

RAFAELA MARQUES DE MIRANDA

**ALTERAÇÕES BIOQUÍMICAS, FISIOLÓGICAS E SANITÁRIAS EM SEMENTES
DE GRÃO-DE-BICO (*Cicer arietinum* L.) DURANTE O ARMAZENAMENTO**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

Orientador: Denise Cunha Fernandes dos Santos
Dias

**VIÇOSA - MINAS GERAIS
2022**

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Campus Viçosa

T

M672a
2022
Miranda, Rafaela Marques de, 1988-
Alterações bioquímicas, fisiológicas e sanitárias em
sementes de grão-de-bico (*Cicer arietinum* L.) durante o
armazenamento: avaliação de embalagens e condições de
ambientes / Rafaela Marques de Miranda. – Viçosa, MG, 2022.
1 tese eletrônica (57 f.): il. (algumas color.).

Orientador: Denise Cunha Fernandes dos Santos Dias.
Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa,
Departamento de Agronomia, 2022.

Referências bibliográficas: f. 51-57.

DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2022.765>

Modo de acesso: World Wide Web.

1. Grão-de-bico - Semente - Armazenamento - Fatores
climáticos. 2. Sementes - Embalagens. 3. Antioxidantes. 4. Mofo
(Botânica). I. Dias, Denise Cunha Fernandes dos Santos, 1958-.
II. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de
Agronomia. Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia.
III. Título.

CDD 22. ed. 633.37


RAFAELA MARQUES DE MIRANDA

**ALTERAÇÕES BIOQUÍMICAS, FISIOLÓGICAS E SANITÁRIAS EM SEMENTES
DE GRÃO-DE-BICO (*Cicer arietinum* L.) DURANTE O ARMAZENAMENTO**


Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

APROVADA: 18 de novembro de 2022.

Assentimento:

Documento assinado digitalmente
 RAFAELA MARQUES DE MIRANDA
Data: 23/01/2023 20:28:18-0300
Verifique em <https://verificador.iti.br>

Rafaela Marques de Miranda
Autora

Documento assinado digitalmente
 DENISE CUNHA FERNANDES DOS SANTOS D
Data: 24/01/2023 11:26:02-0300
Verifique em <https://verificador.iti.br>

Denise Cunha Fernandes dos Santos Dias
Orientadora

AGRADECIMENTOS

A Deus que por Sua Divina Providência me deu força e sabedoria e me concedeu a graça de concluir mais esse desafio.

Aos meus pais, Jair e Maria da Cruz, por toda dedicação e amor. Ao meu marido Henrique por toda paciência e companheirismo. Aos meus familiares e amigos por todo apoio.

À Universidade Federal de Viçosa e ao Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia que tanto contribuíram com a minha formação profissional.

À professora, pesquisadora e orientadora Dra. Denise Cunha Fernandes dos Santos Dias, pelo exemplo, ensinamentos, apoio e compreensão.

Ao meu coorientador professor Dr. Laércio Junio da Silva e aos professores Dr. Luiz Antônio dos Santos Dias, Dra. Martha Freire da Silva, Dra. Ariadne Morbeck Santos Oliveira e Dr. Daniel Teixeira Pinheiro pelo auxílio e ensinamentos essenciais para a construção desta tese.

À Embrapa Hortaliças, na pessoa do pesquisador Dr. Warley Marcos Nascimento, pela colaboração com esta pesquisa.

A Ana Clara, João Paulo, Joyce (grupo do grão-de-bico) e Manuel pela amizade, apoio e ajuda incondicional na condução desta pesquisa.

Aos técnicos do Laboratório de Análise de Sementes e a família “GSEM”: Wander, José Custódio, Tainara, Gabriel, Marcelo, Bruno Noronha, Bruno Freitas, Júlia, Nayara, André, Rubens, Guilherme e Larissa, pelos ensinamentos diários e por toda ajuda.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo auxílio financeiro.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

RESUMO

MIRANDA, Rafaela Marques de, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, novembro de 2022. **Alterações bioquímicas, fisiológicas e sanitárias em sementes de grão-de-bico (*Cicer arietinum* L.) durante o armazenamento.** Orientador: Denise Cunha Fernandes dos Santos Dias

O cultivo do grão-de-bico vem se expandindo no Brasil e conhecer o comportamento dessas sementes durante o armazenamento é fundamental para definir estratégias adequadas para a sua conservação. Objetivou-se avaliar as alterações bioquímicas, fisiológicas e sanitárias em sementes de grão-de-bico armazenadas em diferentes embalagens e condições de ambiente. Para tanto, sementes da cultivar BRS Aleppo, foram acondicionadas em embalagem impermeável (plástico) e permeável (papel) e armazenadas em: câmara fria e seca - CF ($8\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1,0$ e $35\% \text{ UR} \pm 1,3$); sala refrigerada - REF ($18\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1,3$ e $62\% \text{ UR} \pm 4,0$) e ambiente não controlado - AMB ($24\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1,8$ e $68\% \text{ UR} \pm 6,7$). Inicialmente e aos 3, 6, 9 e 12 meses de armazenamento as sementes foram avaliadas quanto ao teor de água, germinação, primeira contagem de germinação, comprimento de plântula, envelhecimento acelerado, condutividade elétrica, índice de velocidade de emergência, conteúdo de malonaldeído, atividade das enzimas antioxidativas SOD, APX e CAT e incidência de fungos. Utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado, em esquema de parcela subdividida ($3 \times 2 \times 4$) + 1 (avaliação inicial). Os dados obtidos nos testes de qualidade fisiológica referentes aos períodos de armazenamento foram submetidos à análise de regressão polinomial e para comparações entre embalagens e ambientes, dentro de cada período de armazenamento, foram utilizados os testes F e de Tukey (5%), respectivamente. Foi realizada ainda a análise multivariada de componentes principais com todos os dados obtidos. O teor de água das sementes em embalagem plástica foi semelhante em todos os ambientes durante o armazenamento (11,0%), e em papel houve maior variação, com redução em CF (7,5%) e ligeiro aumento em AMB (12,5%). A qualidade fisiológica e sanitária das sementes foi mantida em CF, tanto em plástico quanto em papel. O armazenamento em REF, independente da embalagem, e o armazenamento em AMB na embalagem impermeável (plástico), foram eficientes na manutenção da germinação das sementes até doze meses, porém com redução do vigor após nove meses de armazenamento. Por outro lado, houve redução significativa da qualidade fisiológica e sanitária das sementes armazenadas em AMB em embalagem porosa (papel) a partir de 6 meses, sendo essa condição inadequada para o armazenamento por doze meses. A maior temperatura e umidade relativa do ambiente não controlado (AMB) associada à embalagem porosa (papel) provocaram alterações bioquímicas

prejudiciais à qualidade das sementes como peroxidação lipídica e redução da atividade de enzimas antioxidativas, SOD e CAT. *Aspergillus* spp. e *Penicillium* spp. foram os fungos predominantes durante o armazenamento, apresentando alta incidência principalmente em sementes sob REF e AMB.

Palavras-chave: Condição de ambiente. Embalagem. Enzimas antioxidativas. Fungos de armazenamento.

ABSTRACT

MIRANDA, Rafaela Marques de, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, November, 2022. **Biochemical, physiological and sanitary changes in chickpea (*Cicer arietinum* L.) seeds during storage.** Advisor: Denise Cunha Fernandes dos Santos Dias.

Chickpea cultivation has been expanding in Brazil, and knowing the behavior of these seeds during storage is essential to define adequate strategies for their conservation. The objective of this study was to evaluate the biochemical, physiological and sanitary changes in chickpea seeds stored in different packages and environmental conditions. Thus, seeds of the BRS Aleppo cultivar were packed in impermeable (plastic) and permeable (paper) packaging and stored in: cold and dry chamber - CF ($8\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1.0$ and $35\% \text{ RH} \pm 1.3$); refrigerated room – REF ($18\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1.3$ and $62\% \text{ RH} \pm 4.0$) and uncontrolled environment – AMB ($24\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1.8$ and $68\% \text{ RH} \pm 6.7$). Initially and at 3, 6, 9 and 12 months storage the seeds were evaluated for moisture content, germination, first count of germination, seedling growth, accelerated aging, electrical conductivity, emergence speed index, malondialdehyde content, antioxidative enzymes (SOD, APX and CAT) and incidence of fungi. The experiment was conducted in a completely randomized design in a split-plot arrangement ($3 \times 2 \times 4$) + 1 (initial evaluation). Physiological quality data referring to storage periods were subjected to polynomial regression analysis. For comparisons between packaging and environments, within each storage period, F and Tukey tests (5%) were used. Multivariate analysis of principal components was also performed. The moisture content of seeds in plastic packaging was similar in all environments during storage (11.0%), and in paper there was a greater variation, with a reduction in CF (7.5%) and a slight increase in AMB (12.5%). The physiological and sanitary quality of the seeds was maintained in CF, both in plastic and in paper. Storage in REF, regardless of packaging, and storage, and in AMB in impermeable packaging (plastic) were efficient in maintaining seed germination for up to twelve months, but with reduced vigor after nine months of storage. On the other hand, there was a significant reduction in the physiological and sanitary quality of the seeds stored in AMB in porous packaging (paper) after six months, which was inadequate for storage for twelve months. The higher temperature and relative humidity of the uncontrolled environment (AMB) associated with porous packaging (paper) caused biochemical changes harmful to seed quality, such as lipid peroxidation and reduced activity of antioxidant enzymes, SOD and CAT. *Aspergillus* spp. and *Penicillium* spp. were the predominant fungi during storage, with high incidence mainly in seeds under REF and AMB.

Keywords: Environment condition. Packing. Antioxidative enzymes. Storage fungi.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1: Médias diárias de temperatura (T °C) e umidade relativa (UR %) dos ambientes de armazenamento (câmara fria (CF), ambiente refrigerado (REF) e ambiente não controlado (AMB)). Viçosa, UFV, 2019-2020..... **Erro! Indicador não definido.**
- Figura 2: Padrão de plântulas normais (A) e anormais (B) adotados na avaliação do teste de germinação. Imagens: Miranda, R.M. **Erro! Indicador não definido.**
- Figura 3: Teor de água (%) de sementes de grão-de-bico durante doze meses de armazenamento em diferentes embalagens e ambientes de armazenamento (câmara fria (CF), ambiente refrigerado (REF) e ambiente não controlado (AMB)). **Erro! Indicador não definido.**
- Figura 4: Germinação (%) e primeira contagem de germinação (%) de sementes de grão-de-bico durante doze meses de armazenamento em diferentes embalagens e ambientes de armazenamento (câmara fria (CF), ambiente refrigerado (REF) e ambiente não controlado (AMB)). **Erro! Indicador não definido.**
- Figura 5: Crescimento de plântula (mm/plântula) de grão-de-bico durante doze meses de armazenamento em diferentes embalagens e ambientes de armazenamento (câmara fria (CF), ambiente refrigerado (REF) e ambiente não controlado (AMB)). **Erro! Indicador não definido.**
- Figura 6: Envelhecimento acelerado (%) de sementes de grão-de-bico durante doze meses de armazenamento em diferentes embalagens e ambientes de armazenamento (câmara fria (CF), ambiente refrigerado (REF) e ambiente não controlado (AMB)). **Erro! Indicador não definido.**
- Figura 7: Condutividade elétrica ($\mu\text{S cm}^{-1} \text{ g}^{-1}$) de sementes de grão-de-bico durante doze meses de armazenamento em diferentes embalagens e ambientes de armazenamento (câmara fria (CF), ambiente refrigerado (REF) e ambiente não controlado (AMB)). **Erro! Indicador não definido.**
- Figura 8: Índice de velocidade de emergência de plântulas de grão-de-bico durante doze meses de armazenamento em diferentes embalagens e ambientes de armazenamento (câmara fria (CF), ambiente refrigerado (REF) e ambiente não controlado (AMB)). **Erro! Indicador não definido.**
- Figura 9: Conteúdo de Malonaldeído (nmol g^{-1} de massa seca) de sementes de grão-de-bico durante doze meses de armazenamento em diferentes embalagens e ambientes de armazenamento (câmara fria (CF), ambiente refrigerado (REF) e ambiente não controlado (AMB)). **Erro! Indicador não definido.**
- Figura 10: Atividade da Superóxido dismutase ($\text{U min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$ de proteína) de sementes de grão-de-bico durante doze meses de armazenamento em diferentes embalagens e ambientes de armazenamento (câmara fria (CF), ambiente refrigerado (REF) e ambiente não controlado (AMB)). **Erro! Indicador não definido.**
- Figura 11: Atividade da Ascorbato peroxidase ($\text{nmol min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$ de proteína) de sementes de grão-de-bico durante doze meses de armazenamento em diferentes embalagens e ambientes de armazenamento (câmara fria (CF), ambiente refrigerado (REF) e ambiente não controlado (AMB)). **Erro! Indicador não definido.**
- Figura 12: Atividade da Catalase ($\mu\text{mol min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$ de proteína) de sementes de grão-de-bico durante doze meses de armazenamento em diferentes embalagens e ambientes de

armazenamento (câmara fria (CF), ambiente refrigerado (REF) e ambiente não controlado (AMB)). **Erro! Indicador não definido.**

Figura 13: Crescimento de fungos em sementes de grão-de-bico (A), seta preta *Aspergillus* spp. e seta branca *Penicillium* spp. Em detalhe *Aspergillus* spp. (B e C), *Penicillium* spp. (D), *Cladosporium* spp. (E) e *Fusarium* spp. (F e G) (G corado em fucsina). **Erro! Indicador não definido.**

Figura 14: Incidência de *Fusarium* spp. (%) de sementes de grão-de-bico durante doze meses de armazenamento em diferentes embalagens e ambientes de armazenamento (câmara fria (CF), ambiente refrigerado (REF) e ambiente não controlado (AMB)). **Erro! Indicador não definido.**

Figura 15: Incidência de *Cladosporium* spp., *Aspergillus* spp. e *Penicillium* spp. em sementes de grão-de-bico durante doze meses de armazenamento em diferentes embalagens e ambientes de armazenamento (câmara fria (CF), ambiente refrigerado (REF) e ambiente não controlado (AMB)). **Erro! Indicador não definido.**

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Germinação (%) e primeira contagem de germinação (%) de sementes de grão-de-bico durante doze meses de armazenamento em diferentes embalagens e ambientes de armazenamento (câmara fria (CF), ambiente refrigerado (REF) e ambiente não controlado (AMB)). **Erro! Indicador não definido.**

Tabela 2: Crescimento de plântula (mm/plântula) de grão-de-bico durante doze meses de armazenamento em diferentes embalagens e ambientes de armazenamento (câmara fria (CF), ambiente refrigerado (REF) e ambiente não controlado (AMB)). **Erro! Indicador não definido.**

Tabela 3: Envelhecimento acelerado (%) em sementes de grão-de-bico durante doze meses de armazenamento em diferentes embalagens e ambientes de armazenamento (câmara fria (CF), ambiente refrigerado (REF) e ambiente não controlado (AMB)). **Erro! Indicador não definido.**

Tabela 4: Condutividade elétrica ($\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$) em sementes de grão-de-bico durante doze meses de armazenamento em diferentes embalagens e ambientes de armazenamento (câmara fria (CF), ambiente refrigerado (REF) e ambiente não controlado (AMB)). **Erro! Indicador não definido.**

Tabela 5: Índice de velocidade de emergência (IVE) de plântulas de grão-de-bico durante doze meses de armazenamento em diferentes embalagens e ambientes de armazenamento (câmara fria (CF), ambiente refrigerado (REF) e ambiente não controlado (AMB)). **Erro! Indicador não definido.**

Tabela 6: Conteúdo de Malonaldeído (nmol g^{-1} de massa seca) de sementes de grão-de-bico durante doze meses de armazenamento em diferentes embalagens e ambientes de armazenamento (câmara fria (CF), ambiente refrigerado (REF) e ambiente não controlado (AMB)). **Erro! Indicador não definido.**

Tabela 7: Atividade da Superóxido dismutase ($\text{U min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ de proteína) de sementes de grão-de-bico durante doze meses de armazenamento em diferentes embalagens e ambientes de armazenamento (câmara fria (CF), ambiente refrigerado (REF) e ambiente não controlado (AMB)). **Erro! Indicador não definido.**

Tabela 8: Atividade da Ascorbato peroxidase ($\text{nmol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ de proteína) de sementes de grão-de-bico durante doze meses de armazenamento em diferentes embalagens e ambientes de armazenamento (câmara fria (CF), ambiente refrigerado (REF) e ambiente não controlado (AMB)). **Erro! Indicador não definido.**

Tabela 9: Atividade da Catalase ($\mu\text{mol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ de proteína) de sementes de grão-de-bico durante doze meses de armazenamento em diferentes embalagens e ambientes de armazenamento (câmara fria (CF), ambiente refrigerado (REF) e ambiente não controlado (AMB)). **Erro! Indicador não definido.**

Tabela 10: Incidência de *Fusarium* spp. (%) de sementes de grão-de-bico durante doze meses de armazenamento em diferentes embalagens e ambientes de armazenamento (câmara fria (CF), ambiente refrigerado (REF) e ambiente não controlado (AMB)). **Erro! Indicador não definido.**

Tabela 11: Incidência de *Cladosporium* spp. (%) de sementes de grão-de-bico durante doze meses de armazenamento em diferentes embalagens e ambientes de armazenamento (câmara

fria (CF), ambiente refrigerado (REF) e ambiente não controlado (AMB)).**Erro! Indicador não definido.**

Tabela 12: Incidência de *Aspergillus* spp (%) de sementes de grão-de-bico durante doze meses de armazenamento em diferentes embalagens e ambientes de armazenamento (câmara fria (CF), ambiente refrigerado (REF) e ambiente não controlado (AMB)).**Erro! Indicador não definido.**

Tabela 13: Incidência de *Penicillium* spp. (%) de sementes de grão-de-bico durante doze meses de armazenamento em diferentes embalagens e ambientes de armazenamento (câmara fria (CF), ambiente refrigerado (REF) e ambiente não controlado (AMB)).**Erro! Indicador não definido.**

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	13
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	Erro! Indicador não definido.
2.1 Grau de umidade.....	Erro! Indicador não definido.
2.2 Germinação.....	Erro! Indicador não definido.
2.3 Primeira contagem de germinação.....	Erro! Indicador não definido.
2.4 Crescimento de plântula.....	Erro! Indicador não definido.
2.5 Envelhecimento acelerado.....	Erro! Indicador não definido.
2.6 Condutividade elétrica.....	Erro! Indicador não definido.
2.7 Índice de velocidade de emergência (IVE).....	Erro! Indicador não definido.
2.8 Avaliação da peroxidação de lipídios.....	Erro! Indicador não definido.
2.9 Determinação da atividade de enzimas antioxidativas	Erro! Indicador não definido.
2.10 Sanidade.....	Erro! Indicador não definido.
2.11 Delineamento experimental e análise estatística.....	Erro! Indicador não definido.
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	Erro! Indicador não definido.
3.1 Qualidade fisiológica.....	Erro! Indicador não definido.
3.2 Alterações bioquímicas.....	Erro! Indicador não definido.
3.3 Qualidade sanitária.....	Erro! Indicador não definido.
4. CONCLUSÕES.....	Erro! Indicador não definido.
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	51

1. INTRODUÇÃO

O grão-de-bico (*Cicer arietinum* L.) vem ganhando destaque no cenário mundial por apresentar elevado valor nutricional e desempenhar importante papel na segurança alimentar global (MERGA; HAJI, 2019; BOUKID *et al.*, 2019).

No Brasil, essa leguminosa ainda é pouco difundida, entretanto ações governamentais de incentivo ao consumo e produção vêm sendo implantadas, visando reduzir as importações e aumentar a produção nacional com possibilidades de exportação para países asiáticos que são grandes consumidores (NASCIMENTO; SILVA, 2019). Assim, pesquisas têm sido conduzidas nas mais diversas áreas para subsidiar a produção (HOSKEM *et al.*, 2017; AVELAR, *et al.*, 2018; PARAÍSO, 2019; RIBEIRO *et al.*, 2020; TRANCOSO *et al.*, 2021; DIAS *et al.*, 2021; ARAÚJO *et al.*, 2022), o que tem gerado boas perspectivas em relação ao cultivo do grão-de-bico.

Com a possível inserção do Brasil no mercado produtor de grão-de-bico, surge a demanda por sementes de elevada qualidade física, fisiológica, sanitária e genética. Neste contexto, a preservação da qualidade das sementes é fator primordial já que normalmente o período de colheita não coincide com a época indicada para a semeadura, de modo que as sementes devem ser armazenadas sob condições adequadas para preservar sua capacidade germinativa e vigor (CHHABRA; SINGH, 2019). Assim, o armazenamento tem como principal objetivo preservar ao máximo a qualidade das sementes, de modo a minimizar a velocidade do processo de deterioração (MARCOS-FILHO, 2015; BAUDET; VILLELA, 2019).

Embora os mecanismos exatos da perda de viabilidade de sementes não sejam totalmente elucidados, o estresse oxidativo, provocado pelo desequilíbrio entre a geração de espécies reativas de oxigênio (EROs) e o sistema de defesa antioxidante, tem sido considerado o principal precursor das reações de deterioração em sementes (BAILLY, 2004; RAJJOU *et al.*, 2008; KUMAR *et al.*, 2015; SANO *et al.*, 2016; KUREK; PLITTA-MICHALAK; RATAJCZAK, 2019).

Em altas concentrações, espécies reativas de oxigênio (EROs), como radical superóxido ($O_2^{\cdot-}$), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e radical hidroxila (OH^{\cdot}), podem provocar uma série de reações deletérias como a peroxidação de lipídios e desestruturação dos sistemas de membranas, degradação de proteínas, dentre outros danos celulares que progressivamente reduzem o vigor e, em última instância, provocam a perda da viabilidade de sementes (BAILLY, 2004; RAJJOU *et al.*, 2008; KUMAR *et al.*, 2015; SANO *et al.*, 2016; KUREK, *et al.*, 2019).

A peroxidação de lipídios é um processo que ocorre em cadeia, devido ao ataque dos radicais livres às duplas ligações dos ácidos graxos. O produto final da peroxidação de lipídios é

o hidroperóxido de lipídio, do qual é formado aldeído, incluindo o malonaldeído (MDA), principal subproduto dessas reações (BAILLY *et al.*, 1996). Assim, o MDA é considerado marcador do estresse oxidativo e sua quantificação utilizada como método para determinar a peroxidação de lipídios (SHARMA *et al.*, 2013; WOJTYLA *et al.*, 2016; MIN *et al.*, 2017).

No entanto, as sementes apresentam alguns mecanismos de defesa, dentre eles as enzimas antioxidantes que atuam para eliminar o excesso de EROs protegendo os componentes celulares das sementes (MITTLER, 2002; BAILLY, 2004; EBONE; CAVERZAN; CHAVARRIA 2019). O sistema antioxidante enzimático inclui, entre as principais enzimas, a superóxido dismutase (SOD), a catalase (CAT) e enzimas do ciclo ascorbato-glutationa. A SOD é a primeira enzima a exercer atividade antioxidante, realizando a dismutação do radical superóxido ($O_2^{\cdot-}$), em peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (BAILLY, 2004). O peróxido de hidrogênio, que também é tóxico, é eliminado pela ação da catalase (CAT). As enzimas do ciclo ascorbato-glutationa também podem participar da eliminação de H_2O_2 , envolvendo ascorbato peroxidase (APX), monodehidroascorbato redutase (MDAR), desidroascorbato redutase (DHAR) e glutaciona redutase (GR) (MITTLER, 2002; BAILLY, 2004). Assim, sementes vigorosas tendem a apresentar elevada atividade de enzimas do sistema de defesa antioxidativo (EBONE; CAVERZAN; CHAVARRIA 2019) e sua quantificação tem sido utilizada como marcador de qualidade em sementes (KHAN *et al.*, 2013; SHARMA *et al.*, 2013; YAHAYA, SINNIHAH, MISRAN, 2022).

O processo de deterioração das sementes é, portanto, progressivo e irreversível (BEWLEY *et al.*, 2013). No entanto, o ambiente no qual as sementes são expostas após a colheita exerce influência sobre a intensidade e velocidade desse processo (LAMICHANEY *et al.*, 2020, ALEMAYEHU *et al.*, 2020). A deterioração das sementes pode ser atenuada quando estas são mantidas sob condições adequadas de armazenamento. A temperatura e a umidade relativa do ar são os principais fatores físicos que afetam diretamente a velocidade da deterioração, sendo a umidade relativa considerada mais importante, dada a sua relação direta com o teor de água das sementes, uma vez que aumento no teor de água da semente eleva a sua atividade metabólica e, conseqüentemente, a respiração (BEWLEY *et al.*, 2013; ISLAM *et al.*, 2013; HTWE *et al.*, 2018). Entretanto, a temperatura também contribui significativamente, afetando a velocidade dos processos bioquímicos ligados à deterioração (BASAVEGOWDA; HOSAMANI, 2013; ZUCARELI *et al.*, 2015). Altos teores de água nas sementes combinados com altas temperaturas durante o armazenamento contribuem para acelerar os processos de deterioração que levam à redução do vigor e da viabilidade das sementes (KOOSHKI *et al.*, 2018).

Além de favorecer reações deletérias, o elevado teor de água das sementes e alta temperatura durante o armazenamento favorecem o desenvolvimento de fungos (MIELEZRSKI; MARCOS-FILHO, 2013; ISLAM *et al.*, 2013, ALEMAYEHU *et al.*, 2020). *Aspergillus* spp. e *Penicillium* spp. são fungos de armazenamento que possuem a capacidade de se desenvolver sob baixa umidade relativa do ar, tornando-se fungos predominantes no armazenamento (SHAMSI; KHATUM, 2016; RAMIREZ, 2018). São capazes de intensificar o processo de deterioração atuando principalmente no aquecimento da massa de sementes (WANG *et al.*, 2020), na produção de enzimas (ABD-ALLAH *et al.*, 2018; TRIPATHI; KUMAR, 2020), além da produção de compostos tóxicos como as micotoxinas (ISMAIEL; PAPENBROCK, 2015, RAMIREZ *et al.*, 2018; ALEMAYEHU *et al.*, 2020.). Assim, a composição química e estrutural das sementes pode ser alterada, reduzindo sua qualidade (ABD-ALLAH, 2018; TRIPATHI; KUMAR, 2020).

O tipo de embalagem utilizada para o armazenamento das sementes também é relevante para a sua longevidade, visto que a natureza das embalagens tem relação direta com o grau de umidade das sementes (ALEMAYEHU *et al.*, 2020; CORADI *et al.*, 2020; LAMICHANEY *et al.*, 2020; SATASIYA *et al.*, 2021). Em embalagens permeáveis, há troca de vapor d'água entre as sementes e o ambiente até que o equilíbrio higroscópico seja alcançado, o que não ocorre nas impermeáveis, que não permitem esta troca, independente da condição da umidade relativa do ambiente externo. Já nas embalagens semipermeáveis há resistência às trocas de vapor d'água. A decisão sobre o tipo de embalagem a ser usado depende das condições climáticas sob as quais as sementes irão permanecer armazenadas até a semeadura e também da modalidade de comercialização das sementes (CARVALHO, NAKAGAWA, 2012; BAUDET; VILLELA, 2019).

Em síntese, o período de armazenamento, a temperatura, a umidade relativa do ar e a proliferação de patógenos são os principais fatores que afetam a viabilidade e o vigor das sementes durante o armazenamento (SHABAN, 2013; ZHANG *et al.*, 2021).

Especificamente para grão-de-bico ainda não são conclusivas as informações referentes à deterioração das sementes e às condições mais adequadas para o seu armazenamento. Em estudo com sementes do tipo desi, mais comum na Ásia e África, Patel *et al.* (2018) e Satasiya *et al.* (2021), avaliaram diferentes tipos de embalagens, constataram que as impermeáveis, como polipropileno, foram eficientes para manter a germinação das sementes por 12 meses, enquanto na embalagem de juta (permeável) houve redução significativa da germinação, principalmente a partir de seis meses de armazenamento sob condições de ambiente. Nas nossas condições, as informações são ainda restritas, predominando o cultivo de grão-de-bico do tipo kabuli. Silva *et*

al. (2022), ao armazenarem sementes do tipo kabuli com 10,6% de umidade em sacos de papel e embalagem hermética sob condições não controladas de ambiente e câmara fria (14,5 °C e 65% UR), observaram que a germinação das sementes decresceu linearmente em ambas as condições, independente da embalagem. A germinação inicial que era de 83% caiu para valores na faixa de 42% após 90 dias. Considera-se que o teor de água de 10,6% é relativamente alto para o armazenamento em embalagem hermética; contudo, sementes acondicionadas em embalagem permeável também tiveram comportamento semelhante.

Nestes estudos relacionados acima, não foram realizadas avaliações da qualidade sanitária das sementes e nem de parâmetros bioquímicos relacionados ao processo de deterioração durante o armazenamento.

Neste contexto, com a presente pesquisa objetivou-se avaliar as alterações bioquímicas, fisiológicas e sanitárias em sementes de grão-de-bico armazenadas em diferentes embalagem e condições de ambiente.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Sementes de grão-de-bico (*Cicer arietinum* L.) da cultivar BRS Aleppo foram produzidas na área experimental da UEPE – Unidade de Ensino, Pesquisa e Extensão da Universidade Federal de Viçosa (UFV), denominada “Horta Nova”, situada no distrito de São José do Triunfo, município de Viçosa – MG, coordenadas geográficas 20°45'48.7"S e 42°49'24.2"W.

A semeadura foi realizada em abril de 2019 utilizando uma área útil de 80 m² sendo o espaçamento, adubação e tratos culturais realizados de acordo com o recomendado para a cultura (NASCIMENTO *et al.*, 2016). A colheita foi realizada de forma manual em setembro de 2019, quando as sementes apresentaram 20% de umidade e vagens de coloração amarelo dourado (TRANCOSO *et al.*, 2021). Foi realizada a debulha manual, a retirada de impurezas e selecionadas sementes com diâmetro superior a 5 mm.

A secagem das sementes foi realizada em condição ambiente até atingir grau de umidade próximo de 12%. Posteriormente, foram mantidas por 48h em estufa de circulação forçada de ar, à temperatura de 25 °C, atingindo grau de umidade próximo a 11%.

Após esses procedimentos, as sementes foram homogeneizadas e acondicionadas em dois tipos de embalagem: saco de papel multifoliado e saco de polietileno com espessura de 200 micras (plástico). As sementes acondicionadas nas respectivas embalagens foram armazenadas por doze meses, a partir de novembro de 2019 até novembro de 2020 em três condições de ambiente: câmara fria e seca (8 °C ± 1,0 e 35% UR ± 1,3); sala refrigerada, apenas com

resfriamento artificial (ar condicionado) ($18\text{ °C} \pm 1,3$ e $62\% \text{ UR} \pm 4,0$) e ambiente não controlado ($24\text{ °C} \pm 1,8$ e $68\% \text{ UR} \pm 6,7$).

O monitoramento da temperatura e da umidade relativa de cada ambiente de armazenamento foi realizado durante todo período de experimentação por meio de um termohigrógrafo digital, sendo as médias apresentadas na Figura 1.

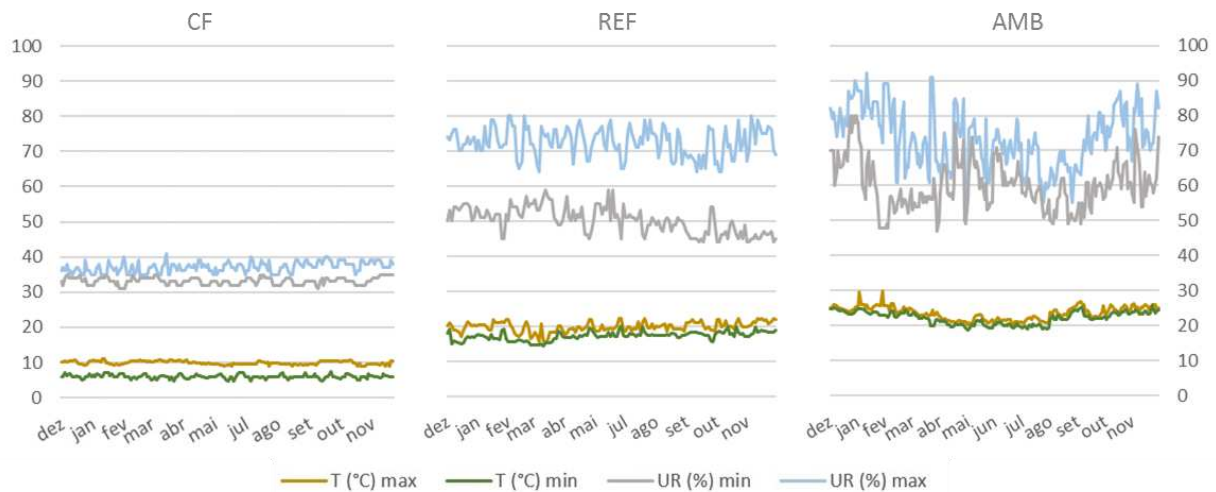


Figura 1: Temperatura ($T\text{ °C}$) e umidade relativa ($\text{UR}\%$) dos ambientes de armazenamento (câmara fria (CF), ambiente refrigerado (REF) e ambiente não controlado (AMB)). Viçosa, UFV, 2019-2020.

Inicialmente e a cada três meses (3, 6, 9 e 12 meses), as sementes foram submetidas aos seguintes testes e determinações realizados no Departamento de Agronomia da UFV:

2.1 Grau de umidade

Foi determinado pelo método da estufa a 105 °C por 24 horas, com quatro repetições de 20 sementes, segundo as Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009). Os resultados foram expressos em porcentagem (base úmida).

2.2 Germinação

Conduzido com quatro repetições de 50 sementes, distribuídas em rolo de papel toalha umedecido com água destilada, na proporção de 2,5 vezes o peso do papel seco. Os rolos foram mantidos em germinador à temperatura de 25 °C , computando-se a porcentagem de plântulas normais no quinto e oitavo dia após a semeadura (BRASIL, 2009). Na Figura 2, é possível verificar o padrão de plântulas normais e anormais adotado na avaliação do teste de germinação.



Figura 2: Padrão de plântulas normais (A) e anormais (B) adotados na avaliação do teste de germinação. Imagens: Miranda, R.M.

2.3 Primeira contagem de germinação

Conduzido juntamente com o teste de germinação, computou-se a porcentagem de plântulas normais aos cinco dias após a semeadura (BRASIL, 2009).

2.4 Comprimento de plântula

Foram utilizadas quatro repetições de 20 sementes dispostas sobre uma linha traçada no terço superior do papel toalha, umedecido com o volume de 2,5 vezes o peso do papel seco (KRZYZANOWSKI *et al.*, 2020). No quinto dia após a semeadura, foram obtidas imagens fotográficas por meio de uma câmera digital Nikon®, modelo Coolpix P510. Posteriormente, o comprimento total (parte aérea e raiz) das plântulas foi determinado utilizando-se *software* ImageJ®. Os resultados foram expressos em milímetros por plântula.

2.5 Envelhecimento acelerado

Foram utilizadas caixas tipo gerbox com compartimento individual, possuindo no interior uma bandeja com tela onde as sementes foram distribuídas em camada única e uniforme. Dentro de cada caixa foram adicionados 40 mL de solução saturada de NaCl, de modo a se obter 76% de umidade relativa no seu interior (ARAÚJO *et al.*, 2021). Em seguida, as caixas foram colocadas em uma câmara tipo BOD regulada à temperatura constante de 41° C por 48 horas. Decorrido este período, as sementes foram submetidas ao teste de germinação conforme descrito acima realizando-se a avaliação no quinto dia após a sementeira. Os resultados foram expressos em porcentagem de plântulas normais (MARCOS-FILHO, 2020).

2.6 Condutividade elétrica

Quatro repetições de 50 sementes foram pesadas em balança com precisão de 0,001g e colocadas em copos plásticos contendo 100 mL de água destilada durante 24 horas à temperatura de 25 °C em câmara do tipo B.O.D (ARAÚJO *et al.*, 2022). Após este período, foi determinada a condutividade elétrica em condutivímetro Digimed®, modelo: DM-32. Os resultados foram expressos em $\mu\text{S cm}^{-1} \text{ g}^{-1}$ de sementes (VIEIRA; MARCOS-FILHO 2020).

2.7 Índice de velocidade de emergência (IVE)

Foi conduzido com quatro repetições de 25 sementes em câmara de crescimento vegetal com temperatura constante de 25°C, sendo a sementeira realizada a 1,0 cm de profundidade em mistura de solo e areia na proporção 1:1, contida em bandejas de isopor. Contagens diárias foram realizadas após a emergência da primeira plântula até a estabilização do número de plântulas. O número de plântulas emergidas por dia foi utilizado para o cálculo do índice de velocidade de emergência de plântulas por meio do pacote *SeedCalc* do *software* R (SILVA; MEDEIROS; OLIVEIRA, 2019).

2.8 Peroxidação de lipídios

Para a quantificação da peroxidação de lipídios e determinação da atividade das enzimas antioxidativas cinco repetições de 12 sementes, para cada tratamento, foram colocadas para embeber por 10 h em papel toalha (tempo este definido em estudos preliminares), conforme metodologia descrita para o teste de germinação. Decorrido o período de embebição foi retirado o tegumento e, em seguida, os embriões foram congelados em nitrogênio líquido e armazenados a -20°C. Posteriormente, as sementes foram liofilizadas (Liofilizador Scanvac CoolSafe) e maceradas utilizando-se um TissueLyser da Retsch, vibratório, modelo MM 400. Em seguida, o material foi mantido em dessecador até o momento das avaliações.

O conteúdo de MDA foi determinado pela reação do ácido tiobarbitúrico (TBA) (CAKMAK; HORST, 1991). Amostras de 0,1 g de embriões, previamente liofilizados e macerados como descrito acima, foram homogeneizadas com 1,5 mL de ácido tricloroacético (TCA) 0,1% (p/v) e o homogeneizado foi centrifugado a 13.300 rpm por 15 min a 4°C. Uma alíquota de 0,5 mL do sobrenadante foi adicionada a 0,75 mL de TBA 0,5% (p/v) e TCA 20%. A mistura foi incubada em água fervente por 30 minutos e, então, imediatamente resfriada em banho de gelo. Em seguida, as amostras foram centrifugadas a 400 rpm durante 10 minutos. A absorbância da amostra foi lida nos comprimentos de onda de 532 nm e 600 nm em espectrofotômetro modelo Thermo Scientific™ UV-Vis Genesys 105. A peroxidação de lipídios foi expressa como conteúdo de MDA em nmol g⁻¹ de massa seca, utilizando-se coeficiente de extinção molar de 155 mM⁻¹cm⁻¹.

2.9 Determinação da atividade de enzimas antioxidativas

Os extratos enzimáticos brutos foram obtidos pela adição de 2 mL do meio de extração a 100 mg de embrião, proveniente do material macerado, que posteriormente foram centrifugados a 15.000 g por 15 min., a 4°C. O meio de extração foi constituído de tampão fosfato de potássio 0,1 M, pH 6,8, ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) 0,1 mM, fluoreto de fenilmetilsulfônico (PMSF) 1 mM e polivinilpolipirrolidona (PVPP) 1 % (p/v) (PEIXOTO *et al.*, 1999).

Superóxido dismutase (SOD): A atividade da SOD foi determinada pela adição de 50 µL do extrato enzimático bruto a 2,95 mL de meio de reação, constituído de tampão fosfato de sódio 50 mM, pH 7,8, contendo metionina 13 mM, azul de p-nitro tetrazólio (NBT) 75 µM, EDTA 0,1 mM e riboflavina 2 µM (DEL LONGO *et al.*, 1993). A reação foi conduzida a 25 °C, em uma câmara de reação iluminada com uma lâmpada fluorescente de 15 W. Após 5 min de exposição à luz, a iluminação foi interrompida e a formazana azul, produzida pela fotorredução do NBT, foi medida pela absorvância a 560 nm. O valor da absorvância de um meio de reação igual ao anterior, mas mantido no escuro pelo mesmo período, serviu como branco e foi subtraído da leitura de cada amostra que recebeu iluminação (GIANNOPOLITIS; RIES, 1977). Uma unidade de SOD foi definida como a quantidade de enzima necessária para inibir em 50% a fotorredução do NBT (BEAUCHAMP; FRIDOVICH, 1971). O resultado foi expresso em U min⁻¹ mg⁻¹ proteína.

Ascorbato peroxidase (APX): A atividade da ascorbato peroxidase foi obtida por meio da adição de 200 µL do extrato enzimático bruto em 2,80 mL do meio de reação constituído de tampão fosfato de potássio (50 mM, pH 7,8), ácido ascórbico 0,5 mM, EDTA 0,1 mM e H₂O₂ 1,2 mM. Foi observado o decréscimo da absorbância a 290 nm durante o primeiro minuto, a 25 °C. A

atividade enzimática foi calculada utilizando-se o coeficiente de extinção molar $2,8 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ (NAKANO; ASADA, 1981), e o resultado expresso em $\text{nmol min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$ proteína.

Catalase (CAT): A atividade da CAT foi determinada pela adição de 100 μL do extrato enzimático bruto a 2,90 mL de meio de reação, constituído de tampão fosfato de potássio 50 mM, pH 7,0 e H_2O_2 12,5 mM (adaptado de Havir e McHale, 1987). O decréscimo na absorvância a 240 nm a 25 °C foi medido durante o primeiro minuto de reação. A atividade enzimática foi calculada utilizando-se o coeficiente de extinção molar de $36 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ (ANDERSON; PRASAD; STEWART, 1995) e o resultado expresso em $\mu\text{mol min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$ proteína.

Determinação de proteínas: Os teores de proteínas dos extratos enzimáticos foram determinados pelo método de Bradford (1976), utilizando BSA como padrão. 10 μL do extrato enzimático foram adicionados a 1 mL do reagente de Bradford, seguido de agitação. Após 20 minutos, foi realizada a leitura da absorvância da amostra em espectrofotômetro modelo Thermo Scientific™ UV-Vis Genesys 105 no comprimento de onda de 595 nm.

2.10 Sanidade

Foi utilizado o método do papel-filtro ou “*Blotter test*”. Foram utilizadas cinco repetições de 20 sementes, totalizando 100 sementes por tratamento, dispostas em placa de Petri sobre três folhas de papel toalha, previamente esterilizadas e umedecidas com água destilada e 2,4-D. A incubação foi realizada em B.O.D., à temperatura de 25 °C, em regime de 12 horas de iluminação com lâmpadas fluorescentes, alternadas com 12 horas de escuro, durante sete dias. Após esse período, foram identificados os fungos presentes nas sementes, com o auxílio de lupa com iluminação e microscópio estereoscópico (HENNING, 2005; GOULART, 2018), calculando-se a porcentagem de sementes infectadas.

2.11 Delineamento experimental e análise estatística

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado (DIC), em esquema de parcela subdividida, tendo nas parcelas, em esquema fatorial (3x2), as condições de armazenamento (ambientes e embalagens), e nas sub-parcelas, os tempos de armazenamento. Os dados foram submetidos à análise de variância após testar a distribuição normal do erro e a homogeneidade das variâncias pelos testes de Shapiro-Wilk e Bartlett, respectivamente. Os dados de qualidade fisiológica referentes aos períodos de armazenamento, para cada parâmetro avaliado, foram submetidos à análise de regressão polinomial, sendo escolhido o modelo que representou o comportamento biológico da variável e apresentou maior significância. Os dados de qualidade sanitária e alterações bioquímicas foram apresentados pelas médias \pm desvio padrão.

Para avaliar o efeito das embalagens e dos ambientes de armazenamento, as médias, dentro de cada período de armazenamento, foram comparadas pelos testes F e Tukey ao nível de 5% de probabilidade, respectivamente. Para o processamento dos dados foi utilizado *Spreadsheet program* “SPEED Stat 2.3” (CARVALHO; MENDES, 2017), e para a elaboração dos gráficos foram utilizados os softwares Excel e R 4.0.2 (R CORE TEAM, 2020). Além disso, foi realizada uma análise multivariada de componentes principais (PCA) para todas as características avaliadas por meio do pacote Factoextra (KASSAMBARA; MUNDT, 2016).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os ambientes e a natureza das embalagens afetaram o grau de umidade das sementes de grão-de-bico durante o armazenamento (Figura 3). Sementes armazenadas com 11% de umidade apresentaram pequena variação no teor de água durante os doze meses, quando embaladas em plástico, em todos os ambientes avaliados. Portanto, como esperado, essa embalagem dificultou as trocas de vapor d’água entre as sementes e o ambiente.

Já as sementes embaladas em papel apresentaram maior variação no teor de água de acordo com o ambiente de armazenamento (Figura 3). Em câmara fria e seca, o teor de água reduziu para 8% aos 3 meses e se manteve em torno dessa faixa até os 12 meses (7,5%). Assim, nesta condição, a baixa umidade relativa do ar (35%) atuou no sentido de reduzir o teor de água das sementes. Em ambiente refrigerado o grau de umidade das sementes permaneceu em torno de 11% durante os dozes meses de armazenamento. Sob ambiente não controlado, houve um ligeiro aumento do grau de umidade das sementes, atingindo, aos 12 meses, 12,5% de umidade, ainda dentro da faixa segura de armazenamento que é 13% (NASCIMENTO *et al.*, 2016). Neste ambiente, a maior umidade relativa do ar (68%) atuou no sentido de ceder umidade para as sementes, visto que a embalagem permeável possibilita as trocas de vapor d’água.

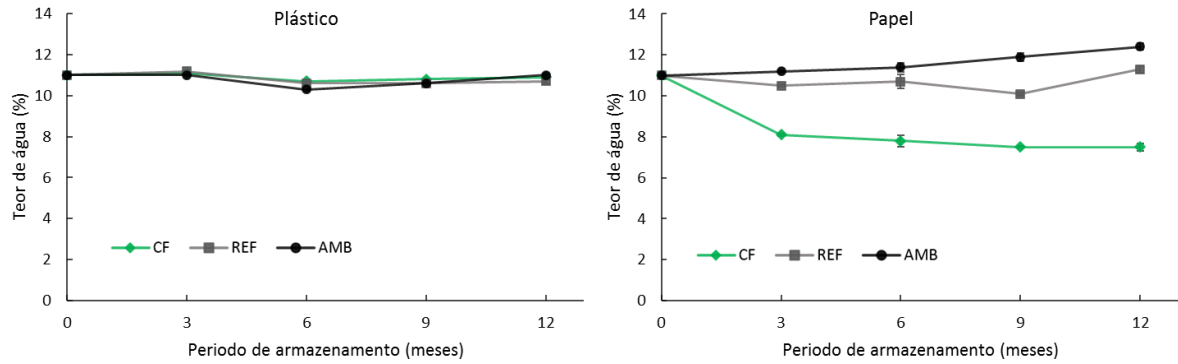
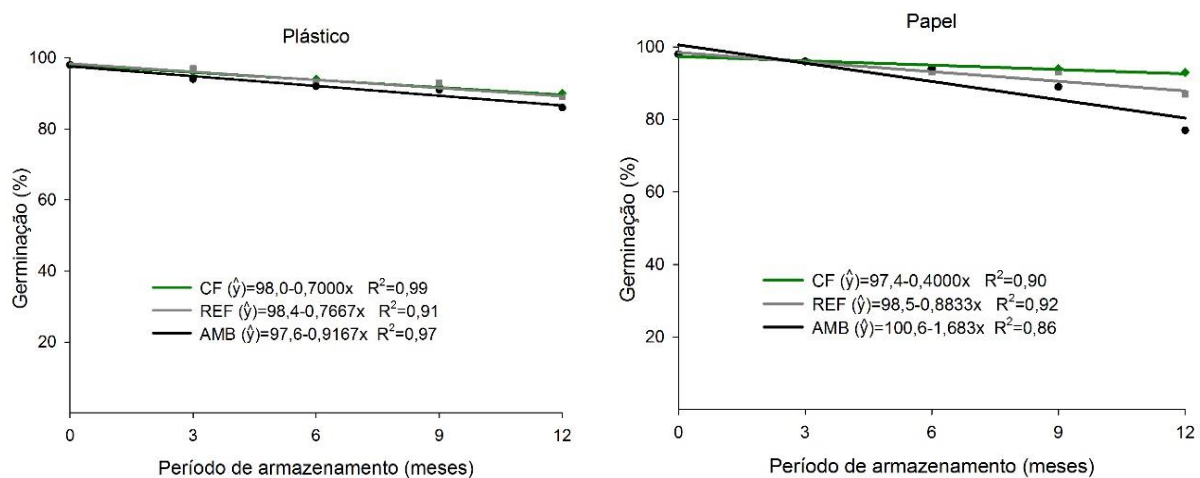


Figura 3: Teor de água (%) de sementes de grão-de-bico durante doze meses de armazenamento em diferentes embalagens e condições de ambiente (câmara fria (CF), ambiente refrigerado (REF) e ambiente não controlado (AMB)).

3.1 Qualidade fisiológica

Houve interação tripla significativa ($p < 0,05$) entre os fatores embalagens, ambientes e períodos de armazenamento para as variáveis estudadas, exceto para condutividade elétrica e índice de velocidade de emergência (IVE).

Na Figura 4, ao se comparar os diferentes períodos de armazenamento, observa-se que as sementes de grão-de-bico apresentaram redução linear da germinação e da primeira contagem de germinação durante o armazenamento em todas as embalagens e ambientes. Nas sementes embaladas em plástico, a redução foi semelhante em todos os ambientes de armazenamento. Já em papel, observa-se redução mais acentuada quando o armazenamento foi realizado em ambiente não controlado (AMB) e menos acentuada em câmara fria (CF).



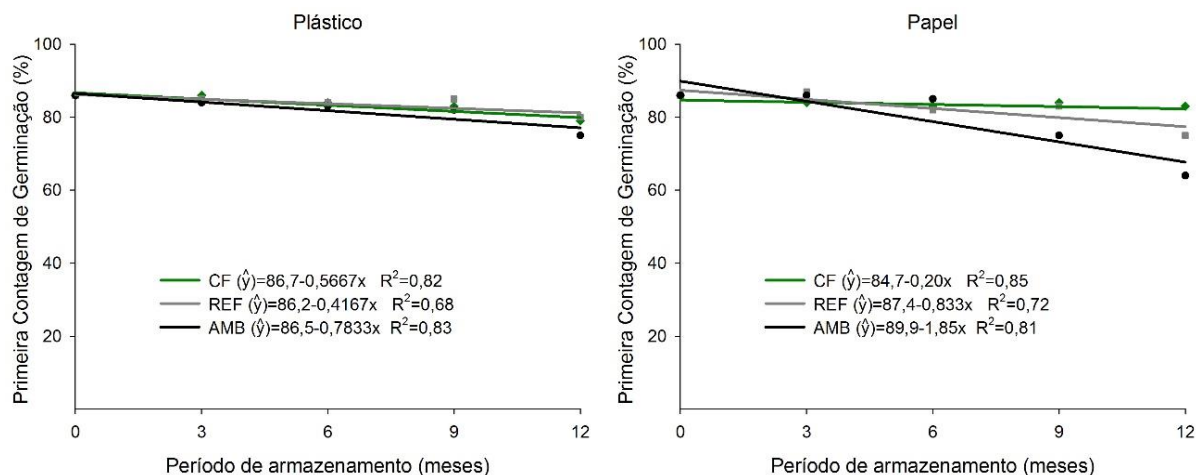


Figura 4: Germinação (%) e primeira contagem de germinação (%) de sementes de grão-de-bico durante doze meses de armazenamento em diferentes embalagens e condições de ambiente (câmara fria (CF), ambiente refrigerado (REF) e ambiente não controlado (AMB)).

Pela Tabela 1, comparando-se os diferentes ambientes dentro de cada embalagem, nota-se que a germinação inicial (tempo 0) foi de 98% atingindo 90% em CF, 89% em REF e 86% em AMB aos 12 meses de armazenamento, para sementes embaladas em plástico. Embaladas em papel, a germinação das sementes, aos 12 meses de armazenamento, atingindo 93% em CF, 87% em REF e 77% em AMB. Nota-se que sementes armazenadas em papel sob AMB apresentaram germinação inferior a 80%, valor mínimo exigido para a comercialização de sementes (BRASIL, 2012). Nessa condição de armazenamento a germinação foi mantida acima do mínimo exigido apenas até os nove meses, porém a velocidade de germinação, avaliada indiretamente pelo teste de primeira contagem de germinação, já apresentou queda nesse período.

Tabela 1: Germinação (%) e primeira contagem de germinação (%) de sementes de grão-de-bico durante doze meses de armazenamento em diferentes embalagens e condições de ambiente (câmara fria (CF), ambiente refrigerado (REF) e ambiente não controlado (AMB)).

Germinação (%)									
Período de armazenamento (meses)									
Ambiente	3		6		9		12		
	Plástico	Papel	Plástico	Papel	Plástico	Papel	Plástico	Papel	
CF	96 aA	96 aA	94 aA	94 aA	92 aA	94 aA	90 aA	93 aA	
REF	97 aA	96 aA	93 aA	93 aA	93 aA	93 abA	89 aA	87 bA	
AMB	94 aA	96 aA	92 aA	94 aA	91 aA	89 bA	86 aA	77 cB	
Avaliação inicial					98				
CVa (%)			2.92		CVb (%)			2.89	
Primeira contagem de germinação (%)									
Período de armazenamento (meses)									
Ambiente	3		6		9		12		
	Plástico	Papel	Plástico	Papel	Plástico	Papel	Plástico	Papel	
CF	86 aA	84 aA	84 aA	83 aA	83 aA	84 aA	79 aA	83 aA	
REF	85 aA	87 aA	84 aA	82 aA	85 aA	83 aA	80 aA	75 bA	
AMB	84 aA	86 aA	83 aA	85 aA	82 aA	75 bB	75 aA	64 cB	
Avaliação inicial					86				
CVa (%)			4.36		CVb (%)			4.21	

Médias seguidas das mesmas letras, dentro de cada período de armazenamento, minúsculas na coluna e maiúsculas nas linhas, não diferem a 5% de probabilidade pelos testes de Tukey e F, respectivamente.

Pela tabela 1, ainda se avaliando os ambientes dentro de cada embalagem, observa-se que não houve diferenças significativas na germinação e primeira contagem de germinação, em semente embaladas em plástico, dentro de cada período de armazenamento. É importante destacar que o grau de umidade das sementes embaladas em plástico permaneceu muito próximo em todos os ambientes (em torno de 11%) (Figura 3). Como o conteúdo de água das sementes é o fator, que de forma isolada, mais exerce influência sob o processo de deterioração (HARRINGTON, 1972; BEWLEY *et al.*, 2013; ISLAM *et al.*, 2013; HTWE *et al.*, 2018), mesmo havendo diferenças na temperatura dos ambientes de armazenamento, a germinação e a velocidade de germinação foram similares quando não houve grandes oscilações de umidade.

Por outro lado, diferença estatística na germinação e na primeira contagem de germinação ocorreu entre os ambientes, em sementes embaladas em papel, aos 9 e 12 meses, com menores valores para AMB e maiores valores para CF (Tabela 1). Nota-se que em embalagem permeável (papel) houve variação do grau de umidade das sementes em função da umidade relativa (UR) do ambiente de armazenamento (Figura 3). Assim, verifica-se que em CF a UR de 35% reduziu o grau de umidade das sementes (8%) que aliado à baixa temperatura (8°C) favoreceu a manutenção da qualidade fisiológica, pois contribuiu certamente para uma menor atividade

metabólica. Nesse ambiente a soma da temperatura com a UR permaneceu inferior a 55, considerada como condição ideal para o armazenamento de sementes (HARRINGTON, 1972). Já em AMB a maior umidade relativa (68%) aumentou ligeiramente o grau de umidade das sementes (12,5%) e aliada à maior temperatura (24°C) possivelmente contribuindo para maior taxa respiratória, reduzindo a germinação e o velocidade de germinação das sementes de grão-de-bico. Zucareli *et al.* (2015) também observaram redução da qualidade fisiológica de sementes de feijão carioca, após 12 meses de armazenamento, em ambiente não climatizado (23 °C e 71% UR) quando comparadas ao ambiente climatizado (20 °C e 30% UR) e atribuiu o evento à maior atividade metabólica das sementes sob maior umidade relativa e temperatura.

Ainda na tabela 1, comparando-se as embalagens plástico e papel dentro de cada ambiente, não se observou diferença entre elas quanto à germinação e primeira contagem de germinação, tanto em CF como em REF, em cada período de armazenamento. Em CF, mesmo havendo diferença entre o grau de umidade de sementes armazenadas em plástico (11%) e em papel (8%), possivelmente, a baixa temperatura limitou as reações de deterioração em ambas as embalagens. Em REF, praticamente não houve diferença no grau de umidade das sementes embaladas em plástico e em papel, que permaneceu em torno de 11%, assim, sob temperatura e grau de umidade similares, possivelmente, as reações de deterioração ocorreram de forma semelhante.

Porém, sob AMB, sementes embaladas em papel apresentaram menor germinação aos doze meses e menor velocidade de germinação, pelo teste de primeira contagem de germinação, a partir dos nove meses, quando comparada aos valores obtidos em embalagem plástica. Nota-se que após 9 meses de armazenamento o teor de água dessas sementes permaneceu acima de 12% enquanto em plástico o grau de umidade permaneceu em torno de 11%. Harrington (1972) já dizia que a cada aumento de 1% no teor de água das sementes há redução pela metade do período de armazenamento. Assim, em AMB (68% UR), as sementes absorveram umidade em embalagem permeável e, possivelmente, a maior taxa respiratória intensificou as reações de deterioração reduzindo a qualidade fisiológica dessas sementes. Lamichaney *et al.* (2020) também observaram maior variação no grau de umidade de sementes de grão-de-bico armazenadas sob ambiente não controlado em embalagem permeável, quando comparado à embalagem de polietileno, sendo que o maior grau de umidade foi responsável pela redução do potencial de armazenamento dessas sementes.

O comprimento de plântulas de grão-de-bico também reduziu de forma linear durante o armazenamento (Figura 5), com comportamento similar ao observado no teste de primeira contagem de germinação (Figura 4).

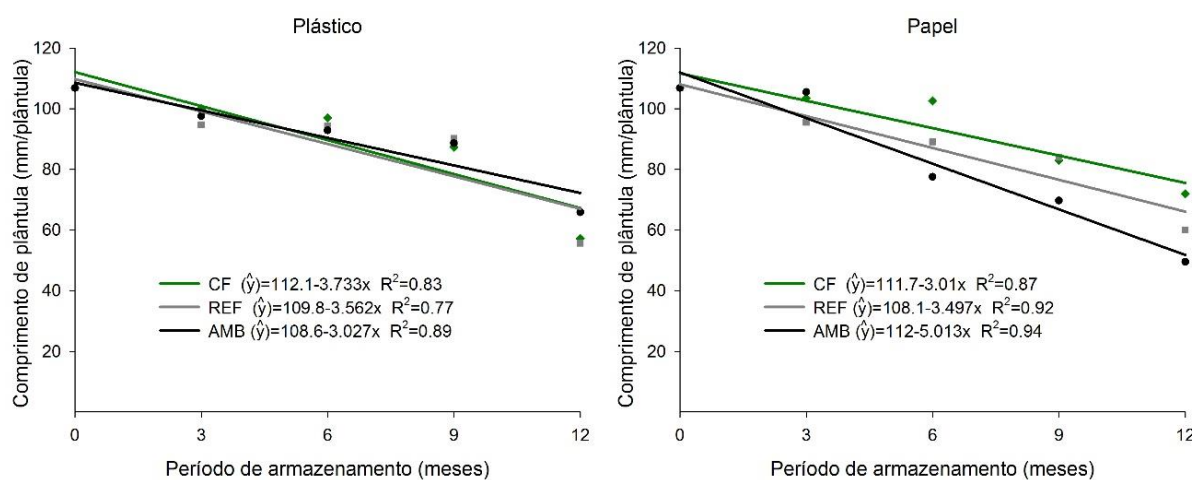


Figura 5: Comprimento de plântula (mm.plântula^{-1}) de grão-de-bico durante doze meses de armazenamento em diferentes embalagens e condições de ambiente (câmara fria (CF), ambiente refrigerado (REF) e ambiente não controlado (AMB)).

Avaliando-se o comprimento de plântula, observa-se quanto aos ambientes que não houve diferença entre eles em sementes embaladas em plástico durante todo o período de armazenamento (Tabela 2). Porém, os ambientes diferem entre si, a partir dos seis meses, em sementes embaladas em papel, sendo que menor comprimento de plântula foi observado em AMB porém, sem diferir de REF aos seis e doze meses.

Com relação às embalagens, novamente o vigor das sementes embaladas em plástico e papel não diferiu entre si, tanto em CF como em REF (Tabela 2). Em AMB, plástico e papel diferem a partir de seis meses, com pior desempenho para sementes mantidas em papel, as quais apresentaram menor comprimento de plântulas, ou seja, menor capacidade de sínteses de novos tecidos (KRZYŻANOWSKI *et al.*, 2020). Nota-se que o tipo de embalagem empregada para o acondicionamento das sementes durante o armazenamento assumiu relevância sob a qualidade das sementes (Tabela 1 e 2), sendo que a embalagem plástica impediu a troca de vapor d'água entre as sementes e o ambiente e auxiliou na redução da velocidade de deterioração. Outras pesquisas têm demonstrado a superioridade da embalagem impermeável para a preservação da qualidade de sementes em ambiente não controlado (SATASIYA *et al.*, 2021; ALEMAYEHU *et al.*, 2020; CORADI *et al.*, 2020; LAMICHANEY *et al.*, 2020).

Tabela 2: Comprimento de plântula (mm.plântula⁻¹) de grão-de-bico durante doze meses de armazenamento em diferentes embalagens e condições de ambiente (câmara fria (CF), ambiente refrigerado (REF) e ambiente não controlado (AMB)).

		Comprimento de plântula (mm.plântula ⁻¹)							
		Período de armazenamento (meses)							
Ambiente	3		6		9		12		
	Plástico	Papel	Plástico	Papel	Plástico	Papel	Plástico	Papel	
CF	100.08 aA	103.55 aA	97.05 aA	102.61 aA	87.39 aA	83.02 aA	57.22 aA	72.00 aA	
REF	94.79 aA	95.54 aA	94.46 aA	89.17 bA	90.30 aA	84.02 aA	55.70 aA	60.19 abA	
AMB	97.65 aA	105.57 aA	92.90 aA	77.63 bB	88.70 aA	69.75 bB	65.95 aA	49.59 bB	
Avaliação inicial					106.88				
CVa (%)			8.48		CVb (%)			8.37	

Médias seguidas das mesmas letras, dentro de cada período de armazenamento, minúsculas na coluna e maiúsculas nas linhas, não diferem a 5% de probabilidade pelos testes de Tukey e F, respectivamente.

Pelo teste de envelhecimento acelerado, observa-se redução linear do vigor das sementes durante o armazenamento em todas as condições avaliadas (Figura 6). Nas sementes embaladas em plástico, a redução foi semelhante em todos os ambientes de armazenamento. Já em papel, observa-se redução mais acentuada quando o armazenamento foi realizado em AMB e menos acentuada em CF, assim como observado no teste de primeira contagem de germinação (Figura 4) e comprimento de plântula (Figura 5).

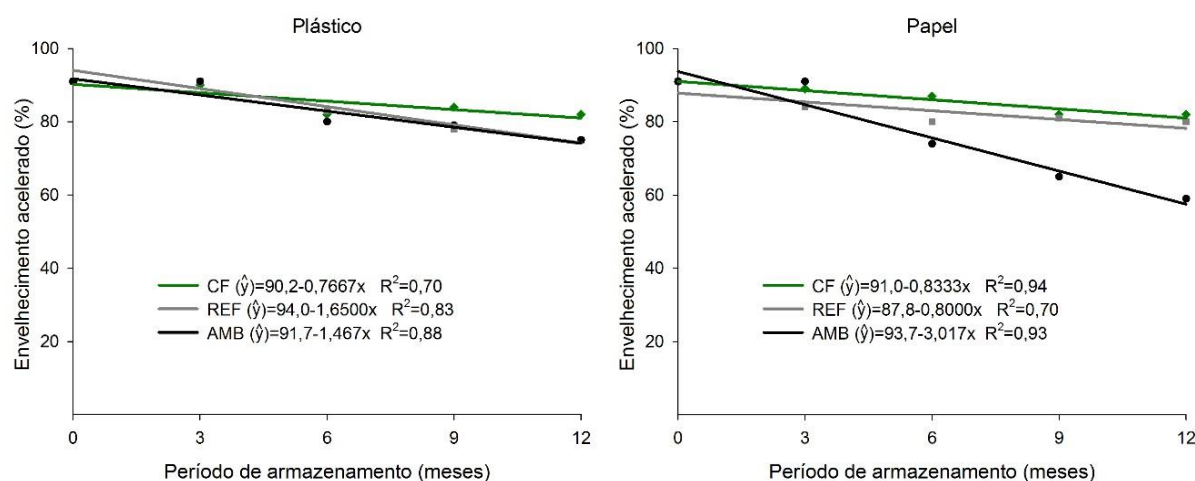


Figura 6: Envelhecimento acelerado (%) de sementes de grão-de-bico durante doze meses de armazenamento em diferentes embalagens e ambientes de armazenamento (câmara fria (CF), ambiente refrigerado (REF) e ambiente não controlado (AMB)).

Comparando-se os diferentes ambientes dentro de cada embalagem (Tabela 3), verifica-se que sementes embaladas em plástico não apresentaram diferença significativa no vigor,

independente da condição de ambiente, até os seis meses de armazenamento. A partir dos nove meses houve queda no vigor em REF e em AMB, com maior vigor para sementes armazenadas em CF. Diferente do observado na germinação, primeira contagem de germinação (Tabela 1) e comprimento de plântula (Tabela 2), pelo teste de envelhecimento acelerado (Tabela 3) foi possível observar maior vigor, a partir dos nove meses, em sementes embaladas em plástico sob CF. Assim, mesmo não havendo diferença no teor de água das sementes embaladas em plástico, possivelmente, a menor temperatura da CF (8°C) atuou sobre a velocidade das reações metabólicas, contribuindo para manutenção do vigor. Redução da temperatura do ambiente de armazenamento reduz a mobilidade das moléculas, a atividade respiratória e as reações de deterioração em sementes (WALTERS; BALLESTEROS; VERTUCCI, 2010). Assim como observado nesse trabalho, a redução da temperatura do ambiente de armazenamento também apresentou efeito benéfico sobre o vigor das sementes de feijão fava (*Vicia faba* L.) (KOOSHKI *et al.*, 2018), feijão-cutelinho (*Lablab purpureus* L.) (YAHAYA; SINNIA; MISRAN, 2022) e soja (FERREIRA *et al.*, 2017). Basavegowda e Hosamani (2013) também observaram que o armazenamento de sementes de grão-de-bico em baixas temperaturas (5-7 °C) reduziu o metabolismo preservando o vigor e a viabilidade das sementes quando comparado ao ambiente não controlado.

Também houve diferença significativa entre os ambientes para sementes embaladas em papel, aos três meses de armazenamento, sendo observado menor vigor em REF e maior vigor em AMB, porém ambos sem diferir da CF (Tabela 3). Entretanto, a partir dos seis meses menor vigor foi constatado em sementes sob AMB, como também observado no comprimento de plântula (Tabela 2). Observa-se que a redução no vigor (Tabela 3), na capacidade de síntese de novos tecidos (Tabela 2) e na velocidade de germinação (Tabela 1) foram identificadas antes da redução da viabilidade das sementes (Tabela 1). Os testes de vigor identificam os eventos da deterioração que antecedem a perda do poder germinativo (BAALBAKI *et al.*, 2009; KRZYZANOWSKI *et al.*, 2020). Assim, é possível dizer que o aumento do teor de água das sementes proporcionado por um ambiente com alta umidade relativa (68%) e maior temperatura (24°C) acelerou o processo de deterioração das sementes.

Tabela 3: Envelhecimento acelerado (%) em sementes de grão-de-bico durante doze meses de armazenamento em diferentes embalagens e condições de ambiente (câmara fria (CF), ambiente refrigerado (REF) e ambiente não controlado (AMB)).

Ambiente	Envelhecimento acelerado (%)								
	Período de armazenamento (meses)								
	3		6		9		12		
	Plástico	Papel	Plástico	Papel	Plástico	Papel	Plástico	Papel	
CF	90 aA	89 abA	82 aA	87 aA	84 aA	82 aA	82 aA	82 aA	
REF	91 aA	85 bA	83 aA	80 bA	78 bA	81 aA	75 bA	79 aA	
AMB	91 aA	91 aA	80 aA	74 cB	79 bA	65 bB	75 bA	59 bB	
Avaliação inicial	91								
CV(a) (%)	4.03				CV(b) (%)				3.74

Médias seguidas das mesmas letras, dentro de cada período de armazenamento, minúsculas na coluna e maiúsculas nas linhas, não diferem a 5% de probabilidade pelos testes de Tukey e F, respectivamente.

Comparando-se as embalagens dentro de cada ambiente (Tabela 3), observa-se que em CF e REF, não houve diferença de vigor em sementes embaladas em plástico e em papel pelo teste de envelhecimento acelerado, assim como observado na primeira contagem de germinação (Tabela 1) e comprimento de plântula (Tabela 2). Em conjunto, os dados de germinação e vigor evidenciam que tanto em CF ($8^{\circ}\text{C} \pm 1,02$ e $35\% \pm 1,36$) como em REF ($18^{\circ}\text{C} \pm 1,34$ e $62\% \pm 3,97$), não houve efeito significativo da natureza da embalagem sobre qualidade fisiológica das sementes de grão-de-bico em cada período de armazenamento. Coradi *et al.* (2020) também observaram qualidade semelhante em sementes de soja armazenadas em embalagem permeável e impermeável, quando o armazenamento foi realizado em ambientes com controle de temperatura, tanto a 10°C quanto a 15°C e atribuíram os resultados à estabilidade térmica apresentada por esses ambientes.

Ainda comparando as embalagens, observa-se na Tabela 3, que em AMB, sementes embaladas em papel apresentaram menor vigor a partir dos seis meses quando comparada ao plástico, assim como observado no comprimento de plântula (Tabela 2). Dessa forma, verifica-se, pelos testes de vigor, que o processo de deterioração, favorecido pelo maior grau de umidade das sementes embaladas em papel, começou a se intensificar a partir dos 6 meses provocando, aos 12 meses, queda na germinação. Devido à natureza higroscópica das sementes, em ambiente com elevada umidade relativa, elas absorvem vapor d'água até o equilíbrio, elevando seu grau de umidade, o que pode favorecer as reações de deterioração (BAKHTAVAR; AFZAL; BASRA, 2019; ALEMAYEHU *et al.*, 2020). Uma estratégia interessante em ambientes tropicais que não dispõe de controle da umidade relativa do ar pode ser o uso embalagens impermeáveis, que como

observado nesse trabalho foi eficiente na manutenção da qualidade filológica das sementes de grão-de-bico, até os 12 meses. Embalagens impermeáveis foram recomendadas como estratégia no controle da velocidade da deterioração em sementes de lentilha (NEGI *et al.*, 2020) e grão-de-bico (PATEL *et al.*, 2018; SATASIYA *et al.*, 2021) armazenadas em ambiente com frequentes alterações na umidade relativa do ar visto que, essas embalagens dificultaram a absorção de umidade pelas sementes.

Como pode ser observado na Figura 7, houve aumento na condutividade elétrica durante o armazenamento das sementes de grão-de-bico em todas as condições avaliadas, sendo esse aumento mais acentuado em sementes mantidas em AMB, tanto embaladas em plástico quanto em papel.

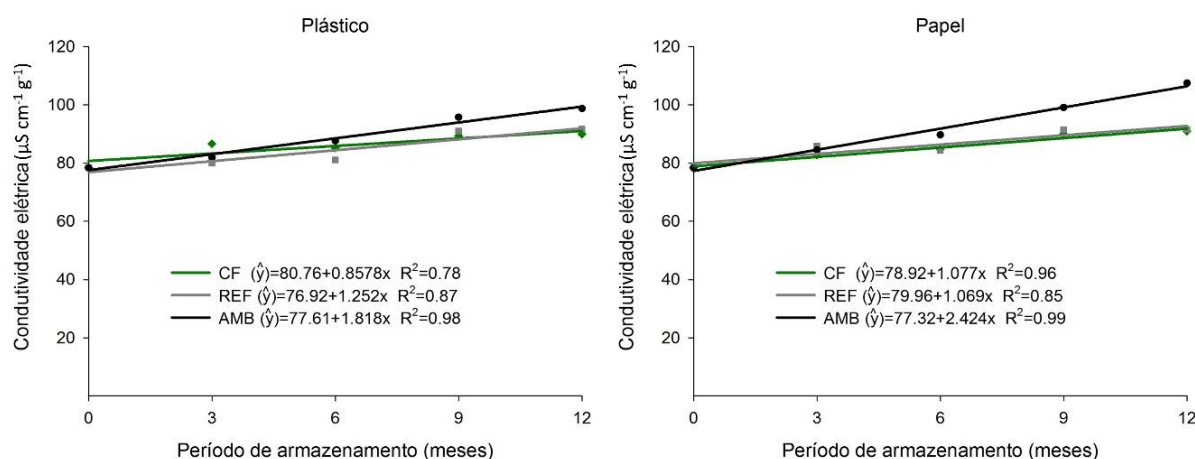


Figura 7: Condutividade elétrica ($\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$) de sementes de grão-de-bico durante doze meses de armazenamento em diferentes embalagens e condições de ambiente (câmara fria (CF), ambiente refrigerado (REF) e ambiente não controlado (AMB)).

Não houve interação entre embalagens e ambientes para os dados de condutividade elétrica dessa forma, os fatores foram avaliados isoladamente. Comparando-se os ambientes, observa-se aos seis meses maior condutividade elétrica para as sementes armazenadas em AMB e menor valor em REF, sendo que ambos não diferiram de CF (Tabela 4). A partir dos nove meses, maior condutividade elétrica foi verificada em sementes sob AMB, diferindo dos demais ambientes, indicando menor vigor das sementes nessa condição. O aumento da condutividade elétrica está associado às alterações ou a perda de integridade do sistema de membranas celulares decorrentes do acúmulo de EROs (KUREK; PLITTA-MICHALAK; RATAJCZAK, 2019; RATAJCZAK *et al.*, 2020). Sob maior temperatura e umidade relativa (AMB), a maior taxa respiratória das sementes provavelmente possibilitou maior produção de EROs que podem ter

desencadeado reações de peroxidação lipídica, acumulando danos nas membranas, acarretando em redução do vigor das sementes (KUREK; PLITTA-MICHALAK; RATAJCZAK, 2019; RATAJCZAK *et al.*, 2020).

Ainda pela Tabela 4, observa-se que diferenças significativas entre as embalagens só ocorreram aos doze meses, quando sementes embaladas em plástico apresentaram menor condutividade elétrica, indicando maior vigor, em relação a sementes acondicionadas em papel. Sementes de quinoa também apresentaram maior integridade das membranas armazenadas em embalagem impermeável quando comparada a embalagens porosas uma vez que, essa limitou a absorção de umidade pelas sementes reduzindo a atividade de EROs sobre as membranas (BAKHTAVAR; AFZAL, 2020).

Tabela 4: Condutividade elétrica ($\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$) em sementes de grão-de-bico durante doze meses de armazenamento em diferentes embalagens e condições de ambiente (câmara fria (CF), ambiente refrigerado (REF) e ambiente não controlado (AMB)).

Ambiente	Condutividade elétrica ($\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$)					
	Período de armazenamento (meses)					
	3			6		
	Plástico	Papel	Média	Plástico	Papel	Média
CF	86.66	82.79	84.72 a	85.18	84.73	84.95 ab
REF	79.96	85.90	82.93 a	81.10	84.40	82.75 b
AMB	81.93	84.53	83.23 a	87.67	89.73	88.70 a
Média	82.85 A	84.41 A		84.65 A	86.29 A	
	9			12		
	Plástico	Papel	Média	Plástico	Papel	Média
CF	89.31	90.03	89.67 b	89.96	90.97	90.47 b
REF	91.01	91.49	91.25 b	91.68	91.66	91.67 b
AMB	95.79	99.14	97.47 a	98.77	107.48	103.12 a
Média	92.04 A	93.55 A		93.47 B	96.70 A	
Avaliação inicial				78.42		
CV(a) (%)		3.84		CV(b) (%)		4.18

Médias seguidas das mesmas letras, dentro de cada período de armazenamento, minúsculas na coluna e maiúsculas nas linhas, não diferem a 5% de probabilidade pelos testes de Tukey e F, respectivamente.

Houve redução linear do índice de velocidade de emergência (IVE) durante o armazenamento de sementes de grão-de-bico (Figura 8). Redução semelhante ocorreu em todos os ambientes de armazenamento nas sementes embaladas em plástico. Já em papel, observa-se redução mais acentuada quando o armazenamento foi realizado em AMB e menos acentuada em CF.

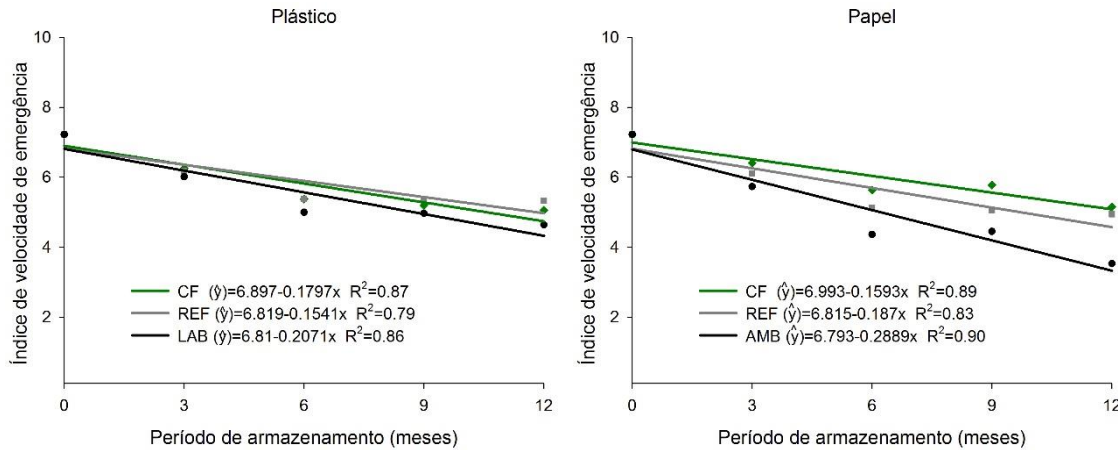


Figura 8: Índice de velocidade de emergência de plântulas de grão-de-bico durante doze meses de armazenamento em diferentes embalagens e condições de ambiente (câmara fria (CF), ambiente refrigerado (REF) e ambiente não controlado (AMB)).

Pelo IVE, assim como pelo teste de condutividade elétrica, não houve interação significativa entre os ambientes de armazenamento e as embalagens. Portanto, comparando-se os ambientes de forma isolada, observa-se que não houve diferença entre eles no início do armazenamento (três meses), sendo que a partir do sexto mês menor IVE ocorreu para as sementes mantidas em AMB (Tabela 6). Assim, a desestruturação nos sistemas de membranas identificada no teste anterior certamente afetou a velocidade de emergência das plântulas.

As sementes acondicionadas em papel e plástico apresentaram diferença significativa quanto ao IVE somente aos doze meses, com menores valores obtidos para aquelas armazenadas em papel (Tabela 6), assim, como observado no teste de condutividade elétrica (Tabela 5). Esses dados indicam que sob embalagem permeável as oscilações no grau de umidade das sementes favoreceram o acúmulo de alterações deletérias nas membranas celulares afetando a velocidade de emergência das plântulas.

Tabela 5: Índice de velocidade de emergência (IVE) de plântulas de grão-de-bico durante doze meses de armazenamento em diferentes embalagens e condições de ambiente (câmara fria (CF), ambiente refrigerado (REF) e ambiente não controlado (AMB)).

Índice de velocidade de emergência						
Ambiente	Período de armazenamento (meses)					
	3			6		
	Plástico	Papel	Média	Plástico	Papel	Média
CF	6.25	6.41	6.33 a	5.37	5.63	5.50 a
REF	6.18	6.11	6.15 a	5.39	5.13	5.26 a
AMB	6.01	5.73	5.87 a	5.00	4.36	4.68 b
Média	6.15 A	6.08 A		5.25 A	5.04 A	
	9			12		
	Plástico	Papel	Média	Plástico	Papel	Média
	CF	5.19	5.78	5.48 a	5.05	5.15
REF	5.36	5.05	5.21 ab	5.32	4.95	5.13 a
AMB	4.97	4.45	4.71 b	4.64	3.53	4.09 b
Média	5.17 A	5.09 A		5.01 A	4.54 B	
Avaliação inicial				7.22		
CV(a) (%)		7.32		CV(b) (%)		6.91

Médias seguidas das mesmas letras, dentro de cada período de armazenamento, minúsculas na coluna e maiúsculas nas linhas, não diferem a 5% de probabilidade pelos testes de Tukey e F, respectivamente.

Em síntese, os dados de qualidade fisiológica indicam que CF até doze meses foi o ambiente mais eficiente na conservação da germinação e do vigor das sementes, seja embaladas em plástico ou em papel. Por se tratar de espécies ortodoxa, constata-se o esperado, ou seja, essas condições podem ser empregadas para o armazenamento de sementes de grão-de-bico visando mínima perda de qualidade.

Em relação à REF, observa-se conservação da germinação das sementes até doze meses, porém com redução do vigor ao final do armazenamento, independente da embalagem plástico ou papel. O resfriamento artificial é uma técnica economicamente viável que já vem sendo praticada por grandes empresas do setor sementeiro (FRANÇA-NETO *et al.*, 2016; JAQUES *et al.*, 2022), podendo perfeitamente ser aplicado na cadeia de produção de sementes de grão-de-bico visto os seus benefícios na preservação da qualidade dessas sementes.

Em AMB, o uso da embalagem plástica se mostrou benéfica à conservação da germinação das sementes até os 12 meses, porém com redução do vigor a partir dos nove meses, semelhante ao observado no armazenamento sob REF. No entanto, nesse ambiente, utilizando-se a embalagem papel, a germinação e o vigor das sementes foi comprometida, mostrando ser uma condição inadequada para o armazenamento superior a nove meses. Esses dados reforçam a importância que as embalagens exercem sobre a modulação dos ambientes de armazenamento,

minimizando ou não os efeitos de fatores adversos como as oscilações de umidade, com consequências diretas sob a qualidade fisiológica das sementes (CORADI *et al.*, 2020).

3.2 Alterações bioquímicas

Nas análises bioquímicas não houve interação tripla significativa ($p < 0,05$) entre os fatores embalagens, ambientes e período de armazenamento, assim avaliou-se os efeitos dos fatores de forma isolada.

Na Figura 9, ao se comparar os diferentes períodos de armazenamento, observa-se um ligeiro acréscimo no conteúdo de MDA em sementes de grão-de-bico durante o armazenamento, em todas as embalagens e ambientes. Sementes embaladas em plástico apresentaram acréscimo semelhante em todos os ambientes de armazenamento. Já em papel, acréscimo mais acentuado ocorreu em AMB e menos acentuada em CF.

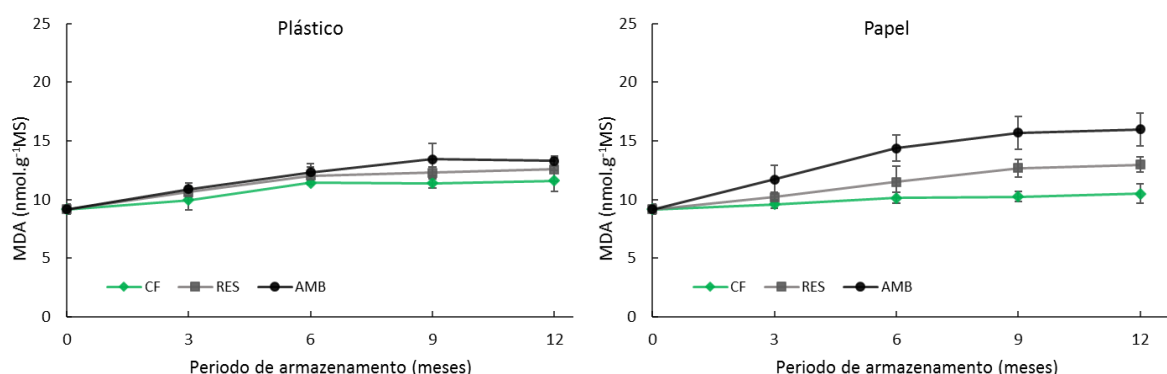


Figura 9: Conteúdo de Malonaldeído (nmol g^{-1} de massa seca) de sementes de grão-de-bico durante doze meses de armazenamento em diferentes embalagens e condições de ambiente (câmara fria (CF), ambiente refrigerado (REF) e ambiente não controlado (AMB)).

Observa-se, na Tabela 6, que houve diferença entre os ambientes a partir dos seis meses de armazenamento, com maior conteúdo de MDA em sementes sob AMB e menor conteúdo sob CF e REF. A partir dos 9 meses de armazenamento, ocorreu diferença estatística entre todos os ambientes com maior conteúdo de MDA em sementes sob AMB e menor conteúdo em sementes sob CF.

O acúmulo de MDA está associado à peroxidação de lipídios e ao processo de deterioração em sementes (BAILLY *et al.*, 1996; WOJTYLA *et al.*, 2016; MIN *et al.*, 2017 SUDHAKARAN, 2022). Ressalta-se que pelo teste de condutividade elétrica (Tabela 4) foram constatadas diferenças na permeabilidade das membranas a partir dos seis meses, com maior

conteúdo de lipídeo em sementes sob AMB. Esses dados confirmam que em ambiente com maior temperatura (24 °C) e umidade relativa (68%) a maior atividade respiratória propiciou o acúmulo de EROs e a consequente peroxidação de lipídios afetou a integridade das membranas logo no início do armazenamento, reduzindo a capacidade de síntese de novos tecidos (Tabela 2), a tolerância ao estresse (Tabela 3) e a velocidade de emergência (Tabela 5), eventos que culminaram na redução da germinação das sementes de grão-de-bico durante o armazenamento. Por outro lado, nos demais ambientes (REF e CF), as reações de peroxidação de lipídios foram limitadas de forma proporcional à redução da umidade relativa e temperatura dos ambientes de armazenamento (Tabela 6).

Não houve diferença estatística no conteúdo de MDA em sementes embaladas em plástico ou em papel, dentro de cada período de armazenamento (Tabela 6). Contudo, na avaliação da condutividade elétrica foi observado que sementes embaladas em papel apresentaram maior conteúdo de lipídeo quando comparado ao papel, aos 12 meses. Nota-se que mesmo não havendo diferença estatística, essas sementes apresentaram maiores valores absolutos de conteúdo de MDA. Assim, é provável que armazenadas em papel a peroxidação de lipídios tenha sido um dos eventos envolvidos na redução do vigor dessas sementes.

Tabela 6: Conteúdo de Malonaldeído (nmol g⁻¹ de massa seca) de sementes de grão-de-bico durante doze meses de armazenamento em diferentes embalagens e condições de ambiente (câmara fria (CF), ambiente refrigerado (REF) e ambiente não controlado (AMB)).

Malonaldeído (MDA) (nmol g ⁻¹ de massa seca)						
Ambiente	Período de armazenamento (meses)					
	3			6		
	Plástico	Papel	Média	Plástico	Papel	Média
CF	9.95	9.59	9.77 a	11.44	10.15	10.80 b
REF	10.65	10.21	10.43 a	12.03	11.51	11.77 b
AMB	10.87	11.71	11.29 a	12.34	14.37	13.36 a
Média	10.49 A	10.50 A		11.93 A	12.01 A	
	9			12		
	Plástico	Papel	Média	Plástico	Papel	Média
CF	11.39	10.25	10.82 c	11.60	10.49	11.05 c
REF	12.28	12.67	12.48 b	12.56	12.96	12.76 b
AMB	13.42	15.68	14.55 a	13.28	15.97	14.63 a
Média	12.36 A	12.86 A		12.48 A	13.14 A	
Avaliação inicial				9.18		
CV(a) (%)	8.35		CV(b) (%)		8.64	

Médias seguidas das mesmas letras, dentro de cada período de armazenamento, minúsculas na coluna e maiúsculas nas linhas, não diferem a 5% de probabilidade pelos testes de Tukey e F, respectivamente.

Em relação à atividade das enzimas antioxidativas, observa-se, na Figura 10, ligeira redução da atividade da superóxido dismutase (SOD), exceto para sementes armazenadas em papel sob CF onde a atividade da enzima se manteve praticamente constante durante o armazenamento.

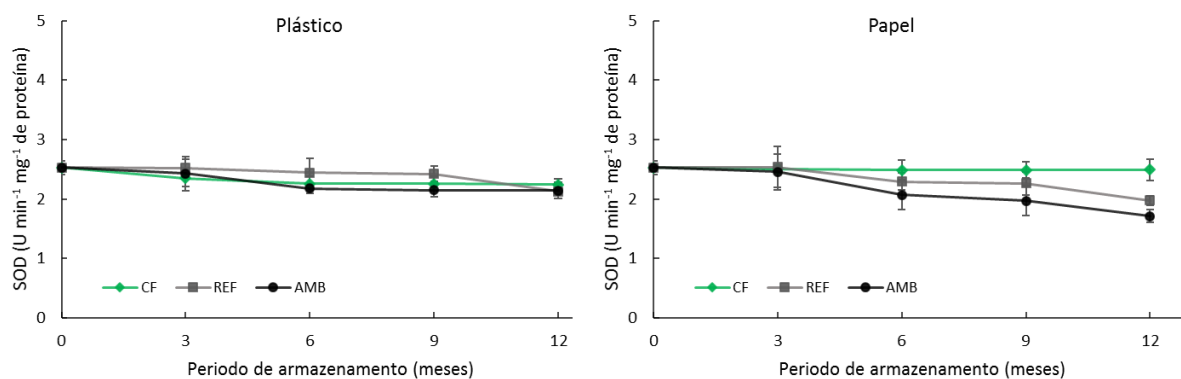


Figura 10: Atividade da Superóxido dismutase (U min⁻¹ mg⁻¹ de proteína) de sementes de grão-de-bico durante doze meses de armazenamento em diferentes embalagens e condições de ambiente (câmara fria (CF), ambiente refrigerado (REF) e ambiente não controlado (AMB)).

Em relação aos ambientes, observa-se na Tabela 7 que a partir dos nove meses, menor atividade da SOD ocorre em AMB e maior atividade ocorre em CF, porém, ambos sem diferir de REF. Aos doze meses, tanto AMB quanto REF apresentam menor atividade da SOD. Nota-se que a redução da atividade enzimática ocorreu justamente nos tratamentos que apresentaram sementes com menor germinação (AMB) ou vigor (REF), indicando que o comprometimento do sistema antioxidante enzimático resultou em perda de desempenho fisiológico.

É possível que a menor atividade da SOD observada em sementes sob REF tenha sido responsável pela redução do vigor dessas sementes, sem comprometer, contudo, a germinação até 12 meses. Por outro lado, a menor atividade da SOD em sementes sob AMB pode ter sido insuficiente para prevenir os efeitos nocivos das EROS, afetaram o desempenho germinativo dessas sementes.

Na avaliação das embalagens, observa-se que não houve diferença na atividade da SOD em sementes embaladas em plástico ou em papel (Tabela 7). Nota-se que também não se observou efeito significativo para embalagem em sementes armazenadas em CF e REF pelos testes fisiológicos, apenas sob AMB a embalagem plástica se mostrou mais eficiente na manutenção da qualidade fisiológica, a partir do sexto mês.

Tabela 7: Atividade da Superóxido dismutase ($\text{U min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ de proteína) de sementes de grão-de-bico durante doze meses de armazenamento em diferentes embalagens e condições de ambiente (câmara fria (CF), ambiente refrigerado (REF) e ambiente não controlado (AMB)).

Superóxido dismutase ($\text{U min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ de proteína)						
Ambiente	Período de armazenamento (meses)					
	3			6		
	Plástico	Papel	Média	Plástico	Papel	Média
CF	2.35	2.51	2.43 a	2.26	2.49	2.37 a
REF	2.52	2.54	2.53 a	2.45	2.30	2.37 a
AMB	2.43	2.46	2.45 a	2.18	2.07	2.13 a
Média	2.43 A	2.50 A		2.29 A	2.28 A	
	9			12		
	Plástico	Papel	Média	Plástico	Papel	Média
	CF	2.26	2.49	2.37 a	2.24	2.49
REF	2.42	2.26	2.34 ab	2.13	1.98	2.06 b
AMB	2.15	1.97	2.06 b	2.14	1.71	1.93 b
Média	2.28 A	2.24 A		2.17 A	2.06 A	
Avaliação inicial				2.53		
CV(a) (%)		10.27		CV(b) (%)		9.85

Médias seguidas das mesmas letras, dentro de cada período de armazenamento, minúsculas na coluna e maiúsculas nas linhas, não diferem a 5% de probabilidade pelos testes de Tukey e F, respectivamente.

Durante o armazenamento também houve ligeira redução da atividade da enzima Ascorbato peroxidase (APX) em sementes de grão-de-bico, porém, para essa enzima a redução ocorreu de forma similar em todos os tratamentos avaliados (Figura 11).

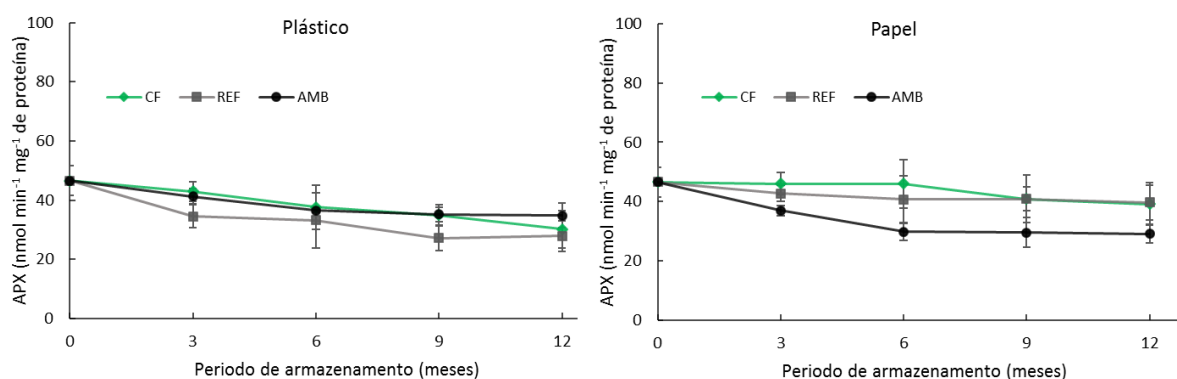


Figura 11: Atividade da Ascorbato peroxidase ($\text{nmol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ de proteína) de sementes de grão-de-bico durante doze meses de armazenamento em diferentes embalagens e condições de ambiente (câmara fria (CF), ambiente refrigerado (REF) e ambiente não controlado (AMB)).

Diferente do observado na SOD, não houve diferença entre os ambientes para a atividade da APX em sementes de grão-de-bico em cada período de armazenamento (Tabela 8). Da mesma forma, as embalagens, também não apresentaram diferença estatística em cada período.

Tabela 8: Atividade da Ascorbato peroxidase ($\text{nmol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ de proteína) de sementes de grão-de-bico durante doze meses de armazenamento em diferentes embalagens e condições de ambiente (câmara fria (CF), ambiente refrigerado (REF) e ambiente não controlado (AMB)).

Ascorbato peroxidase ($\text{nmol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ de proteína)						
Ambiente	Período de armazenamento (meses)					
	3			6		
	Plástico	Papel	Média	Plástico	Papel	Média
CF	42.97	46.07	44.52 a	37.62	46.05	41.83 a
REF	34.58	42.71	38.65 a	33.20	40.74	36.97 a
AMB	41.23	36.97	39.10 a	36.48	29.75	33.12 a
Média	39.59 A	41.92 A		35.77 A	38.85 A	
	9			12		
	Plástico	Papel	Média	Plástico	Papel	Média
	CF	34.91	40.89	37.90 a	30.15	39.18
REF	27.24	40.85	34.04 a	27.95	39.71	33.83 a
AMB	35.17	29.58	32.38 a	34.86	29.12	31.99 a
Média	32.44 A	37.10 A		30.99 A	36.01 A	
Avaliação inicial				46.61		
CV(a) (%)			18.86	CV(b) (%)		16.17

Médias seguidas das mesmas letras, dentro de cada período de armazenamento, minúsculas na coluna e maiúsculas nas linhas, não diferem a 5% de probabilidade pelos testes de Tukey e F, respectivamente.

Houve redução da atividade da Catalase (CAT) durante o armazenamento de sementes de grão-de-bico em todas as embalagens e ambientes (Figura 12). Nas sementes embaladas em plástico, a redução da atividade dessa enzima foi semelhante entre os ambientes. Já em papel, observa-se redução mais acentuada quando o armazenamento foi realizado em AMB e menos acentuada em CF.

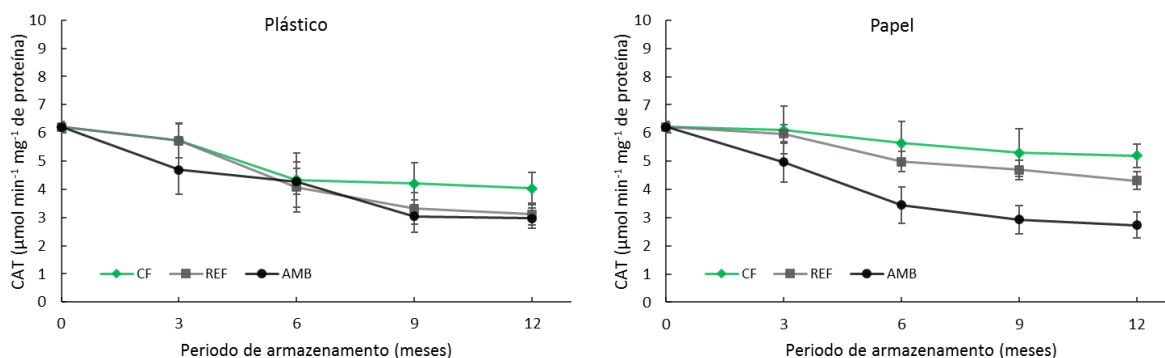


Figura 12: Atividade da Catalase ($\mu\text{mol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ de proteína) de sementes de grão-de-bico durante doze meses de armazenamento em diferentes embalagens e condições de ambiente (câmara fria (CF), ambiente refrigerado (REF) e ambiente não controlado (AMB)).

Comparando-se os ambientes, observa-se que sementes armazenadas em AMB apresentaram desde os três meses menor atividade da CAT (Tabela 9), indicando início do processo de deterioração das sementes com a redução do sistema de defesa antioxidante (KUMAR *et al.*, 2015; SANO *et al.*, 2016; KUREK; PLITTA-MICHALAK; RATAJCZAK, 2019). Contudo, pelos resultados dos testes fisiológicos, envelhecimento acelerado (Tabela 3) e IVE (Tabela 5), apenas a partir de 6 meses é que foram detectadas diferenças significativas no vigor das sementes armazenadas em AMB. Estes dados são interessantes porque indicam que alterações na atividade antioxidante das sementes ocorrem antes das alterações na tolerância ao estresse e na velocidade de emergência, podendo se constituir em marcadores relevantes para detectar o início do processo de deterioração das sementes. Esses dados estão de acordo com Ebone, Caverzan e Chavarria, (2019) que afirmaram que o primeiro evento na deterioração de sementes é a depressão da capacidade protetora, como consequência da inativação enzimática.

A menor capacidade de eliminar o peróxido de hidrogênio pode ter favorecido, a partir do seu acúmulo, a formação do radical hidroxila, principal iniciador do processo de peroxidação lipídica (DEMIDCHIK, 2015), corroborando os resultados de MDA, que detectou a partir dos 6 meses maior peroxidação de lipídios em sementes armazenadas em AMB. Em soja, a peroxidação de lipídios também aumentou em sementes durante o armazenamento e foi associada à correspondente redução na atividade das enzimas CAT e peroxidases (SHARMA *et al.*, 2013). Esses dados ajudam a elucidar quais eventos bioquímicos podem estar envolvidos na redução do vigor e germinação em sementes durante o armazenamento.

De fato, a maior temperatura e umidade relativa do ambiente de armazenamento provocaram alterações bioquímicas prejudiciais à qualidade das sementes como peroxidação lipídica (Tabela 6) e redução da atividade de enzimas do sistema de defesa antioxidante (Tabela

7 e 9) corroborando os resultados de germinação e vigor. De maneira semelhante, Khan *et al.* (2013) observaram redução na atividade da CAT em sementes de ervilha sob ambiente não controlado quando comparado ao ambiente controlado (5 °C) e constataram forte relação entre o ambiente de armazenamento, alterações bioquímicas deletérias e a redução da qualidade de sementes. Investigando os efeitos do grau de umidade (6, 10, 14, 18 e 22%) e temperatura de armazenamento (15, 15, 35 e 45°C) em sementes de feijão fava (*Vicia faba* L.), Kooshki *et al.* (2018) observaram que com o aumento do teor de água das sementes, a cada temperatura, a atividade da catalase é reduzida, comprometendo a qualidade fisiológica dessas sementes.

Assim como observado para a atividade da SOD e APX, não houve diferença na atividade da CAT para sementes acondicionadas em plástico ou em papel (Tabela 9).

Tabela 9: Atividade da Catalase ($\mu\text{mol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ de proteína) de sementes de grão-de-bico durante doze meses de armazenamento em diferentes embalagens e condições de ambiente (câmara fria (CF), ambiente refrigerado (REF) e ambiente não controlado (AMB)).

Catalase ($\mu\text{mol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ de proteína)						
Ambiente	Período de armazenamento (meses)					
	3			6		
	Plástico	Papel	Média	Plástico	Papel	Média
CF	5.74	6.10	5.92 a	4.34	5.65	4.99 a
REF	5.97	5.45	5.71 a	4.99	4.06	4.52 a
AMB	4.70	4.97	4.83 b	4.28	3.45	3.86 b
Média	5.47 A	5.51 A		4.53 A	4.39 A	
	9			12		
	Plástico	Papel	Média	Plástico	Papel	Média
	CF	4.21	5.29	4.75 a	4.02	5.20
REF	4.69	3.84	4.27 a	4.31	3.65	3.98 a
AMB	3.04	2.93	2.99 b	2.97	2.73	2.85 b
Média	3.98 A	4.02 A		3.77 A	3.86 A	
Avaliação inicial				6.21		
CV(a) (%)			11.17	CV(b) (%)		12.56

Médias seguidas das mesmas letras, dentro de cada período de armazenamento, minúsculas na coluna e maiúsculas nas linhas, não diferem a 5% de probabilidade pelos testes de Tukey e F, respectivamente.

3.3 Qualidade sanitária

Na avaliação da qualidade sanitária foram identificados como principais microrganismos associados às sementes de grão-de-bico os fungos de armazenamento *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp., e os fungos de campo *Fusarium* spp. e *Clasporium* spp. conforme ilustrado na Figura 13. Esses gêneros de fungos estão associados com frequência às sementes de grão-de-bico

(HOSKEM *et al.*, 2017; RAMIREZ, *et al.*, 2018; AMULE *et al.*, 2019; JAVAID; KHAN, 2019; PARASHAR; RIZVI; SINHA; 2019; GETANEH *et al.*, 2020).

Houve interação tripla significativa ($p < 0,05$) entre os fatores embalagens, ambientes e períodos de armazenamento para todos os microrganismos mencionados acima, exceto para *Penicillium* spp.

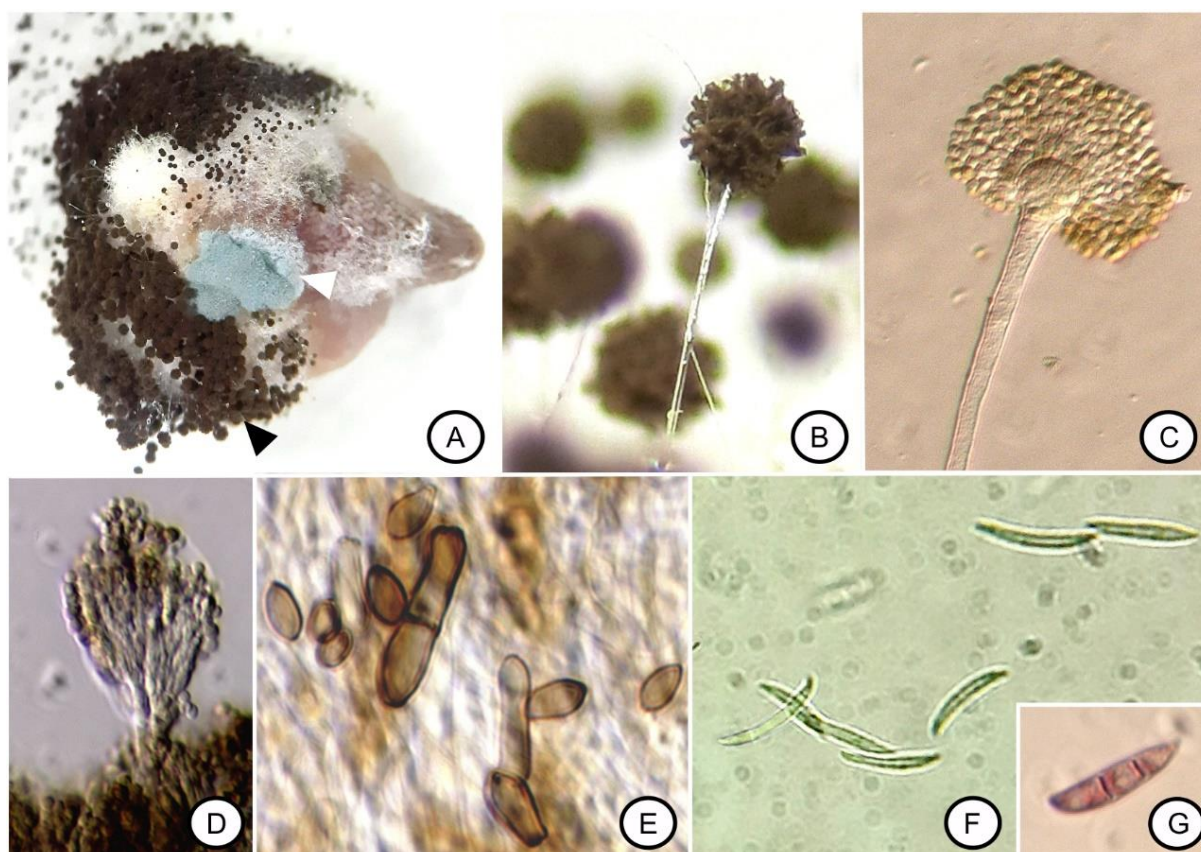


Figura 13: Crescimento de fungos em sementes de grão-de-bico (A), seta preta *Aspergillus* spp. e seta branca *Penicillium* spp. Em detalhe *Aspergillus* spp. (B e C), *Penicillium* spp. (D), *Cladosporium* spp. (E) e *Fusarium* spp. (F e G) (G corado em fucsina).

Na Figura 14, ao se comparar os períodos de armazenamento, observa-se que a incidência de *Fusarium* spp. seguiu tendência de ligeira redução em AMB e ligeiro aumento em CF, tanto para sementes embaladas em papel quanto em plástico. Espécies do complexo *Fusarium* spp., agente causal de murcha vascular, são patógenos de solo bastante recorrente na cultura do grão-de-bico e responsável por importantes perdas econômicas uma vez que pode causar morte de plantas e redução de produtividade (BHAR; JAIN; DAS, 2021). Os sintomas da doença podem aparecer a partir de 25 dias após a semeadura em campo (JIMÉNEZ-DÍAZ *et al.*, 2015). Esse patógeno pode se associar às sementes no campo e sobreviver por anos em sementes

armazenadas, sendo sua sobrevivência favorecida pela baixa umidade e temperatura durante o armazenamento (BHAR; JAIN; DAS, 2021). Assim, as condições de armazenamento empregadas nessa pesquisa foram favoráveis à manutenção da viabilidade desse patógeno.

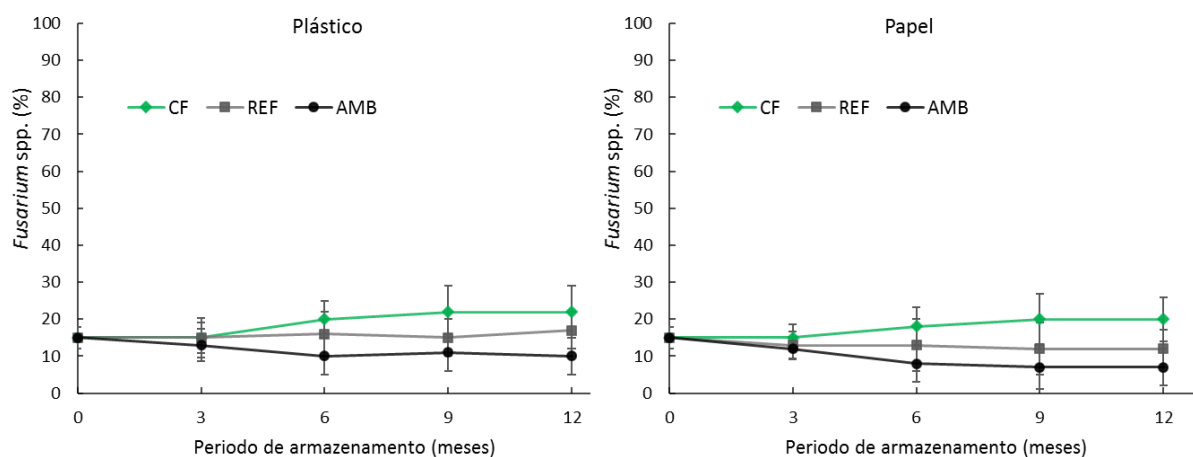


Figura 14: Incidência de *Fusarium* spp. (%) em sementes de grão-de-bico durante doze meses de armazenamento em diferentes embalagens e condições de ambiente (câmara fria (CF), ambiente refrigerado (REF) e ambiente não controlado (AMB)).

Avaliando-se os ambientes dentro de cada embalagem, observa-se que em sementes embaladas em plástico, não houve diferença entre eles na incidência de *Fusarium* spp. (Tabela 10). Já em papel, menor incidência de *Fusarium* spp. ocorreu em AMB e REF, a partir dos nove meses, porém REF não diferiu de CF. Quanto às embalagens, não houve diferença estatística entre elas em cada ambiente e período de armazenamento.

A associação de *Fusarium* spp. às sementes de grão-de-bico é relevante do ponto de vista epidemiológico visto que, sementes infectadas são um dos principais agentes de introdução de fitopatógenos em novas áreas de cultivo (JIMÉNEZ-DÍAZ *et al.*, 2015; BHAR; JAIN; DAS, 2021). Porém, de acordo como os dados dessa pesquisa, *Fusarium* spp. parece não atuar sobre a deterioração de sementes de grão-de-bico durante o armazenamento, visto que não foi observada relação direta entre a sua incidência e a redução na qualidade fisiológica das sementes. No entanto, Lima *et al.* (2021) observaram em sementes de grão-de-bico correlação negativa entre a incidência de *Aspergillus* spp., *Penicillium*, *Rhizopus* spp. e *Fusarium* spp. com a germinação.

Tabela 10: Incidência de *Fusarium* spp. (%) de sementes de grão-de-bico durante doze meses de armazenamento em diferentes embalagens e condições de ambiente (câmara fria (CF), ambiente refrigerado (REF) e ambiente não controlado (AMB)).

<i>Fusarium</i> spp. (%)									
Ambiente	Período de armazenamento (meses)								
	3		6		9		12		
	Plástico	Papel	Plástico	Papel	Plástico	Papel	Plástico	Papel	
CF	15 aA	15 aA	20 aA	18 aA	22 aA	20 aA	22 aA	20 aA	
REF	15 aA	13 aA	16 aA	13 aA	15 aA	12 abA	17 aA	12 abA	
AMB	13 aA	12 aA	10 aA	8 aA	11 aA	7 bA	10 aA	7 bA	
Avaliação inicial					15				
CV(a) (%)			24.35		CV(b) (%)			24.87	

Médias seguidas das mesmas letras, dentro de cada período de armazenamento, minúsculas na coluna e maiúsculas nas linhas, não diferem a 5% de probabilidade pelos testes de Tukey e F, respectivamente.

Na Figura 15, observa-se que considerável incidência de *Cladosporium* spp. ocorreu nas sementes de grão-de-bico recém colhidas (tempo 0), porém, durante o armazenamento, nota-se uma redução expressiva em todas as condições avaliadas. De forma geral, a incidência de *Cladosporium* spp. seguiu tendência inversa à de *Aspergillus* spp. e *Penicillium* spp.. *Cladosporium* spp. é considerado um fungo fraco competidor (KUKREJA *et al.*, 2018), assim, o aumento dos fungos de armazenamento pode ter inibido seu desenvolvimento.

Ainda na Figura 15, observa-se que a incidência de *Aspergillus* spp. em sementes recém colhidas (tempo 0), foi baixa, apenas 2%, porém, aumentou durante o armazenamento em todos os ambientes e embalagens avaliados, sendo o aumento mais expressiva em sementes embaladas em papel sob AMB e REF. Já a incidência de *Penicillium* spp. se encontrava elevada no início do armazenamento (30%), e, independente da condição avaliada aumentou durante o armazenamento, seguindo a mesma tendência observada em *Aspergillus* spp. Esses dados mostram que sementes de grão-de-bico são altamente propensas ao desenvolvimento de fungos de armazenamento e essa sensibilidade pode estar relacionada à composição química do tegumento. Trancoso *et al.* (2021) afirmam que o tegumento dessas sementes apresenta baixo teor ou a ausência de lignina combinado a alta concentração de pectina. Nesse contexto, sugerimos que essa composição pode favorecer o desenvolvimento de fungos, justificando a alta incidência de fungos de armazenamento, mesmo sob condições controladas de armazenamento.

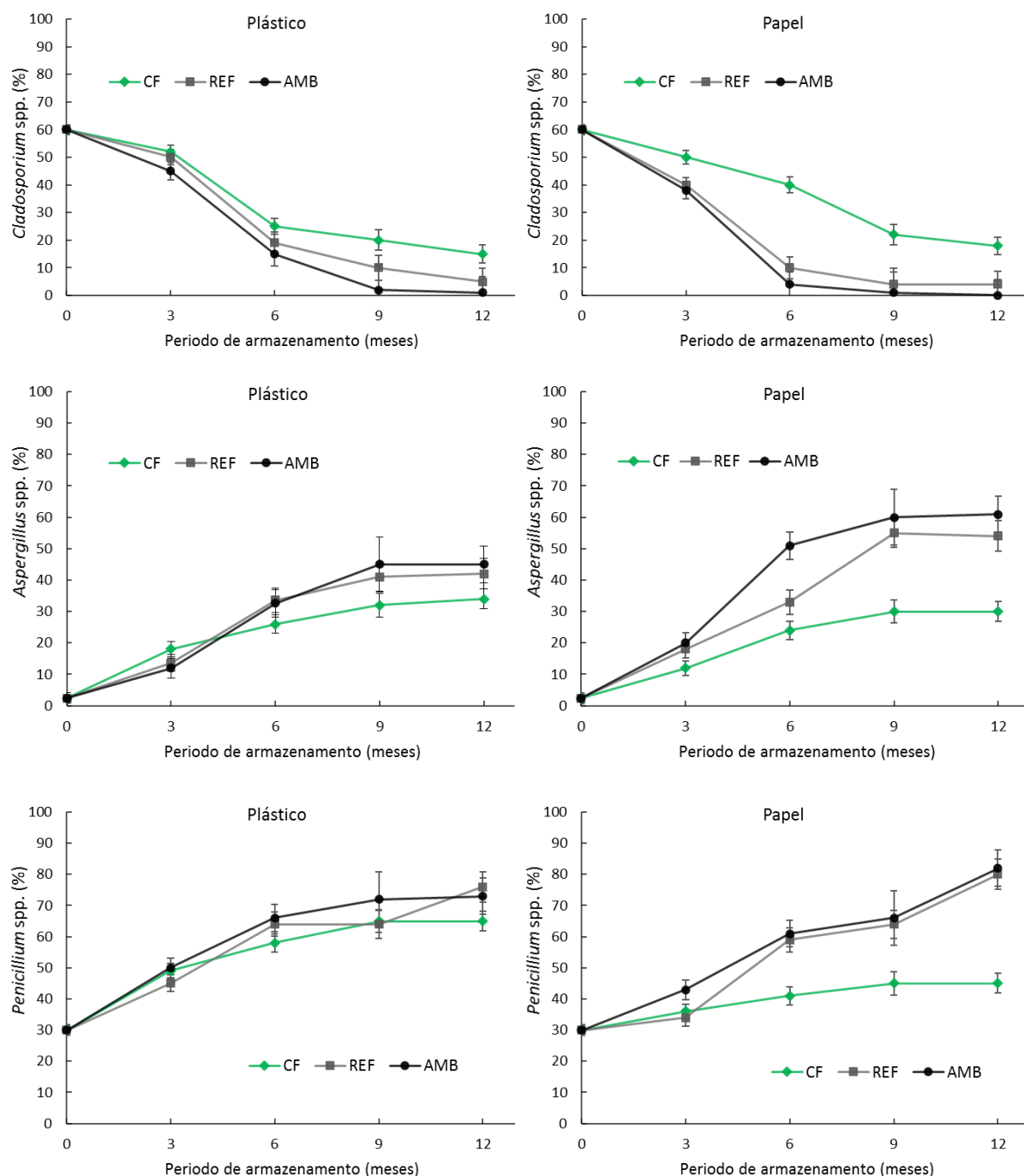


Figura 15: Incidência de *Cladosporium* spp., *Aspergillus* spp. e *Penicillium* spp. em sementes de grão-de-bico durante doze meses de armazenamento em diferentes embalagens e condições de ambiente (câmara fria (CF), ambiente refrigerado (REF) e ambiente não controlado (AMB)).

Na Tabela 11, avaliando-se os ambientes dentro de cada embalagem, observa-se que em sementes embaladas em plástico, maior incidência de *Cladosporium* spp. ocorre em CF, logo no início do armazenamento, sem diferir de REF aos 3 meses. Embaladas em papel, também sob CF as sementes apresentaram maior incidência de *Cladosporium* spp. desde os três meses de armazenamento. Observa-se também que, quanto às embalagens, a incidência de *Cladosporium*

spp em sementes embaladas em plástico e em papel praticamente não diferem entre si sob CF e REF. Já em AMB menor incidência de *Cladosporium* spp ocorreu em papel aos 3 e 6 meses, sendo que a partir dos 9 meses não houve diferença entre as embalagens. Esses dados indicam que não houve relação entre a qualidade fisiológica das sementes e a incidência de *Cladosporium* spp., o que está de acordo com a literatura que afirma que *Cladosporium* spp. é componente da microflora de sementes, porém, sem causar danos a elas (HOSKEM *et al.*, 2017; GOULART, 2018). Portanto, esse é um fungo de importância secundária sobre a qualidade fisiológica de sementes de grão-de-bico durante o armazenamento.

Tabela 11: Incidência de *Cladosporium* spp. (%) de sementes de grão-de-bico durante doze meses de armazenamento em diferentes embalagens e condições de ambiente (câmara fria (CF), ambiente refrigerado (REF) e ambiente não controlado (AMB)).

<i>Cladosporium</i> spp. (%)									
Ambiente	Período de armazenamento (meses)								
	3		6		9		12		
	Plástico	Papel	Plástico	Papel	Plástico	Papel	Plástico	Papel	
CF	52 aA	50 aA	25 aB	40 aA	20 aA	22 aA	15 aA	18 aA	
REF	50 aA	40 bB	19 bA	10 bA	10 bA	4 bA	5 bA	4 bA	
AMB	45 bA	38 bB	15 bA	4 cB	2 cA	1 bA	1 bA	0 bA	
Avaliação inicial					60				
CV(a) (%)			20.93		CV(b) (%)			28.45	

Médias seguidas das mesmas letras, dentro de cada período de armazenamento, minúsculas na coluna e maiúsculas nas linhas, não diferem a 5% de probabilidade pelos testes de Tukey e F, respectivamente.

Na Tabela 12, avaliando-se os ambientes dentro de cada embalagem, observa-se que em sementes embaladas em plástico, os ambientes CF, REF e AMB não apresentaram diferença estatística quanto à incidência de *Aspergillus* spp. Esses dados mostram que em sementes sob grau de umidade próximos (Figura 3), o crescimento de *Aspergillus* spp. ocorreu de forma similar, independente da temperatura apresentada pelos ambientes, da mesma forma como foi observado na maioria dos testes de qualidade fisiológica.

Por outro lado, houve diferença entre os ambientes em sementes embaladas em papel, sendo que menor incidências de *Aspergillus* spp. ocorreu em CF e maior em AMB, aos seis meses de armazenamento (Tabela 12). A partir dos nove meses, tanto REF quanto AMB passaram a apresentar maior incidências de *Aspergillus* spp. Assim, observa-se que o desenvolvimento desse gênero de fungo variou em função do grau de umidade das sementes e da temperatura dos ambientes. Sob menor grau de umidade e temperatura, o desenvolvimento de *Aspergillus* spp. foi menos intenso, o que pode ter contribuído para maior qualidade fisiológica apresentada por essas sementes. Corroborando esses resultados, sementes de ervilha apresentaram menor

incidência de *Aspergillus* spp. durante o armazenamento sob câmara fria (20 °C e 50% UR) quando comparado ao ambiente não controlado, sendo esses dados diretamente associados ao potencial fisiológico das sementes (MIELEZRSKI; MARCOS-FILHO, 2013). Sadhu (2020) observou queda de viabilidade e vigor em sementes de grão-de-bico quando inoculadas com *Aspergillus flavus*, com redução da germinação, comprimento da parte aérea e comprimento da raiz.

Quanto às embalagens (Tabela 12), observa-se, que em REF, sementes embaladas em papel apresentam maior incidência de *Aspergillus* spp. a partir de nove meses. Em AMB, também foi verificada maior incidência em sementes embaladas em papel, porém, no início do armazenamento, logo aos 3 meses. Observa-se que essas sementes foram as que apresentaram maior grau de umidade durante o armazenamento (Figura 3), o que pode ter favorecido o crescimento desse microrganismo e intensificado o processo de deterioração com consequências diretas sobre a qualidade dessas sementes. O conteúdo de água das sementes é sem dúvida o fator que mais exerce influência sob o crescimento de fungos (MOHAPATRA *et al.*, 2017; FLEURAT-LESSARD, 2017; WANG *et al.*, 2020), sendo relatado que quanto maior o grau de umidade das sementes de grão-de-bico durante o armazenamento, maior é incidência de fungos (ISLAM *et al.*, 2013, BASAVEGOWDA; HOSAMANI, 2013), a produção de micotoxinas (ALEMAYEHU *et al.*, 2020) e menor é a qualidade fisiológica das sementes.

Tabela 12: Incidência de *Aspergillus* spp (%) de sementes de grão-de-bico durante doze meses de armazenamento em diferentes embalagens e condições de ambiente (câmara fria (CF), ambiente refrigerado (REF) e ambiente não controlado (AMB)).

<i>Aspergillus</i> spp. (%)											
Ambiente	Período de armazenamento (meses)										
	3		6		9		12				
	Plástico	Papel	Plástico	Papel	Plástico	Papel	Plástico	Papel			
CF	18 aA	12 aA	26 aA	24 cA	32 aA	30 bA	34 aA	30 bA			
REF	14 aA	18 aA	34 aA	33 bA	41 aB	55 aA	42 aB	54 aA			
AMB	12 aB	20 aA	33 aB	51 aA	45 aB	60 aA	45 aB	61 aA			
Avaliação inicial					2						
CV(a) (%)			15.38		CV(b) (%)			14.42			

Médias seguidas das mesmas letras, dentro de cada período de armazenamento, minúsculas na coluna e maiúsculas nas linhas, não diferem a 5% de probabilidade pelos testes de Tukey e F, respectivamente.

Na tabela 13, comparando-se os ambientes, observa-se maior incidência de *Penicillium* spp. em AMB, desde os 3 meses de armazenamento, contudo sem diferir de CF aos 3 meses e de REF aos 6, 9 e 12 meses de armazenamento. Quanto às embalagens maior incidência de

Penicillium spp. ocorreu em sementes embaladas em plástico, aos três, seis e nove meses, porém aos doze meses não houve diferença entre as embalagens (Tabela 13).

Tabela 13: Incidência de *Penicillium* spp. (%) de sementes de grão-de-bico durante doze meses de armazenamento em diferentes embalagens e ambientes de armazenamento (câmara fria (CF), ambiente refrigerado (REF) e ambiente não controlado (AMB)).

<i>Penicillium</i> spp. (%)													
Período de armazenamento (meses)													
Ambiente	3			6			9			12			
	Plástico	Papel	Média	Plástico	Papel	Média	Plástico	Papel	Média	Plástico	Papel	Média	
CF	49	36	43 ab	58	41	50 b	65	45	55 b	65	45	55 b	
REF	45	34	40 b	64	59	62 a	64	64	64 ab	76	80	78 a	
AMB	50	43	47 a	66	61	64 a	72	66	69 a	73	82	78 a	
Média	48 A	38 B		63 A	54 B		67 A	59 B		71 A	69 A		
Avaliação inicial										30			
CV(a) (%)			10.62			CV(b) (%)			10.53				

Médias seguidas das mesmas letras, dentro de cada período de armazenamento, minúsculas na coluna e maiúsculas nas linhas, não diferem a 5% de probabilidade pelos testes de Tukey e F, respectivamente.

Em síntese, pelas análises de qualidade sanitária podemos constatar que durante o armazenamento os fungos de campo *Fusarium* spp. e *Cladosporium* spp. seguiram tendência de manutenção (Figura 14) ou queda (Figura 15), respectivamente, e que, de forma geral, esses microrganismos não atuaram sobre a qualidade fisiológica das sementes de grão-de-bico. Por outro lado, os fungos de armazenamento *Aspergillus* spp. e *Penicillium* spp. tornaram-se predominantes no armazenamento (Figura 15), apresentando alta incidência principalmente em sementes sob condições de maior umidade relativa e temperatura (AMB e REF) o que pode ter contribuído para redução do vigor em sementes sob REF e redução da germinação em sementes sob AMB.

A análise de componentes principais (PCA) permitiu observar que os componentes 1 (Dim1) e 2 (Dim2) explicaram respectivamente 75,2% e 7,9% da variabilidade total dos dados, totalizando 83,1% (Figura 16).

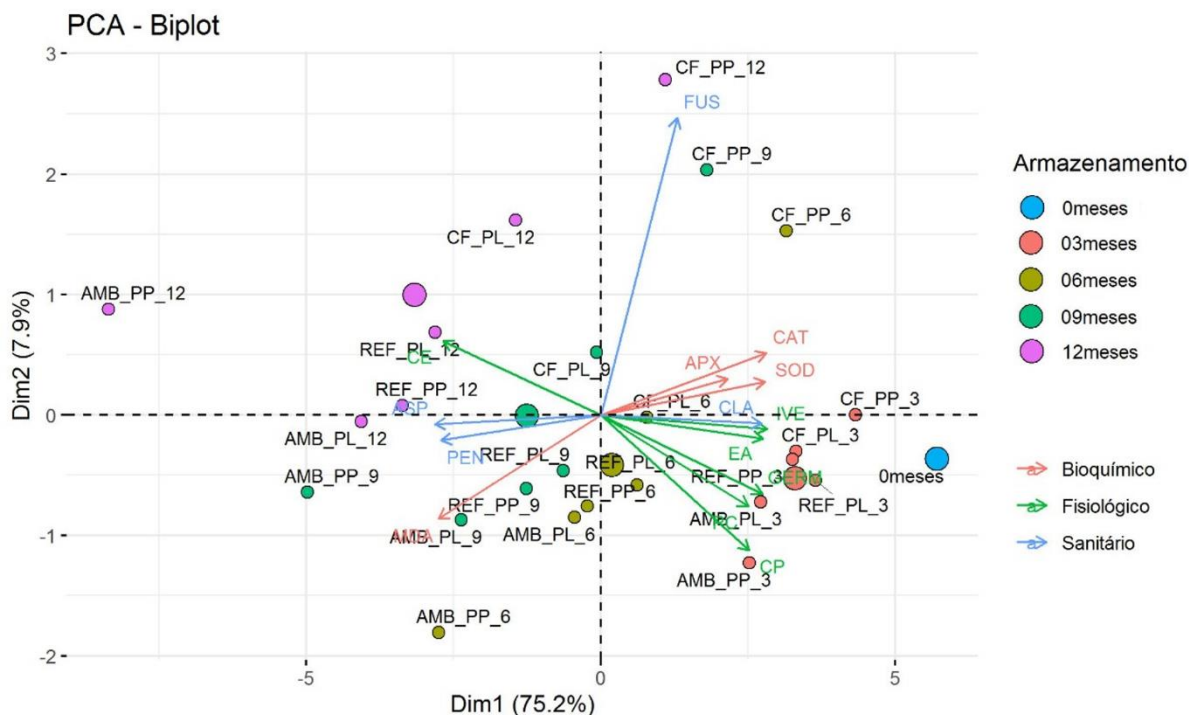


Figura 16: Biplot da análise de componentes principais (PCA) obtidos pela combinação linear das variáveis relacionadas a qualidade fisiológica, sanitária e alterações bioquímicas de sementes de grão-de-bico durante doze meses de armazenamento em diferentes embalagens e ambientes de armazenamento. Dim1 – Componente principal 1; Dim2 – Componente principal 2. GERM = Germinação; PC = Primeira contagem de germinação; CP = Comprimento de plântula; EA = Envelhecimento acelerado; IVE = Índice de velocidade de emergência; CE = Condutividade elétrica; SOD = Superóxido dismutase; CAT = Catalase; APX = Ascorbato peroxidase; MDA = Malonaldeído; ASP = *Aspergillus* spp.; PEN = *Penicillium* spp.; CLA = *Cladosporium* spp.; FUS = *Fusarium* spp.

Considerando os vetores no círculo de correlação (Figura 16), observa-se que os vetores de germinação e dos testes de vigor (primeira contagem de germinação, comprimento de plântula, envelhecimento acelerado, índice de velocidade de emergência) juntamente com os vetores das enzimas antioxidativas (SOD, APX e CAT) se encontram opostos aos vetores de condutividade elétrica, MDA, *Aspergillus* spp. e *Penicillium* spp., indicando correlação negativa entre estes parâmetros. Esses dados confirmam que a peroxidação de lipídios e a incidência de fungos de armazenamento contribuíram para a redução da qualidade de sementes de grão-de-bico durante o armazenamento. Além disso, confirmam que as enzimas antioxidativas se correlacionam positivamente com os dados de qualidade fisiológica de sementes.

Ainda na PCA (Figura 16), visualiza-se uma aproximação entre os tratamentos com características semelhantes. Em geral, o tempo 0 de armazenamento e todos os tratamentos aos 3 meses se posicionam mais próximos dos vetores de qualidade de semente. No entanto, com o avanço do período de armazenamento uns tratamentos se distanciaram e ocuparam posições

opostas, especialmente o tratamento AMB_PP a partir dos 6 meses, enquanto que CF_PP e CF_PL ainda se mantiveram mais próximo dos vetores de qualidade de sementes. De maneira geral, essas observações reforçam os resultados das análises fisiológicas, bioquímicas e sanitárias e confirmam que o ambiente não controlado associado à embalagem papel foi uma condição inadequada para a manutenção da qualidade das sementes de grão-de-bico por um período de 12 meses. Por outro lado, a câmara fria se mostrou a condição mais eficiente. É importante destacar ainda a proximidade entre o tratamento AMB_PL com os tratamentos REF_PL e REF_PP demonstrando que ao se evitar o ganho de umidade pelas sementes através do uso de embalagem impermeável tem-se benefícios sobre a qualidade das sementes, que nesse experimento foi similar aos obtidos pela redução da temperatura do ambiente de armazenamento.

4. CONCLUSÕES

A qualidade fisiológica e sanitária das sementes foi mantida em CF, tanto em plástico quanto em papel. O armazenamento em REF, independente da embalagem, e o armazenamento em AMB na embalagem impermeável (plástico) foram eficientes na conservação da germinação das sementes até os doze meses, porém com redução do vigor após nove meses de armazenamento. Por outro lado, houve redução significativa da qualidade fisiológica e sanitária das sementes armazenadas em AMB em embalagem porosa (papel) a partir de 6 meses, sendo essa condição inadequada para o armazenamento por doze meses.

A maior temperatura e umidade relativa do ambiente não controlado (AMB) associado à embalagem porosa (papel) provocaram alterações bioquímicas prejudiciais à qualidade das sementes como peroxidação lipídica e redução da atividade de enzimas do sistema de defesa antioxidante, SOD e CAT.

Aspergillus spp. e *Penicillium* spp. foram os fungos predominantes durante o armazenamento, apresentando alta incidência principalmente em sementes sob condições de maior umidade relativa e temperatura (REF e AMB) o que pode ter contribuído para redução do vigor em sementes sob REF e redução da germinação em sementes sob AMB.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABD-ALLAH, H. H.; MAHDY, A. M.; GAD, M. F.; HASSAN, E. O.; EMBABY, E. M.; YASEEN, A. A. Legume seed deterioration caused by some mould fungi affecting seed quality. **Middle East Journal of Applied Sciences**, v. 8, n. 2, p. 325-336, 2018.

ALEMAYEHU, S. et al. Evaluating different hermetic storage technologies to arrest mold growth, prevent mycotoxin accumulation and preserve germination quality of stored chickpea in Ethiopia. **Journal of Stored Products Research**, v. 85, p. 101526, 2020.

AMULE, R.; SINGH, R.; GUPTA, O.; RAIPURIYA, N.; GUPTA, P. K. Study to detect seed borne mycoflora associated with chickpea (*Cicer arietinum* L.) seeds. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, v. 8, n. 11, p. 424-428, 2019.

ANDERSON, M. D.; PRASAD, T. K.; STEWART, C. R. Changes in Isozyme Profiles of Catalase, Peroxidase, and Glutathione Reductase during Acclimation to Chilling in Mesocotyls of Maize Seedlings. **Plant physiology**, v. 109, n. 4, p. 1247–1257, 1 dez. 1995.

ARAÚJO, J. D. O.; DIAS, D. C. F. D. S.; MIRANDA, R. M. D.; NASCIMENTO, W. M. Adjustment of the electrical conductivity test to evaluate the seed vigor of chickpea (*Cicer arietinum* L.). **Journal of Seed Science**, v. 44, 2022.

ARAÚJO, J. D. O.; DIAS, D. C. F. D. S.; NASCIMENTO, W. M.; MARTINS, A. O.; LIMÃO, M. A. R. Accelerated aging test and antioxidant enzyme activity to assess chickpea seed vigor. **Journal of Seed Science**, v. 43, 2021.

AVELAR, R. I. S.; COSTA, C. A. D.; BRANDÃO JÚNIOR, D. D. S.; PARAÍSO, H. A.; NASCIMENTO, W. M. Production and quality of chickpea seeds in different sowing and harvest periods. **Journal of Seed Science**, v. 40, n. 2, p. 146-155, 2018.

BAALBAKI, R.; ELIAS, S.; MARCOS FILHO, J.; McDONALD, M. B. **Seed Vigor testing handbook**. Ithaca, NY: AOSA, 2009. 345p. (Contribution 32).

BAILLY, C. Active oxygen species and antioxidants in seed biology. **Seed Science Research**, v. 14, n. 2, p. 93-107, 2004.

BAILLY, C.; BENAMAR, A.; CORBINEAU, F.; COME, D. Changes in malondialdehyde content and in superoxide dismutase, catalase and glutathione reductase activities in sunflower seeds as related to deterioration during accelerated aging. **Physiologia Plantarum**, v. 97, n. 1, p. 104-110, 1996.

BAKHTAVAR, M. A.; AFZAL, I. Climate smart Dry Chain Technology for safe storage of quinoa seeds. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, p. 1-12, 2020.

BAKHTAVAR, M. A.; AFZAL, I.; BASRA, S. M. A. Moisture adsorption isotherms and quality of seeds stored in conventional packaging materials and hermetic Super Bag. **Plos One**, v. 14, n. 2, p. e0207569, 2019.

BALLESTEROS, D.; PRITCHARD, H. W.; WALTERS, C. Dry architecture: Towards the understanding of the variation of longevity in desiccation-tolerant germplasm. **Seed Science Research**, v. 30, n. 2, p. 142-155, 2020.

BASAVEGOWDA, G. S.; HOSAMANI, A. Effect of commercial cold storage conditions and packaging materials on seed quality of chickpea (*Cicer arietinum* L.). **Global Journal of Science Frontier Research Agriculture and Veterinary Sciences**, v. 13, p. 23-28, 2013.

BAUDET, L. M. L.; VILLELA, F. A. 2019. Armazenamento de sementes. In: PESKE, ST; VILLELA, FA; MENEGHELLO, GE (eds). **Sementes: fundamentos científicos e tecnológicos**. Pelotas: Ed. Becker e Peske, p.481-528.

BEAUCHAMP, C.; FRIDOVICH, I. Superoxide dismutase: Improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. **Analytical Biochemistry**, v. 44, n. 1, p. 276–287, 1 nov. 1971.

BEWLEY, J.D., BRADFORD, K.J., HILLHORST, H.W.M, NONOGAKI, H. **Seeds: Physiology of Development, Germination and Dormancy**. 3rd. ed. New York: Springer Science + Business Media, 2013. 407 p.

BHAR, A.; JAIN, A.; DAS, S. Soil pathogen, *Fusarium oxysporum* induced wilt disease in chickpea: a review on its dynamicity and possible control strategies. **Proceedings of the Indian National Science Academy**, v. 87, n. 2, p. 260-274, 2021.

BOUKID, F.; ZANNINI, E.; CARINI, E.; VITTADINI, E. Pulses for bread fortification: A necessity or a choice? **Trends in Food Science and Technology**, v. 88, p. 416-428, 2019.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical biochemistry**, v. 72, n. 1-2, p. 248-254, 1976.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. **Regras para análise de sementes**. Brasília, DF. 399 p, 2009.

BRASIL. Sistema de Consulta à Legislação - SISLEGIS. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. **PORTARIA Nº 111**, set. 2012.

CAKMAK, I.; HORST, W. J. Effect of aluminium on lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase, and peroxidase activities in root tips of soybean (*Glycine max*). **Physiologia Plantarum**, v. 83, n. 3, p. 463–468, 1 nov. 1991.

CARVALHO, A.M.X.; MENDES, F.Q. SPEED Stat: a minimalist and intuitive spreadsheet program for classical experimental statistics. In: **Anais da 62ª Reunião Anual da Região Brasileira da Sociedade Internacional de Biometria**; 24-28 de julho de 2017; Lavras – MG, Brasil. Lavras: Universidade Federal de Lavras; 2017. p.333.

CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. Jaboticabal: FUNEP, 429 p. 2000.

CHHABRA, R.; SINGH, T. Seed aging, storage and deterioration: an irresistible physiological phenomenon. **Agricultural Reviews**, v. 40, n. 3, p. 234-238, 2019.

CORADI, P. C.; LIMA, R. E.; PADIA, C. L.; ALVES, C. Z.; TEODORO, P. E.; DA SILVA CANDIDO, A. C. Soybean seed storage: Packaging technologies and conditions of storage environments. **Journal of Stored Products Research**, v. 89, p. 101709, 2020.

DEL LONGO, O. T. et al. Antioxidant defences under hyperoxygenic and hyperosmotic conditions in leaves of two lines of maize with differential sensitivity to drought. **Plant and Cell Physiology**, v. 34, n. 7, p. 1023–1028, 1 out. 1993.

DIAS, L. B. X.; DE MELO QUEIROZ, P. A.; CASTRO, T. C.; FREITAS, M. A. M.; LEÃO-ARAÚJO, É. F.; NASCIMENTO, W. M. Physiological quality of mechanically harvested chickpea seeds. **Revista Engenharia na Agricultura-REVENG**, v. 29, p. 28-35, 2021.

EBONE, L. A.; CAVERZAN, A.; CHAVARRIA, G. Physiologic alterations in orthodox seeds due to deterioration processes. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 145, p. 34-42, 2019.

- EBONE, L. A.; CAVERZAN, A.; TAGLIARI, A.; CHIOMENTO, L. T.; SILVEIRA, D. C.; CHAVARRIA, G. Soybean seed vigor: uniformity and growth as key factors to improve yield. **Agronomy**, v. 10, n. 545, p. 1-15, 2020.
- FERREIRA, F. C.; VILLELA, F. A.; MENEGHELLO, G. E.; SOARES, V. N. Cooling of soybean seeds and physiological quality during storage. **Journal of Seed Science**, v. 39, p. 385-392, 2017.
- FRANÇA-NETO, J. B.; KRZYZANOWSKI, F. C.; HENNING, A. A.; PADUA, G. P.; LORINI, I.; HENNING, F. A. **Tecnologia da produção de semente de soja de alta qualidade**. Londrina: Embrapa Soja, 2016. 82p. (Embrapa Soja. Documentos, 380).
- GETANEH, G.; TEFERA, T.; LEMMESSA, F.; AHMED, S.; ZEWUDIE, A. Seed quality and mycoflora associated with chickpea (*Cicer arietinum* L.) seed in Ethiopia. **African Journal of Food, Agriculture, Nutrition and Development**, v. 20, n. 6, p. 16761-16779, 2020.
- GIANNOPOLITIS, C. N.; RIES, S. K. Superoxide dismutases: I. Occurrence in higher plants. **Plant physiology**, v. 59, n. 2, p. 309 – 14, 1977.
- GOULART, A. C. P. **Fungos em sementes de soja: detecção, importância e controle**. 2ª edição revista e ampliada, Brasília, DF: Embrapa, 2018. 71 p.
- HARRINGTON, J. F. Seed storage and longevity. In: KOSLOWSKI, T. T. **Seed biology**. New York, Academic Press, v. 3, p. 145-245, 1972.
- HAVIR, E. A.; MCHALE, N. A. Biochemical and developmental characterization of multiple forms of catalase in tobacco leaves. **Plant physiology**, v. 84, n. 2, p. 450–5, 1 jun. 1987.
- HENNING, A. A. **Patologia e tratamento de sementes: noções gerais**. Documentos, v. 235, p.41, 1–54, 2005.
- HOSKEM, B. C. S.; COSTA, C. A.; NASCIMENTO, W. M.; SANTOS, L. D. T.; MENDES, R. B.; MENEZES, J. B. C. Productivity and quality of chickpea seeds in Northern Minas Gerais, Brazil. **Brazilian Journal of Agricultural Sciences/Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 12, n. 3, p. 261-263, 2017.
- HTWE, E. M.; ONE, K. T.; KYAW, E. H.; NGWE, K.; WIN, K. K. Effect of Different Seed Moisture Contents and Storage Containers on Seed Quality of Green Gram (*Vigna radiata* L. Wilczek) and Chickpea (*Cicer arietinum*). **Journal of Agricultural Research** v. 5, n.2, p. 67-75, 2018.
- ISLAM, M. R.; RAHMAN, M. A.; RASHID, M. M.; SHAHIN-UZ-ZAMAN M. Effect of moisture level and storage container on the quality of chickpea seed (*Cicer arietinum*). **Bulletin of the Institute of Tropical Agriculture, Kyushu University**, v. 36, n. 1, p. 61-69, 2013.
- ISMAIEL, A. A.; PAPENBROCK, J. Mycotoxins: producing fungi and mechanisms of phytotoxicity. **Agriculture**, v. 5, n. 3, p. 492-537, 2015.
- JAQUES, L. B. A.; CORADI, P. C.; RODRIGUES, H. E.; DUBAL, Í. T. P.; PADIA, C. L.; LIMA, R. E.; SOUZA, G. A. C. Post-harvesting of soybean seeds—engineering, processes technologies, and seed quality: a review. **International Agrophysics**, v. 36, n. 2, p. 59-81, 2022.
- JAVOID, A.; KHAN, I. H. Mycoflora associated with seeds of different varieties of chickpea and its effect on germination and radicle growth. **International Journal of Biology and Biotechnology**, v. 16, n. 1, p. 175-179, 2019.
- JIMÉNEZ-DÍAZ, R. M., CASTILLO, P., DEL MAR JIMÉNEZ-GASCO, M., LANDA, B. B., & NAVAS-CORTÉS, J. A. Fusarium wilt of chickpeas: Biology, ecology and management. **Crop Protection**, v. 73, p. 16-27, 2015.

- KHAN, M. M.; ABBAS, M.; AWAN, F. S.; SHAHID, M.; ALI, M.; AHMAD, S. Physiobiochemical and genetic changes in stored pea (*Pisum sativum*) seeds. **International Journal of Agriculture & Biology**, v. 15, p. 951-956, 2013.
- KIJAK, H.; RATAJCZAK, E. What Do We Know About the Genetic Basis of Seed Desiccation Tolerance and Longevity?. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 10, p. 3612, 2020.
- KOOSHKI, M. M.; MORADI, A.; BALOUCHI, H.; FAHLIANI, R. A. Evaluation of the germination performance and biochemical indices of faba bean (*Vicia faba* L.) seeds stored at different temperatures and moisture contents. **Journal of Plant Process and Function**, v. 7, n. 25, p. 18, 2018.
- KRZYZANOWSKI, F. C.; FRANÇA NETO, J. B.; GOMES-JUNIOR, F. G.; NAKAGAWA, J. Testes de vigor baseados em desempenho de plântulas. In: KRZYZANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA NETO, J. B.; MARCOS FILHO, J. (Ed.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, cap. 2, 2020.
- KRZYZANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA NETO, J. B.; MARCOS FILHO, J. (Ed.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 2020a. 601p.
- KUKREJA, S.; SALARIA, N.; THAKUR, K.; GOUTAM, U. Fungal Disease Management in Chickpea: Current Status and Future Prospects. In: **Fungi and their role in sustainable development: current perspectives**. Springer, Singapore, 2018. p. 293-309.
- KUMAR, S. P. J.; PRASAD, S. R.; BANERJEE, R.; THAMMINENI, C. Seed birth to death: dual functions of reactive oxygen species in seed physiology. **Annals of Botany**, v. 116, n. 4, p. 663-668, 2015.
- KUREK, K.; PLITTA-MICHALAK, B.; RATAJCZAK, E. Reactive oxygen species as potential drivers of the seed aging process. **Plants**, v. 8, n. 174, 2019.
- LAMICHANEY, A.; KUMAR, V.; KATIYAR, P. K.; SINGH, N. P. Effect of storage condition and its duration on seed quality of chickpea (*Cicer arietinum* L.). **Journal of Food Legumes**, v. 32, n. 3, p. 152-156, 2019.
- LIMA, M. L. P.; SANTOS, C. E.; BIAZOTTO, F. O.; PEIXOTO M. J.; KRAEMER, A. P. N.; WANGEN, D. R. B. **Tratamento químico de sementes de grão-de-bico e impacto fisiológico e sanitário**. *Agropecuária Técnica* v. 42, n. 1-4, p. 16-23, 2021.
- MAHJABIN, S. B.; ABIDI, A. B. Physiological and biochemical changes during seed deterioration: a review. **International Journal of Recent Scientific Research Research** v. 6, n. 4, p. 3416-3422, 2015.
- MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. [s.l.] Ed. Abrates, 2015.
- MARCOS FILHO, J. Teste de envelhecimento acelerado. In: KRZYZANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA NETO, J. B.; MARCOS FILHO, J. (Ed.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, cap.4, 2020.
- MERGA, B.; HAJI, J. Economic importance of chickpea: Production, value, and world trade. **Cogent Food & Agriculture**, v. 5, n. 1, p. 1615718, 2019.
- MIELEZRSKI, F.; MARCOS-FILHO, J. Assessment of physiological potential of stored pea (*Pisum sativum* L.) seeds. **Journal of Seed Science**, v. 35, n. 1, p. 42-50, 2013.
- MITTLER, R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. **Trends in plant science**, v. 7, n.9, p.405-410, 2002.

- MOHAPATRA, D., KUMAR, S., KOTWALIWALE, N., SINGH, K. K. Critical factors responsible for fungi growth in stored food grains and non-Chemical approaches for their control. **Industrial Crops and Products**, v. 108, p. 162-182, 2017.
- NAKANO, Y.; ASADA, K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. **Plant Cell Physiology**, v. 22, p. 867-880, 1981.
- NASCIMENTO, W. M.; SILVA, P. P.; ARTIAGA, O. P.; SUINAGA, F. A. Grão-de-bico. In: NASCIMENTO, W. M. (org.). **Hortaliças leguminosas**. 1. ed. Brasília: Embrapa, 2016. p. 89–120.
- NASCIMENTO, W. M.; SILVA, P.P. Grão-de-bico: Nova aposta do agronegócio Brasileiro. **Revista Seed News**, v. 23, n. 3, p. 18–22, 2019.
- NEGI, A.; JYOTI, B.; KUMAR, A.; & VASISHTH, A. Identification of Packaging Materials to Preserve Seed Germination and Moisture Content in Lentil until Commercial Storage (*Lens culinaris* Medikus). **Asian Research Journal of Current Science**, p. 108-116, 2020.
- PARAÍSO, H. A.; BRANDÃO JUNIOR, D. D. S.; AVELAR, R. I. S.; COSTA, C. A. D.; GOMES, L. S. D. P.; NASCIMENTO, W. M. Adjustments in the tetrazolium test methodology for assessing the physiological quality of chickpea seeds. **Journal of Seed Science**, v. 41, p. 007-012, 2019.
- PARASHAR, R.; RIZVI, G.; SINHA, P. Seed mycoflora of some pulses collected from Bundelkhand region. **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**, v. 8, n. 3, p. 1981-1985, 2019.
- PATEL, J. V.; ANTALA, D. K.; DALSANIYA, A. N. Influence of different packaging materials on the seed quality parameters of chickpea. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, v. 7, n. 12, p. 2458-2467, 2018.
- PEIXOTO, P. H. P., CAMBRAIA, J., SANT'ANNA, R., MOSQUIM, P. R., & MOREIRA, M. A. Aluminum effects on lipid peroxidation and on the activities of enzymes of oxidative metabolism in sorghum. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 11, n. 3, p. 137–143, 1999.
- R CORE TEAM. R Development Core TeamR: A Language and Environment for Statistical Computing, 2020.
- RAJJOU, L.; DEBEAUJON, I. Seed longevity: survival and maintenance of high germination ability of dry seeds. **Comptes Rendus Biologies**, v. 331, n. 10, p. 796-805, 2008.
- RAMIREZ, M. L.; CENDOYA, E.; NICHEA, M. J.; ZACHETTI, V. G. L.; CHULZE, S. N. Impact of toxigenic fungi and mycotoxins in chickpea: A review. **Current Opinion in Food Science**, v. 23, p. 32-37, 2018.
- RATAJCZAK, E.; MAŁECKA, A.; CIERESZKO, I.; STASZAK, A. M. Mitochondria are important determinants of the aging of seeds. **International journal of molecular sciences**, v. 20, n. 7, p. 1568, 2019.
- RIBEIRO, J. P. O.; MEDEIROS, A. D.; CALIARI, I. P.; TRANCOSO, A. C. R.; MIRANDA, R. M.; FREITAS, F. C. L.; SILVA, L. J.; DIAS, D. C. F. S. FT-NIR and linear discriminant analysis to classify chickpea seeds produced with harvest aid chemicals. **Food Chemistry**, v. 342, p. 128324, 2021.
- SADHU, K. A. The common mycoflora in four legumes seeds and their effects on seedling vigor index. **Middle East Journal of Agriculture Research**, v. 9, n. 1, p. 215-219, 2020.

- SANO, N.; RAJJOU, L.; NORTH, H. M.; DEBEAUJON, I.; MARION-POLL, A.; SEO, M. Staying alive: molecular aspects of seed longevity. **Plant Cell Physiology**, v. 57, n. 4, p. 660-674, 2016.
- SATASIYA, R. M.; ANTALA, D. K.; SOJITRA, M. A.; KOTHIYA A. V.; CHAUHAN, P. M. Effect of packaging on storage behaviour of chickpea grain. **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**, v. 10, n. 1, p. 1575-1584, 2021.
- SHABAN, M. Review on physiological aspects of seed deterioration. **International Journal of Agriculture and Crop Sciences**, v. 6, n. 11, p. 627-631, 2013.
- SHAMSI, S.; KHATUN, A. Prevalence of fungi in different varieties of chickpea (*Cicer arietinum* L.) seeds in storage. **Journal of Bangladesh Academy of Sciences**, v. 40, n. 1, p. 37-44, 2016.
- SHARMA, S.; KAUR, A.; BANSAL, A.; GILL, B. S. Positional effects on soybean seed composition during storage. **Journal of food science and technology**, v. 50, n. 2, p. 353-359, 2013
- SILVA, A. M.; FIGUEIREDO, J. C.; DE TUNES, L. V.; GADOTTI, G. I.; RODRIGUES, D. B.; CAPILHEIRA, A. F. Chickpea seed storage in different packagings, environments and periods1. **Brazilian Journal of Agricultural and Environmental Engineering**, v. 26, n. 9, p. 649-654, 2022.
- SILVA, L. J. D.; MEDEIROS, A. D. D.; OLIVEIRA, A. M. S. SeedCalc, a new automated R software tool for germination and seedling length data processing. **Journal of Seed Science**, v. 41, p. 250-257, 2019.
- SUDHAKARAN, I. Effect of seed ageing in biochemical and molecular changes in oilseeds: A review. **Agricultural Reviews**, v. 41, n. 4, p. 408-412, 2020.
- TRANCOSO, A. C. R. Alterações anatômicas, histoquímicas e fisiológicas durante a maturação de sementes de grão-de-bico (*Cicer arietinum* L.). **Dissertação** (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. p.35, 2018.
- TRANCOSO, A. C. R.; DIAS, D. C. F. D. S.; PICOLI, E. A. D. T.; SILVA JÚNIOR, R. A. D.; SILVA, L. J. D.; NASCIMENTO, W. M. Anatomical, histochemical and physiological changes during maturation of chickpea (*Cicer arietinum* L.) seeds. **Revista Ciência Agronômica**, v. 52, 2021.
- TRIPATHI, Y. C.; KUMAR, H. Biochemical and physicochemical changes in seeds and fatty oil of *Salvadora oleoides* and *Salvadora persica* by soil borne fungi. **Journal of Chemical Science and Chemical Engineering**, v. 1, n. 2, p. 1-6, 2020.
- VIEIRA, R. D.; MARCOS FILHO, J. Teste de condutividade elétrica. In: KRZYZANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA NETO, J. B.; MARCOS FILHO, J. (Ed.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, cap.8, 2020.
- WALTERS, C. Orthodoxy, recalcitrance and in-between: describing variation in seed storage characteristics using threshold responses to water loss. **Planta**, v. 242, n. 2, p. 397-406, 2015.
- WALTERS, C.; BALLESTEROS, D.; VERTUCCI, V. A. Structural mechanics of seed deterioration: standing the test of time. **Plant Science**, v. 179, n. 6, p. 565-573, 2010.
- WANG, R.; LIU, L.; GUO, Y.; HE, X.; LU, Q. Effects of deterioration and mildewing on the quality of wheat seeds with different moisture contents during storage. **RSC Advances**, v. 10, n. 25, p. 14581-14594, 2020.

WOJTYLA, Ł. et al. Different Modes of Hydrogen Peroxide Action During Seed Germination. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, n. 66, p. 1–16, 4 fev. 2016.

YAHAYA, A. M; SINNIHAH, U. R.; MISRAN, A. Seed Quality of Lablab Beans (*Lablab purpureus* L.) as Influenced by Drying Methods and Storage Temperature. **Agronomy**, v. 12, n. 3, p. 699, 2022.

ZHANG, K.; ZHANG, Y.; SUN, J.; MENG, J.; TAO, J. Deterioration of orthodox seeds during ageing: Influencing factors, physiological alterations and the role of reactive oxygen species. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 158, p. 475-485, 2021.

ZUCARELI, C.; BRZEZINSKI, C. R.; ABATI, J., WERNER, F.; RAMOS JÚNIOR, E. U.; NAKAGAWA, J. Qualidade fisiológica de sementes de feijão carioca armazenadas em diferentes ambientes. **Revista brasileira de engenharia agrícola e ambiental**, v. 19, p. 803-809, 2015.