolvimento das sementes possa influenciar no nível de deterioração das sementes durante o armazenamento.

Assim nessa pesquisa foram avaliadas as alterações fisiológicas e bioquímicas durante o desenvolvimento e o armazenamento de sementes de pimenta malagueta (*Capsicum frutescens* L.) e habanero yellow (*Capsicum chinenses*), visando à determinação do melhor ponto para a colheita.

#### **4 MATERIAL E MÉTODOS**

A pesquisa foi conduzida na área experimental e no Laboratório Central de Sementes do Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras (UFLA), em Lavras, MG. A cidade está localizada na Região Sul de Minas



Gerais, Latitude 21° 14'S e Longitude 40° 17'W e a 918,8 m de altitude. O clima se enquadra no tipo Cwb da classificação de Köppen. A temperatura média anual é de 19,4°C e a pluviosidade se distribuem, principalmente de outubro a abril, com valores anuais de 1529,7 mm.

Em uma primeira etapa da pesquisa, no mês de dezembro, foram formadas mudas de pimenta para a instalação do experimento no campo. Para isso as sementes de pimenta das espécies malagueta (*Capsicum frutescens*) e pimenta habanero yellow (*Capsicum chinense*), foram semeadas em bandejas de “isopor” com 72 células, contendo substrato comercial Plantimax-hortaliças e 5 mL de solução de 2000 ppm de sulfato de amônio por célula. Após 45 dias da semeadura, foi realizado o transplante das mudas na área experimental do setor de olericultura, do Departamento de Agricultura em área com latossolo vermelho-escuro (LE), textura argilosa.

O solo foi preparado convencionalmente e as correções foram feitas de acordo com a análise química do mesmo. Os ensaios foram instalados em delineamento de blocos casualizados (DBC) com quatro repetições. Cada parcela referente à pimenta Malagueta constou de 2 linhas de 5 m de comprimento com 5 plantas por metro, espaçadas de 1,5 m entre linhas; e cada parcela referente à de pimenta Habanero Yellow foi composta de 2 linhas de 11 metros de comprimento com 11 plantas por metro, espaçadas de 1,5 metros entre linhas.

A adubação de cobertura, assim como, os demais tratamentos culturais foram realizados de acordo com os recomendados para a cultura. Os dados de temperatura e de umidade relativa do ar durante o desenvolvimento das plantas estão apresentados na tabela 1A.

As sementes, das duas espécies, foram extraídas manualmente de frutos em três estágios de desenvolvimento: E1(frutos com os primeiros sinais de amarelecimento), E2(frutos maduros) e E3(Frutos maduros e submetidos a sete

dias de repouso). Após a extração as sementes foram secadas em estufa com circulação de ar a 35°C até atingirem 8% de teor de água.

Os frutos de pimenta malagueta do estágio E1 apresentam característica de cor alaranjada enquanto que do estágio E2 e E3 de cor vermelha. Já os frutos de pimenta habanero do estágio E1 apresentam característica de cor verde com manchas alaranjadas enquanto que do estágio E2 e E3 de cor alaranjada.

As sementes correspondentes a cada estágio de desenvolvimento foram acondicionadas em embalagens impermeáveis de plástico e armazenadas em câmara fria à 10°C e 50% de umidade relativa por períodos de quatro e oito meses após a secagem. Ao fim de cada época de armazenamento foi avaliada a qualidade das sementes de pimenta por meio dos testes: grau de umidade; teste de germinação; teste de emergência; teste de condutividade elétrica; teste de envelhecimento acelerado e a atividade das enzimas esterase, superóxido desmutase (SOD), peroxidase, malato desidrogenase (MDH), álcool desidrogenase (ADH) e endo-  $\beta$  -mananase. A qualidade também foi avaliada em sementes recém-armazenadas, período 0 de armazenamento.

## **4.1 Análise da qualidade das sementes**

### **4.1.1 Grau de umidade**

O grau de umidade das sementes foi avaliado em estufa a 105±3°C durante 24 horas, utilizando-se duas subamostras para cada tratamento, conforme as Regras para Análise de Sementes – RAS (Brasil, 1992). Os resultados foram expressos em porcentagem média por tratamento.

### **4.1.2 Teste de germinação**

A semeadura foi feita sobre duas folhas de papel mata borrão, umedecidas com água na proporção de 3 vezes o peso do substrato seco, em caixas plásticas tipo gerbox. As caixas foram mantidas em germinadores sob

regime alternado de temperatura e luz (20°C/16 h no escuro e 30°C/8 h na presença de luz). No sétimo dia, foram realizadas as contagens do número de plântulas normais, segundo as Regras para Análise de Sementes - RAS (Brasil, 1992). Cada tratamento foi avaliado em quatro repetições com 50 sementes. Os resultados foram expressos em porcentagem de plântulas normais.

As sementes que não germinaram foram submetidas ao teste de tetrazólio. Estas foram imersas para coloração em solução de 2,3,5 trifenil cloreto de tetrazólio a aproximadamente 0,075%, durante 3 horas, no escuro, a 35°C. Após este período, verificado a coloração ideal, as sementes foram lavadas em água corrente e mantidas submersas em água até sua avaliação. Na segunda etapa, os embriões foram analisados individualmente, após abertura com uma lâmina cirúrgica no sentido longitudinal, verificando-se sua face externa e interna. A interpretação foi feita com auxílio de lupa com iluminação fluorescente, de acordo com as Regras para Análise de Sementes - RAS (Brasil, 1992), para verificarem-se estas estavam mortas.

#### **4.1.3 Teste de emergência**

A semeadura foi realizada em bandejas multicelulares de “isopor” com células separadas, contendo substrato comercial (Plantimax-hortaliças). As bandejas foram mantidas em casa de vegetação em sistema de nebulização intermitente, com temperatura variável de 25 a 30°C. Cada tratamento foi composto por quatro repetições de 50 sementes. Foram realizadas avaliações diárias a partir do início da emergência, computando-se o número de plântulas emersas até a estabilização do estande. Foi avaliada a porcentagem de plântulas normais aos 14 dias e o índice de velocidade de emergência, segundo a fórmula proposta por Maguire (1962).

#### **4.1.4 Teste de condutividade elétrica**

Foi conduzido no sistema de massa com quatro repetições de 50 sementes por tratamento. As sementes foram pesadas com precisão de duas casas decimais, e em seguida, colocadas em copos plásticos descartáveis com 25mL de água destilada. Após 24 horas de embebição à temperatura de 25°C, a condutividade elétrica foi determinada com auxílio de um condutivímetro com resultados expressos em  $\mu\text{S}/\text{cm}/\text{g}$ , de acordo com o método descrito por Panobianco & Marcos Filho (1998).

#### **4.1.5 Teste de envelhecimento acelerado**

Foram utilizadas caixas plásticas tipo “gerbox”, como compartimento individual (mini-câmara), possuindo em seu interior uma bandeja com tela de alumínio onde as sementes foram distribuídas de maneira a formarem camada uniforme. Dentro de cada compartimento individual, foram adicionados 40 mL de água destilada. As caixas foram mantidas em incubadora por 72 horas, a 38 °C. Decorrido esse período de envelhecimento, quatro amostras de 50 sementes por tratamento foram submetidas ao teste de germinação conforme a metodologia já descrita. A avaliação foi realizada aos 10 dias após a semeadura e os resultados foram expressos em porcentagem média de plântulas normais (Torres, 2005).

#### **4.1.6 Análise de enzimas**

Nos períodos de 0, 4 e 8 meses de armazenamento, foram retiradas duas amostras de 400 sementes de cada tratamento e armazenadas à temperatura de -86°C, 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 mortar sobre gelo 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 250µL por 100mg de sementes. O material foi homogeneizado em vortex e mantido em overnight, em geladeira, seguido de centrifugação a 14.000 rpm por 60 minutos, a 4°C.

A corrida eletroforética ocorreu em sistema de géis de poliacrilamida a 7,5% (gel separador) e 4,5% (gel concentrador). O sistema gel/eletrodo utilizado foi o Tris-glicina pH 8,9. Foram aplicados 50 µL do sobrenadante das amostras no gel e a corrida eletroforética efetuada a 120 V por 5 horas.

Terminada a corrida, os géis foram revelados para as enzimas peroxidase, esterase (EST), malato desidrogenase (MDH), álcool desidrogenase (ADH) e superóxido dismutase (SOD), conforme Alfenas et al. (1991).

Para a extração da enzima endo-β-mananase, em cada microtubo com 100mg de pó de cada amostra, foram adicionados 300 µl 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 Vortex por 1 minuto e levados para centrífuga 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. Este 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 ficasse em contato com o gel. O gelbond foi coberto com o segundo suporte e estes suportes foram unidos por prendedores. O gel antes de

ser aplicado, 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 houvesse perigo de trincas no vidro por diferenças de temperatura entre o vidro e o gel. Neste momento foi feita a aplicação em temperatura ambiente. Após a solidificação, o gel foi armazenado em geladeira por um período de 24 horas. O gel foi furado com furador de 2 mm de diâmetro e estes furos foram succionados para retirada de restos de gel com bomba a vácuo. Foram aplicados 2µl 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 continham 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-β-mananase comercial de *Aspergillus niger* (Megazyme). O cálculo da atividade da enzima endo-β-mananase foi realizado segundo Downie (1994).

#### **4.1.7 Delineamento experimental**

O delineamento experimental utilizado nos testes por meio dos quais se avaliou a qualidade fisiológica das sementes de pimentas foi o de blocos casualizados, em esquema fatorial 3X3 para cada espécie separadamente, sendo

os fatores: estágio de desenvolvimento do fruto (E1, E2 e E3) e períodos de armazenamento (0, 4 e 8 meses).

Foi realizada a análise de variância para todos os testes, utilizando o programa estatístico Sisvar (Ferreira, 2000). Para a comparação entre as médias, foi utilizado o Teste de Scott-Knott, ao nível de 5% de probabilidade.

Para os dados quantitativos não foi feita regressão por causa de serem apenas 3 pontos estudados e com isto o R<sup>2</sup> seria de 100 %.

## **5 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Os resumos das análises de variâncias dos dados obtidos nos testes para avaliação da qualidade fisiológica das sementes de pimenta malagueta e habanero nos diferentes estádios de desenvolvimento e nos três períodos de armazenamento estão apresentados nas Tabelas 2A e 3A, respectivamente. Houve interação significativa entre o estágio de desenvolvimento x período de armazenamento para todas as variáveis estudadas, nas duas espécies, com exceção do teste de condutividade elétrica para a pimenta malagueta, que houve significância apenas para cada fator isolado.

Logo após a extração, antes de as sementes terem sido submetidas à secagem, os graus de umidade das sementes de pimenta malagueta foram de: 50,55% no estágio de desenvolvimento 1 (E1), 47,19% no segundo estágio (E2) e 33,12% no estágio 3 (E3). Já para a pimenta habanero foram: 68,98% no estágio de desenvolvimento 1 (E1), 62,37% no segundo estágio (E2) e 54,51% no estágio 3 (E3).

O grau de umidade das sementes acondicionadas em embalagens plásticas impermeáveis foi monitorado durante o armazenamento e, independente do estágio de desenvolvimento verificou-se manutenção do mesmo em 8%. Pinho et al. (2005), ao armazenarem sementes de citrumelo ‘Swingle’

em embalagens plásticas impermeáveis, também observaram que o teor de água nas sementes não foi alterado.

Menores valores de germinação foram observados nas sementes de pimenta malagueta e habanero processadas no primeiro estágio de desenvolvimento (E1), em todos os períodos de armazenamento (Tabela 1). Nos períodos de 0 e 8 meses de armazenamento, para ambas as espécies, não houve diferença entre os valores de germinação observados nas sementes processadas nos estádios E2 e E3 de desenvolvimento. Já aos quatro meses de armazenamento maiores valores de germinação foram observados em sementes processadas no estágio de desenvolvimento E3. Segundo Nascimento et. al., (2006) frutos imaturos, de coloração verde, geralmente produzem sementes com baixo vigor e poder germinativo ou até inférteis.

Barbedo A. et al. (1994) também verificaram que sementes de berinjela de melhor qualidade foram obtidas de frutos com 50 dias de idade submetidos a 15 dias de armazenamento pós-colheita. Segundo Sanchez et al. (1993) sementes de pimentão devem permanecer no fruto maduro (idade de 50 dias após antese) após a colheita, de 7 a 14 dias, para que o potencial máximo de germinação seja atingido.

A germinação das sementes de pimenta malagueta processadas nos estádios E1, E2 e E3 foi aumentada no quarto mês de armazenamento. Esse resultado pode estar relacionado à presença de dormência nas sementes a qual foi quebrada ao longo do armazenamento. Esses resultados corroboram aos encontrados por Lakshmanan & Berke (1998) e Bosland (1999) e Nascimento (1998), nos quais houve dormência nas sementes recém-colhidas de espécies do gênero *Capsicum*.

Na presente pesquisa, durante a avaliação do teste de germinação em sementes recém armazenadas foi observado à presença de sementes embebidas, sem protrusão radicular. No entanto, essas sementes não encontravam-se mortas,



o que pôde ser constatado por meio do teste de tetrazólio. As sementes embebidas estavam viáveis sem quaisquer sintomas de deterioração.

No oitavo mês de armazenamento foi observada redução na germinação em relação à observada no quarto mês de armazenamento, para sementes de malagueta. A redução na germinação com o armazenamento das sementes pode ser atribuída à maior deterioração. Esse resultado também foi observado no teste de emergência de plântulas (Tabela 2).

Nas sementes de pimenta habanero também foi observado aumento da germinação nas sementes processadas nos estádios E2 e E3 no quarto mês de armazenamento. No entanto, esses valores foram mantidos em sementes processadas no estádio E3 ou aumentados, em sementes processadas no estádio E2, aos oito meses de armazenamento. Para essa espécie os valores de germinação observados em sementes processados no estádio E1 foram muito baixos e não foram diferenciados estatisticamente ao longo do armazenamento.

De uma maneira geral pode-se inferir suposta quebra de dormência das sementes durante o armazenamento. Belletti & Quagliotti (1989) relataram que é alta a porcentagem de sementes de pimenta que não germinam até 14 dias, após a semeadura, podendo ser necessário um período de até 45 dias para que a maioria das sementes de um lote germine satisfatoriamente. Assim em algumas situações, o atraso na germinação e as reduções no estande final têm sido atribuídos à ocorrência de dormência nas sementes. De acordo com Randle & Honma (1981) o período de duração dessa dormência é relativamente curto, no máximo três meses, de modo que o intervalo de tempo compreendido entre a colheita das sementes e a semeadura é suficiente para que, por ocasião da semeadura, não tenha mais dormência. Para se ter garantia de uma emergência rápida e uniforme das plântulas, recomenda-se que, após a colheita dos frutos, extração e secagem das sementes, estas sejam mantidas armazenadas, em

condições ambientes, por um período de, pelo menos, seis semanas, para que a dormência seja totalmente superada.

**TABELA 1** Valores médios de plântulas normais, obtidos no teste de germinação (%) de sementes de pimenta malagueta e habanero colhidas em diferentes estádios de desenvolvimento ao longo do armazenamento.

| Malagueta |                           |        |        |
|-----------|---------------------------|--------|--------|
| Estádios  | Períodos de armazenamento |        |        |
|           | 0                         | 4      | 8      |
| 1         | 3 B b                     | 40 C a | 11 B b |
| 2         | 13 A c                    | 55 B a | 42 A b |
| 3         | 22 A c                    | 67 A a | 50 A b |
| Habanero  |                           |        |        |
| Estádios  | Períodos de armazenamento |        |        |
|           | 0                         | 4      | 8      |
| 1         | 1 B a                     | 3 C a  | 7 B a  |
| 2         | 25 A c                    | 41 B b | 58 A a |
| 3         | 32 A b                    | 50 A a | 53 A a |

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha, não diferem entre si, pelo Teste de Scott-Knott, ao nível de 5% de probabilidade.

Os resultados obtidos no teste de emergência de plântulas em bandeja e índice de velocidade de emergência, sob condições de casa de vegetação, estão apresentados na Tabela 2. Menores valores de emergência de plântulas foram observados em sementes processadas no estágio de desenvolvimento E1, para as duas espécies, em todos os períodos de armazenamento, com exceção dos observados em sementes da malagueta no quarto mês de armazenamento, nos quais não houve diferença estatística entre os diferentes estádios. Segundo Nascimento et al. (2006), a semeadura de sementes de pimenta recém-extraídas do fruto pode representar um risco para a obtenção de estandes uniformes, contribuindo para a elevação do gasto de sementes.

Para as sementes de malagueta e habanero aos 4 meses de armazenamento houve aumento nos valores de emergência de plântulas

provenientes de sementes processadas nos diferentes estádios de desenvolvimento, com exceção das sementes da malagueta processadas no estádio E2. Houve redução desses valores aos oito meses de armazenamento, em sementes de malagueta colhidas no estádio E1 (Tabela 2).

É importante ressaltar também que apesar dos relatos sobre a ocorrência de dormência em sementes de pimenta (Randle & Honma, 1981; Edwards & Sundstrom, 1987), há também referências nas quais é mencionado o sucesso no estabelecimento de plântulas em casa de vegetação, quando as sementes de determinadas cultivares são extraídas de frutos completamente maduros e semeadas em seguida (Bolsland, 1999). Randle & Honma (1981) verificaram em trabalho com diferentes cultivares do gênero *Capsicum*, que o genótipo e a idade do fruto influenciam na intensidade de dormência das sementes. Os autores afirmam que sementes extraídas de frutos supermaduros germinam mais rapidamente, havendo aumento da intensidade de dormência com o decréscimo da idade do fruto.

No início do armazenamento, logo após a extração e secagem, foram observadas em sementes de pimenta malagueta colhidas maduras e que permaneceram em repouso dentro do fruto por sete dias, maiores valores de emergência de plântulas. Essa diferença não foi observada aos quatro meses de armazenamento. Já aos oito meses de armazenamento menores valores de emergência foram observados em sementes colhidas mais imaturas. Esse resultado também foi observado no índice de velocidade de emergência (IVE) (Tabela 2).

Pelos resultados do IVE, foi observado menor vigor em sementes de malagueta e habanero colhidas no estádio E1. Neste teste observou-se aumento de vigor nas sementes armazenadas por quatro meses e processadas nos três estádios. No entanto, aos oito meses, para a malagueta, houve aumento de vigor das processadas no E3, redução nas colhidas no E1 e manutenção das colhidas

no E2. Já para a habanero, aos oito meses, houve aumento de vigor das processadas no E3 e E2 e manutenção das colhidas no E1.

Segundo Barbedo C. et al. (1994), pelo índice de velocidade de emergência foi possível detectar pequenas diferenças existentes na qualidade fisiológica das sementes de pepino de frutos colhidos entre 15 e 45 DAA e não submetidos ao armazenamento. Valdes & Gray (1998), ao colherem frutos de tomate com diferentes idades, mas sem submetê-los ao armazenamento pós-colheita, observaram que o tempo médio de germinação das sementes diferiu significativamente entre os estádios de maturação do fruto, sendo maior nas sementes menos maduras e decrescendo com decorrer da maturação.

Pelos resultados do teste de envelhecimento acelerado, em sementes de malagueta (Tabela 3), verificou-se aumento no vigor das sementes de malagueta armazenadas aos quatro meses, em relação às sementes recém armazenadas. Embora tenha ocorrido redução no vigor das sementes colhidas no estágio E1 aos oito meses de armazenamento, não foi observada diferença estatística significativa. Para a espécie de habanero (Tabela 3), esse aumento no vigor foi observado aos quatro e oito meses de armazenamento em sementes colhidas no estágio E2. Já para as sementes processadas nos estádios E1 e E3 este aumento foi observado no oitavo mês de armazenamento.

No início do armazenamento, sementes processadas no E3, mostraram-se mais vigorosas, para as duas espécies. Já aos quatro e oito meses de armazenamento não houve diferença estatística entre os valores de vigor observados nas sementes de malagueta processadas nos estádios E2 e E3. Para habanero as sementes processadas no estágio E3 foram mais vigorosas em todos os períodos de armazenamento. Independente do período de armazenamento menor vigor foi observado em sementes de habanero colhidas no estágio E1. Esse último resultado também foi observado por meio do teste de condutividade elétrica (Tabela 5).

**TABELA 2** Valores médios de emergência (%) e índice de velocidade de emergência (IVE) de plântulas normais de sementes de pimenta malagueta e habanero colhidas em diferentes estádios de desenvolvimento ao longo do armazenamento.

| Malagueta  |                           |        |        |
|------------|---------------------------|--------|--------|
| Estádios   | Períodos de armazenamento |        |        |
|            | 0                         | 4      | 8      |
| Emergência |                           |        |        |
| 1          | 52 C b                    | 69 A a | 54 B b |
| 2          | 68 B a                    | 76 A a | 71 A a |
| 3          | 60 A b                    | 71 A a | 75 A a |
| IVE        |                           |        |        |
| 1          | 9 B c                     | 19 B a | 16 B b |
| 2          | 20 A b                    | 27 A a | 26 A a |
| 3          | 18 A c                    | 24 A b | 28 A a |
| Habanero   |                           |        |        |
| Estádios   | Períodos de armazenamento |        |        |
|            | 0                         | 4      | 8      |
| Emergência |                           |        |        |
| 1          | 5 C b                     | 35 B a | 30 B a |
| 2          | 60 B b                    | 85 A a | 84 A a |
| 3          | 75 A b                    | 86 A a | 87 A a |
| IVE        |                           |        |        |
| 1          | 0 C b                     | 5 B a  | 5 C a  |
| 2          | 8 B c                     | 23 A b | 29 B a |
| 3          | 13 A c                    | 25 A b | 34 A a |

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha, para cada variável, não diferem entre si, pelo Teste de Scott-Knott, ao nível de 5% de probabilidade.

Nesse teste de envelhecimento acelerado, o vigor foi crescente até o quarto mês de armazenamento, em sementes de malagueta, em todos os estádio de desenvolvimento. Esses resultados são similares aos observados em tomate (Vidigal et al., 2006; Dias et al., 2006), abóbora italiana (Alvarenga et al., 1991) e melancia (Alvarenga et al., 1984).

**TABELA 3** Valores médios de plântulas normais obtidas após o envelhecimento acelerado de sementes de pimenta malagueta e habanero colhidas em diferentes estádios de desenvolvimento ao longo do armazenamento.

| Malagueta |                           |        |        |
|-----------|---------------------------|--------|--------|
| Estádios  | Períodos de armazenamento |        |        |
|           | 0                         | 4      | 8      |
| 1         | 5 B b                     | 49 B a | 40 B a |
| 2         | 9 B b                     | 63 A a | 70 A a |
| 3         | 52 A b                    | 69 A a | 69 A a |
| Habanero  |                           |        |        |
| Estádios  | Períodos de armazenamento |        |        |
|           | 0                         | 4      | 8      |
| 1         | 1 C b                     | 3 C b  | 23 C a |
| 2         | 20 B c                    | 68 B b | 87 B a |
| 3         | 43 A b                    | 47 A b | 95 A a |

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha, não diferem entre si, pelo Teste de Scott-Knott, ao nível de 5% de probabilidade.

Maior lixiviação de exudatos foi observada em sementes imaturas em função de menor estruturação do sistema de membranas das organelas e celular. Da mesma, forma, maior lixiviação também foi observada aos oito meses de armazenamento (Tabela 5).

O valor da condutividade elétrica medida na solução de embebição de sementes é função da quantidade de íons lixiviados, estando diretamente relacionado com a integridade das membranas celulares. Desta forma, membranas mal estruturadas e células danificadas estão, geralmente, associadas com o processo de deterioração da semente, ou seja, com sementes de baixo vigor (Vieira & Krzyzanowski, 1999; AOSA, 2002).

Em sementes de pimenta habanero (Tabela 5), maior vigor avaliado pelo teste de condutividade elétrica, foi observado em sementes processadas no estádio E3, recém armazenadas e armazenadas por oito meses. Não houve diferença significativa nos valores de condutividade observados em sementes processadas nos estádios E2 e E3 e armazenadas por período de quatro meses.

Corroborando os resultados dos demais testes de vigor, menores valores de condutividade elétrica foram obtidos com o aumento da idade dos frutos, indicando maior organização do sistema de membranas das sementes com o decorrer da maturação. Demir & Ellis (1992) verificaram que a condutividade elétrica de sementes de tomate que era máxima aos 25 dias após antese, atingiu valor mínimo aos 55 dias após antese, coincidindo com o potencial máximo de germinação das sementes.

Independente do estágio de desenvolvimento, em sementes de pimenta habanero, ao final dos 8 meses de armazenamento houve menores médias de condutividade elétrica. Resultados semelhantes foram observados por Vidigal et al. (2006); Dias et al. (2006) em sementes de tomate obtidas de frutos em diferentes estádios de maturação e também submetidos ao armazenamento pós-colheita.

Em relação aos perfis enzimáticos de sementes de pimenta malagueta foi observada, para a esterase (Figura 1A), maior atividade da enzima nas sementes aos quatro e oito meses de armazenamento. Também foi observada maior atividade dessa enzima em sementes processadas no estágio E3, em relação às sementes colhidas nos estádios E1 e E2, quando recém armazenadas (P0).

**TABELA 4** Valores médios de lixiviados ( $\mu\text{s}/\text{cm}/\text{g}$ ), obtidos por meio do teste de condutividade elétrica em sementes de pimenta malagueta colhidas em diferentes estádios de desenvolvimento ao longo do armazenamento.

| Estádios | Condutividade elétrica | Períodos | Condutividade elétrica |
|----------|------------------------|----------|------------------------|
| 1        | 801 b                  | 0        | 681 a                  |
| 2        | 760 a                  | 4        | 691 a                  |
| 3        | 750 a                  | 8        | 938 b                  |

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo Teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.

**TABELA 5** Valores médios de lixiviados ( $\mu\text{s/cm/g}$ ), obtidos por meio do teste de condutividade elétrica em sementes de pimenta habanero colhidas em diferentes estádios de desenvolvimento ao longo do armazenamento.

| Estádios | Períodos de armazenamento |         |         |
|----------|---------------------------|---------|---------|
|          | 0                         | 4       | 8       |
| 1        | 825 C b                   | 580 B b | 634 C a |
| 2        | 750 B c                   | 535 A b | 463 B a |
| 3        | 654 A c                   | 511 A b | 406 A a |

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha, não diferem entre si, pelo Teste de Scott-Knott, ao nível de 5% de probabilidade.

Em sementes de pimenta habanero (Figura 2A), em relação aos perfis enzimáticos para a esterase, foi observado maior atividade da enzima nas sementes armazenadas por oito meses. Isto pode estar relacionado à deterioração das sementes ao longo do armazenamento. Também foi observada maior atividade dessa enzima em sementes colhidas no estágio E1 nos três períodos de armazenamento. Isto pode ser atribuído à maior imaturidade destas sementes.

A esterase é uma enzima que participa da hidrólise de ésteres de membrana. Esse fato demonstra maior peroxidação de lipídios, uma vez que esta enzima está envolvida em reações de hidrólise de ésteres estando diretamente ligada ao metabolismo de lipídios (Santos et al., 2004). Muitos desses lipídios são constituintes de membranas, cuja degradação aumenta com a deterioração.

Brandão Júnior. et al. (1999) observaram diminuição da intensidade de um grupo de bandas de esterase e aumento de outras com o envelhecimento de sementes de milho. Chauhan et al. (1985) verificaram, em sementes de soja e cevada, aumento no número de bandas com o envelhecimento das sementes, sendo algumas bandas associadas a estádios específico de envelhecimento.

Por outro lado, o alto teor de gordura das sementes favorece, neste grupo de enzimas hidrolíticas, a liberação de ácido graxo dos lipídios, os quais são usados na beta oxidação, como fonte de energia para os eventos germinativos.



Na presente pesquisa, para sementes de pimenta malagueta, o aumento na atividade dessa enzima no estágio de desenvolvimento E3, quando recém armazenadas, parece estar associado ao acúmulo de lipídeos nas sementes. De uma maneira geral, em sementes recém armazenadas (P0), maiores valores de vigor e germinação foram observados naquelas processadas no estágio de desenvolvimento E3 (Tabelas 4, 6, 8 e 10).

Dessa forma, infere-se que os lipídeos presentes nas sementes tenham sido utilizados como fonte de energia durante o processo de germinação. Segundo Bosland & Votava (1999) em sementes de pimenta há 26,1% de óleo o que justifica tal resultado. Aos quatro e oito meses de armazenamento não foi observado alterações nos padrões dessa enzima nas sementes processadas nos diferentes estádios de desenvolvimento.

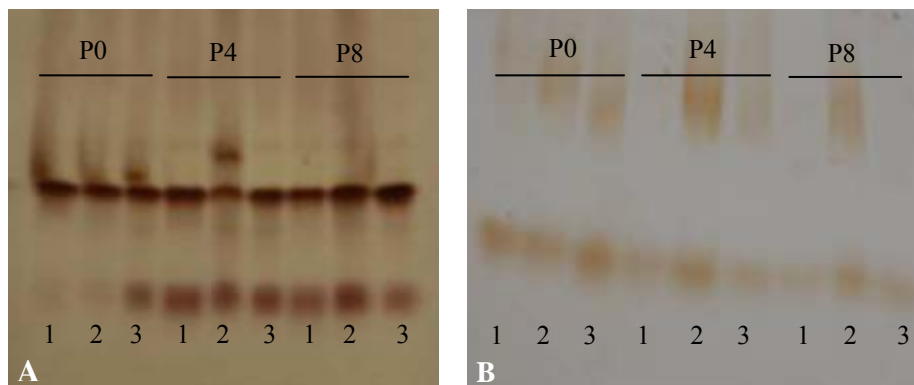
Maior atividade da enzima peroxidase (Figura 1B e 2B) foi encontrada em sementes recém armazenadas, em sementes de pimenta malagueta e habanero, em todos os estádios de desenvolvimento.

De acordo com Braverman (1967), Teisson (1979) e Nickerson & Rosinvalii (1980) a oxidação enzimática dos fenóis ocorre por meio de dois grupos de isoenzimas: as polifenoloxidasas e as peroxidases. As peroxidases catalisam as reações de uma grande variedade de compostos em plantas superiores (Barz & Hoesel, 1979). Entre esses compostos estão os fenóis, cuja oxidação pelas peroxidases é bastante conhecida. No entanto, o efeito das peroxidases na germinação de sementes é devido, tanto à sua ação benéfica na oxidação dos compostos fenólicos, possíveis inibidores naturais da germinação, quanto ao seu efeito competidor pelo oxigênio disponível, neste último caso, há atraso ou inibição da germinação. Esse atraso ou inibição da germinação foi confirmado pelo teste de germinação, Tabela 1, em sementes de malagueta e habanero.

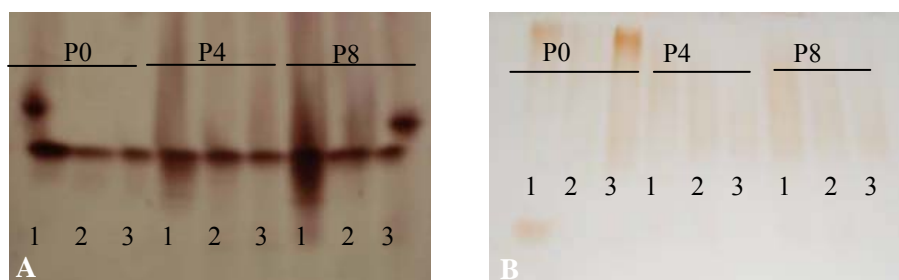
De uma maneira geral, maior atividade dessa enzima foi observada em sementes recém armazenadas (P0). Durante o armazenamento houve redução da atividade dessa enzima, nas sementes processadas nos estádios de desenvolvimento E1 e E3, em sementes de pimenta malagueta.

Infere-se que durante o armazenamento a dormência das sementes foi superada e a atividade da enzima peroxidase decresceu. Segundo Zawistowski et al. (1991), a peroxidase está presente nas membranas e com a desestruturação dessas membranas a enzima atua na oxidação dos compostos fenólicos reduzindo o conteúdo desses nas sementes. Nesse contexto, como os compostos fenólicos são inibidores da germinação, pode-se inferir que quanto mais intensa a dormência das sementes maior deverá ser a atividade da peroxidase.

Pelos resultados observados na maioria dos trabalhos realizados para a avaliação da qualidade fisiológica em sementes de pimenta malagueta e habanero houve aumento nos valores de germinação e de vigor das sementes armazenadas a partir do quarto mês.



**FIGURA 1** Perfis enzimáticos da esterase (A) e peroxidase (B) de sementes de pimenta malagueta processadas nos estádios E1 (1), E2 (2) e E3 (3) nos três períodos de armazenamento 0 (P0), 4 (P4) e 8 (P8) meses.



**FIGURA 2** Perfis enzimáticos da esterase (A) e peroxidase (B) de sementes de pimenta habanero processadas nos estádios E1 (1), E2 (2) e E3 (3) nos três períodos de armazenamento 0 (P0), 4 (P4) e 8 (P8) meses.

Em relação à enzima superóxido desmutase (SOD) em sementes de pimenta malagueta, Figura 3A, maior atividade foi observada em sementes processadas no estágio E3 e armazenadas por quatro e oito meses. Essa enzima catalisa os radicais superóxidos livres ( $O_2^-$ ), produzidos em diferentes locais da célula, para oxigênio molecular e  $H_2O_2$  (Rabinowitch & Fridovich, 1983).

Em várias pesquisas tem sido observada maior atividade dessa enzima em sementes com alta qualidade fisiológica (kalpana & Madhava Rao, 1994). Na presente pesquisa sementes de pimenta malagueta processadas no estágio E3 e armazenadas por 4 meses foram observadas maiores valores de germinação e de vigor (Tabelas 1, 2 e 3).

Em sementes de pimenta habanero (Figura 4A) a atividade da enzima SOD aumentou aos quatro meses de armazenamento, nos três estádios de desenvolvimento. Aos oito meses de armazenamento menor atividade foi observada em sementes processadas no estágio E2 e E3 enquanto que em sementes processadas no estágio E1 houve aumento na atividade dessa enzima. De acordo com os dados de germinação e vigor (Tabelas 1, 2 e 3) sementes processadas no estágio E1 apresentaram baixa qualidade fisiológica, pois não se encontravam totalmente formadas.

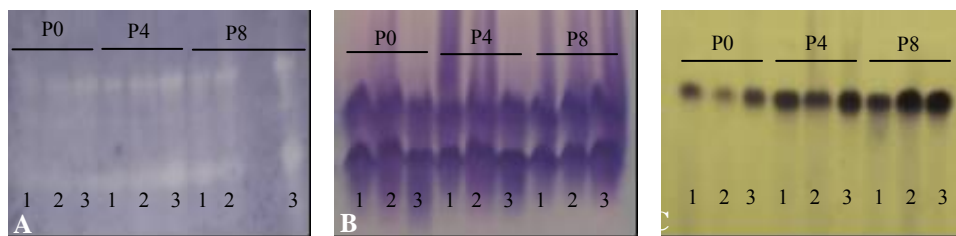
A enzima malato desidrogenase (MDH), em sementes de malagueta (Figura 3B), teve atividade reduzida em sementes processadas no estágio E1, em todos os períodos de armazenamento, caracterizando redução na respiração aeróbica, uma vez que essa enzima tem uma função importante no ciclo de Krebs para a produção de NADH. Por outro lado maior atividade dessa enzima foi observada em sementes processadas nos estádios E2 e E3 e armazenadas por oito meses.

Em sementes de pimenta habanero (Figura 4B) houve atividade reduzida dessa enzima, em sementes processadas em todos os estádios de desenvolvimento, aos quatro meses de armazenamento e aumento aos oito meses de armazenamento.

A MDH catalisa a conversão de malato a oxalacetato, e, além da importante função dentro do ciclo de Krebs, participa do movimento de malato através da membrana mitocondrial e da fixação de CO<sub>2</sub> nas plantas (Taiz & Zeiger, 2004).

Quanto ao sistema enzimático da álcool desidrogenase (ADH) (Figuras 3C e 4C), foi observada maior atividade em sementes armazenadas aos quatro e oito meses para as duas espécies de pimenta em estudo. Ainda foi observada maior atividade dessa enzima nas sementes processadas no estágio E3, quando recém armazenadas e aos quatro meses de armazenamento, em sementes de pimenta malagueta. Em sementes de habanero (Figura 4C) no estágio de desenvolvimento E2 foi observada maior atividade dessa enzima, aos quatro e oito meses de armazenamento.

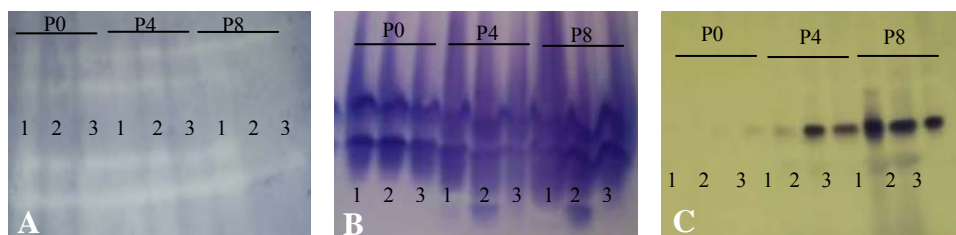
Esta enzima está relacionada à respiração anaeróbica, promovendo redução do acetaldeído a etanol (Buchanan et al., 2005). O acetaldeído acelera a deterioração das sementes (Zhang et al., 1994). Com o aumento da atividade da ADH, as sementes ficam mais protegidas contra a ação deletérea deste composto, a qual é maior quanto comparada a do etanol.



**FIGURA 3** Perfis enzimáticos da superóxido desmutase-SOD (A), malato desidrogenase-MDH (B) e álcool desidrogenase-ADH (C) de sementes de pimenta malagueta processadas nos estádios E1 (1), E2 (2) e E3 (3) nos três períodos de armazenamento 0 (P0), 4 (P4) e 8 (P8) meses.

Em relação à enzima endo- $\beta$ -mananase houve aumento da atividade em sementes de pimenta malagueta (Figura 5) e habanero (Figura 6) processadas nos estádios de desenvolvimento mais avançados.

Foi observada ainda menor atividade da enzima nas sementes recém armazenadas independente do estágio de desenvolvimento das sementes. Na presente pesquisa maiores valores de germinação e vigor foram observados após o armazenamento das sementes, supondo-se quebra de dormência das sementes durante o armazenamento (Tabelas 1, 2 e 3).

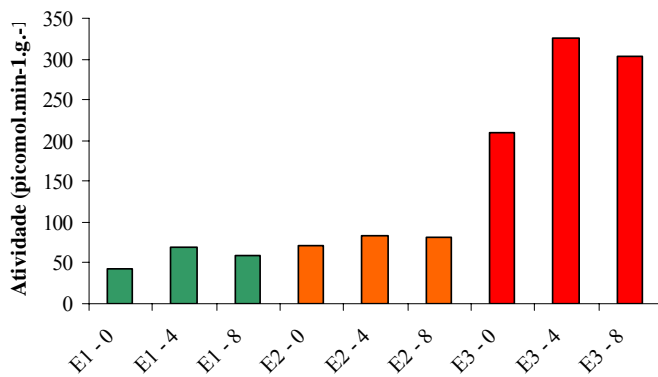


**FIGURA 4** Perfis enzimáticos da superóxido desmutase-SOD (A), malato desidrogenase-MDH (B) e álcool desidrogenase-ADH (C) de sementes de pimenta habanero processadas nos estádios E1 (1), E2 (2) e E3 (3) nos três períodos de armazenamento 0 (P0), 4 (P4) e 8 (P8) meses.

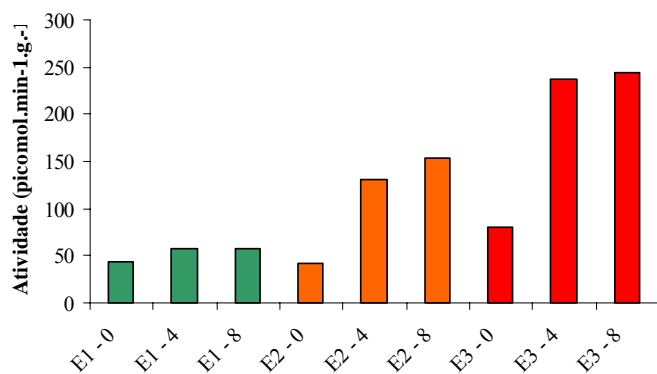
Isto se deve ao fato de a enzima endo- $\beta$ -mananase estar envolvida na degradação do endosperma na germinação das sementes. Em sementes de alface e café esta enzima é considerada chave no processo de germinação, estando envolvida na degradação de mananas no momento da germinação, resultando no enfraquecimento das paredes celulares do endosperma (Silva et al., 2004; Veiga, 2005).

Em síntese observa-se por meio dos testes fisiológicos e pela atividade das enzimas avaliadas que as sementes de pimenta malagueta devem ser colhidas no estágio E3 quando forem comercializadas logo após o processamento. Caso as sementes sejam armazenadas por períodos acima de quatro meses poderão ser processadas a partir de frutos colhidos nos estádios de desenvolvimento E2 ou E3.

Já em sementes de pimenta habanero a colheita deverá ser realizada no estágio E3 que garante comercialização de sementes de melhor qualidade. Em ambas as espécies o processamento das sementes a partir de frutos colhidos no estágio E1 deve ser evitado, uma vez que nesse foi observada menor qualidade fisiológica das sementes, em função da dormência observada nas mesmas. Nesse aspecto observa-se que ponto de maturidade fisiológica das sementes dessas espécies não coincide com os valores máximos de germinação e vigor em função da incidência de dormência.



**FIGURA 5** Atividade da enzima endo- $\beta$ -mananase em sementes de pimenta malagueta processadas nos estádios de desenvolvimento E1, E2 e E3 em três períodos de armazenamento 0, 4 e 8 meses.



**FIGURA 6** Atividade da enzima endo- $\beta$ -mananase em sementes de pimenta habanero processadas nos estádios de desenvolvimento E1, E2 e E3 em três períodos de armazenamento 0, 4 e 8 meses.

## 6 CONCLUSÕES

A qualidade fisiológica das sementes de pimenta malagueta e habanero processadas nos diferentes estádios de desenvolvimento dos frutos varia durante o armazenamento.

Existe dormência em sementes de pimenta malagueta e habanero principalmente quando recém armazenadas e é superada aos quatro meses de armazenamento.

Há variações na atividade das enzimas esterase, superóxido desmutase, peroxidase, malato desidrogenase, álcool desidrogenase e endo- $\beta$ -mananase durante o desenvolvimento e o armazenamento das sementes.



## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALFENAS, A. C.; PETERS, I.; BRUCE, W.; PASSADOS, G. C. **Eletroforese se proteínas e isoenzimas de fungos e essências florestais**. Viçosa, MG: UFV, 1991. 242 p.

ALVARENGA, E. M.; SILVA, R. F.; ARAUJO, E. F.; CARDOSO, A. A. Influência da idade e armazenamento pós-colheita dos frutos na qualidade de sementes de melancia. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 2, n. 2, p. 5-8, 1984.

ALVARENGA, E. M.; SILVA, R. F.; ARAUJO, E. F.; LEIRO, L. S. Maturação fisiológica de sementes de abóbora italiana. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 13, n. 2, p. 147-150, 1991.

ASSOCIATION OF OFFICIAL SEED ANALYSTS. **Seed vigor testing handbook**. Lincoln, 2002. 105 p. (Contribution, 32).

BARBEDO, A. S. C.; ZANIN, A. C. W.; BARBEDO, C. J.; NAKAGAWA, J. Efeitos da idade e do período de repouso pós-colheita dos frutos sobre a qualidade de sementes de berinjela. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 12, n. 1, p. 18-21, 1994.

BARBEDO, C. J.; NAKAGAWA, J.; BARBEDO, A. S. C.; ZANIN, A. C. W. Influência da idade e do período de repouso pós-colheita de frutos de pepino cv, Rubi na qualidade fisiológica de sementes. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 12, n. 2, p. 14-18, 1994.

BARZ, W.; HOESEL, W. Metabolism and degradation of phenolic compounds. In: SWAIN, T.; HARBONE, J.B.; VAN SUMERE, C.F., (Ed). **Biochemistry of plant phenolics**. Bélgica: Plenum, 1979. v. 12, p. 339.

BELLETTI, P. & QUAGLIOTTI, L. Problems of seed production and storage of pepper. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON INTEGRATED MANAGEMENT PRACTICES, Tainan, Taiwan, 1988. **Tomato and pepper production in the tropics**. Taipei: Asian Vegetable Research and Development Center, 1989. p.28-41.

BOSLAND, P. W.; VOTAVA, E. J. **Peppers: vegetable and spice capsicums**. Wallingford: CAB International, 1999. 204 p. (CAB. Crop Production Science in Horticulture, 12).

BRANDÃO JUNIOR, D. S.; CARVALHO, M. L. M.; VIEIRA, M. G. G. C. Variações eletroforéticas de proteínas e isoenzimas relativas à deterioração de sementes de milho envelhecidas artificialmente. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 21, n. 1, p. 114-121, 1999.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. Coordenação de Laboratório Vegetal. **Regras para análise de sementes**. Brasília, 1992. 365 p.

BRAVERMAN, J. B. S. Vitaminas. In: INTRODUCCIÓN a la bioquímica de los alimentos. Barcelona: Omega, 1967. cap. 14, p. 206-239.

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

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

CHAUHAN, K. P. S. The incidence of deterioration and its localization in aged seeds of soybean and barley. **Seed Science and Technology**, Zürich, v. 13, n. 3, p. 769-773, 1985.

COPELAND, L. O.; McDONALD, M. B. **Principles of seed science and technology**. 4. ed. New York: Chapman e Hall, 2001. 467 p.

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

DIAS, D. C. F. S.; RIBEIRO, F. P.; DIAS, L. A. S.; SILVA, D.H.; VIDIGAL, D. S. Tomato seed quality in relation to fruit maturation and post-harvest storage. **Seed Science and Technology**, Zürich, v. 34, n.3, p. 691-699, 2006.

DOWNIE, B.; HILLHORST, H. W. M.; BEWLEY, J. D. A new assay for quantifying endo- $\beta$ -mannanase activity using Congo Red dye. **Phytochemistry**, Oxford, v. 36, n. 4, p. 829-835, July 1994.

EDWARDS, R. S.; SUNDSTROM, F. J. After-ripening and harvesting effects on Tabasco pepper seed germination performance. **HortScience**, Alexandria, v. 22, n. 3, p. 473-475, 1987.

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

KALPANA, R.; MADHAVA RAO, K.V. Absence of the role of lipid peroxidation during accelerated ageing of seeds of pigeonpea (*Cajanus cajan* (L.) Millsp.) cultivars. **Seed Science e Technology**, Zurich, v. 22, p. 253-260, 1994.

LAKSHMANAN, V.; BERKE, T. G. Lack of primary seed dormancy in pepper (*Capsicum* spp.). **Capsicum and Eggplant Newsletter**, Turim, v. 17, n. 1, p. 72-75, 1998.

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

NASCIMENTO, W. M. Condicionamento osmótico de sementes de hortaliças: potencialidades e implicações. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 16, n. 12, p. 106-109, nov. 1998.

NASCIMENTO, W. M.; DIAS, D. C. F. S.; FREITAS, A. F. Produção de sementes de pimentas. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 27, n. 235, p. 30-39, nov./dez. 2006.

NIKERSON, J. T. R.; ROSINVALLI, L. J. Enzyme reactions. In: NIKERSON, J. T. R.; ROSINVALLI, L. J. **Elementary food science**. Westport: AVI, 1980. cap. 8, p. 113-121.

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.

PINHO, E. V. R. V.; SILVA, T. T. A.; CARVALHO, J. A.; OLIVEIRA, J. A.; GUIMARÃES, R. M. Conservação de sementes de citrumelo Swingle. **Revista Brasileira de Armazenamento**, Viçosa, MG, v. 30, n. 2, p. 178-185, 2005.

RABINOWITCH, H. D.; FRIDOVICH, I. Superoxide radicals, superoxide dismutases and oxygen toxicity in plants Photochem. **Photochemistry and Photobiology**, Augusta, v. 37, n. 6, p. 679-690, 1983.

RANDLE, W. M.; HONMA, S. Dormancy in peppers. **Scientia Horticulturae**, Alexandria, v. 14, p. 19-25, 1981.

SANCHEZ, V. M.; SUNDSTROM, G. N.; McCLURE, G. N.; LANG, N. S. Fruit maturity, storage and postharvest maturation treatments affect bell pepper (*Capsicum annuum* L.) seed quality. **Scientia Horticulturae**, Alexandria, v. 54, n. 3, p. 191-201, 1993.

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

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

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2004.

TEISSON, C. Le brunissement interne de lananas. **Fruits**, Paris, v. 34, n. 4, p. 245-281, 1979.

TORRES, S. B. Envelhecimento acelerado em sementes de pimenta-malagueta (*Capsicum frutescens* L.). **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 36, n. 1, p. 98-104, jan./abr. 2005.

VALDES, V. M.; GRAY, D. The influence of stage of fruit maturation on seed quality in tomato (*Lycopersicon lycopersicum* (L.) Karsten). **Seed Science and Technology**, Zürich, v. 26, n. 2, p. 309-318, 1998.

VEIGA, A. D. **Armazenabilidade de sementes de cafeeiro em diferentes estádios de maturação e submetidas à diferentes métodos de secagem**. 2005. 60 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

VIDIGAL, D. S.; DIAS, D. C. F. S.; NAVEIRA, D. S. P.; ROCHA, F. B.; BHERING, M. C. Qualidade fisiológica de sementes de tomate em função da idade e do armazenamento pós-colheita dos frutos. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v. 28, n. 3, p. 87-93, 2006.

VIEIRA, R. D.; KRZYZANOWSKI, E. C. Teste de condutividade elétrica. In: KRZYZANOWSKI, E. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA NETO, J. B. (Ed.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999. p. 1, 4, 26.

ZAWISTOWSKI, J.; BILIADERIS, C. G.; ESKIN, N. A. M. Polyphenoloxidases. In: ROBINSON, D. S.; ESKIN, N. A. M. **Oxidative enzymes in foods**. New York: Elsevier Applied Science, 1991. p. 217-274.

ZHANG, M.; MAEDA, Y.; FUTIHATA, Y.; NORAMURA, Y.; ESASHI, Y. A mechanism of seed deterioration in relation to volatile compounds evoked by dry seeds themselves. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 4, n. 1, p. 49-56, 1999.

## CAPÍTULO 3

### 1 RESUMO

A demanda por sementes de pimenta com alta qualidade tem crescido substancialmente nos últimos anos, o que exige padrões de qualidade mais rígidos aliados a adoção de tecnologias de produção avançadas. Nesse aspecto há a necessidade de conhecer as mudanças que ocorrem durante o processo de germinação e no armazenamento das sementes. Objetivou-se nessa pesquisa verificar as alterações enzimáticas durante o processo de germinação das sementes de pimenta malagueta e habanero yellow processadas em diferentes estádios de maturação durante o armazenamento. Os ensaios foram realizados na área experimental e no Laboratório Central de Sementes do Departamento de Agricultura da UFLA. Para a instalação dos experimentos, visando à produção de sementes, foram formadas mudas em casa de vegetação, com posterior transplântio das mesmas no campo. As sementes, das duas espécies, foram extraídas manualmente de frutos em três estádios de desenvolvimento: E1(frutos com os primeiros sinais de amarelecimento), E2 (frutos maduros) e E3 (Frutos maduros e submetidos a sete dias de repouso). Após a extração as sementes foram secadas em estufa com circulação de ar a 35 C até atingirem 8% de teor de água. Após a secagem, as sementes foram acondicionadas em embalagens plásticas impermeáveis e armazenadas em câmara fria a 10°C e 50% de umidade relativa por períodos de zero, quatro e oito meses. Para a avaliação da atividade das enzimas esterase, malato desidrogenase (MDH), álcool desidrogenase (ADH),  $\alpha$ -amilase e endo- $\beta$ -mananase durante a germinação das sementes, processadas em diferentes estádios de desenvolvimento e armazenadas por diferentes períodos, sementes foram amostradas, por períodos de 0, 48, 96 e 144 horas após a semeadura. A qualidade fisiológica das sementes durante o armazenamento também foi avaliada por meio de testes de germinação e de vigor. O delineamento estatístico utilizado para as análises dos dados dos testes fisiológicos foi o de blocos casualizados em esquema fatorial 3x3 cujos fatores foram estádios de desenvolvimento e de períodos de armazenamento. Houve variações na atividade das enzimas esterase, MDH, ADH,  $\alpha$ -amilase e endo- $\beta$ -mananase das sementes processadas em diferentes estádios de desenvolvimento e durante o armazenamento. As enzimas  $\alpha$ -amilase e endo- $\beta$ -mananase foram

---

\* Comitê Orientador: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Édila Vilela de Resende Von Pinho – UFLA (Orientadora), Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Maria Laene Moreira de Carvalho – UFLA (Co-orientadora), Prof. Dr. Renato Mendes Guimarães – UFLA (Co-orientador).

importantes no processo de germinação de sementes de pimenta malagueta e habanero. Por meio dessas enzimas foi possível explicar os menores valores de germinação e vigor observados em sementes processadas a partir de frutos com os primeiros sinais de amarelecimento (E1). Em sementes recém-armazenadas, maiores valores de germinação e vigor foram observados em sementes processadas a partir de frutos que permaneceram em repouso por sete dias. A dormência foi observada principalmente em sementes recém armazenadas. A qualidade fisiológica das sementes durante o armazenamento variou com os estádios de desenvolvimento e com o período de armazenamento.

## 2 ABSTRACT

Demand for pepper seeds with high quality has increased substantially in recent years, which requires more stringent standards of quality combined with adoption of advanced production technologies. In this respect there is a need to know the changes that occur during germination and storage of seed. The objective of this research is to verify the enzyme changes during the germination of seeds of chilli pepper and yellow habanero processed at different stages of ripening during storage. The tests were performed in the experimental area and the Central Laboratory of the Department of Agriculture Seeds of UFLA. For the installation of the experiments, to the production of seeds, were formed seedlings in the greenhouse and later transplanted to the same field. The seeds of two species, were extracted manually from fruits in three developmental stages: E1 (fruit with the first signs of yellowing), E2 (ripe fruit) and E3 (mature fruit and subjected to seven days of rest). After extraction the seeds were dried in an oven with circulating air at 35 °C until they reach 8% of water content. After drying, the seeds were packed in waterproof plastic and stored in cold chamber at 10 °C and 50% relative humidity for periods of zero, four and eight months. For assessing the activity of enzymes esterase, malate dehydrogenase (MDH), alcohol dehydrogenase (ADH),  $\alpha$ -amylase and endo- $\beta$ -mannanase during germination of seeds, processed at different stages of development and stored for different periods, seeds were sampled for periods of 0, 48, 96 and 144 hours after seeding. The physiological quality of seeds during storage was also evaluated by testing the germination and vigor. The statistical design used for the analysis of data from physiological tests was randomized blocks in factorial scheme 3x3 which factors were stage of development and periods of storage. There were variations in the activity of enzymes esterase, MDH, ADH,  $\alpha$ -amylase and endo- $\beta$ -mannanase seeds processed in different stages of development and during storage. The enzymes  $\alpha$ -amylase and mannanase were important in the germination of seeds of chilli pepper and habanero. By means of these enzymes could explain the lower values of germination and vigor found in processed seeds from fruits with the first signs of yellowing (E1). In newly-stored seeds, higher germination and vigor were observed in processed seeds from fruits that remained at rest for seven days. The numbness was observed mainly in seeds stored recently. The physiological quality of seeds during storage varied with the stages of development and with the storage period.

---

\* Guidance Committee: Dr.<sup>a</sup> Édila Vilela de Resende Von Pinho – UFLA (Adviser), Dr.<sup>a</sup> Maria Laene Moreira de Carvalho – UFLA (Co-adviser), Dr. Renato Mendes Guimarães – UFLA (Co-adviser)



### 3 INTRODUÇÃO

A demanda por sementes de alta qualidade tem crescido substancialmente nos últimos anos, o que exige das empresas produtoras de sementes a adoção de tecnologias avançadas durante os processos de produção, processamento e armazenamento. Essa adoção de novas tecnologias requer o conhecimento dos fatores que interferem na qualidade fisiológica havendo a necessidade de estudar as alterações fisiológicas e bioquímicas que ocorrem durante o processo de germinação.

No processo de germinação, quando em condições adequadas, a maioria das sementes apresenta um padrão trifásico de absorção de água. A reativação do metabolismo conhecida por fase I é caracterizada pelo rápido aumento da respiração, proporcional ao aumento da hidratação dos tecidos das sementes. Na fase II a atividade respiratória se estabiliza e há indicações de que esteja ocorrendo um transporte ativo de substâncias desdobradas na fase anterior, do tecido de reserva para o tecido meristemático. Nesta fase, os potenciais hídricos do substrato e das sementes são semelhantes, fazendo com que a absorção de água seja quase nula. A terceira fase, na qual a absorção da água tende a aumentar ocorre um segundo aumento na atividade respiratória, que demanda maior disponibilidade de oxigênio, como consequência da ruptura da testa produzida pela emergência da radícula e o crescimento da plântula (Guimarães, 1999).

As sementes da maioria das espécies de *Capsicum* sp, desde que não estejam dormentes, germinam adequadamente sob temperatura constante na faixa de de 25°C a 30°C (Nascimento, 1998). A água é o fator determinante sobre o processo de germinação, que é iniciado pela embebição das sementes, um processo físico relacionado com as propriedades do endosperma. A absorção da água pelas sementes é a primeira etapa na seqüência de eventos, seguida de

ativação enzimática, quebra, translocação e uso do material de reserva, culminando com a retomada do crescimento do eixo embrionário, que resulta na emergência da radícula, significando o final do processo germinativo (Bewley & Black, 1994).

Embora o padrão de absorção de água possa ser similar entre sementes de diferentes espécies, a duração de cada fase é dependente tanto das características da semente, a exemplo de longevidade, estágio de maturação, dormência, cultivar e idade das sementes, quanto das condições do ambiente durante a hidratação, como disponibilidade de água, temperatura e composição do substrato (Bray, 1995).

Assim, nessa pesquisa, foram avaliadas as alterações enzimáticas durante o processo de germinação das sementes de pimenta malagueta e habanero yellow processadas em diferentes estádios de maturação, durante o armazenamento.

#### **4 MATERIAL E MÉTODOS**

A pesquisa foi conduzida na área experimental e no Laboratório Central de Sementes do Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras (UFLA), em Lavras, MG. A cidade está localizada na Região Sul de Minas Gerais, Latitude 21° 14'S e Longitude 40° 17'W e a 918,8 m de altitude. O clima se enquadra no tipo Cwb da classificação de Koppen. A temperatura média anual é de 19,4°C e a pluviosidade se distribuem principalmente de outubro a abril, com valores anuais de 1529,7 mm.

Em uma primeira etapa da pesquisa, no mês de dezembro, foram formadas mudas de pimenta para a instalação do experimento no campo. Para isso as sementes de pimenta das espécies malagueta (*Capsicum frutescens*) e pimenta habanero yellow (*Capsicum chinense*), foram semeadas em bandejas de

“isopor” com 72 células, contendo substrato comercial Plantimax-hortaliças e 5 mL de solução de 2000 ppm de sulfato de amônio por célula. Após 45 dias da semeadura, foi realizado o transplântio das mudas na área experimental do setor de olericultura, do Departamento de Agricultura em área com latossolo vermelho-escuro (LE), textura argilosa.

O solo foi preparado convencionalmente e as correções foram feitas de acordo com a análise química do mesmo. Os ensaios foram instalados em delineamento de blocos casualizados (DBC) com quatro repetições. Cada parcela referente à pimenta Malagueta constou de 2 linhas de 5 m de comprimento com 5 plantas por metro, espaçadas de 1,5 m entre linhas; e cada parcela referente à de pimenta Habanero Yellow foi composta de 2 linhas de 11 metros de comprimento com 11 plantas por metro, espaçadas de 1,5 metros entre linhas.

A adubação de cobertura, assim como os demais tratamentos culturais foram realizados de acordo com os recomendados para a cultura. Os dados de temperatura de umidade relativa do ar durante o desenvolvimento das plantas estão apresentados na tabela 1A.

As sementes, das duas espécies, foram extraídas manualmente de frutos em três estádios de desenvolvimento: E1(frutos com os primeiros sinais de amarelecimento), E2(frutos maduros) e E3(Frutos maduros e submetidos a sete dias de repouso). Após a extração as sementes foram secadas em estufa com circulação de ar a 35°C até atingirem 8% de teor de água.

Os frutos de pimenta malagueta do estágio E1 apresentam característica de cor alaranjada enquanto que do estágio E2 e E3 de cor vermelha. Já os frutos de pimenta habanero do estágio E1 apresentam característica de cor verde com manchas alaranjadas enquanto que do estágio E2 e E3 de cor alaranjada.

As sementes, nos três estádios de desenvolvimento, foram extraídas manualmente e submetidas à secagem em estufa de circulação a 35°C até

atingirem 8%. As sementes foram acondicionadas em embalagens plásticas impermeáveis e armazenadas em câmara fria à 10°C e 50% de umidade relativa.

As sementes recém armazenadas (período 0 de armazenamento) e naquelas armazenadas por quatro e oito meses foram submetidas ao teste de germinação. Nesse teste a semeadura foi feita sobre duas folhas de papel mata borrão, umedecidas com água na proporção de 3 vezes o peso do substrato seco, em caixas plásticas tipo gerbox. As caixas foram mantidas em germinadores sob regime alternado de temperatura e luz (20°C/16 h no escuro e 30°C/8 h na presença de luz). No sétimo dia, foram realizadas as contagens do número de plântulas normais, segundo as Regras para Análise de Sementes-RAS (Brasil, 1992). Cada tratamento foi avaliado em quatro repetições com 50 sementes. Os resultados foram expressos em porcentagem de plântulas normais.

Para as análises eletroforéticas dos padrões enzimáticos e da endo- $\beta$ -mananase, as sementes foram colocadas para germinar segundo a mesma metodologia do teste de germinação e nos períodos de 0, 48, 96 e 144 horas após a semeadura as sementes foram trituradas na presença de PVP e nitrogênio líquido em mortar sobre gelo e posteriormente armazenadas à temperatura de -86°C.

Para a extração das enzimas, esterase, superóxido desmutase (SOD), peroxidase, malato desidrogenase (MDH) e álcool desidrogenase (ADH), foi utilizado o tampão Tris HCL 0,2M pH 8,0 + (0,1% de mercaptoetanol), na proporção de 250 $\mu$ L por 100mg de sementes. O material foi homogeneizado em vortex e mantido em overnight, em geladeira, seguido de centrifugação a 14.000 rpm por 60 minutos, a 4°C.

A corrida eletroforética foi realizada em sistema de géis de poliacrilamida a 7,5% (gel separador) e a 4,5% (gel concentrador). O sistema gel/eletrodo utilizado foi o Tris-glicina pH 8,9. Foram aplicados 50  $\mu$ L 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 peroxidase, esterase (EST), malato desidrogenase (MDH), álcool desidrogenase (ADH) e superóxido dismutase (SOD), conforme Alfenas et al. (1991).

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 Vortex por 1 minuto e levados para centrifuga a 10.000g por 30 minutos a 4oC. 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 oC, 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 limpidos com etanol. Este 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 ficasse em contato com o gel. O gelbond foi coberto com o segundo suporte e estes suportes foram unidos por prendedores. O gel antes de ser aplicado, 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 houvesse perigo de trincas no vidro por diferenças de temperatura entre o vidro e o gel. Neste momento foi feita a aplicação em temperatura ambiente. Após a solidificação, o gel foi armazenado em geladeira por um período de 24 horas. O gel foi furado com furador de 2 mm de diâmetro e estes furos foram

succionados para retirada de restos de gel com bomba a vácuo. Foram aplicados 2µl 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 continham 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-β-mananase comercial de *Aspergillus niger* (Megazyme). O cálculo da atividade da enzima endo-β-mananase foi realizado segundo Downie (1994).

Além do teste de germinação e da avaliação das enzimas durante o processo de germinação, foram determinados o grau de umidade das sementes e vigor por meio dos testes de emergência, índice de velocidade de emergência (IVE), condutividade elétrica e envelhecimento acelerado.

O grau de umidade das sementes foi avaliado em estufa a 105±3°C durante 24 horas, utilizando-se duas subamostras para cada tratamento, conforme as Regras para Análise de Sementes – RAS (Brasil, 1992). Os resultados foram expressos em porcentagem média por tratamento.

No teste de emergência a semeadura foi realizada em bandejas multicelulares de “isopor” com células separadas, contendo substrato comercial (Plantimax-hortaliças). As bandejas foram mantidas em casa de vegetação em

sistema de nebulização intermitente, à temperatura de 25 a 30°C. Cada tratamento foi composto por quatro repetições de 50 sementes. Foram realizadas avaliações diárias a partir do início da emergência, computando-se o número de plântulas emersas até a estabilização do estande. Foi avaliada a porcentagem de plântulas normais aos 14 dias e o índice de velocidade de emergência, segundo a fórmula proposta por Maguire (1962).

O teste de condutividade elétrica foi conduzido no sistema de massa com quatro repetições de 50 sementes por tratamento. As sementes foram pesadas com precisão de duas casas decimais, e em seguida, colocadas em copos plásticos descartáveis com 25mL de água destilada. Após 24 horas de embebição à temperatura de 25°C, a condutividade elétrica foi determinada com auxílio de um condutivímetro com resultados expressos em  $\mu\text{S}/\text{cm}/\text{g}$ , de acordo com o método descrito por Panobianco & Marcos Filho (1998).

No teste de envelhecimento acelerado foram utilizadas caixas plásticas tipo “gerbox”, como compartimento individual (mini-câmera), possuindo em seu interior uma bandeja com tela de alumínio onde as sementes foram distribuídas de maneira a formarem camada uniforme. Dentro de cada compartimento individual, foram adicionados 40 mL de água destilada. As caixas foram mantidas em incubadora por 72 horas, a 38 °C. Decorrido esse período de envelhecimento, quatro amostras de 50 sementes por tratamento foram submetidas ao teste de germinação conforme a metodologia já descrita. A avaliação foi realizada aos 10 dias após a semeadura e os resultados foram expressos em porcentagem média de plântulas normais (Torres, 2005).

O delineamento experimental utilizado nos testes por meio dos quais se avaliou a qualidade fisiológica das sementes de pimentas foi o de blocos casualizados, em esquema fatorial 3X3 para cada espécie separadamente, sendo os fatores: estágio de desenvolvimento do fruto (E1, E2 e E3) e períodos de armazenamento (0, 4 e 8 meses).

Foi realizada a análise de variância para todos os testes, utilizando o programa estatístico Sisvar (Ferreira, 2000). Para a comparação entre as médias, foi utilizado o Teste de Scott-Knott, ao nível de 5% de probabilidade.

Para os dados quantitativos não foi feita regressão por causa de serem apenas 3 pontos estudados e com isto o R<sup>2</sup> seria de 100 %.

## **5 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Os resumos das análises de variâncias dos dados obtidos nos testes para avaliação da qualidade fisiológica das sementes de pimenta malagueta e habanero nos diferentes estádios de desenvolvimento e nos três períodos de armazenamento estão apresentados nas Tabelas 2A e 3A, respectivamente. Houve interação significativa entre o estágio de desenvolvimento x período de armazenamento para todas as variáveis estudadas, nas duas espécies, com exceção do teste de condutividade elétrica para a pimenta malagueta, que houve significância apenas para cada fator isolado.

Logo após a extração, antes de as sementes terem sido submetidas à secagem, os graus de umidade das sementes de pimenta malagueta foram de: 50,55% no estágio de desenvolvimento 1 (E1), 47,19% no segundo estágio (E2) e 33,12% no estágio 3 (E3). Já para a pimenta habanero foram: 68,98% no estágio de desenvolvimento 1 (E1), 62,37% no segundo estágio (E2) e 54,51% no estágio 3 (E3).

O grau de umidade das sementes acondicionadas em embalagens plásticas impermeáveis foi monitorado durante o armazenamento e, independente do estágio de desenvolvimento verificou-se manutenção do mesmo em 8%. Pinho et al. (2005), ao armazenarem sementes de citrumelo ‘Swingle’ em embalagens plásticas impermeáveis, também observaram que o teor de água nas sementes não foi alterado, durante o armazenamento.



Menores valores de germinação foram observados nas sementes de pimenta malagueta e habanero processadas no primeiro estágio de desenvolvimento (E1), em todos os períodos de armazenamento (Tabela 1). Nos períodos de 0 e 8 meses de armazenamento, para ambas as espécies, não houve diferença entre os valores de germinação observados nas sementes processadas nos estádios E2 e E3 de desenvolvimento. Já aos quatro meses de armazenamento maiores valores de germinação foram observados em sementes processadas no estágio de desenvolvimento E3. Segundo Nascimento et. al., (2006) frutos imaturos, de coloração verde, geralmente produzem sementes com baixo vigor e poder germinativo ou até inférteis.

Barbedo A. et al. (1994) também verificaram que sementes de berinjela de melhor qualidade foram obtidas de frutos com 50 dias de idade submetidos a 15 dias de armazenamento pós-colheita. Segundo Sanchez et al. (1993) sementes de pimentão devem permanecer no fruto maduro (idade de 50 dias após antese) após a colheita, de 7 a 14 dias, para que o potencial máximo de germinação seja atingido.

A germinação das sementes de pimenta malagueta processadas nos estádios E1, E2 e E3 foi aumentada no quarto mês de armazenamento. Esse resultado pode estar relacionado à presença de dormência nas sementes a qual foi quebrada ao longo do armazenamento. Esses resultados corroboram aos encontrados por Lakshmanan & Berke (1998), Bosland (1999) e Nascimento (1998), nos quais houve dormência nas sementes recém-colhidas de espécies do gênero *Capsicum*.

Na presente pesquisa, durante a avaliação do teste de germinação em sementes recém armazenadas foi observado à presença de sementes embebidas, sem protrusão radicular. No entanto, essas sementes não encontravam-se mortas, o que pôde ser constatado por meio do teste de tetrazólio. As sementes embebidas estavam viáveis sem quaisquer sintomas de deterioração.

No oitavo mês de armazenamento foi observada redução na germinação em relação à observada no quarto mês de armazenamento, para sementes de malagueta. A redução na germinação com o armazenamento das sementes pode ser atribuída à maior deterioração. Esse resultado também foi observado no teste de emergência de plântulas (Tabela 1).

Nas sementes de pimenta habanero também foi observado aumento da germinação nas sementes processadas nos estádios E2 e E3 no quarto mês de armazenamento. No entanto, esses valores foram mantidos em sementes processadas no estádio E3 ou aumentados, em sementes processadas no estádio E2, aos oito meses de armazenamento. Para essa espécie os valores de germinação observados em sementes processadas no estádio E1 foram muito baixos e não foram diferenciados estatisticamente ao longo do armazenamento.

De uma maneira geral pode-se inferir suposta quebra de dormência das sementes durante o armazenamento. Belletti & Quagliotti (1989) relataram que é alta a porcentagem de sementes de pimenta que não germinam até 14 dias, após a semeadura, podendo ser necessário um período de até 45 dias para que a maioria das sementes de um lote germine satisfatoriamente. Em algumas situações, o atraso na germinação e as reduções no estande final têm sido atribuídos à ocorrência de dormência nas sementes. De acordo com Randle & Honma (1981) o período de duração dessa dormência é relativamente curto, no máximo três meses, de modo que o intervalo de tempo compreendido entre a colheita das sementes e a semeadura é suficiente para que, por ocasião da semeadura, a dormência seja superada. Para se ter garantia de uma emergência rápida e uniforme das plântulas, recomenda-se que, após a colheita dos frutos, extração e secagem das sementes, estas sejam mantidas armazenadas, em condições ambientes, por um período de, pelo menos, seis semanas, para que a dormência seja totalmente superada (Nascimento et al., 2006).

**TABELA 1** Valores médios de plântulas normais, obtidos no teste de germinação (%) de sementes de pimenta malagueta e habanero colhidas em diferentes estádios de desenvolvimento ao longo do armazenamento.

| Malagueta |                           |        |        |
|-----------|---------------------------|--------|--------|
| Estádios  | Períodos de armazenamento |        |        |
|           | 0                         | 4      | 8      |
| 1         | 3 B b                     | 40 C a | 11 B b |
| 2         | 13 A c                    | 55 B a | 42 A b |
| 3         | 22 A c                    | 67 A a | 50 A b |
| ]Habanero |                           |        |        |
| Estádios  | Períodos de armazenamento |        |        |
|           | 0                         | 4      | 8      |
| 1         | 1 B a                     | 3 C a  | 7 B a  |
| 2         | 25 A c                    | 41 B b | 58 A a |
| 3         | 32 A b                    | 50 A a | 53 A a |

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha, não diferem entre si, pelo Teste de Scott-Knott, ao nível de 5% de probabilidade.

De acordo com os padrões enzimáticos não foi observada diferença na atividade das enzimas nas sementes secas e naquelas embebidas por 0 hora daquelas embebidas por 48 horas, em ambas as espécies estudadas, em todos os padrões enzimáticos, com exceção da observada para enzima endo- $\beta$ -mananase.

Foram verificadas variações nos padrões da enzima malato desidrogenase (MDH) em sementes de pimenta malagueta (Figura 1), com o avanço do processo de germinação. Tanto nas sementes recém armazenadas quanto naquelas armazenadas por quatro meses houve atividade maior da enzima até 96 horas de embebição da semente, com redução da mesma no período de 144 horas. Nas sementes armazenadas por período de oito meses, foi observada maior atividade dessa enzima no período de 144 horas de embebição.

Em sementes de pimenta habanero (Figura 2) foi observada menor atividade dessa enzima no período de 144 horas de embebição em sementes processadas nos diferentes estádios de desenvolvimento.

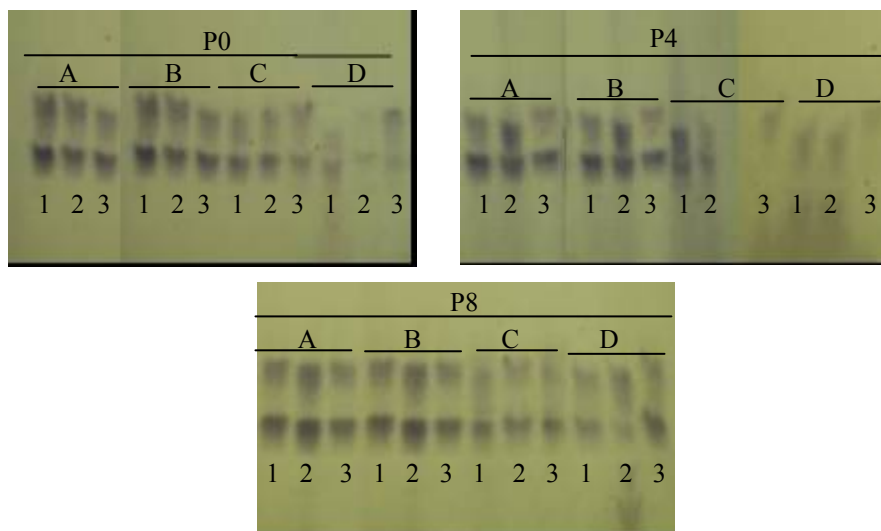
A MDH desempenha papel significativo no ciclo de Krebs, uma vez que catalisa a conversão de malato a oxaloacetato, produzindo NADH, que é um produto fundamental na produção de ATP e de compostos intermediários essenciais ao funcionamento das células (Taiz & Zeiger, 2004), sendo uma enzima chave na respiração aeróbica das sementes.

Infere-se dessa forma que nas sementes recém armazenadas e naquelas armazenadas por quatro meses a respiração aeróbica seja maior no início do processo de germinação. Ressalta-se que a maior porcentagem de protrusão radicular foi observada aos 4 dias da semeadura, em ambas as espécies estudadas.

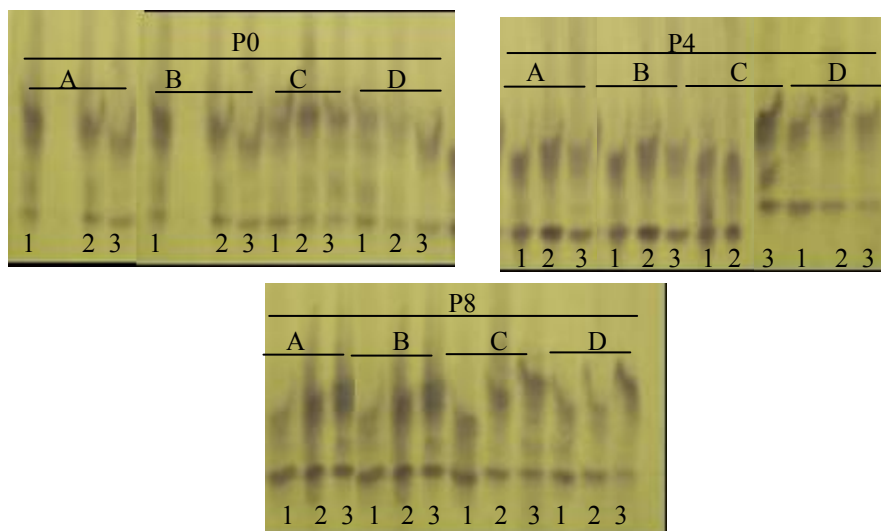
Já no oitavo mês de armazenamento, pelo fato das sementes estarem em estádios mais avançados de deterioração há maior intensidade respiratória e conseqüentemente maior demanda de atividade da enzima MDH em sementes de pimenta malagueta e habanero.

Dependendo do período de armazenamento e do período de embebição considerando as duas espécies estudadas, houve variação nos padrões da enzima MDH em sementes processadas nos diferentes estádios de maturação. Aos quatro meses de armazenamento, por exemplo, menor atividade dessa enzima foi observada em sementes processadas no estágio de desenvolvimento E3 em sementes de pimenta malagueta. Essa diferença não foi observada em sementes recém processadas e naquelas armazenadas por período de oito meses.

Em pesquisa realizada por Taiz & Zeiger (2004) não foi observada diferença na atividade da MDH em sementes durante o processo de maturação. No entanto, os autores relataram que os órgãos de reserva em desenvolvimento necessitam de maior suprimento energético e com isso, a atividade respiratória nesses tecidos vegetais é mais intensa.



**FIGURA 1** Padrões eletroforéticos da enzima MDH observados em sementes de pimenta malagueta durante a germinação: 0 hora (A); 48 horas (B); 96 horas (C) e 144 horas (D) no estágio E1 (1), E2 (2) e E3 (3) com 0 (P0), 4 (P4) e 8 (P8) meses de armazenamento.



**FIGURA 2** Padrões eletroforéticos da enzima MDH observados em sementes de pimenta habanero durante a germinação: 0 hora (A); 48 horas (B); 96 horas (C) e 144 horas (D) no estágio E1 (1), E2 (2) e E3 (3) com 0 (P0), 4 (P4) e 8 (P8) meses de armazenamento.

Em relação aos padrões observados para a enzima álcool desidrogenase (ADH), maior atividade foi observada em sementes recém armazenadas submetidas à embebição por 144 horas e em sementes armazenadas por quatro meses e submetidas à embebição por 96 e 144 horas (Figura 3) em sementes de pimenta malagueta.

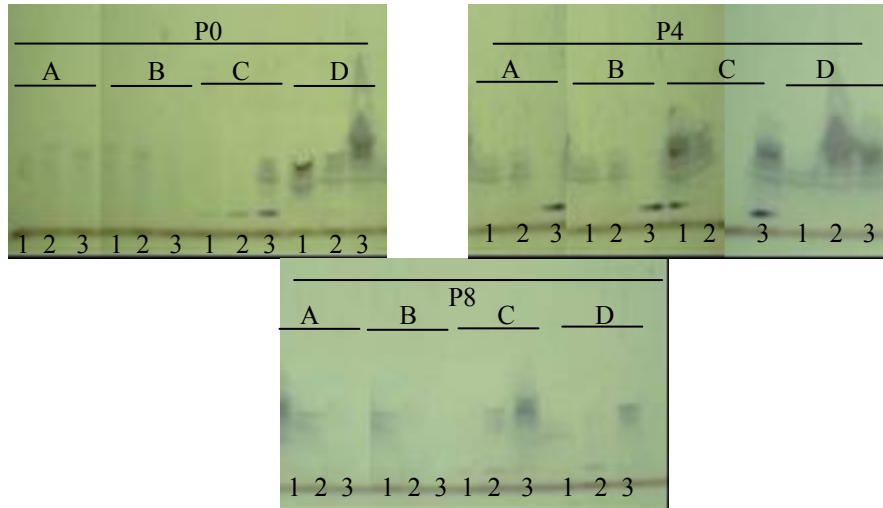
Na Figura 4, em sementes de pimenta habanero, observa-se que com o avanço do período de embebição a atividade da enzima ADH diminui nos três períodos de armazenamento. Verificou-se também que a atividade da enzima aumentou ao longo dos períodos de armazenamento em sementes embebidas por 48 horas.

Ressalta-se que essa enzima está envolvida na respiração anaeróbica. Quando houve aumento da atividade da ADH em sementes de pimenta malagueta recém processadas e naquelas armazenadas por período de quatro meses e expostas à 144 horas de embebição, foi observada redução na atividade da MDH, enzima importante da rota aeróbica na respiração das sementes.

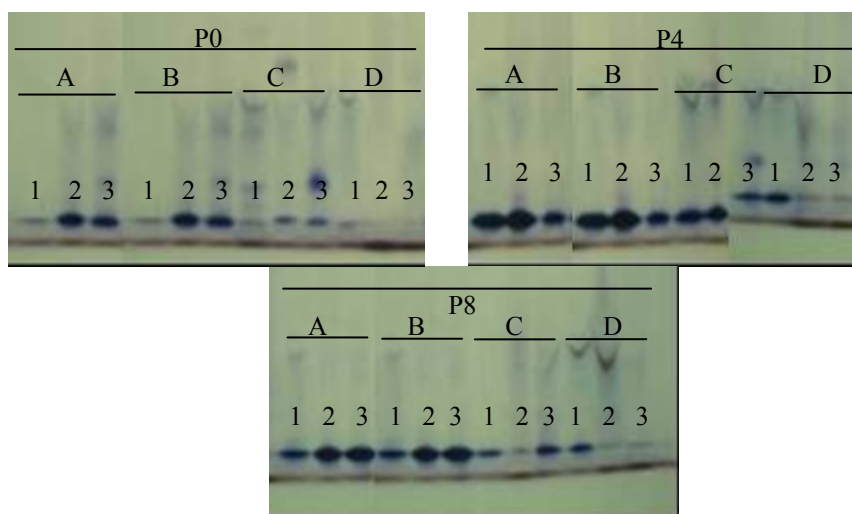
Assim como foi verificado nos padrões da MDH, houve variação na atividade da enzima ADH em sementes processadas em diferentes estádios de maturação, em função do período de armazenamento e do período de embebição. Em geral, nessas condições, maior atividade da ADH foi observada em sementes processadas no estádio E3, após 96 horas de embebição, em sementes de malagueta nos três períodos de armazenamento (Figura 3). Em sementes de habanero (Figura 4) maior atividade da ADH foi observada em sementes processadas no estádio E2 e E3, após 48 horas de embebição nos períodos de zero e oito meses de armazenamento. Já aos quatro meses de armazenamento foi observado para esta enzima maior atividade em sementes processadas nos três estádios de desenvolvimento com 48 horas de embebição.

Esses resultados corroboram com os dados de germinação e vigor, em que as sementes processadas nos estádios E2 e E3 possuem maior qualidade do que as sementes do estágio E1.

Esta 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 deletérea deste composto.



**FIGURA 3** Padrões eletroforéticos da enzima ADH observados em sementes de pimenta malagueta durante a germinação: 0 hora (A); 48 horas (B); 96 horas (C) e 144 horas (D) no estágio E1 (1), E2 (2) e E3 (3) com 0 (P0), 4 (P4) e 8 (P8) meses de armazenamento.



**FIGURA 4** Padrões eletroforéticos da enzima ADH observados em sementes de pimenta habanero durante a germinação: 0 hora (A); 48 horas (B); 96 horas (C) e 144 horas (D) no estágio E1 (1), E2 (2) e E3 (3) com 0 (P0), 4 (P4) e 8 (P8) meses de armazenamento.

Em relação aos padrões observados para a enzima esterase, em sementes de pimenta malagueta (Figura 5), foi observado naquelas processadas no estágio E2 de maturação, recém armazenadas e armazenadas por período de quatro meses, o aparecimento de uma banda quando as mesmas foram submetidas à embebição por 96 horas. Já nas sementes armazenadas por período de oito meses os padrões observados foram diferenciados dos demais. Houve maior atividade dessa enzima independente do estágio de maturação das sementes e do período de embebição.

Em sementes de pimenta habanero (Figura 6), foi observado naquelas processadas nos três estádios de desenvolvimento maior atividade da esterase no período de oito meses de armazenamento.

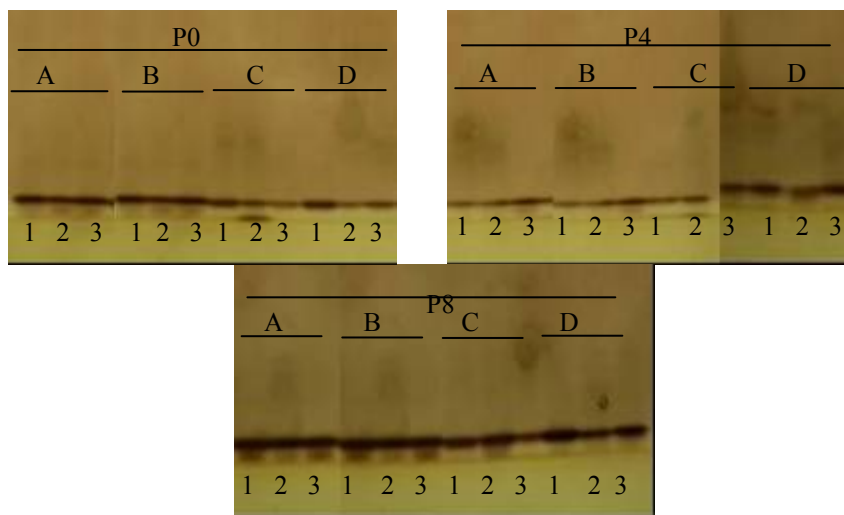
A esterase é uma enzima que participa da hidrólise de ésteres de membrana. Esse fato demonstra maior peroxidação de lipídios, uma vez que esta enzima está envolvida em reações de hidrólise de ésteres estando diretamente



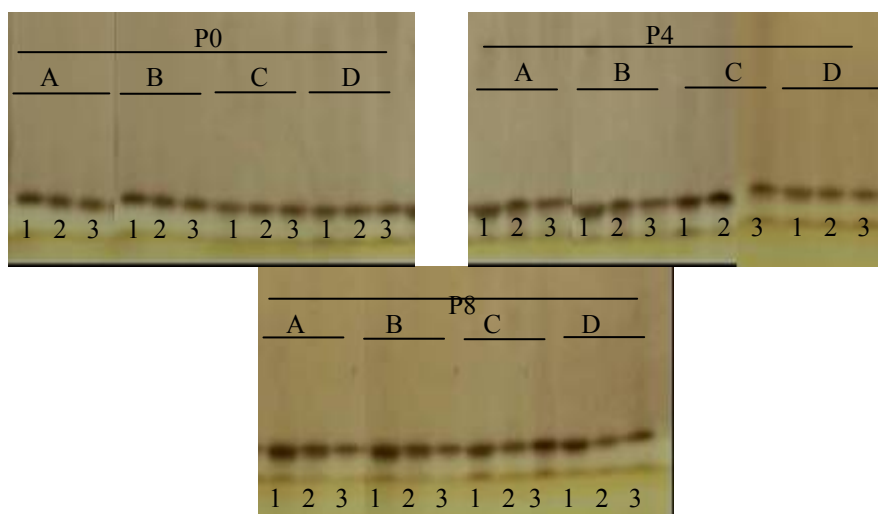
ligada ao metabolismo de lipídios (Santos et al., 2004). Muitos desses lipídios são constituintes de membranas, cuja degradação aumenta com a deterioração.

Brandão Júnior et al. (1999) observaram diminuição da intensidade de um grupo de bandas de esterase e aumento de outras com o envelhecimento de sementes de milho. Chauhan et al. (1985) verificaram, em sementes de soja e cevada, aumento no número de bandas com o envelhecimento das sementes, sendo algumas bandas associadas a estádios específicos de envelhecimento.

Em relação aos padrões da enzima  $\alpha$ -amilase para pimenta malagueta (Figura 7) e para pimenta habanero (Figura 8), observa-se que houve variação na atividade da enzima em função do estágio de desenvolvimento no qual as sementes foram processadas, período de armazenamento e tempo de exposição à embebição.



**FIGURA 5** Padrões eletroforéticos da enzima esterase observados em sementes de pimenta malagueta durante a germinação: 0 hora (A); 48 horas (B); 96 horas (C) e 144 horas (D) no estágio E1 (1), E2 (2) e E3 (3) com 0 (P0), 4 (P4) e 8 (P8) meses de armazenamento.



**FIGURA 6** Padrões eletroforéticos da enzima esterase observados em sementes de pimenta habanero durante a germinação: 0 hora (A); 48 horas (B); 96 horas (C) e 144 horas (D) no estágio E1 (1), E2 (2) e E3 (3) com 0 (P0), 4 (P4) e 8 (P8) meses de armazenamento.

A atividade da enzima  $\alpha$ -amilase pode ser evidenciada pelas bandas mais claras em fundo azulado devido à reação do iodo com a amilase, tratando-se de uma revelação negativa. Desta forma, o amido foi hidrolisado nos locais em que a enzima estava presente.

Em sementes, de pimenta malagueta, recém armazenadas (P0), houve aumento na atividade da enzima  $\alpha$ -amilase com o aumento do período de exposição à embebição e com o avanço no estágio de maturação. Já nas sementes armazenadas por quatro meses houve maior atividade da enzima quando processadas no estágio de desenvolvimento E1, quando comparada à observada em sementes recém armazenadas. Nessas sementes, armazenadas por quatro meses, houve aumento de atividade da  $\alpha$ -amilase quando foram processadas no estágio de desenvolvimento E3 e embebidas por 96 e 144 horas. De uma maneira geral, menor atividade da enzima  $\alpha$ -amilase foi observada em

sementes armazenadas por período de oito meses. Nessas sementes maior atividade da enzima foi observada quando embebidas por 96 horas.

Em sementes de pimenta habanero maior atividade da enzima  $\alpha$ -amilase foi observada aos quatro meses de armazenamento quando comparada com os períodos de zero e oito meses de armazenamento, em sementes processadas em todos os estádios de desenvolvimento. Sementes processadas no estágio E1 apresentaram maior atividade dessa enzima do que as sementes processadas nos estádios E2 e E3, nos diferentes tempos de embebição e períodos de armazenamento, com exceção das sementes recém armazenadas embebidas por 48 horas e as armazenadas por oito meses e embebidas por 96 horas.

De acordo com Nedel et al. (1996), dentro de um grupo de enzimas, a  $\alpha$  e  $\beta$  - amilases estão envolvidas no principal sistema de degradação do amido. O desenvolvimento da atividade da amilase constitui um importante evento, podendo ser detectado durante o início da germinação das sementes, sendo seu principal papel, disponibilizar substratos para utilização da plântula até que ela se torne fotossinteticamente auto-suficiente.

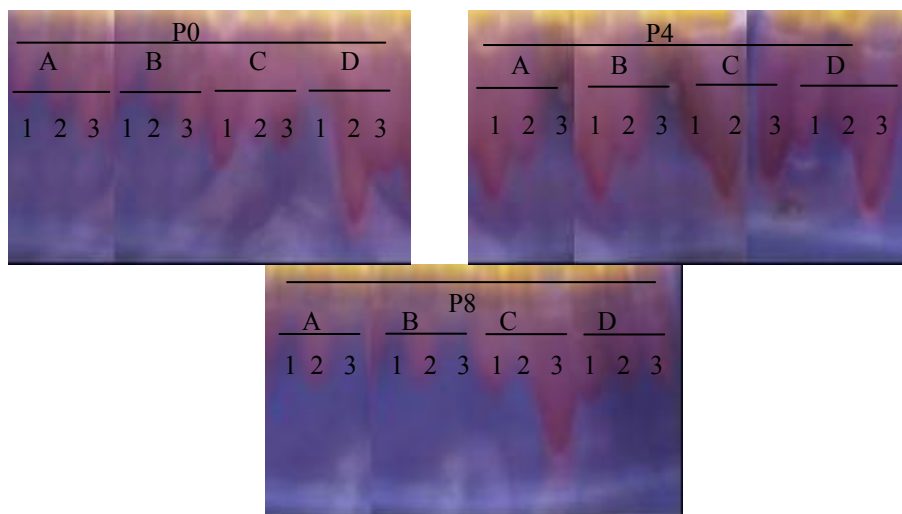
Um grande número de tipos de dormência de sementes decorre do bloqueio da ação da  $\alpha$  - amilase. A ocorrência desta enzima é largamente distribuída nas plantas, principalmente associada com a  $\beta$  - amilase. A  $\alpha$  - amilase presente nas sementes dormentes encontra-se em pequenas quantidades, mas durante a germinação todas as sementes rapidamente desenvolvem esta enzima. Desta maneira a  $\alpha$  - amilase pode ser prontamente encontrada nas sementes em germinação (Mayer, 1976).

Na presente pesquisa, por meio dos dados de germinação (Tabela 2 - malagueta), foi observada a presença de sementes dormentes, principalmente quando processadas no estágio E1 de desenvolvimento, recém armazenadas. Nessas sementes foi observada baixa atividade da  $\alpha$ -amilase, o que confirma a importância dessa enzima no processo de germinação de sementes de pimenta.

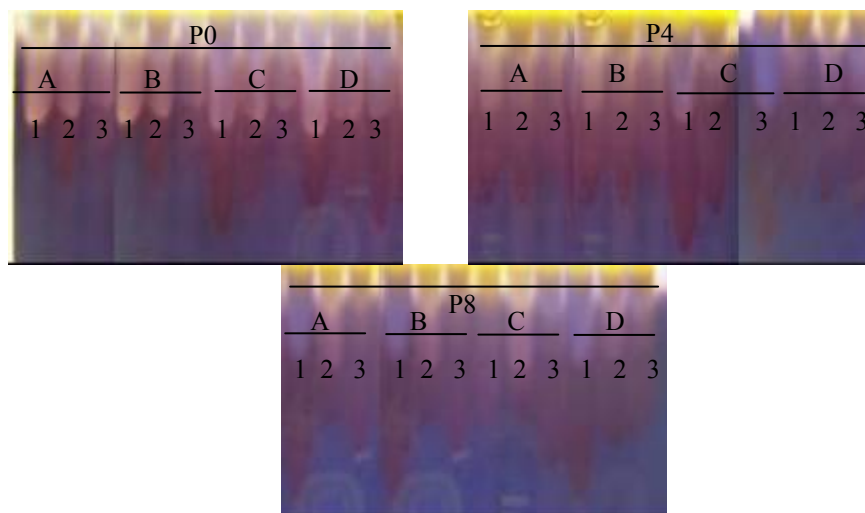
Essas observações reforçam relatos de Petruzzelli & Taranto (1990) e Livesley & Bray (1991), os quais enfatizam que, em sementes com alto índice de dormência, a atividade da amilase tem sido pequena.

De modo geral, esses resultados estão coerentes com aqueles encontrados por Shaw & Ou-Lee (citados por Das & Sen-Mandi, 1992), os quais trabalhando com sementes de arroz relataram que a atividade da  $\alpha$  - amilase é essencial para a germinação das sementes.

Em ambas as espécies estudadas, nas sementes processadas nos estádios de desenvolvimento E1, E2 e E3 e recém-armazenadas (P0), houve aumento na atividade da enzima endo- $\beta$ -mananase (Figura 9 e 10) à medida que foi aumentado o período de embebição das sementes, durante o processo de germinação. Houve maior atividade dessas a 144 horas de embebição o que coincidiu com o período observado para a ocorrência de protrusão radicular.



**FIGURA 7** Padrões eletroforéticos da enzima alfa-amilase observados em sementes de pimenta malagueta durante a germinação: 0 hora (A); 48 horas (B); 96 horas (C) e 144 horas (D) no estádio E1 (1), E2 (2) e E3 (3) com 0 (P0), 4 (P4) e 8 (P8) meses de armazenamento.



**FIGURA 8** Padrões eletroforéticos da enzima alfa-amilase observados em sementes de pimenta habanero durante a germinação: 0 horas (A); 48 horas (B); 96 horas (C) e 144 horas (D) no estágio E1 (1), E2 (2) e E3 (3) com 0 (P0), 4 (P4) e 8 (P8) meses de armazenamento.

As sementes dos três estádios de desenvolvimento, armazenadas por quatro e oito meses, germinaram com 96 horas de embebição. Esses dados podem ser correlacionados com a maior atividade dessa enzima em sementes submetidas a esses tratamentos.

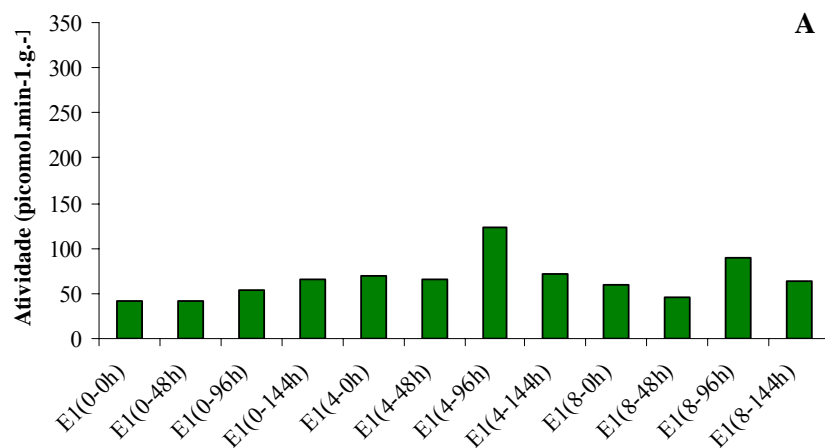
Maior atividade da enzima, em valores absolutos, foi verificada nas sementes processadas nos estádios de desenvolvimento E2 e E3 em todos os períodos de armazenamento e de embebição, durante o processo de germinação.

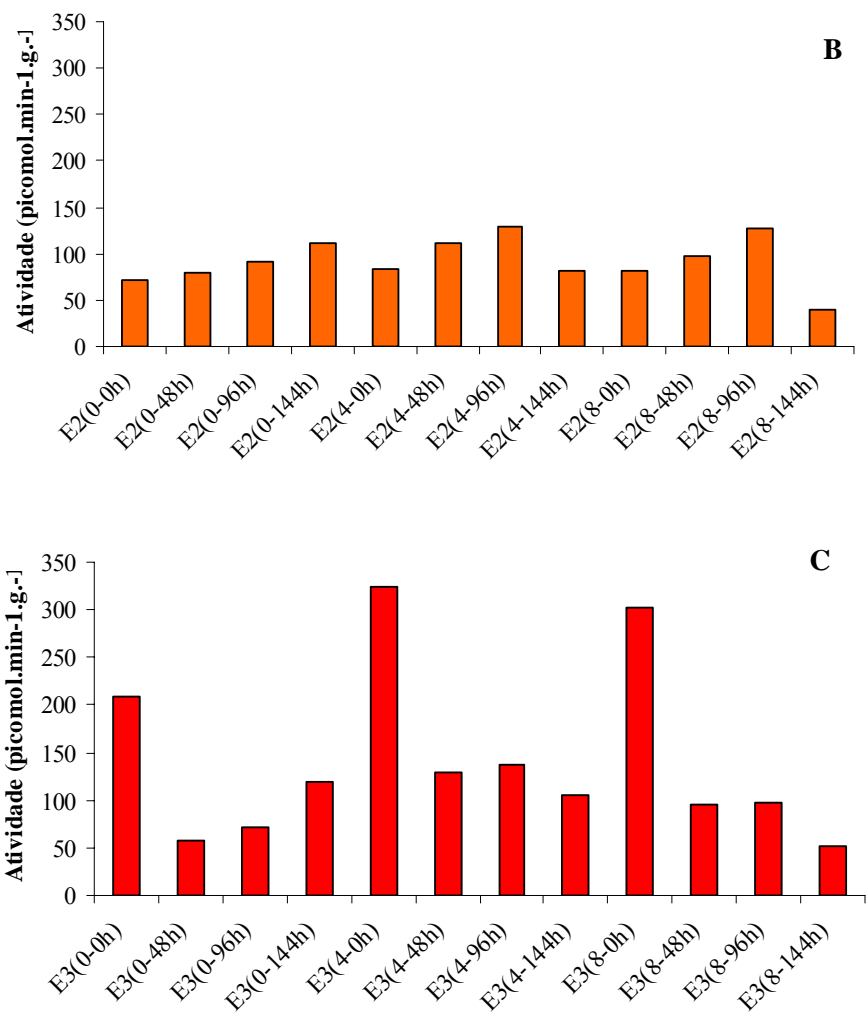
Os menores valores de germinação e de vigor foram observados nas sementes processadas no estágio de desenvolvimento E1 e recém armazenadas. Nessas sementes foi observada menor atividade da enzima endo- $\beta$ -mananase, o que indica a importância dessa enzima na germinação de sementes de pimenta. Observa-se ainda pelas Figuras 9 e 10 que maior atividade dessa enzima foi observada nas sementes armazenadas por quatro meses e embebidas por período

de 96 horas, em todos os estádios de desenvolvimento nas quais foram processadas.

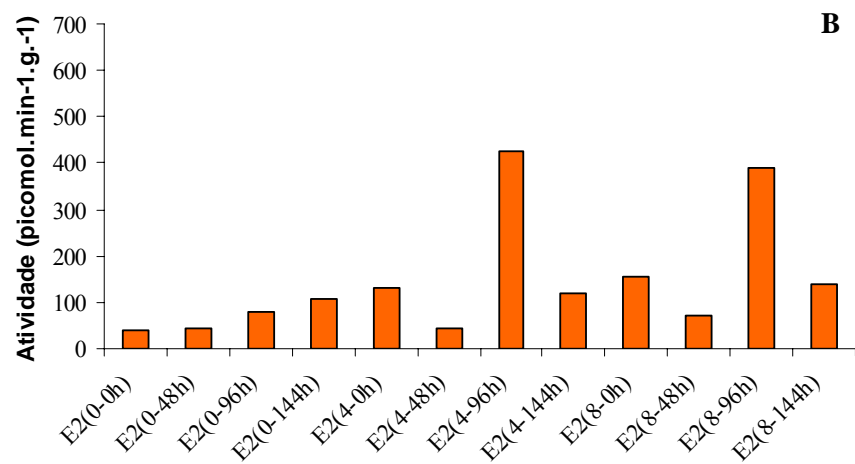
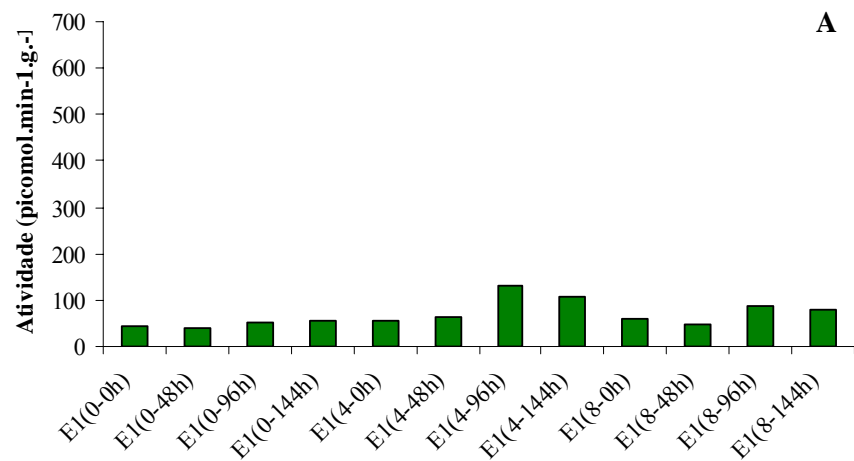
Pelos resultados dos testes utilizados para a avaliação da qualidade fisiológica foi observado aumento nos valores de germinação e vigor em sementes armazenadas por período de quatro meses. Com base nesses resultados infere-se a presença de dormência em sementes recém colhidas. Essa dormência provavelmente tenha sido superada no quarto mês de armazenamento em função da maior atividade da enzima endo- $\beta$ -mananase.

Para Bewley (1997), em algumas sementes a germinação ocorre devido ao enfraquecimento dos tecidos que circundam o embrião permitindo, dessa forma, o alongamento da radícula. Neste caso, o potencial de pressão ( $\psi_p$ ) no embrião não é suficiente para levar à expansão das paredes celulares e crescimento do mesmo. A redução da resistência mecânica, imposta pelo endosperma, ao alongamento da radícula é controlada pela ação de enzimas como endo- $\beta$ -mananase. Em sementes de café (*coffea arabica*), a degradação do endosperma micropilar é devida à ação da enzima endo- $\beta$ -mananase facilitando a emissão da raiz primária (Da Silva et al., 2004).

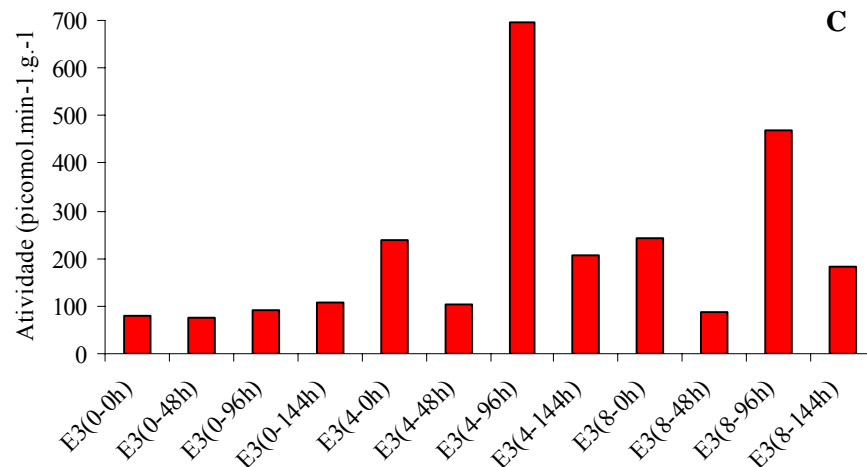




**FIGURA 9** Atividade da enzima endo- $\beta$ -mananase em sementes de pimenta malagueta durante 0h, 48h, 96h e 144h de germinação no estágio E1 (A), E2 (B) e E3 (C) nos três períodos de armazenamento 0, 4 e 8 meses.







**FIGURA 10** Atividade da enzima endo-β-mananase em sementes de pimenta habanero durante 0h, 48h, 96h e 144h de germinação no estágio E1 (A), E2 (B) e E3 (C) nos três períodos de armazenamento 0, 4 e 8 meses.

Os resultados obtidos no teste de emergência de plântulas em bandeja e índice de velocidade de emergência, sob condições de casa de vegetação, estão apresentados na Tabela 2. Menores valores de emergência de plântulas foram observados em sementes processadas no estágio de desenvolvimento E1, para as duas espécies, em todos os períodos de armazenamento, com exceção dos observados em sementes da malagueta no quarto mês de armazenamento, nos quais não houve diferença estatística entre os diferentes estádios. Segundo Nascimento et al. (2006), a semeadura de sementes de pimenta recém-extraídas do fruto pode representar um risco para a obtenção de estandes uniformes, contribuindo para a elevação do gasto de sementes.

Para sementes de malagueta e habanero aos 4 meses de armazenamento houve aumento nos valores de emergência de plântulas provenientes de sementes processadas nos diferentes estádios de desenvolvimento, com exceção

das sementes da malagueta processadas no estádio E2. Houve redução desses valores aos oito meses de armazenamento, em sementes de malagueta colhidas no estádio E1 (Tabela 2).

É importante ressaltar também, no entanto, que apesar dos relatos sobre a ocorrência de dormência em sementes de pimenta (Randle & Honma, 1981; Edwards & Sundstrom, 1987), há também referências nas quais é mencionado o sucesso no estabelecimento de plântulas em casa de vegetação, quando as sementes de determinadas cultivares são extraídas de frutos completamente maduros e semeadas em seguida (Bolsland, 1999). Randle & Honma (1981) verificaram em trabalho com diferentes cultivares do gênero *Capsicum*, que o genótipo e a idade do fruto influenciam na intensidade de dormência das sementes. Os autores afirmam que sementes extraídas de frutos supermaduros germinam mais rapidamente, havendo aumento da intensidade de dormência com o decréscimo da idade do fruto.

No início do armazenamento, logo após a extração e secagem, foram observadas em sementes de pimenta malagueta colhidas maduras e que permaneceram em repouso dentro do fruto por sete dias, maiores valores de emergência de plântulas. Essa diferença não foi observada aos quatro meses de armazenamento. Já aos oito meses de armazenamento menores valores de emergência foram observados em sementes colhidas mais imaturas. Esse resultado também foi observado no índice de velocidade de emergência (IVE) (Tabela 2).

Pelos resultados do IVE foi observado menor vigor em sementes de malagueta e habanero colhidas no estádio E1. Neste teste observou-se aumento de vigor nas sementes armazenadas por quatro meses e processadas nos três estádios. No entanto, aos oito meses, para a malagueta, houve aumento de vigor das processadas no E3, redução nas colhidas no E1 e manutenção das colhidas

no E2. Já para a habanero, aos oito meses, houve aumento de vigor das processadas no E3 e E2 e manutenção das colhidas no E1.

Segundo Barbedo C. et al. (1994), pelo índice de velocidade de emergência foi possível detectar pequenas diferenças existentes na qualidade fisiológica das sementes de pepino de frutos colhidos entre 15 e 45 DAA e não submetidos ao armazenamento. Valdes & Gray (1998), ao colherem frutos de tomate com diferentes idades, mas sem submetê-los ao armazenamento pós-colheita, observaram que o tempo médio de germinação das sementes diferiu significativamente entre os estádios de maturação do fruto, sendo maior nas sementes menos maduras e decrescendo com decorrer da maturação.

Pelos resultados do teste de envelhecimento acelerado, em sementes de malagueta (Tabela 3), verificou-se aumento no vigor das sementes de malagueta armazenadas aos quatro meses, em relação às sementes recém armazenadas. Embora tenha ocorrido redução no vigor das sementes colhidas no estágio E1 aos oito meses de armazenamento, não foi observada diferença estatística significativa. Para a espécie de habanero (Tabela 3), esse aumento no vigor foi observado aos quatro e oito meses de armazenamento em sementes colhidas no estágio E2. Já para as sementes processadas nos estádios E1 e E3 este aumento foi observado no oitavo mês de armazenamento.

No início do armazenamento, sementes processadas no E3, mostraram-se mais vigorosas, para as duas espécies. Já aos quatro e oito meses de armazenamento não houve diferença estatística entre os valores de vigor observados nas sementes de malagueta processadas nos estádios E2 e E3. Para habanero as sementes processadas no estágio E3 foram mais vigorosas em todos os períodos de armazenamento. Independente do período de armazenamento menor vigor foi observado em sementes de habanero colhidas no estágio E1. Esse último resultado também foi observado por meio do teste de condutividade elétrica (Tabela 4 e 5).

**TABELA 2** Valores médios de emergência (%) e índice de velocidade de emergência (IVE) de plântulas normais de sementes de pimenta malagueta e habanero colhidas em diferentes estádios de desenvolvimento ao longo do armazenamento.

| Malagueta  |                           |        |        |
|------------|---------------------------|--------|--------|
| Estádios   | Períodos de armazenamento |        |        |
|            | 0                         | 4      | 8      |
| Emergência |                           |        |        |
| 1          | 52 C b                    | 69 A a | 54 B b |
| 2          | 68 B a                    | 76 A a | 71 A a |
| 3          | 60 A b                    | 71 A a | 75 A a |
| IVE        |                           |        |        |
| 1          | 9 B c                     | 19 B a | 16 B b |
| 2          | 20 A b                    | 27 A a | 26 A a |
| 3          | 18 A c                    | 24 A b | 28 A a |
| Habanero   |                           |        |        |
| Estádios   | Períodos de armazenamento |        |        |
|            | 0                         | 4      | 8      |
| Emergência |                           |        |        |
| 1          | 5 C b                     | 35 B a | 30 B a |
| 2          | 60 B b                    | 85 A a | 84 A a |
| 3          | 75 A b                    | 86 A a | 87 A a |
| IVE        |                           |        |        |
| 1          | 0 C b                     | 5 B a  | 5 C a  |
| 2          | 8 B c                     | 23 A b | 29 B a |
| 3          | 13 A c                    | 25 A b | 34 A a |

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha, para cada variável, não diferem entre si, pelo Teste de Scott-Knott, ao nível de 5% de probabilidade.

Nesse teste de envelhecimento acelerado, o vigor foi crescente até o quarto mês de armazenamento, em sementes de malagueta, em todos os estádios de desenvolvimento. Esses resultados são similares aos observados em tomate (Vidigal et al., 2006; Dias et al., 2006), abóbora italiana (Alvarenga et al., 1991) e melancia (Alvarenga et al., 1984).

Maior lixiviação de exudatos foi observado em sementes imaturas em função de menor estruturação do sistema de membranas das organelas e celular.

Da mesma, forma, maior lixiviação também foi observada aos oito meses de armazenamento (Tabela 5).

**TABELA 3** Valores médios de plântulas normais obtidas após o envelhecimento acelerado de sementes de pimenta malagueta e habanero colhidas em diferentes estádios de desenvolvimento ao longo do armazenamento.

| Malagueta |                           |        |        |
|-----------|---------------------------|--------|--------|
| Estádios  | Períodos de armazenamento |        |        |
|           | 0                         | 4      | 8      |
| 1         | 5 B b                     | 49 B a | 40 B a |
| 2         | 9 B b                     | 63 A a | 70 A a |
| 3         | 52 A b                    | 69 A a | 69 A a |
| Habanero  |                           |        |        |
| Estádios  | Períodos de armazenamento |        |        |
|           | 0                         | 4      | 8      |
| 1         | 1 C b                     | 3 C b  | 23 C a |
| 2         | 20 B c                    | 68 B b | 87 B a |
| 3         | 43 A b                    | 47 A b | 95 A a |

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha, não diferem entre si, pelo Teste de Scott-Knott, ao nível de 5% de probabilidade.

O valor da condutividade elétrica medida na solução de embebição de sementes é função da quantidade de íons lixiviados, estando diretamente relacionado com a integridade das membranas celulares. Desta forma, membranas mal estruturadas e células danificadas estão, geralmente, associadas com o processo de deterioração da semente, ou seja, com sementes de baixo vigor (Vieira & Krzyzanowski, 1999; AOSA, 2002).

Em sementes de pimenta habanero (Tabela 6), maior vigor, avaliado pelo teste de condutividade elétrica, foi observado em sementes processadas no estádio E3, recém armazenadas e armazenadas por oito meses. Não houve diferença significativa nos valores de condutividade observados em sementes processadas nos estádios E2 e E3 e armazenadas por período de quatro meses.

Corroborando os resultados dos demais testes de vigor, menores valores de condutividade elétrica foram obtidos com o aumento da idade dos frutos, indicando maior organização do sistema de membranas das sementes com o decorrer da maturação. Demir & Ellis (1992) verificaram que a condutividade elétrica de sementes de tomate que era máxima aos 25 dias após antese, atingiu valor mínimo aos 55 dias após antese, coincidindo com o potencial máximo de germinação das sementes.

Independente do estágio de desenvolvimento, em sementes de pimenta habanero, ao final dos 8 meses de armazenamento houve menores médias de condutividade elétrica. Resultados semelhantes foram observados por Vidigal et al. (2006); Dias et al. (2006) em sementes de tomate obtidas de frutos em diferentes estádios de maturação e também submetidos ao armazenamento pós-colheita.

**TABELA 5** Valores médios de lixiviados ( $\mu\text{s/cm/g}$ ), obtidos por meio do teste de condutividade elétrica em sementes de pimenta malagueta colhidas em diferentes estádios de desenvolvimento ao longo do armazenamento.

| Estádios | Condutividade elétrica | Períodos | Condutividade elétrica |
|----------|------------------------|----------|------------------------|
| 1        | 801 b                  | 0        | 681 a                  |
| 2        | 760 a                  | 4        | 691 a                  |
| 3        | 750 a                  | 8        | 938 b                  |

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo Teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.

**TABELA 6** Valores médios de lixiviados ( $\mu\text{s/cm/g}$ ), obtidos por meio do teste de condutividade elétrica em sementes de pimenta habanero colhidas em diferentes estádios de desenvolvimento ao longo do armazenamento.

| Estádios | Períodos de armazenamento |         |         |
|----------|---------------------------|---------|---------|
|          | 0                         | 4       | 8       |
| 1        | 825 C b                   | 580 B b | 634 C a |
| 2        | 750 B c                   | 535 A b | 463 B a |
| 3        | 654 A c                   | 511 A b | 406 A a |

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha, não diferem entre si, pelo Teste de Scott-Knott, ao nível de 5% de probabilidade.

## 6 CONCLUSÕES

Durante o processo de germinação há variações na atividade das enzimas esterase, malato desidrogenase, álcool desidrogenase,  $\alpha$ -amilase e endo- $\beta$ -mananase nas sementes processadas em diferentes estádios de desenvolvimento e no armazenamento.

As enzimas alfa amilase e endo- $\beta$ -mananase são importantes no processo de germinação de sementes de pimenta malagueta e habanero.

Os menores valores de germinação e vigor são observados em sementes processadas a partir de frutos com os primeiros sinais de amarelecimento (E1) e recém armazenadas.

A qualidade fisiológica das sementes durante o armazenamento varia com os estádios de desenvolvimento nas quais foram processadas e com o período de armazenamento.

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALFENAS, A. C.; PETERS, I.; BRUCE, W.; PASSADOS, G. C. **Eletroforese se proteínas e isoenzimas de fungos e essências florestais**. Viçosa, MG: UFV, 1991. 242 p.

ALVARENGA, E. M.; SILVA, R. F.; ARAUJO, E. F.; CARDOSO, A. A. Influência da idade e armazenamento pós-colheita dos frutos na qualidade de sementes de melancia. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 2, n. 2, p. 5-8, 1984.

ALVARENGA, E. M.; SILVA, R. F.; ARAUJO, E. F.; LEIRO, L. S. Maturação fisiológica de sementes de abóbora italiana. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 13, n. 2, p.147-150, 1991.

ASSOCIATION OF OFFICIAL SEED ANALYSTS. **Seed vigor testing handbook**. Lincoln, 2002. 105 p. (Contribution, 32).

BARBEDO, A. S. C.; ZANIN, A. C. W.; BARBEDO, C. J.; NAKAGAWA, J. Efeitos da idade e do período de repouso pós-colheita dos frutos sobre a qualidade de sementes de berinjela. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 12, n. 1, p.18-21, 1994a.

BARBEDO, C. J.; NAKAGAWA, J.; BARBEDO, A. S. C.; ZANIN, A. C. W. Influência da idade e do período de repouso pós-colheita de frutos de pepino cv, Rubi na qualidade fisiológica de sementes. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 12, n. 2, p. 14-18, 1994b.

BARZ, W.; HOESEL, W. Metabolism and degradation of phenolic compounds. In: SWAIN, T.; HARBONE, J. B.; VAN SUMERE, C. F. (Ed.). **Biochemistry of plant phenolics**. Bélgica: Plenum, 1979. v. 12, p. 339.

BELLETTI, P.; QUAGLIOTTI, L. Problems of seed production and storage of pepper. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON INTEGRATED MANAGEMENT PRACTICES, Tainan, Taiwan, 1988. **Tomato and pepper production in the tropics**. Taipei: Asian Vegetable Research and Development Center, 1989. p.28-41.

BEWLEY, J. D. Breaking down the walls: a role for endo- $\beta$ -mannanase in release from seed dormancy? **Trends in Plant Science**, Oxford, v. 2, n. 12, p. 464-469, 1997.



- BEWLEY, J. D.; BLACK, M. **Seeds**: physiology of development and germination. 2. ed. New York: Plenum, 1994. 445 p.
- BOSLAND, P. W.; VOTAVA, E. J. **Peppers**: vegetable and spice capsicums. Wallingford: CAB International, 1999. 204 p. (CAB. Crop Production Science in Horticulture, 12).
- BRANDÃO JUNIOR, D. S.; CARVALHO, M. L. M.; VIEIRA, M. G. G. C. Variações eletroforéticas de proteínas e isoenzimas relativas à deterioração de sementes de milho envelhecidas artificialmente. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 21, n. 1, p. 114-121, 1999.
- BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. Coordenação de Laboratório Vegetal. **Regras para análise de sementes**. Brasília, 1992. 365 p.
- BRAVERMAN, J. B. S. **Vitaminas**. In: INTRODUCCIÓN a la bioquímica de los alimentos. Barcelona:, 1967. cap. 14., p. 206-239.
- BRAY, C. M. Biochemical processes during the osmopriming of seeds. In: KINGEL, J.; GALILI, G. **Seed development and germination**. New York: Marcel Dekker, 1995. p. 767-89.
- BUCHANAN, B. B.; GRUISSEM, W.; JONES, R. L. **Biochemistry e molecular biology of plants**. Rockville: American Society of Plant Physiologists, 2005. 1367 p.
- CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. **Sementes**: ciência, tecnologia e produção. 4. ed. Jaboticabal: Funep, 2000. 588 p.
- CHAUHAN, K.P.S. The incidence of deterioration and its localization in aged seeds of soybean and barley. **Seed Science and Technology**, Zürich, v. 13, n. 3, p. 769-773, 1985.
- DAS, G.; SEN-MANDI, S. Scutellar amilase activity in naturally aged and accelerated aged wheat seeds. **Annals of Botany**, London, v. 69, n. 6, p. 497-501, 1992.
- DEMIR, I.; ELLIS, R. H. Changes in seed quality during seed development and maturation in tomato. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 2, n. 2, p. 81-87, 1992.

- DIAS, D. C. F. S.; RIBEIRO, F. P.; DIAS, L. A. S.; SILVA, D. H.; VIDIGAL, D. S. Tomato seed quality in relation to fruit maturation and post-harvest storage. **Seed Science and Technology**, Zürich, v. 34, n. 3, p. 691-699, 2006.
- DOWNIE, B.; HILLHORST, H. W. M.; BEWLEY, J. D. A new assay for quantifying endo- $\beta$ -mannanase activity using Congo Red dye. **Phytochemistry**, v. 36, p. 829-835, 1994.
- EDWARDS, R. S.; SUNDSTROM, F. J. After-ripening and harvesting effects on Tabasco pepper seed germination performance. **HortScience**, Alexandria, v. 22, n.3, p. 473-475, 1987.
- FERREIRA, D. F. Análises estatísticas por meio do SISVAR para Windows<sup>®</sup> versão 4.0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45., 2000, São Carlos, SP. **Programas e Resumos...** São Carlos: UFSCar, 2000. p. 235.
- GUIMARÃES, R. M. **Fisiologia de sementes: produção e tecnologia de sementes**. Lavras: UFLA/FAEPE, 1999. 129 p.
- LAKSHMANAN, V.; BERKE, T. G. Lack of primary seed dormancy in pepper (*Capsicum* spp.). **Capsicum and Eggplant Newsletter**, Turim, v. 17, n. 1, p. 72-75, 1998.
- LIVESLEY, M. A.; BRAY, C. M. The effect of ageing upon  $\alpha$ -amylase production and protein synthesis by wheat aleurone layers. **Annals of Botany**, London, v. 68, n. 1, p. 69-73, 1991.
- MAGUIRE, J. D. Speed of germination and relation evaluation for seedling emergence vigor. **Crop Science**, Madison, v.2, n. 2, p. 176-177, Mar./Apr. 1962.
- MAYER, L. H. Carbohydrates. In: MAYER, L. H. **Food chemistry**. Connecticut: The Avi Publishing Company, 1976. cap. 3, p. 65-113.
- NASCIMENTO, W. M. Condicionamento osmótico de sementes de hortaliças: potencialidades e implicações. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 16, n. 12, p. 106-109, nov. 1998.
- NASCIMENTO, W. M.; DIAS, D. C. F. S.; FREITAS, A. F. Produção de sementes de pimentas. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 27, n. 235, p. 30-39, nov./dez. 2006.

NEDEL, J. L.; ASSIS, F. N. ; CARMONA, P. S. **A planta de arroz: morfologia e fisiologia**. Pelotas: UFPEL, 1996. 56 p. (Módulo 1 - Curso de Especialização em Produção de Sementes de Arroz Irrigado).

NIKERSON, J. T. R.; ROSINVALLI, L. J. Enzyme reactions. In: NIKERSON, J. T. R.; ROSINVALLI, L. J. **Elementary food science**. Westport: AVI, 1980. cap. 8, p. 113-121.

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.

PETRUZZELLI, L.; TARANTO, G. Amylase activity and loss of viability in wheat. **Annals of Botany**, London, v. 66, n. 4, p. 375-380, 1990.

PINHO, E. V. R. V.; SILVA, T. T. A.; CARVALHO, J. A.; OLIVEIRA, J. A.; GUIMARÃES, R. M. Conservação de sementes de citrumelo Swingle. **Revista Brasileira de Armazenamento**, Viçosa, MG, v. 30, n. 2, p. 178-185, 2005.

RABINOWITCH, H. D.; FRIDOVICH, I. Superoxide radicals, superoxide dismutases and oxygen toxicity in plants Photochem. **Photochemistry and Photobiology**, Augusta, , v. 37, n. 6, p. 679-690, 1983.

RANDLE, W. M.; HONMA, S. Dormancy in peppers. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 14, p. 19-25, 1981.

SANCHEZ, V. M.; SUNDSTROM, G. N.; McCLURE, G. N.; LANG, N. S. Fruit maturity, storage and postharvest maturation treatments affect bell pepper (*Capsicum annuum* L.) seed quality. **Scientia Horticulturae**, Alexandria, v. 54, n. 3, p. 191-201, 1993.

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

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

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3. ed. São Paulo: ARTMED, 2004. 792 p.

TEISSON, C. Le brunissement interne de lananas. **Fruits**, Paris, v. 34, n. 4, p. 245-281, 1979.

TORRES, S. B. Envelhecimento acelerado em sementes de pimenta-malagueta (*Capsicum frutescens* L.). **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 36, n.1, p.98-104, jan./abr. 2005.

VALDES, V. M.; GRAY, D. The influence of stage of fruit maturation on seed quality in tomato (*Lycopersicon lycopersicum* (L.) Karsten). **Seed Science and Technology**, Zürich, v. 26, n. 2, p. 309-318, 1998.

VIEIRA, R.; KRZYZANOWSKI, F. C. Teste de condutividade elétrica. In: KRZYZANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA NETO, J. B. (Ed.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999. p. 4.

VEIGA, A. D. **Armazenabilidade de sementes de cafeeiro em diferentes estádios de maturação e submetidas à diferentes métodos de secagem**. 2005. 60 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

VIDIGAL, D. S.; DIAS, D. C. F. S.; NAVEIRA, D. S. P.; ROCHA, F. B.; BHERING, M. C. Qualidade fisiológica de sementes de tomate em função da idade e do armazenamento pós-colheita dos frutos. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v. 28, n. 3, p. 87-93, 2006.

ZAWISTOWSKI, J.; BILIADERIS, C. G.; ESKIN, N. A. M. Polyphenoloxidases. In: ROBINSON, D. S.; ESKIN, N. A. M. **Oxidative enzymes in foods**. New York: Elsevier Applied Science, 1991. p. 217-274.

ZHANG, M.; MAEDA, Y.; FUTIHATA, Y.; NORAMURA, Y. I, ESASHI, Y. A mechanism of seed deterioration in relation to volatile compounds evoked by dry seeds themselves. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 4, n. 1, p. 49-56, 1994.

## ANEXOS

**TABELA 1A** Valores médios das temperaturas máximas (Tx), mínimas (Tn), e médias (Tm), da umidade relativa (UR), da precipitação total (Pt) e da insolação (I) dos meses correspondentes ao período de desenvolvimento da cultura na safra 2007.

| Meses     | Tx (°C) | Tn (°C) | Tm (°C) | UR (%) | Pt (mm) | I (horas) |
|-----------|---------|---------|---------|--------|---------|-----------|
| Janeiro   | 27,6    | 18,7    | 21,9    | 85,7   | 554,7   | 3,1       |
| Fevereiro | 28,9    | 18,1    | 22,6    | 73,1   | 151,3   | 7,5       |
| Março     | 30,9    | 18,1    | 23,6    | 66,5   | 35,4    | 9,0       |
| Abril     | 28,1    | 17,2    | 21,8    | 72,4   | 35,6    | 7,3       |
| Mai       | 25,7    | 12,8    | 18,1    | 70,6   | 30,4    | 7,5       |
| Junho     | 25,8    | 11,1    | 17,3    | 66,3   | 5,9     | 8,8       |
| Julho     | 25,4    | 11,1    | 17,1    | 66,8   | 17,6    | 7,7       |

Fonte: Setor de Agrometeorologia do Departamento de Engenharia – UFLA

**TABELA 2A** Análise de variância dos dados obtidos nos testes para avaliação da qualidade fisiológica em sementes de pimenta malagueta em diferentes estádios (E1, E2, E3) submetidos a 0, 4 e 8 meses de armazenamento.

| Fonte de variação | G  | Quadrados médios |            |            |                          |                       |                         |
|-------------------|----|------------------|------------|------------|--------------------------|-----------------------|-------------------------|
|                   |    | Germinação       | Emergência | IVE        | Envelhecimento acelerado | Matéria seca          | Condutividade elétrica  |
| Bloco             | 3  | 56,8148          | 74,8426    | 19,9537    | 37,5833                  | 0,00002               | 3705,5833               |
| Estádio (E)       | 2  | 2368,0000**      | 611,0278** | 359,5278** | 3088,0833**              | 0,00002 <sup>NS</sup> | 8887,1111**             |
| Período (P)       | 2  | 5916,5833**      | 416,6944** | 253,8611** | 5626,3333**              | 0,00006**             | 254721,3611**           |
| E*P               | 4  | 217,8333**       | 107,1944*  | 17,1111*   | 606,6667**               | 0,00005**             | 1515,1944 <sup>NS</sup> |
| Erro              | 24 | 44,0440          | 25,5093    | 5,4954     | 47,3542                  | 0,00001               | 716,0208                |
| cv (%)            |    | 20,32            | 7,60       | 11,18      | 14,51                    | 16,31                 | 3,47                    |
| Média             |    | 32,67            | 66,47      | 20,97      | 47,42                    | 0,019                 | 770,53                  |

\*Significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo Teste F; \*\*Significativo ao nível de 1% de probabilidade pelo Teste F; <sup>NS</sup> Não significativos pelo Teste F.

**TABELA 3A** Análise de variância dos dados obtidos nos testes para avaliação da qualidade fisiológica em sementes de pimenta habanero em diferentes estádios (E1, E2, E3) submetidos a 0, 4 e 8 meses de armazenamento.

| Fonte de variação | GL | Quadrados médios |              |              |             |                          |                        |
|-------------------|----|------------------|--------------|--------------|-------------|--------------------------|------------------------|
|                   |    | Germinação       | Matéria seca | Emergência   | IVE         | Envelhecimento acelerado | Condutividade elétrica |
| Bloco             | 3  | 64,1852          | 0,000010     | 15,6574      | 3,8889      | 103,4815                 | 452,5185               |
| Estádio (E)       | 2  | 6199,0000**      | 0,000428**   | 12611,5833** | 1408,7778** | 10555,0278**             | 171934,7500**          |
| Período (P)       | 2  | 1200,5833**      | 0,004490**   | 1818,2500**  | 780,7778**  | 6697,4444**              | 988549,7500**          |
| E*P               | 4  | 207,3333**       | 0,000101**   | 100,2083**   | 81,4444**   | 984,2778**               | 29238,0000**           |
| Erro              | 24 | 27,1644          | 0,000006     | 27,3032      | 5,8889      | 23,2106                  | 1029,2269              |
| cv (%)            |    | 17,28            | 12,23        | 8,58         | 15,22       | 11,18                    | 4,67                   |
| Média             |    | 30,17            | 0,02         | 60,92        | 15,94       | 43,11                    | 687,00                 |

\*\*Significativo ao nível de 1% de probabilidade pelo Teste F.