

ALISSON VINICIUS DE ARAUJO

**CARACTERIZAÇÃO FÍSICA, FISIOLÓGICA E ANATÔMICA DE
SEMENTES DE *Crotalaria juncea* L. COLHIDAS EM DIFERENTES ESTÁDIOS
DE MATURAÇÃO**

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.

VIÇOSA
MINAS GERAIS - BRASIL
2015

**Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa**

T

A658c Araujo, Alisson Vinicius de, 1983-
2015 Caracterização física, fisiológica e anatômica de sementes
de *Crotalaria juncea* L. colhidas em diferentes estádios de
maturação / Alisson Vinicius de Araujo. – Viçosa, MG, 2015.
xiii, 76f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Orientador: Eduardo Fontes Araújo.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa.

Referências bibliográficas: f.61-76.

1. *Crotalaria juncea*. 2. Sementes. 3. Colheita.
4. Armazenagem. 5. Adubação verde. I. Universidade Federal de
Viçosa. Departamento de Fitotecnia. Programa de Pós-graduação
em Fitotecnia. II. Título.

CDD 22. ed. 581.467

ALISSON VINICIUS DE ARAUJO

**CARACTERIZAÇÃO FÍSICA, FISIOLÓGICA E ANATÔMICA DE
SEMENTES DE *Crotalaria juncea* L. COLHIDAS EM DIFERENTES ESTÁDIOS
DE MATURAÇÃO**

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: 09 de março de 2015.

Delacyr da Silva Brandão Junior

Genaina Aparecida de Souza

Roberto Fontes Araujo

Edgard Augusto de Toledo Picoli
(Coorientador)

Eduardo Fontes Araujo
(Orientador)

Ao meu filho, Luiz
À minha esposa, Izabel
Aos meus pais, Luiz e Neiva
Dedico.

AGRADECIMENTOS

À Deus, primeiramente, por tantas bênçãos e por mais essa vitória.

À Universidade Federal de Viçosa e ao Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, pela oportunidade de realização do doutorado.

Ao CNPq pela bolsa e pelo financiamento da pesquisa.

Ao meu orientador Eduardo Fontes Araujo e aos meus coorientadores Edgard Augusto de Toledo Picoli, Ricardo Henrique Silva Santos e Paulo Roberto Cecon pela orientação, dedicação, amizade, apoio e por tantos ensinamentos.

À secretária da Pós-Graduação Tatiani Gouvea pela atenção e conselhos, tanto enquanto estudante tanto enquanto pai de primeira viagem.

À UFMG, em especial ao Instituto de Ciências Agrárias, onde obtive minha formação como Engenheiro Agrônomo e mestre em Ciências Agrárias, alicerce sem o qual não chegaria aqui.

Ao professor Delacyr, pela grande amizade e por não ter medido esforços para participar da minha banca de defesa da tese e pelas valiosas contribuições.

A todos os componentes da banca pelas correções e contribuições.

Ao engenheiro agrônomo Donizeti, da empresa Piráí Sementes, pelo compartilhamento de informações práticas, muito relevantes, acerca da produção de sementes de crotalária.

Aos colegas de orientação, Hugo, Haynna, Jussara, Fabrício, Martha, Valquíria e João pela convivência e pela ajuda na condução deste trabalho.

Aos colegas do Laboratório de Anatomia Vegetal, Luana, Caroline, Tiago Augusto, Andrea, Valdnéia em especial à Karina e à Genáina pela convivência e ajuda.

Aos colegas do Laboratório de Pesquisa em Sementes, em especial à Paola e do Laboratório de Agroecologia, pela amizade e momentos de descontração.

À minha esposa Izabel pelo apoio, carinho e por ser meu porto seguro em todos os momentos durante essa jornada.

Ao meu filho Luiz, que ainda sem saber, é fonte eterna de inspiração e de felicidade.

Aos meus pais, Luiz e Neiva e aos meus irmãos, Vidiane e Vander, pelo carinho e incentivo nessa caminhada, e por tudo que fizeram e fazem por mim, pela Izabel e pelo Luiz.

BIOGRAFIA

ALISSON VINICIUS DE ARAUJO, filho de Luiz Gonzaga de Araujo e Neiva Araujo, nasceu na cidade de Belo Horizonte, Minas Gerais, em 09 de junho de 1983.

Em 2002, iniciou o curso de graduação em Agronomia na Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), em Montes Claros-MG, graduando-se em janeiro de 2007.

Entre 2007 e 2008, trabalhou na Cooperativa dos Agricultores Familiares e Agroextrativistas Grande Sertão e no Centro de Agricultura Alternativa do Norte de Minas Gerais, atuando com agricultores familiares, grupos quilombolas, indígenas e em assentamentos de reforma agrária, em diversos municípios do Norte de Minas Gerais.

Em março de 2009, iniciou o mestrado em Ciências Agrárias da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), sendo orientado pelo professor DSc. Delacyr da Silva Brandão Junior e coorientado pelos professores DSc. Fernando Colen e DSc. Cândido Alves da Costa. Em fevereiro de 2011, recebeu o título de Mestre em Ciências Agrárias.

Em março de 2011, ingressou no curso de doutorado do Programa de Pós-graduação em Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa (UFV), sendo orientado pelo professor DSc. Eduardo Fontes Araujo e coorientado pelos professores DSc. Edgard Augusto de Toledo Picoli, DSc. Ricardo Henrique Silva Santos e DSc. Paulo Roberto Cecon. Submeteu-se à defesa de tese de doutorado em março de 2015.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	vi
LISTA DE TABELAS	ix
RESUMO	x
ABSTRACT	xii
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	4
2.1. Aspectos gerais da <i>Crotalaria juncea</i>	4
2.2. Maturação de sementes.....	6
2.3. Colheita e armazenamento das sementes.....	8
2.4. Dormência das sementes.....	10
2.5. Compostos de reserva das sementes	13
3. MATERIAL E MÉTODOS	16
3.1. Semeadura, colheita e secagem das sementes	16
3.2. Beneficiamento e armazenamento	19
3.3. Avaliação da qualidade física das sementes	19
3.4. Avaliação da qualidade fisiológica das sementes	20
3.5. Anatomia e histoquímica das sementes	22
3.6. Delineamento e análise estatística	24
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	25
4.1. Caracterização física e fisiológica	25
4.2. Caracterização anatômica e histoquímica.....	44
5. CONCLUSÕES	60
6. REFERÊNCIAS	61

LISTA DE FIGURAS

1. Dados de precipitação total (mm) (A), umidade relativa do ar média (%) (B), insolação total (h) (C) e temperaturas (°C) (D) ocorrentes durante o período compreendido entre a semeadura e as colheitas das sementes. FL: florescimento; IC: início das colheitas; SE: semeadura; TC: término das colheitas. Fonte: Instituto Nacional de Meteorologia, Estação Meteorológica A510, Viçosa-MG, 2012.....16
2. Caracterização visual das vagens (à esquerda) e das sementes (à direita) de *Crotalaria juncea* colhidas com 40% de vagens secas (A-B), 60% de vagens secas (C-D), 80% de vagens secas (E-F) e 100% de vagens secas (G-H). H. Setas indicam sementes deformadas devido ao ataque de microrganismos.....18
3. Sementes de *Crotalaria juncea* encontradas em cada grupo, segundo o estágio de maturação. A – Estádio I. B – Estádio II. C – Estádio III. Barras: 0,25 cm. *região do eixo hipocótilo-radícula.....20
4. Esquema da semente inteira de *Crotalaria juncea*, mostrado a localização do corte transversal. *região do eixo hipocótilo-radícula.....23
5. Tempo de secagem (h) de sementes de *Crotalaria juncea*, até o grau de umidade de 10%, em função do estágio de maturação. *significativo em nível de 5% pelo teste “t” 25
6. Matéria seca (mg sementes⁻¹) e grau de umidade (%) das sementes de *Crotalaria juncea* em função do estágio de maturação. **significativo em nível de 1% pelo teste “t”26
7. Pureza física de sementes de *Crotalaria juncea* em função do estágio de maturação. *significativo em nível de 5% pelo teste “t”29
8. Rendimento de sementes de *Crotalaria juncea* em função do estágio de maturação. **significativo em nível de 1% pelo teste “t”30
9. Uniformidade das sementes de *Crotalaria juncea*, pelo teste de retenção em peneira (%), em função do estágio de maturação. Junto às equações, P significa peneira e o número subsequente indica o diâmetro do crivo. ** e * significativo, respectivamente, em nível de 1 e de 5% pelo teste “t”31
10. Caracterização visual (cor) do tegumento das sementes de *Crotalaria juncea* encontradas em cada estágio de maturação. A: resultado da análise de regressão. B: ilustração da distribuição (%) dos diferentes tipos de sementes dentro de cada estágio de maturação. ** e * significativo, respectivamente, em nível de 1 e de 5% pelo teste “t”32
11. Sementes duras (%) de *Crotalaria juncea* ao 10° (A) e ao 17° dia (B) após montagem do teste de germinação em função do estágio de maturação e antes e após o armazenamento. **significativo em nível de 1% pelo teste “t”34
12. Sementes duras (%) de *Crotalaria juncea* ao 10° (A) e ao 17° dia (B) após montagem do teste de germinação, em função do estágio de maturação e antes e

- após o armazenamento. Dentro de cada estágio de maturação, médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($p \geq 0,05$).....37
13. Germinação (%) de sementes de *Crotalaria juncea* ao 10° (A) e ao 17° dia (B) após montagem do teste de germinação e após a escarificação (C), em função do estágio de maturação e antes e após o armazenamento. **significativo em nível de 1% pelo teste “t”38
 14. Primeira contagem do teste de germinação (%) (A), índice de velocidade de emergência (IVE) (B) e emergência de plântulas (%) (C) de *Crotalaria juncea* em função do estágio de maturação e antes e após o armazenamento. ***significativo em nível de 1% pelo teste “t”40
 15. Germinação (%) de sementes de *Crotalaria juncea* ao 10° (A) e ao 17° dia (B) após montagem do teste de germinação e após a escarificação (C), colhidas em diferentes estádios de maturação, antes e após o armazenamento. Dentro de cada estágio de maturação, médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($p \geq 0,05$).....42
 16. Primeira contagem do teste de germinação (%) de sementes de *Crotalaria juncea* colhidas em diferentes estádios de maturação, antes e após o armazenamento. Dentro de cada estágio de maturação, médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($p \geq 0,05$).....43
 17. Principais estruturas das sementes de *Crotalaria juncea*. Seções transversais, corados com Azul de Toluidina. Al: camada de aleurona; Co: cotilédone; Cu: cutícula; Ti: células remanescentes do tegumento interno e do nucelo; Ex: eixo hipocótilo-radícula; Ma: macroesclereídes; Mt: mesotesta; Os: osteoesclereídes. Barra A: 100 μ m. Barras B e C: 200 μ m.....44
 18. Cortes transversais do tegumento das sementes de *Crotalaria juncea* colhidas em diferentes estádios de maturação, corados com azul de toluidina. A. Colheita com 40% VS, estágio de maturação I. B. Colheita com 100% VS, estágio de maturação I. C. Colheita com 40% VS, estágio de maturação II. D. Colheita com 100% VS, estágio de maturação II. E. Colheita com 40% VS, estágio de maturação III. F. Colheita com 60% VS, estágio de maturação III. G. Colheita com 80% VS, estágio de maturação III. H. Colheita com 100% VS, estágio de maturação III. I. Colheita com 100% VS, estágio de maturação III, evidenciando as rupturas no tegumento (ponta de seta). Barras pretas: 100 μ m. Barras brancas: 25 μ m. Al: camada de aleurona; E: endosperma; Ex: eixo hipocótilo-radícula; Ma: macroesclereídes; Mt: mesotesta; Os: osteoesclereídes.....47
 19. Cortes transversais do tegumento e endosperma (A-C), do tegumento (D-F) do cotilédone (G-I) e do eixo hipocótilo-radícula (J-L) de sementes de *Crotalaria juncea* colhidas quando as plantas apresentavam 100% de vagens secas, corados com PAS, evidenciando polissacarídeos totais. A, D, G e J: sementes em estágio de maturação I. B, E, H e K: sementes em estágio de maturação II. C, F, I e L: sementes em estágio de maturação III. Barras A-C: 100 μ m. Barras D-L: 20 μ m. Al: camada de aleurona E: endosperma; Ex: eixo hipocótilo-radícula; Ma: macroesclereídes; Mt: mesotesta; Os: osteoesclereídes.....50

20. Cortes transversais do tegumento (A-D), do cotilédone (E-F) e do eixo hipocótilo-radícula (G-H) de sementes de *Crotalaria juncea* colhidas quando as plantas apresentavam 100% de vagens secas, corados com o reagente de Lugol, evidenciando amido. A, C, E e G: sementes em estágio de maturação I. B, D, F e H: sementes em estágio de maturação II. Barras: 100 µm. Al: camada de aleurona E: endosperma; Ex: eixo hipocótilo-radícula; Fv: feixes vasculares; Ma: macroesclereídes; Mt: mesotesta; Os: osteoesclereídes.....52

21. Cortes transversais do tegumento (A-C), do endosperma (D-F) do cotilédone (G-I) e do eixo hipocótilo-radícula (J-L) de sementes de *Crotalaria juncea* colhidas quando as plantas apresentavam 100% de vagens secas, corados com vermelho de rutênio, evidenciando pectinas. A, D, G e J: sementes em estágio de maturação I. B, E, H e K: sementes em estágio de maturação II. C, F, I e L: sementes em estágio de maturação III. Barras: 20 µm. Al: camada de aleurona E: endosperma; Ma: macroesclereídes; Mt: mesotesta; Os: osteoesclereídes.....54

22. A e B: Cortes transversais da região da camada de aleurona de sementes de *Crotalaria juncea*, em estágio de maturação III, colhidas quando as plantas apresentavam 100% de vagens secas, corados com vermelho neutro e submetidos à luz ultravioleta, evidenciando lipídios. Barras: 100 µm. Al: camada de aleurona; E: endosperma; Ma: macroesclereídes; Mt: mesotesta; Os: osteoesclereídes.....55

23. Cortes transversais do tegumento (A-C), do endosperma (D-F) do cotilédone (G-I), e do eixo hipocótilo-radícula (J-L) de sementes de *Crotalaria juncea* colhidas quando as plantas apresentavam 100% de vagens secas, corados com XP, evidenciando proteínas. A, D, G e J: sementes em estágio de maturação I. B, E, H e K: sementes em estágio de maturação II. C, F, I e L: sementes em estágio de maturação III. Barras: 20 µm. Al: camada de aleurona; E: endosperma; Ma: macroesclereídes; Mt: mesotesta; Os: osteoesclereídes.....57

LISTA DE TABELAS

1. Resumo da análise de variância dos dados de sementes impermeáveis à água no 10º (D10) e no 17º (D17) dias após montagem do teste de germinação e primeira contagem do teste de germinação (PC) de sementes de *Crotalaria juncea*, colhidas em diferentes estádios de maturação, antes e após o armazenamento.....33
2. Resumo da análise de variância dos dados de germinação no 10º (G10) e no 17º (G17) dias após a montagem do teste e germinação após escarificação (GAE) em sementes de *Crotalaria juncea*, colhidas em diferentes estádios de maturação, antes e após o armazenamento.....38

RESUMO

ARAUJO, Alisson Vinicius de, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, março de 2015. **Caracterização física, fisiológica e anatômica de sementes de *Crotalaria juncea* L. colhidas em diferentes estádios de maturação.** Orientador: Eduardo Fontes Araujo. Coorientadores: Edgard Augusto de Toledo Picoli, Ricardo Henrique Silva Santos e Paulo Roberto Cecon.

Apesar de utilizada no Brasil como adubo verde, um dos desafios do cultivo da *Crotalaria juncea* é a baixa disponibilidade de sementes de qualidade no mercado. A colheita no momento certo contribui para a obtenção de sementes de melhor qualidade. Os objetivos deste trabalho foram avaliar a armazenabilidade e caracterizar as alterações físicas, fisiológicas, anatômicas e histoquímicas das sementes oriundas de frutos de diferentes estádios de maturação, bem como determinar a época ideal de colheita das sementes. As colheitas foram realizadas quando as plantas atingiram 40, 60, 80 e 100% de vagens secas. Após debulha manual e secagem natural, à sombra, as sementes foram beneficiadas. As seguintes características foram avaliadas: tempo para secagem, grau de umidade, acúmulo de matéria seca, pureza física, rendimento, teste de uniformidade, coloração do tegumento, germinação, primeira contagem do teste de germinação, porcentagem de sementes duras (impermeáveis à água), índice de velocidade e porcentagem de emergência de plântulas. As características anatômicas e histoquímicas foram avaliadas com a aplicação dos seguintes corantes: azul de toluidina, vermelho de rutênio, reagente de Schiff/ácido periódico, Lugol, vermelho neutro e Xylidine Ponceau. O delineamento estatístico utilizado foi inteiramente casualizado, com três repetições. Os tratamentos consistiram em quatro estádios de maturação e dois tempos de armazenamento (0 e 8 meses). O armazenamento foi realizado em ambiente com temperatura de 20 °C e umidade relativa do ar em torno de 50%. Os dados referentes aos estádios de maturação foram submetidos à análise de regressão. O efeito do armazenamento, dentro de cada época, foi analisado pela análise de variância conjunta dos resultados e pelo teste de médias. A dormência das sementes é física e é adquirida ao longo da maturação, se intensificando com a permanência das sementes no campo, devido à maior deposição de lignina na camada de macroesclereídes do tegumento. O armazenamento, por oito meses, reduz a dormência. O amido é ausente nas sementes maduras. Já as reservas lipídicas estão presentes apenas nas sementes maduras e são depositadas, em pequenas quantidades, junto à camada de aleurona, no endosperma. As proteínas são os principais compostos de reserva das sementes e são estocadas no embrião. A maturidade fisiológica das sementes

é atingida quando as plantas apresentam aproximadamente 86,1% de vagens secas. A colheita de sementes de *Crotalaria juncea* deve ser realizada no ponto em que as plantas apresentarem entre 80 e 100% de vagens secas.

ABSTRACT

ARAUJO, Alisson Vinicius de. D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, March of 2015. **Physical, physiological and anatomical *Crotalaria juncea* L. seed harvested at different maturity stages.** Adviser: Eduardo Fontes Araujo. Co-adviser: Edgard Augusto de Toledo Picoli, Ricardo Henrique Silva Santos and Paulo Roberto Cecon.

Although used in Brazil as green manure, one of the challenges of the cultivation of *Crotalaria juncea* is the low availability of quality seeds in the market. The harvest at the right time helps to obtain better quality seeds. The objectives of this study were to evaluate the storability and characterize the physical, physiology, anatomical and histochemical changes of seeds from fruits of different stages of maturation, and to determine the ideal time to harvest the seeds. The samples were collected when the plants reached 40, 60, 80 and 100% of dry pods. After manual threshing and natural drying in the shade, the seeds were benefited. The following characteristics were evaluated: time for drying, moisture content, dry matter accumulation, physical purity, yield, uniformity test, tegument colors, germination, first count of the germination test, percentage of hard seeds (waterproof), speed index and percentage of seedling emergence. The anatomical and histochemical characteristics were evaluated by applying the following reagents: toluidine blue, ruthenium red, Schiff's reagent/periodic acid, Lugol, neutral red and Ponceau Xylidine. The statistical design was completely randomized with three replications. The treatments consisted of four stages of maturation and two storage periods (0 to 8 months). They were stored at room temperature of 20 °C and relative humidity around 50%. Details of the maturity stages were subjected to regression analysis. The effect of storage within each season, was analyzed by a joint analysis of variance of the results and the mean test. The seed dormancy is physical and is taken along the maturation, intensifying with the permanence of seeds in the field, due to increased deposition of lignin in macrosclereids layer of the seed coat. The storage for eight months reduces dormancy. Starch is absent in mature seeds. Since lipid reserves are only present in the mature seed and are you deposit in small quantities, by the aleurone layer, the endosperm. Proteins are the main reserve compounds and seeds are stored in the embryo. The physiological maturity of seeds is achieved when the plants have approximately 86.1% of dry pods. Harvesting *Crotalaria juncea* seeds should be performed at the point where the plants have between 80 and 100% of dried beans.

1. INTRODUÇÃO

A redução na capacidade produtiva dos solos, pela perda de fertilidade, tem sido relatada na agricultura. Dentre as tecnologias utilizadas para reverter esse quadro, a adubação verde é amplamente utilizada. Nessa técnica, as plantas são cultivadas e incorporadas ou deixadas sob o solo (Muraoka et al., 2002). A crotalária (*Crotalaria juncea* L.) é uma das espécies mais difundidas no Brasil para esse fim (Ferraz e Valle, 1997). Pertencente à família Fabaceae, subfamília Faboideae, é originária da Índia e Paquistão (Pascualides e Planchuelo, 2007).

A crotalária destaca-se por possuir rápido crescimento e grande potencial de produção de matéria seca. Apresenta ainda fácil decomposição e eficiência na fixação biológica do nitrogênio, além de favorecer a ciclagem de nutrientes no solo (Dourado et al., 2001; Wang et al., 2002).

Em sistemas de rotação ou em consórcio, essa espécie tem efeitos consideráveis na produtividade de culturas de expressão econômica (Jesus et al., 2007; Duarte-Junior e Coelho, 2008; Lange et al., 2009; Silva et al., 2009; Araujo et al., 2013). É utilizada com eficiência no controle de nematoides (Moraes et al., 2006; Garrido et al., 2008) e na supressão de plantas daninhas, pelo efeito alelopático (Fontanetti et al., 2007; Monquero et al., 2009). Na indústria, essa espécie se caracteriza como uma das principais plantas produtoras de fibra de importância econômica, sendo muito cultivada para esse fim na Rússia e na Ásia tropical (Calegari et al., 1993; Cook e White, 1996).

Apesar de sua importância, um dos entraves ao cultivo da *C. juncea* está na baixa disponibilidade de sementes com qualidade no mercado. Como é utilizada para prática da adubação verde, o agricultor não tem o hábito de cultivá-la visando obtenção de lucratividade direta pela comercialização de sementes (Kappes et al., 2012). Entretanto, esse quadro tende a ser revertido, principalmente devido ao aumento contínuo do uso dessa espécie na agricultura brasileira (Dourado et al., 2001) e, conseqüentemente, à demanda crescente por sementes. Para que haja viabilidade econômica da adubação verde é indispensável o uso de sementes de qualidade, pois isso se reflete no estabelecimento uniforme e satisfatório das plantas. Característica essa, relevante em sistemas de rotação ou em consórcio. Sendo assim, a expansão do cultivo dessa espécie perpassa pela geração de informações tangentes às práticas de manejo na produção de sementes.

A crotalária apresenta crescimento determinado, mas o florescimento e o desenvolvimento das sementes são desuniformes (Calegari et al., 1993). Assim, em uma mesma planta são encontradas sementes em diversos estádios de maturação. Essa

característica dificulta a determinação da época de maturidade fisiológica das sementes e, conseqüentemente, o momento ideal para a colheita. Pesquisas relacionadas à maturação das sementes são imprescindíveis para o planejamento e definição do momento ideal da colheita, uma vez que essas alcançam sua máxima qualidade em campo.

O desenvolvimento das sementes é caracterizado por uma série de alterações físicas, morfológicas, fisiológicas e bioquímicas, que são iniciadas a partir da fecundação do óvulo (Berger et al., 2008; Hehenberger et al., 2012), que em Angiospermas leva à formação do embrião, do endosperma e do tegumento (Kesavan et al., 2013). No início da formação das sementes, ocorre intensa divisão e expansão celular, seguidas por aumento progressivo da massa de matéria seca, devido à síntese e deposição de reservas, tais como carboidratos, lipídios e proteínas (Bewley et al., 2013). Esses processos ocorrem em organelas específicas que podem estar presentes no embrião e/ou nos tecidos de reserva, tais como endosperma ou perisperma. Na fase intermediária de desenvolvimento, as sementes permanecem com elevado teor de água e exibem alto poder germinativo. Posteriormente, em sementes ortodoxas, ocorre a secagem ou desidratação (Angelovici et al., 2010; Weber et al., 2010).

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

A colheita das sementes no momento ideal pode minimizar os efeitos de deterioração que são causados pela maior permanência dessas no campo. Evita, também, a colheita precoce, diminuindo a quantidade de sementes imaturas no lote e perdas por injúrias mecânicas.

O termo maturidade fisiológica é definido por Ellis e Pieta Filho (1992) como o ponto de máxima qualidade fisiológica das sementes. Para Weber et al. (2010), o ponto de maturidade fisiológica é observado quando as sementes atingem o máximo acúmulo de matéria seca e o mais alto nível de diferenciação, antes que se inicie o processo de secagem das sementes. O interesse agrônomo referente ao estudo do processo de maturação de sementes é devido, principalmente, à obtenção de informações sobre o controle da dormência, a regulação do acúmulo de reservas e o controle do desenvolvimento do endosperma (Ingram, 2010). O conhecimento a respeito das alterações físicas, fisiológicas, anatômicas e histoquímicas, que ocorrem durante o

processo de maturação de sementes de *C. juncea*, são relevantes para obtenção de sementes de alta qualidade fisiológica.

O ponto ideal de colheita deve ser baseado em identificação simples, rápida e consistente de características morfológicas da planta e/ou dos frutos (Marcos Filho, 2005). Em amendoim, por exemplo, a colheita é realizada quando as plantas apresentam amarelecimento geral das folhas e manchas escuras nas faces internas da vagem (Segato e Penariol, 2007). Em feijão, a colheita é feita quando observam-se o amarelecimento e a queda das folhas (Dourado Neto e Fancelli, 2000). Em soja, colhe-se a partir do ponto em que observa-se a perda da coloração verde das vagens e das sementes (Veiga et al., 2007). Para *C. juncea*, tem-se sugerido a verificação da porcentagem de vagens secas (Calegari et al., 1993).

Dessa forma, o presente trabalho foi desenvolvido com o objetivo de avaliar a armazenabilidade e de caracterizar as alterações físicas, fisiológicas, anatômica e histoquímicas das sementes oriundas de vagens em diferentes estádios de maturação, visando determinar a época ideal de colheita das sementes de *Crotalaria juncea* L.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Aspectos gerais da *Crotalaria juncea*

A *Crotalaria juncea* L é uma espécie originária da Índia e Ásia tropical. Pertence à família Fabaceae, subfamília Faboideae (Papilionoideae) e tribo Crotalarieae. Trata-se de uma espécie de ciclo anual e subarbusativa.

Possui resposta ao fotoperíodo, florescendo em dias curtos. À medida que a semeadura é atrasada, ocorre redução do porte e, conseqüentemente, na produção de matéria seca (Amabile et al., 1996). Quando semeada no início do período chuvoso, floresce aos 90 dias e, quando semeada no final dessa estação, floresce aos 60 dias. Em ambas as épocas, geralmente o ciclo completa-se aos 120 dias (Carvalho et al., 1999). As vagens geralmente apresentam de 10 a 20 sementes. As sementes são verde-acidentadas, reniforme, com tegumento liso (Calegari, 2002).

A densidade de semeadura é dependente do uso e do manejo da espécie, a saber, se será incorporada, deixada em cobertura ou destinada à produção de sementes. Para a produção de sementes, recomendam-se 15 a 20 sementes viáveis por metro linear, com espaçamento de 50 cm (Calegari et al., 1993). Amabile et al. (2000) não constataram diferenças entre os espaçamentos de 0,40 e 0,50 m entre linhas, recomendando aquele que for mais adaptado às culturas principais semeadas na propriedade.

Quando semeada no início do período chuvoso, pode produzir 17 Mg ha⁻¹ de matéria seca (Amabile et al., 2000). Ainda segundo esses autores, quando semeada em meados do período de chuva, o rendimento de matéria seca decresce para 8 Mg ha⁻¹. Ao ser semeada no final do período chuvoso, o rendimento é de apenas 6 Mg ha⁻¹. Em relação ao déficit hídrico, é relativamente tolerante à seca, desde que não ocorra compactação ou adensamento do solo, uma vez que seu sistema radicular não é eficiente para o rompimento de camadas compactadas no solo. É intolerante às baixas temperaturas, por ser originária de regiões com clima tropical e subtropical (Burle et al., 2006). Desenvolve-se bem em solos argilosos a franco-arenosos e arejados, e não tolera o encharcamento (Burle et al., 2006). Apresenta ainda tolerância a solos de média fertilidade (Wutke et al., 2014).

A velocidade inicial de crescimento e a cobertura mais rápida do solo por essa espécie também contribuem para a maior proteção do solo, além de exercer o controle de plantas daninhas (Burle et al., 2006). Salton et al. (1993) relataram que a cobertura do solo com a crotalaria juncea chega a 100% aos 50 dias após semeadura.

Apresenta elevada capacidade para fixar N, principalmente em condições de não ocorrência de estresse hídrico, podendo fixar de 150 a 450 kg ha⁻¹ (Wutke et al., 2014). Sua capacidade de ciclar nutrientes do solo também é relevante (Diniz et al., 2014).

Em sistemas de rotação ou em consórcio, essa espécie tem efeitos consideráveis na produtividade de culturas de expressão econômica, como algodão (Wutke et al., 2014), arroz (Jesus et al., 2007), feijão, fumo (Wutke et al., 2014), café (Araujo et al., 2013), cana-de-açúcar (Duarte-Junior e Coelho, 2008), milho (Fosu et al., 2004; Silva et al., 2009), pimentão (Cesar et al., 2007), quiabo (Ribas et al., 2003), soja, sorgo (Wutke et al., 2014) e trigo (Lange et al., 2009).

A *C. juncea* é utilizada com eficiência no controle de nematoides, tais como o *Meloidogyne incognita* (Kofoed e White), *M. javanica* (Treub) (Moraes et al., 2006), *Rotylenchulus reniformis* (Linford e Oliveira), *Scutellonema bradys* (Stainer e LeHew) (Garrido et al., 2008), *Radopholus similis* (Cobb) (Jasy e Koshy, 1994) e *M. exigua* Goeldi (Amaral et al., 2002), devido ao alcaloide pirrolizidínico tóxico denominado ‘monocrotalina’ presente nas folhas e nas sementes (Ferraz e Freitas, 2004; Garrido et al., 2008). Além disso, com a contribuição de matéria orgânica, aumenta-se a população de microrganismos desfavoráveis aos nematoides (Wutke et al., 2014). Venzon et al. (2006) verificaram a qualidade nutricional do grão de pólen da *C. juncea*, cujos teores proteicos médios foram de 25,6%. Segundo esses autores, isso favorece o aumento da fecundidade, na promoção de crescimento populacional e na alimentação do ácaro *Iphiseiodes zuluagai* Denmark e Muma e do bicho-lixeiro (*Chrysoperla externa* Hagen), dois predadores/sugadores de algumas pragas na cultura do café, como os ácaros fitófagos *Oligonychus ilicis* MgGregor e *Brevipalpus phoenicis* Geijskes.

Destaca-se ainda pelo efeito alelopático na supressão de plantas daninhas, sendo utilizada no controle de *Bidens pilosa* L. (Monquero et al., 2009), *Brachiaria decumbens* Stapf, *Panicum maximum* Jacq. (Severino e Christoffoleti, 2001; Monquero et al., 2009) e *Cyperus rotundus* L. (Fontanetti et al., 2007). As hastes secas e o feno são utilizados como forrageiras para os animais domésticos (Duke, 1981).

Na indústria, essa espécie se caracteriza como uma das principais plantas produtoras de fibra de importância econômica, sendo muito cultivada para esse fim na Rússia e na Ásia tropical. Suas fibras são macias, duráveis e resistentes, detentoras de celulose de alta qualidade, sendo utilizada em cordoaria, fabricação de redes de pesca, sacarias, tapetes e papel para confecção de cigarros (Calegari et al., 1993; Cook e White, 1996). A fibra extraída da casca de crotalária é mais durável do que a da juta (*Corchorus* sp.). No Brasil, a crotalária júncea foi introduzida inicialmente para a produção de fibras,

mas se difundiu como planta condicionadora do solo (Burle et al., 2006). Por fim, na medicina popular, as sementes são utilizadas como purificadoras do sangue, contra o impetigo e a psoríase (Duke, 1981).

Como a *C. juncea* é polinizada preferencialmente pela mamangava (*Xylocopa fenestrata* Fabricius, *X. frontalis* Olivier, *X. grisescens* Lapeletier (Hymenoptera: Apidae)), é recomendável a manutenção da população desse inseto na área de cultivo, durante a floração, para que haja produção satisfatória de sementes (Leitão Filho, 2009).

Uma das principais limitações à produção de sementes é a ocorrência da lagarta *Utetheisa ornatrix* (L.) (Lepidoptera, Arctiidae) que ataca a inflorescência e as vagens. Existem outras espécies que também podem prejudicar a produção de sementes, como as lagartas-das-vagens (*Etiella zinckenella* (Treit.) (Lepidoptera: Pyralidae) e *Spodoptera* sp.). A ocorrência de *Fusarium* sp. e de *Ceratocystes fimbrita* Ellis e Halsted causa murcha e tombamento nas plantas. Deve-se evitar o cultivo de crotalária nas entrelinhas da cultura da mangueira, pela possibilidade de ocorrência de *C. fimbrita*, causador da seca nessa frutífera. Outra dificuldade é a desuniformidade na maturação, o que pode provocar sérias perdas na colheita (Calegari et al., 1993; Wutke et al., 2014).

Segundo Calegari et al. (1993), a colheita das sementes pode ser realizada manualmente ou com colhedora, quando mais de 70% das vagens estiverem secas. Mas algumas empresas produtoras de sementes do estado de São Paulo colhem quando as plantas apresentam 60% de vagens secas (informação pessoal).

2.2. Maturação de sementes

O desenvolvimento das sementes é caracterizado por uma série de alterações, controladas geneticamente, de natureza física, morfológica, fisiológica e bioquímica, que são iniciadas a partir da fecundação do óvulo (Berger et al., 2008; Hehenberger et al., 2012) que, em Angiospermas, leva à formação do embrião, do endosperma e do tegumento (Kesavan et al., 2013).

Na maioria das espécies, o desenvolvimento das sementes pode ser dividido em três fases distintas. A primeira fase é caracterizada pela divisão celular e pelo aumento rápido na massa da semente e no conteúdo de água. Nessa fase, a água representa maior parte da massa da semente. Durante essa fase, a histodiferenciação e a morfogênese das sementes acontecem à medida que o zigoto unicelular se submete às divisões mitóticas extensivas (Yedegari e Goldberg, 1997). O aumento de massa ocorre devido à síntese e deposição de reservas, tais como carboidratos, lipídios e proteínas. Esses processos

ocorrem em organelas específicas que podem estar presentes no embrião e/ou nos tecidos de reserva, tais como endosperma ou perisperma (Bewley et al., 2013).

Essa deposição de reservas se intensifica na fase intermediária de desenvolvimento, levando à expansão das células e, conseqüentemente, ao aumento de tamanho das sementes. O elevado teor de água permanece e as sementes exibem alto poder germinativo (Bewley et al., 2013). Durante essa fase, os vacúolos diminuem de tamanho à medida que os compostos de armazenamento se acumulam e a massa de matéria seca aumenta. Com isso, diminui, também, o teor relativo de água, pela substituição dessa pela matéria seca nas células (Castro et al., 2004).

Posteriormente, o desenvolvimento das sementes termina com uma fase pré-programada de secagem (Angelovici et al., 2010; Weber et al., 2010). Em sementes ortodoxas, como as crotalárias, nessa fase, ocorre um declínio rápido do conteúdo de água. Isso resulta em uma redução gradual do metabolismo e o embrião passa para um estado metabólico mínimo, também chamado de estado quiescente (Castro et al., 2004). Nesse estado desidratado, as sementes entram em repouso, permitindo sua manutenção e sobrevivência a uma gama de condições ambientais (Leprince e Buitink, 2010). A menos que esteja dormente, recomeçará a atividade metabólica, o crescimento e o desenvolvimento quando as condições favoráveis à germinação forem fornecidas (Castro et al., 2004).

A maturidade fisiológica é o momento em que cessa a transferência de matéria seca da planta para as sementes. Nesse momento, as sementes apresentam potencial fisiológico máximo. O atraso na colheita, a partir desse ponto, expõe as sementes às condições adversas do ambiente, como variações de temperatura, de umidade, insetos e microrganismos. Com isso, pode haver quedas no potencial fisiológico e na quantidade de sementes (Carvalho e Nakagawa, 2012).

No entanto, a colheita de sementes no ponto de maturidade fisiológica também é inviável, pelo grau elevado de umidade das sementes, incompatível com o manejo mecanizado, devido, principalmente, à ocorrência de injúrias às sementes e ao embuchamento de máquinas. Mesmo em colheitas manuais, sementes muito úmidas têm que ser submetidas à secagem, que deve ser suficientemente rápida para não predispor as sementes à deterioração. Para isso, pode ser necessária a utilização de altas temperaturas de secagem que, da mesma forma, trará sérios prejuízos à qualidade das sementes (Marcos Filho, 2005). Ainda que, durante a maturação das sementes, mecanismos de proteção são iniciados para preservar a integridade dos componentes celulares quando a água for removida durante a secagem (Hoekstra et al., 2001).

Informações a respeito da maturação fisiológica de sementes de *C. juncea* são escassas. Mozambani et al. (1993) verificaram que a máxima germinação e vigor ocorreu aos 182 dias após a semeadura, em torno de 86 dias após a antese. Esses autores também constataram que o retardamento da colheita reduziu a qualidade fisiológica das sementes, causada tanto pela deterioração, pela maior exposição às condições adversas de campo, quanto pelo aumento de sementes duras.

Lopes et al. (2005) concluíram que a máxima germinação ocorre entre 66 e 73 dias após a antese. A diferença entre os resultados desses trabalhos pode ser explicada pelas diferentes épocas de semeadura, que foi mais precoce no estudo de Mozambani et al. (1993).

2.3. Colheita e armazenamento das sementes

Em soja, um dos problemas determinantes para a queda do potencial fisiológico de sementes é a alternância de períodos secos e úmidos, aliada a temperaturas elevadas na fase final da maturação. Tal combinação predispõe a ocorrência de injúrias ao tegumento, como consequência de expansões e contrações após uma série de ciclos de umedecimento e secagem (Marcos Filho, 2005). Essas lesões aumentam a fragilidade do tegumento, reduzem a proteção da semente e causam prejuízos ao seu desempenho (Terasawa et al., 2009). Essas alterações no volume das sementes de soja produzem rugas, geralmente na região oposta ao hilo. Como consequência, pode-se ocorrer a ruptura do tegumento e dos tecidos embrionários, reduzindo o gradiente eletro-químico das membranas celulares, o que afeta os mitocôndrios e reduz a produção de energia (ATP) para a germinação. Essa alteração fisiológica causa aumento da respiração e produção de CO₂, devido à absorção de umidade em temperatura elevada. Como consequência, ocorre queda de eficiência metabólica causada pelo consumo do material de reserva, degradação de lipídios e proteínas e redução da atividade enzimática (Bewley et al., 2013).

Segundo Horlings et al. (1991), a maior espessura de tegumento confere à semente de maior resistência às condições adversas durante a sua produção no campo. Essa maior resistência ao dano mecânico está relacionada aos teores de lignina no tegumento (Alvarez et al., 1997).

Quando as sementes de soja são colhidas com grau de umidade muito baixo, pode haver danos mecânicos imediatos, como a ocorrência de rachaduras no tegumento ou até quebra das sementes, sendo frequentemente visíveis, causando perda na qualidade das

sementes. Por outro lado, os danos latentes manifestam-se quando as sementes são beneficiadas com altos teores de água, provocando lesões que nem sempre podem ser observadas externamente no momento da colheita. Esses danos evoluem-se e maneira acentuada durante o armazenamento, contribuindo significativamente para a redução do vigor das sementes (Terasawa et al., 2009).

Em feijão, esses danos também foram relatados. Sementes colhidas com teores de água superiores a 17% apresentaram índice elevado de amassamento (Afonso Júnior e Correa, 2000). Os autores verificaram danos mecânicos imediatos e, posteriormente, danos latentes, aos seis meses de armazenamento.

A secagem é uma etapa de fundamental importância para a produção de sementes com qualidade fisiológica elevada. Essa técnica possibilita a antecipação da colheita, evitando danos causados por fatores bióticos e abióticos em campo. À medida que a semente perde água, as reações metabólicas vão diminuindo até que as atividades respiratórias se tornam bastante reduzidas. Nessa condição, as sementes podem ser armazenadas por longos períodos (Dias e Nascimento, 2009).

Silva et al. (2007) verificaram que à medida que o grau de umidade das sementes de soja, na ocasião da colheita, foi diminuindo, a germinação foi aumentando, após a secagem artificial. Em colheitas mais precoces, foi observada acentuada redução do volume celular, o que, segundo esses autores, pode ter levado a uma ruptura das conexões celulares nos três sistemas de tecidos (dérmico, fundamental e vascular). A maioria das células vegetais é interconectada por plasmodesmas que formam um continuum citoplasmático e esses são responsáveis por transporte de solutos (Taiz e Zaiger, 2009). Nas colheitas mais tardias, Silva et al. (2007) observaram uma diminuição na profundidade do dano causado pela secagem. O dano foi mais intenso nos tecidos mais externos (dérmico e fundamental), o que pode ter sido causado pela maior exposição desses tecidos à temperatura de secagem. Ademais, as células mantiveram-se turgidas.

Pammenter e Berjak (1999) descreveram alguns mecanismos protetores que conferem tolerância à desidratação. São relevantes as características físicas das células, como o volume reduzido dos vacúolos. Ocorrem ainda ajustes da sequência metabólica, para prevenir a geração de agentes que provocam danos durante a desidratação e sistemas antioxidantes, que previnem a ocorrência de danos provocados por radicais livres. Ainda participam desse sistema, acúmulo de proteínas protetoras e de outros solutos, como proteínas tipo LEA e alguns açúcares solúveis, como a sacarose, estaquiose e rafinose, que preservam as relações hidrofílicas das membranas, prevenindo a fusão de membranas.

Após a secagem, buscando imprimir um controle eficiente na manutenção da qualidade do lote de sementes, o armazenamento passa a ser um fator importante dentro do processo de produção de sementes. Todo o trabalho para o desenvolvimento do material e as técnicas culturais para a sua produção podem ser perdidos caso a semente seja armazenada inadequadamente (Grisi e Santos, 2007).

O armazenamento das sementes inicia-se após a maturidade fisiológica, com a permanência das sementes no campo. O objetivo do armazenamento é manter a qualidade fisiológica das sementes durante o período de repouso. A longevidade das sementes é variável de acordo com o genótipo. Entretanto, o período de conservação do potencial fisiológico depende, em grande parte, do grau de umidade das sementes e das condições do ambiente de armazenamento (Marcos Filho, 2005).

O alto grau de umidade das sementes é uma das principais causas da perda do poder germinativo durante o armazenamento para a maioria das espécies. O alto teor de água eleva a taxa respiratória e ação de microrganismos. Graus de umidade acima de 20% podem promover o aquecimento da massa de sementes a uma temperatura letal (Desai et al., 1997).

A temperatura influencia as atividades biológicas. O aumento da temperatura do ambiente de armazenamento provoca aumento da taxa respiratória da semente, de fungos e de insetos que a acompanham (Popinigis, 1985).

Uma regra prática, conhecida por “Regra de Harrington”, afirma que o período para o armazenamento seguro duplica para cada redução de 1,0% no grau de umidade da semente ou decréscimo de 5,5 °C na temperatura ambiente. Reduções nessas variáveis, quando efetuadas simultaneamente, teriam efeitos aditivos (Harrington, 1963). Para Hilhorst (1997), deveria ser considerada uma queda de 2,0% no grau de umidade, para que o período de conservação duplicasse.

2.4. Dormência das sementes

Conforme Bewley et al. (2013), o processo germinativo geralmente ocorre em condições ambientais ótimas, tais como disponibilidade hídrica, oxigenação e temperaturas adequadas à espécie. Algumas exigem ainda outros fatores, como luz, hormônios e/ou nitrato. A germinação começa com a embebição de água pela semente seca, seguido de expansão do embrião e pelo aumento do número de células, pela mitose (Nonogaki et al., 2010).

A absorção de água é um processo trifásico com uma rápida absorção inicial (fase I), seguido por uma fase de plateau (fase II). Um novo aumento da absorção de água (fase III) ocorre quando o eixo do embrião alonga e rompe as camadas de cobertura para completar a germinação (Manz et al., 2005).

As sementes que germinam nessas condições são chamadas de quiescentes. Todavia, algumas sementes, as chamadas dormentes, necessitam de outros fatores ambientais, além desses, para germinarem, apresentando alguma restrição (Finch-Savage e Leubner-Metzger, 2006).

A dormência permite que as sementes evitem a germinação durante os períodos desfavoráveis. Geralmente, as plantas produzem sementes com vários níveis de dormência, buscando distribuir seus descendentes através do tempo e do espaço (Poisot et al., 2011). Com isso, a espécie pode garantir sua sobrevivência. O tipo de dormência das sementes, portanto, pode influenciar processos de colonização, de adaptação, de especialização e de extinção da espécie (Willis et al., 2014).

O impedimento da germinação, em sementes dormentes, pode estar relacionado aos fatores físicos, fisiológicos e morfológicos da semente, ou ainda ser uma combinação desses. A dormência física, que é objeto deste estudo, é caracterizada pela presença de tecidos extraembrionários que impedem a entrada de água ou trocas gasosas entre o embrião e o meio ambiente (Baskin e Baskin, 2001).

A dormência física pode ser ocasionada por uma camada de células alongadas e justapostas com diferentes graus de espessamento, denominadas macroesclereídes ou células de Malpighi, que podem estar impregnadas ou não por lignina (Corner, 1976; Paoli, 2006) e/ou por outras substâncias hidrofóbicas, como a cutina (Rolston, 1978; Baskin et al., 2000).

Fatores genéticos e fatores ambientais vigentes durante o desenvolvimento das sementes e no momento podem afetar a permeabilidade do tegumento, determinando a porcentagem e a intensidade de dormência (Samarah et al., 2004; Marcos Filho, 2005; Nakagawa et al., 2005).

A impermeabilidade do tegumento à água ocorre durante a maturação das sementes e, assim, observa-se maior ocorrência de sementes duras quando a maturação é completada anteriormente à colheita (Demir, 1997). A redução do grau de umidade é determinante para o surgimento de sementes duras (dormência física), pois, com a diminuição da umidade, o tegumento torna-se progressivamente impermeável à água (Wutke et al., 1995).

O caráter dureza do tegumento é conferido pela camada de suberina localizada na camada interna das células paliçádicas, sendo essa camada contínua em sementes impermeáveis e descontínua em sementes permeáveis (Arantes et al., 1994).

Em tegumento permeável, foi demonstrada a existência de lipídios que se distribuem por toda a camada paliçádica, ao passo que, em sementes duras, esses componentes apresentaram-se em grande quantidade na base das células e penetrando entre as paredes celulares (Peske e Pereira, 1983).

Em algumas leguminosas, tem-se observado que há relação entre a coloração do tegumento e a sua permeabilidade à água (Marbach e Mayer, 1975). A formação de compostos de coloração escura, que são resultantes da oxidação de substâncias fenólicas, pode contribuir para a impermeabilização do tegumento (Bewley et al., 2013). Dentre as enzimas responsáveis pela catalisação da oxidação desses compostos fenólicos tem-se a catecol oxidase. Essa enzima, na presença de O₂, atua durante a fase de desidratação do tegumento (Marbach e Mayer, 1975).

Sementes de soja com tegumento preto embebem água a uma velocidade menor, quando comparadas com as amarelas (Horlings et al., 1991). Nakagawa et al. (2007a) constataram o escurecimento do tegumento e a ocorrência de sementes duras em mucuna-preta, mesmo nas imaturas, após sofrerem secagem no interior das vagens, destacadas das plantas.

Nas linhagens de soja com tegumento de coloração preta, há maior espessura de tegumento em relação a linhagens de tegumento amarelo, o que confere-lhes melhor proteção às adversidades de campo e durante as etapas de colheita e beneficiamento (Horlings et al., 1991). Contudo, segundo Giurizatto et al. (2003), a espessura do tegumento não determina a quantidade de água absorvida pelas sementes.

A colheita de sementes imaturas seguida da secagem lenta podem aumentar a dormência das sementes no lote. Esse fenômeno relaciona-se ao desenvolvimento e maturação do tegumento, onde as sementes mais novas, com menor desenvolvimento do tegumento, apresentam maior permeabilidade, que diminui com o avanço da estruturação do tegumento (Nakagawa et al., 2007a).

Em espécies do gênero *Crotalaria*, como *C. retusa* L. (Antoniolli et al., 1993), *C. spectabilis* Roth (Egley, 1979), *C. sericea* Retz (Saha e Takahashi, 1981), *C. incana* L. (Carreras et al., 2001), *C. mucronata* Desv. e *C. zanzibarica* Benth (Kuo e Chen, 1992), foi relatada a ocorrência de sementes impermeáveis à água. Em *C. juncea*, no entanto, não foram encontrados na literatura relatos de ocorrência de dormência, apenas diferença na velocidade de embebição. Nessa espécie, sementes menores e mais claras,

características de sementes relativamente mais imaturas, embebem mais rápido nas primeiras horas de exposição à água do que sementes que completaram sua maturação antes de serem colhidas (Pascualides e Planchuelo, 2007).

2.5. Compostos de reserva das sementes

Algumas características morfoanatômicas e químicas das sementes podem ter valor taxonômico ou representar adaptações ecológicas, mas também podem indicar características fitotécnicas relevantes. A resistência mecânica e a composição química do tegumento podem estar diretamente relacionadas com a dormência tegumentar em algumas espécies (Briggs et al., 2005; Bewley et al., 2013). Análises anatômicas e histoquímicas são comumente utilizadas para determinar e localizar barreiras mecânicas e, ou químicas no tegumento de sementes e assim orientar métodos de quebra de dormência (Bitencourt et al., 2008; Ferreira et al., 2011).

Características qualitativas do material de reserva estão relacionadas não só ao potencial de uso, mas também à longevidade das sementes e condições de armazenamento (Bewley et al., 2013).

O conhecimento da composição química e dos mecanismos de deposição e mobilização de reservas é imprescindível para a tecnologia de produção de sementes, considerando-se que tanto a germinação e o vigor, quanto o potencial de armazenamento, são influenciados pelos compostos presentes nas sementes (Buckeridge et al., 2004; Bewley et al., 2013). De modo geral, os compostos de reserva das sementes são constituídos por carboidratos, lipídios e proteínas. Suas proporções são variáveis conforme a espécie (Marcos Filho, 2005)

Dentre os carboidratos, o amido é o principal composto de reserva das sementes. Esse polissacarídeo é acumulado nos amiloplastos. O amido é composto por unidades de glucose, organizadas em dois homopolissacarídeos, a amilose e a amilopectina (Amaral et al., 2007). A amilose usualmente está presente na proporção de 25% e, a amilopectina, corresponde a aproximadamente 75% (Zeeman et al., 2010). A amilose praticamente não apresenta ramificações, sendo as unidades de glucose conectadas por ligações glicosídicas do tipo α (1,4). Já a amilopectina, uma das maiores biomoléculas conhecidas, é altamente ramificada e possui cadeias de resíduos de glucose ligados entre si por ligações glicosídicas do tipo α (1,4) com ramificações α (1,6) (Myers et al., 2000).

Ao reagir com a solução de lugol, as cadeias de amilose adquirem coloração azul a arroxeada, e a amilopectina coloração avermelhada, sendo a coloração final dependente

da proporção dos dois compostos, que normalmente varia de azul escuro para azul violeta (Albrechtová, 2004). Santos et al. (2013) destacam que o iodo metálico presente no lugol forma complexos com a cadeia de amilose do amido, formando um composto de cor roxa.

Em leguminosas, as principais reservas normalmente encontradas nos cotilédones são amido, óleos e proteínas. Em espécies exalbuminosas é comum o amido constituir-se no principal composto de reserva, seguido de proteínas e, em menor proporção, de lipídios (Seno et al., 1996; Nakamura e Oliveira, 2005). Entretanto, em cotilédones com alto teor de proteína e que apresentam endosperma persistente na maturidade, geralmente é encontrado um tipo de polissacárido neutro de reserva não encontrado nos cotilédones, denominado galactomanano (Reid, 1971).

Esse polissacarídeo é solúvel em água e é constituído por manose, que forma uma cadeia principal de manano com ligações β -1,4, ramificada com resíduos de galactose ligadas à cadeia principal com ligações α -1,6 (Panegassi et al., 2000). Os galactomananos produzem soluções aquosas de viscosidade elevada, o que as torna comercialmente úteis, principalmente como espessantes de sistemas aquosos (Azero e Andrade, 1999). São produzidos nos vacúolos citoplasmáticos e, durante a maturação, são depositados até o preenchimento total das paredes celulares do endosperma (Reid, 1985).

As funções de reserva e embebição do galactomanano parecem estar associadas quase que exclusivamente às leguminosas, pois em espécies não-leguminosas é mais evidente a função de dureza e proteção do embrião. No entanto, é possível que a função de dureza esteja ainda preservada em leguminosas. Sementes de soja, por exemplo, armazenam relativamente pequenas quantidades de galactomanano (Buckeridge et al., 2000).

Os lipídios de reserva são sintetizados em organelas presentes no citoplasma, sendo acumulados em corpos lipídicos, onde há predominância de triacilglicerídeos, que fornecem energia para o estágio inicial de germinação e crescimento do embrião (Graham, 2008).

Com relação às proteínas, em geral, observa-se um aumento na concentração ao longo do desenvolvimento das sementes (Pavithra et al., 2014). Nas reservas proteicas, em sementes, são encontradas principalmente duas classes de proteínas, as globulinas e as prolaminas, sintetizadas no complexo de Golgi e retículo endoplasmático, sendo estas acumuladas sob a forma de corpos proteicos (Marty, 1999).

Durante a germinação das sementes e o desenvolvimento das plântulas, os carboidratos e os lipídios são mobilizados e utilizados como fonte de energia e carbono (Graham, 2008; Taiz e Zeiger, 2009). As proteínas têm como função armazenar

principalmente nitrogênio e enxofre, essenciais para a síntese de novas proteínas, ácidos nucleicos e compostos secundários na plântula em crescimento (Lima et al., 2008; Taiz e Zeiger, 2009).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Semeadura, colheita e secagem das sementes

A semeadura foi realizada em dois de fevereiro de 2012, em área experimental da Universidade Federal de Viçosa, localizada no município de Viçosa-MG (20°45'14'' sul e 42°52'53'' oeste, a 650 m de altitude). Conforme a classificação climática de Köppen, o clima regional é do tipo Cwb, mesotérmico úmido com verões chuvosos e invernos secos (Vianello e Alves, 1991). Os dados meteorológicos durante o período compreendido entre a semeadura e as colheitas das sementes estão apresentados na Figura 1.

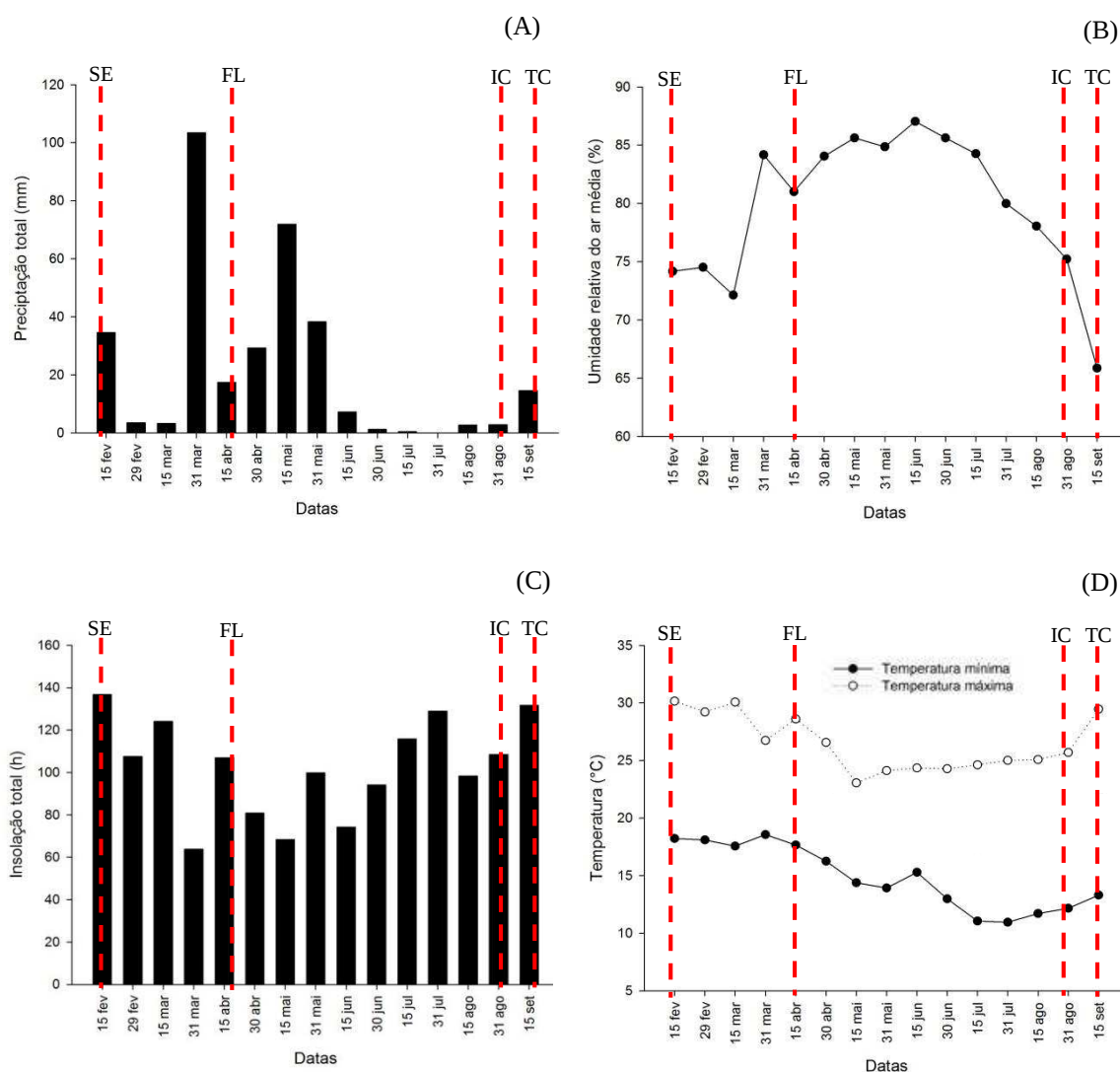


Figura 1. Dados de precipitação total (mm) (A), umidade relativa do ar média (%) (B), insolação total (h) (C) e temperaturas (°C) (D) ocorrentes durante o período compreendido entre a semeadura e as colheitas das sementes. FL: florescimento; IC: início das colheitas; SE: semeadura; TC: término das colheitas. Fonte: Instituto Nacional de Meteorologia, Estação Meteorológica A510, Viçosa-MG, 2012.

As sementes de *Crotalaria juncea* L. utilizadas na semeadura foram adquiridas no banco de sementes da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG. O solo foi preparado com uma aração e duas gradagens. A semeadura, manual, foi realizada em sulcos de 5 cm de profundidade, espaçados 0,50 m entre si, onde foram distribuídas 40 sementes por metro linear. A área utilizada para a semeadura foi de 100 m². A necessidade hídrica das plantas foi suprida por meio da irrigação por aspersão.

As colheitas foram realizadas quando as plantas atingiram 40, 60, 80 e 100% de vagens secas (VS) (Figura 2). Foram consideradas como secas aquelas vagens amarelas em cujo interior as sementes encontravam-se livres, produzindo som característico de chocalho ao serem agitadas (Cook e White, 1996). O florescimento, caracterizado quando aproximadamente 50% das plantas apresentavam ao menos uma flor em antese, ocorreu aos 71 dias após a semeadura. Sendo assim, as colheitas corresponderam, respectivamente, a 133, 140, 148 e 155 dias após a antese.

Em cada estágio de maturação, as plantas foram cortadas e levadas imediatamente ao laboratório para a retirada das vagens e debulha manual.

Três amostras de 100 sementes em cada estágio de maturação foram utilizadas para a determinação do grau de umidade na colheita, por meio do método da estufa a 105 ± 3 °C por 24 h (Brasil, 2009). Concomitantemente, foi determinado o acúmulo de matéria seca nas sementes, cujos resultados foram expressos em mg semente⁻¹ (Lopes et al., 2005).

As sementes foram submetidas à secagem à sombra, em ambiente com circulação de ar natural. A temperatura e a umidade relativa do ar foram monitoradas por meio de termohigrômetro digital. O processo de secagem foi mantido até que as sementes atingissem 10% de umidade. Para acompanhar a perda de umidade das sementes, pesagens periódicas foram realizadas e, os resultados, foram aplicados na equação sugerida por Cromarty et al. (1985):

$$M_i (100 - U_i) = M_f (100 - U_f)$$

onde: M_i é a massa inicial das sementes; U_i é umidade inicial das sementes; M_f é a massa final das sementes (após secagem) e; U_f é umidade final das sementes (após secagem).

Atingido o grau de umidade desejado, o tempo transcorrido entre o início e o final da secagem foi computado.

As sementes foram, então, acondicionadas em sacos de papel e permaneceram armazenadas em ambiente controlado, a uma temperatura de 20 °C e umidade relativa do ar em torno de 50%, por 30 dias, para homogeneização da umidade.



Figura 2. Caracterização visual das vagens (à esquerda) e das sementes (à direita) de *Crotalaria juncea* colhidas com 40% de vagens secas (A-B), 60% de vagens secas (C-D), 80% de vagens secas (E-F) e 100% de vagens secas (G-H). H. Setas indicam sementes deformadas devido ao ataque de microrganismos.

3.2. Beneficiamento e armazenamento

As sementes foram pesadas e beneficiadas em soprador modelo South Dakota, marca DE LEO®, com abertura de 6 mm, por 30 s. Dessa forma, foi possível separar as impurezas mais leves que as sementes, como restos de vagens e sementes chochas. Feito isso, as demais impurezas, como sementes em estágio avançado de deterioração devido ao ataque de fungos (Figura 2H) e sementes quebradas ou danificadas iguais ou menores do que a metade de seu tamanho original foram retiradas manualmente. Ao final do teste de uniformidade (item 3.3.a), aquelas sementes que passaram pela peneira de 3,0 mm também foram consideradas como impurezas (Nakagawa et al., 2007a, b).

A porção de sementes puras foi pesada. O resultado foi expresso em porcentagem de pureza física. As demais avaliações foram realizadas a partir dessa porção.

Esse resultado também foi utilizado para a determinação do rendimento. As médias obtidas foram corrigidas para 13% de umidade, conforme equação descrita por Santos et al. (2005) e, os resultados, foram expressos em kg ha⁻¹:

$$MS = \frac{Mob(100 - U)}{100 - 13},$$

em que MS é a massa de sementes, corrigida para 13% de umidade; Mob é a massa observada e U é o grau de umidade da amostra original, que foi determinado pelo método da estufa a 105 ± 3 °C, por 24 h.

Em cada unidade experimental, foi retirada uma amostra para a verificação dos efeitos imediatos dos tratamentos nas características físicas, fisiológicas, anatômicas e histoquímicas. A porção remanescente permaneceu armazenada por mais oito meses, em ambiente controlado (temperatura de 20 °C e umidade relativa do ar em torno de 50%). As sementes dessa porção foram submetidas a apenas avaliações quanto à qualidade fisiológica.

3.3. Avaliação da qualidade física das sementes

As avaliações quanto à qualidade física das sementes foram conduzidas no Laboratório de Pesquisa em Sementes, do Departamento de Fitotecnia, Universidade Federal de Viçosa, em Viçosa, Minas Gerais.

a) Teste de uniformidade (retenção em peneira): foi conduzido em duplicatas de 100 g de sementes e por meio da classificação por peneiras manuais, com crivos

circulares nas dimensões de 5,0, 4,5, 4,0, 3,5 e 3,0 mm de diâmetro. O resultado foi expresso em porcentagem de retenção de sementes em cada peneira (Brasil, 2009).

b) Coloração e textura das sementes: utilizaram-se duplicatas de 100 g de cada unidade experimental. Em cada amostra, as sementes foram separadas em três grupos, segundo a aparência física do tegumento (Figura 3), a saber: i) estágio I: sementes com coloração esverdeada, com aspecto enrugado; ii) estágio II: sementes com coloração esverdeada, porém bem formadas, com tegumento liso e; iii) estágio III: sementes com coloração predominantemente marrons escuras, com tegumento liso. Em cada grupo foi contabilizada a quantidade de sementes, expressando os resultados em porcentagem.

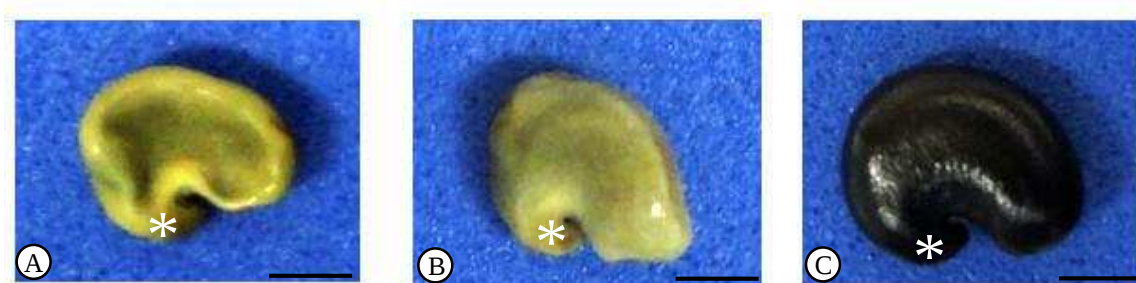


Figura 3. Sementes de *Crotalaria juncea* encontradas em cada grupo, segundo o estágio de maturação. A – Estádio I. B – Estádio II. C – Estádio III. Barras: 0,25 cm. *região do eixo hipocótilo-radícula.

3.4. Avaliação da qualidade fisiológica das sementes

As avaliações quanto à qualidade fisiológica das sementes foram conduzidas no Laboratório de Pesquisa em Sementes e na área experimental “Horta Velha”, do Departamento de Fitotecnia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG.

a) Germinação: quadruplicatas de 50 sementes, tratadas com fungicida Orthocide 500[®] em pó seco (1,5 g do ingrediente ativo N-trichloromethylthio-4-cyclohexene-1,2-dicarboximide por quilo de sementes), foram colocadas para germinar em substrato entre papel, na forma de rolo, umedecido com água destilada na proporção de 2,5 vezes a massa do substrato seco. O teste foi conduzido em BOD, com temperatura alternada de 20-30 °C, com fotoperíodo de 8 h de luz diária. As avaliações foram realizadas nos 4º, 10º e 17º dias após a instalação do teste. Os resultados foram expressos em porcentagem de plântulas normais. Seguiram-se os critérios estabelecidos pelas Regras para Análise de Sementes (Brasil, 2009).

b) Primeira contagem do teste de germinação: foi realizada juntamente com o teste de germinação. Registrou-se a porcentagem de plântulas normais no quarto dia após a montagem do teste. Os resultados foram expressos em porcentagem de plântulas normais.

c) Germinação com sementes escarificadas: as sementes duras, isto é, aquelas que permaneceram sem absorver água e se apresentaram, portanto, no final do teste de germinação (17º dia) com aspecto de sementes recém colocadas no substrato, foram escarificadas, manualmente, na região oposta à do eixo hipocótilo-radícula (Figura 3), com o auxílio de uma lixa de grana 80. Após a escarificação, as sementes foram submetidas novamente ao teste de germinação por mais 10 dias para a determinação das plântulas normais (Brasil, 2009). Os resultados foram somados àqueles obtidos pelo teste de germinação (conduzido antes da escarificação), conforme metodologia sugerida por Nakagawa et al. (2007a). Os resultados foram expressos em porcentagem de plântulas normais.

d) Porcentagem de sementes duras: durante o teste de germinação, as sementes que se apresentavam duras aos 10º e 17º dias foram computadas (Brasil, 2009). Os resultados foram expressos em porcentagem de sementes duras.

e) Índice de velocidade de emergência (IVE): as amostras retiradas para o estudo antes do armazenamento foram avaliadas em condições de campo, com o objetivo de potencializar a expressão do vigor das sementes. O solo foi preparado com duas gradagens. Após serem tratadas com fungicida Orthocide 500® em pó seco (1,5 g do ingrediente ativo N-trichloromethylthio-4-cyclohexene-1,2-dicarboximide por quilo de semente), quadruplicatas de 50 sementes, oriundas de cada unidade experimental, foram semeadas, de maneira equidistante, em sulcos com, aproximadamente, 5 cm de profundidade. Foram realizadas leituras diárias, sendo contabilizadas as plântulas emergidas, consideradas aquelas que apresentaram ângulo superior a 90º entre o caule e eixo cotiledonar. As avaliações foram realizadas até o 13º dia após a semeadura, onde observou-se a estabilização na quantidade de plântulas emergidas.

De posse dos dados, foi determinado o índice de velocidade de emergência (IVE) por meio da equação sugerida por Maguire (1962):

$$IVE = E1/N1 + E2/N2 + \dots + En/Nn$$

em que E1, E2 e En é o número de plântulas emergidas computadas na primeira, segunda, até a última contagem; N1, N2 e Nn é o número de dias da semeadura à primeira, segunda até a última contagem. Dessa forma, o maior índice indica o maior vigor.

As sementes utilizadas para o estudo após o armazenamento foram semeadas em bandejas contendo areia e o teste conduzido em casa de vegetação. Isso foi necessário devido às baixas temperaturas observadas no município de Viçosa na época de implantação desse ensaio, o que prejudicaria a emergência em campo, uma vez que a *C. juncea* é sensível ao frio (Burle et al., 2006). Com exceção do substrato e do local de execução do teste, a condução e as avaliações foram realizadas da mesma maneira que no ensaio com as sementes não armazenadas.

f) Emergência de plântulas: em ambos os ensaios, antes e após o armazenamento, ao final do teste de IVE, a saber, no 13º dia após semeadura, foram contabilizadas as plântulas normais, expressando o resultado em porcentagem de emergência de plantas.

3.5. Anatomia e histoquímica das sementes

As avaliações foram realizadas no Laboratório de Anatomia Vegetal do Departamento de Biologia Vegetal, da Universidade Federal de Viçosa, em Viçosa, Minas Gerais.

Foram amostradas cinco sementes de cada grupo de coloração do tegumento (Figura 3). As sementes foram fixadas em solução de formaldeído, ácido acético e álcool etílico 50% (5:5:90 v/v) (FAA 50) por 48 h (Johansen, 1940). As amostras foram mantidas sob vácuo durante esse período. A conservação do material foi realizada em etanol 70% (Jensen, 1962).

As amostras foram submetidas à desidratação em série etílica crescente e, posteriormente, incluídas em metacrilato (Historesin - Leica®), conforme indicações do fabricante. Secções transversais da porção mediana das sementes (Figura 4), com 6 µm de espessura, foram obtidas em micrótomo rotativo de avanço automático (modelo RM 2155, Leica) e submetidas a avaliação das características anatômicas e histoquímicas, com a utilização dos reagentes que se seguem.

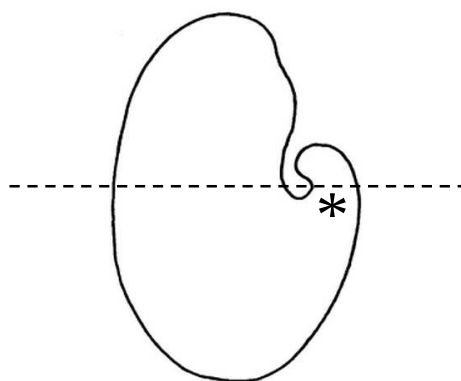


Figura 4. Esquema da semente inteira de *Crotalaria juncea*, mostrando a localização do corte transversal. *região do eixo hipocótilo-radícula.

a) Azul de toluidina 0,05% em tampão fosfato de sódio 0,1M pH 6,5 - A coloração ocorreu durante 10 min, em temperatura ambiente, seguindo-se três lavagens em água destilada e secagem, também em temperatura ambiente (O'Brien et al., 1964) e montagem com resina sintética (Permout).

b) Vermelho de rutênio – utilizado para a detecção de pectinas. A solução de vermelho de rutênio foi aplicada nos cortes por 10 min, seguindo-se a lavagem em água (Johansen, 1940).

c) Reagente de Schiff/ácido periódico (PAS) – utilizado para a detecção de polissacarídeos neutros. Os cortes foram oxidados em solução aquosa de ácido periódico 0,5% por nove min. Após lavagem em água destilada, os cortes foram tratados com reagente Schiff por 30 min, no escuro. Seguiu-se a lavagem em água sulfurosa e, depois, em água destilada (O'brien e McCully, 1981).

d) Teste com reagente de Lugol - utilizado para identificar a presença de amido, no qual o reagente foi colocado em contato com os cortes, durante 10 min, seguindo-se a montagem com lamínula (Johansen, 1940).

e) Vermelho neutro – utilizado para a localização de substâncias lipídicas. Os cortes foram submersos em solução de vermelho neutro por 20 min, seguindo-se a lavagem em água. As lâminas, foram, então, levadas imediatamente para a observação ao fotomicroscópio, utilizando-se luz ultravioleta (Kirk Junior, 1970).

f) Xylidine Ponceau (XP) 0,1% pH 2,5 - corante aniônico utilizado para evidenciar proteínas, onde a coloração ocorreu durante 15 min, seguindo-se de lavagem

em ácido acético a 3%, durante 15 min e lavagem rápida em água destilada. Seguiu-se a secagem em temperatura ambiente e montagem em resina Permound (Vidal, 1970).

As análises e a obtenção de imagens foram realizadas em fotomicroscópio (modelo AX70 TRF, Olympus Optical, Tokyo, Japão), com sistema U-PHOTO, acoplado à câmera fotográfica digital (modelo Spot Insightcolour 3.2.0, Diagnostic Instruments Inc., New York, USA) e microcomputador, com o programa de captura de imagens Spot Basic.

3.6. Delineamento e análise estatística

O delineamento estatístico utilizado foi inteiramente casualizado, com três repetições. Os tratamentos consistiram em quatro estádios de maturação (plantas com 40, 60, 80 e 100% de vagens secas) e dois tempos de armazenamento (0 e 8 meses).

Os dados foram previamente submetidos aos testes de Lilliefors (5%), para verificar se os valores seguiram a distribuição normal e de Cochran e Bartlett (5%), para verificar a homogeneidade das variâncias.

Os resultados referentes à qualidade fisiológica das sementes foram submetidos à análise de variância conjunta, com exceção daqueles referentes ao IVE e emergência, cujas metodologias utilizadas antes e após o armazenamento das sementes foram diferentes devido às variações do clima na época de montagem de cada ensaio. Para a comparação entre as médias, foi utilizado o teste de Tukey em nível de significância de 5% de probabilidade.

Os dados referentes aos estádios de maturação foram submetidos à análise de regressão.

Os resultados das análises das características anatômicas e histoquímicas das sementes foram submetidos à apenas análises descritivas.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Caracterização física e fisiológica

Os resultados referentes ao tempo necessário para a secagem das sementes apresentaram um comportamento linear (Figura 5). Para a secagem das sementes da primeira colheita foram necessárias 200 h (dado observado), que foi quase 10 vezes maior do que o tempo necessário para a secagem das sementes da última colheita (22 h, dado observado). Essa diferença no tempo de secagem é decorrente dos diferentes graus de umidade observados em cada estágio de maturação, que foram de 64, 56, 38 e 17%, respectivamente para a colheita com 40, 60, 80 e 100% VS.

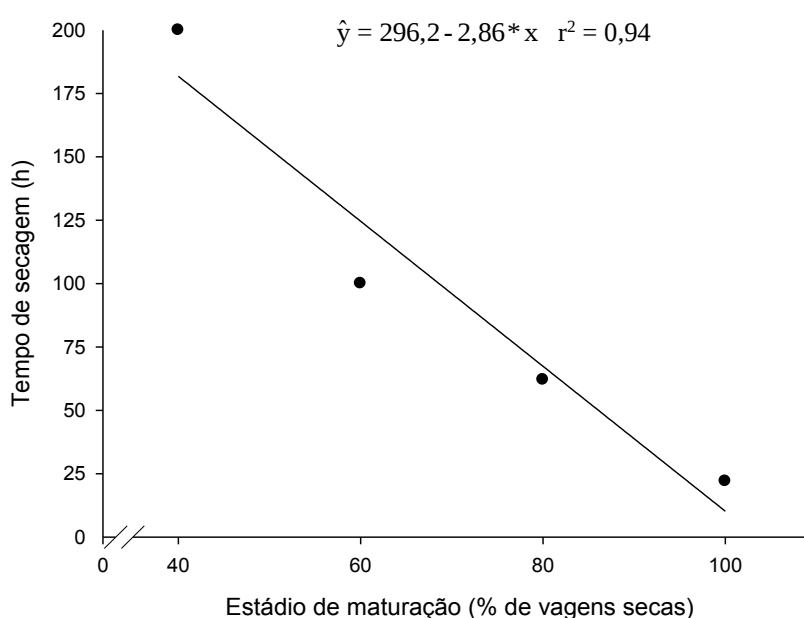


Figura 5. Tempo de secagem (h) de sementes de *Crotalaria juncea*, até o grau de umidade de 10%, em função do estágio de maturação.

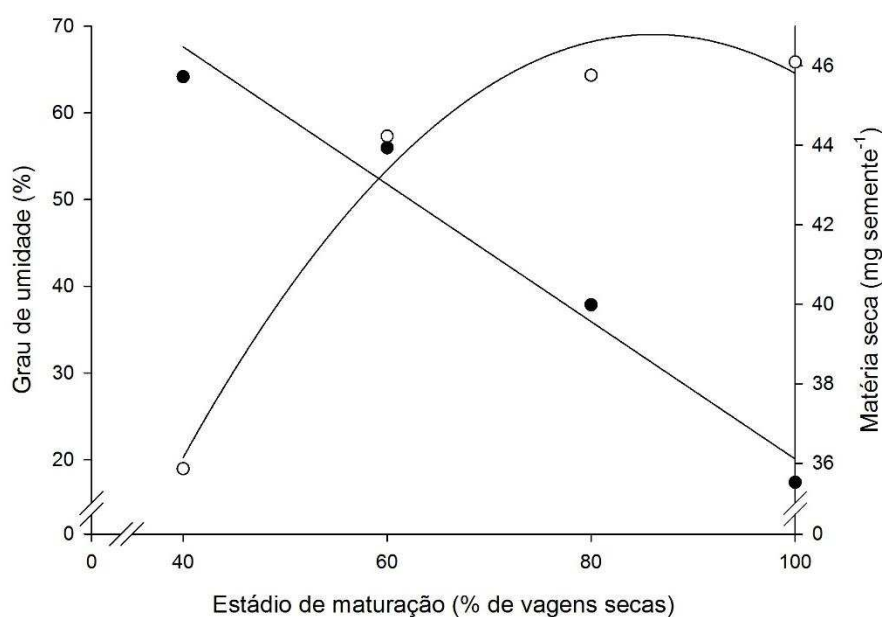
*significativo em nível de 5% pelo teste “t”.

Após a colheita, as sementes devem permanecer úmidas o menor tempo possível, haja vista que a alta umidade é o fator que mais influencia a qualidade fisiológica (Peske, 2006). A intensidade respiratória nessa fase mantém-se alta, o que leva a altas taxas de degradação de substâncias de reservas e liberação de grande quantidade de calor, que deixarão de ser usadas para nutrir o eixo embrionário, além de servir como fonte de energia para microrganismos ou insetos (Bewley et al., 2013).

O menor tempo de secagem também pode se traduzir em maior economia, visto que as sementes poderão ser armazenadas ou até mesmo comercializadas mais

rapidamente, desocupando os estabelecimentos e a mão de obra para outras atividades. Além disso, em caso de utilização de secagem artificial, o menor tempo de secagem se traduz em economia de energia.

O desenvolvimento das sementes foi caracterizado por um acúmulo de matéria seca, cujos resultados se ajustaram a um modelo quadrático (Figura 6). A deposição de matéria seca aumentou rapidamente da primeira para a segunda colheita. Isso significa que, nesse ponto, ainda estavam ocorrendo a histodiferenciação e a morfogênese, que ocorre concomitantemente ao acúmulo de reservas (Bewley et al., 2013).



• Grau de umidade das sementes $\hat{y} = 99,285 - 0,792094 ** x$ $r^2 = 0,97$

◦ Matéria seca das sementes $\hat{y} = 9,62905 + 0,863643 ** x - 0,00501815 * x^2$ $R^2 = 0,98$

Figura 6. Matéria seca (mg sementes⁻¹) e grau de umidade (%) das sementes de *Crotalaria juncea* em função do estágio de maturação.

**significativo em nível de 1% pelo teste “t”.

A máxima deposição de matéria seca estimada com base na regressão ocorreu quando as plantas atingiram 86,1% de vagens secas, momento em que observou-se 46,8 mg semente⁻¹. De acordo com a definição de Tekrony e Egli (1997), esse ponto configura-se na maturidade fisiológica das sementes, sendo variável de espécie para espécie e coincidente ou não com o máximo potencial fisiológico. Em *C. juncea*, Mozambani et al. (1993) verificaram a deposição máxima de 49,3 mg semente⁻¹ de matéria seca sendo, portanto, bem próxima ao encontrado no presente trabalho. Variações no ambiente, como fertilidade do solo, disponibilidade de água, temperatura e luz, podem influenciar o desenvolvimento da semente, traduzindo-se, principalmente, em variações no tamanho e

massa (Marcos Filho, 2005). De acordo com esse autor, o acúmulo de reservas, em leguminosas, é altamente dependente dos assimilados durante a frutificação, o que torna a produção de sementes extremamente sensível a fatores do ambiente que possam provocar a redução da atividade fotossintética.

A deposição de matéria seca entre as colheitas com 80 e 100% VS foi mínima, havendo uma tendência de estabilização, observando-se médias de 45,76 e 46,09 mg semente⁻¹, respectivamente (Figura 6).

Os resultados referentes ao grau de umidade das sementes apresentaram um comportamento linear (Figura 6). Na primeira colheita as sementes apresentaram elevado grau de umidade (64,2%, dado observado). O alto teor de água na fase inicial de maturação é necessário para a expansão celular (Bewley et al., 2013), além de ser importante por permitir a translocação de compostos, tendo em vista que a transferência de metabólitos da planta para as sementes é realizada em meio líquido (Marcos Filho, 2005).

Quando ocorreu o máximo acúmulo de matéria seca (86,1% VS), o grau de umidade das sementes foi de 31,1% (Figura 6). Mozambani et al. (1993) verificaram grau de umidade diferente nesse ponto, sendo de 44%. Por outro lado, Lopes et al. (2005) verificaram que a umidade das sementes na maturidade fisiológica situa-se entre 28 e 39%, portanto, próximo ao encontrado neste trabalho. Em sementes de mucuna-preta (*Mucuna aterrima* (Piper Tracy) Holland), também foi relatada diferença nos teores de água em diferentes trabalhos (Vieira et al., 1988; Nakagawa et al., 2005; 2007b). Nakagawa et al. (2007b) atribuíram esse fato à desuniformidade de florescimento e maturação das vagens, o que também é observado em *C. juncea*.

Lopes et al. (2005) verificaram uma redução acentuada do grau de umidade das sementes de *C. juncea* com a ausência de precipitações. No trabalho em discussão, não foi verificada queda tão pronunciada, devido a ocorrência de chuvas durante o período de colheita. O grau de umidade das sementes não é considerado um bom indicador da maturidade fisiológica das sementes, uma vez que pode ser afetado pelo genótipo e pelas condições ambientais (Vidigal et al., 2011). No entanto, a sua determinação é de extrema importância para a compreensão do processo de maturação das sementes (Marcos Filho, 2005).

Na última colheita, o grau de umidade das sementes foi de 17,4% (dado observado). À medida que as sementes tornam-se secas no campo, podem sofrer variações de umidade, acompanhando as alterações da umidade relativa do ambiente, devido à sua característica higroscópica (Leprince e Buitink, 2010). Uma vez que as sementes atingem

20% de umidade, o metabolismo de desenvolvimento cessa e a deterioração pode iniciar-se. As sementes são particularmente suscetíveis ao envelhecimento quando o grau de umidade situa-se entre 10 e 20%. Por essa razão, geralmente os produtores de sementes realizam a colheita com as sementes com conteúdo relativamente elevado de água e submetem-nas à secagem rapidamente, para preservar a qualidade fisiológica (Bewley et al., 2013).

Nas sementes ortodoxas, como é o caso da crotalária, após atingirem o máximo acúmulo de matéria seca, observa-se que o decréscimo no grau de umidade prossegue (Angelovici et al., 2010). Isso ocorre porque, durante o desenvolvimento, as sementes adquirem a capacidade de tolerar a dessecação e, dessa forma, reduzem a atividade metabólica, o que pode aumentar sua longevidade, além de conferir a tolerância às condições ambientais extremas (Leprince e Buitink, 2010).

A redução do teor de água na semente favorece a posterior expressão de genes que controlam o conteúdo de giberelinas e ácido abscísico. Esses fitormônios estão relacionados à expressão de enzimas, como as expansinas, que proporcionam o afrouxamento da parede celular, e as hidrolases, que participam da degradação de compostos de reserva. O afrouxamento do endosperma e do tegumento diminui a força contrária exercida por essas estruturas ao embrião, facilitando a protrusão da radícula. Ademais, a ação dessas enzimas promove o reajuste osmótico necessário à germinação (Nonogaki et al., 2010).

Os mecanismos de desidratação das sementes durante a maturação ainda não foram completamente elucidados. Uma hipótese é que exista um mecanismo passivo, em que a água é perdida principalmente por evaporação, a partir do tegumento da semente. Outra hipótese é que há movimentação da água da semente para a planta, mediante processo metabolicamente ativo (Carvalho e Nakagawa, 2012).

Os dados referentes à pureza física das sementes apresentaram comportamento quadrático (Figura 7). Na colheita com 40% VS, observou-se a menor pureza física, estimada em 86,5%. As impurezas encontradas nessa época foram compostas por sementes chochas, mal formadas ou muito pequenas, que foram eliminadas pelo soprador ou passaram pela peneira de crivo com diâmetro de 3,0 mm, após o teste de uniformidade. A máxima pureza física das sementes, 94,1%, foi atingida quando a colheita foi estimada em 72,5% VS.

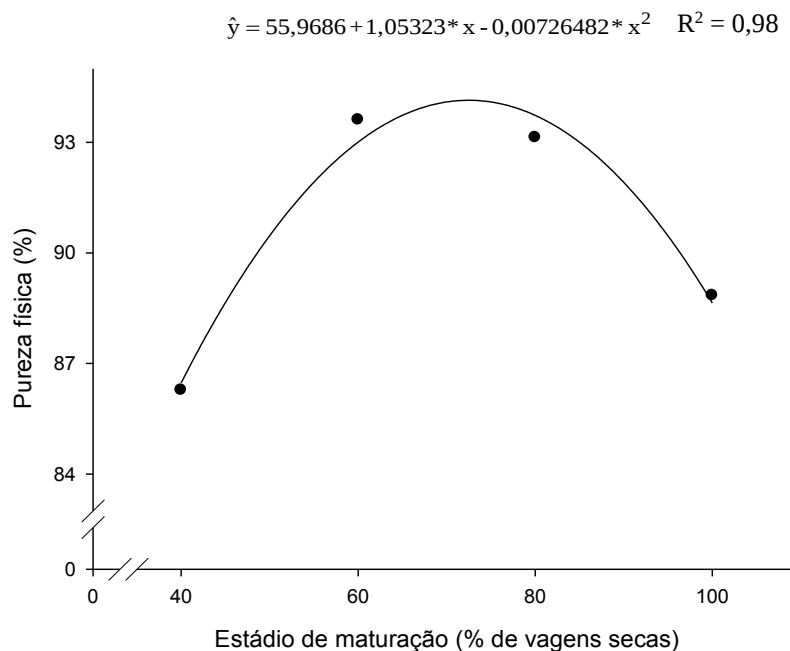


Figura 7. Pureza física de sementes de *Crotalaria juncea* em função do estágio de maturação.
*significativo em nível de 5% pelo teste “t”.

A porcentagem de sementes puras decresce na última colheita, principalmente devido ao maior número de sementes severamente atacadas por fungos. (Figura 2H). A ocorrência de chuvas e o aumento da temperatura alguns dias antes da última colheita (Figura 1) pode ter favorecido a proliferação desses microrganismos. A maior ocorrência de fungos em sementes de soja, devido ao aumento da temperatura e de chuvas, também foi relatada por Braccini et al. (2003) e por Albrecht et al. (2009). Em milho, o retardamento da colheita dos grãos favorece o aumento da incidência de *F. graminearum* sp., *Aspergillus* sp., *Cephalosporium* sp. e *Penicillium* sp. (Santin et al., 2004).

O rendimento das sementes ao longo dos estádios de maturação revelou um comportamento quadrático (Figura 8). Baseando-se na curva da regressão, o máximo rendimento ($1230,8 \text{ kg ha}^{-1}$) foi alcançada quando as plantas atingiram cerca de 76,9% VS. Os menores rendimentos da primeira e da última colheitas estão relacionadas com a pureza física (Figura 7). A maior eliminação de sementes impróprias para a comercialização, nesses estádios de maturação, justifica a redução do rendimento das mesmas.

A colheita precoce resulta em decréscimo na produção pelo desenvolvimento incompleto das sementes, que se apresentam com alto grau de umidade e, dependendo da espécie ou cultivar, pela maturação desuniforme (Smiderle e Pereira, 2008), como é o caso da crotalária.

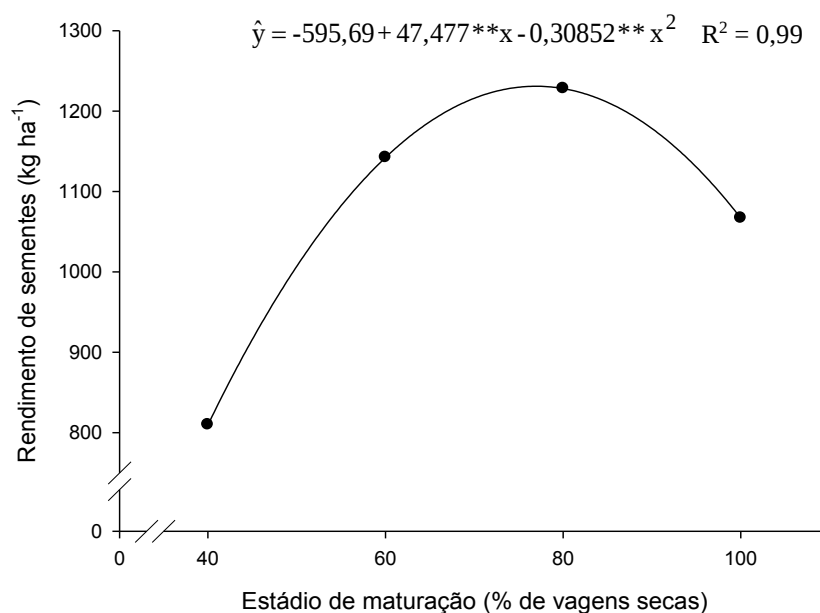


Figura 8. Rendimento de sementes de *Crotalaria juncea* em função do estágio de maturação.
 **significativo em nível de 1% pelo teste “t”.

A maior permanência das sementes da última colheita no campo também pode ter favorecido a perda de massa das sementes, uma vez que a manutenção da quantidade de matéria seca depositada depende diretamente das condições ambientais. A umidade relativa, a temperatura e a ação de insetos e microrganismos contribuem para a aceleração do processo respiratório e a consequente oxidação dos compostos de reserva, com redução na massa das sementes (Bewley et al., 2013).

Chuvas na colheita e outros fatores adversos durante o armazenamento das sementes em campo, dependendo das propriedades das sementes, podem resultar em maior ou menor dano (Ojayi e Clark, 1997). Em feijão, Botelho et al. (2010) observaram o mesmo comportamento dos dados referentes ao rendimento com relação aos estádios de maturação. Esses autores atribuíram a queda na última colheita à incidência de chuvas que ocorreram nesse período, como ocorrido neste trabalho.

Os dados referentes às peneiras de crivo circular, com diâmetro de 5,0, 4,0 e 3,5 mm, apresentaram comportamento quadrático (Figura 9). Por outro lado, os dados referentes às peneiras de crivo 4,5 e 3,0 mm não se ajustaram aos modelos matemáticos pré-definidos. Na peneira de crivo maior (5,0 mm), as maiores médias foram verificadas na colheita com 40% VS (21,7%) e 100% VS (21,6%). As colheitas com 60 e 80% VS apresentaram, respectivamente, 19,0 e 18,9% de sementes retidas nessa peneira. Apesar de os dados se ajustarem a um modelo matemático, a diferença entre as médias é mínima. Isso também foi constatado nos resultados referentes à peneira de crivo 3,5 e 4,0 mm.

Assim, verifica-se que, de modo geral, a uniformidade das sementes não foi influenciada de maneira expressiva pelo estágio de maturação.

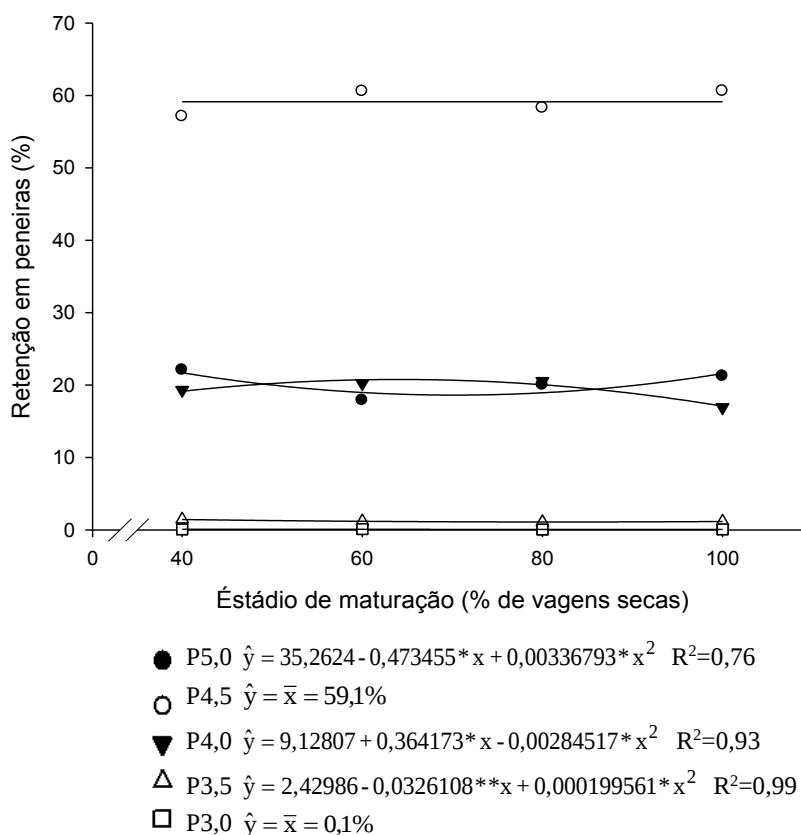


Figura 9. Uniformidade das sementes de *Crotalaria juncea*, pelo teste de retenção em peneira (%), em função do estágio de maturação. Junto às equações, P significa peneira e o número subsequente indica o diâmetro do crivo.

** e * significativo, respectivamente, em nível de 1 e de 5% pelo teste “t”.

A menor variação do tamanho nas sementes de crotalária, colhidas a partir do ponto em que as plantas apresentavam 40% VS, é justificável pelo estágio de maturação em que as sementes colhidas mais precocemente já se encontravam. De acordo com Carvalho e Nakagawa (2012), geralmente, as sementes crescem em tamanho rapidamente, atingindo o máximo num período relativamente curto, em relação à duração total do período de maturação. Esse rápido crescimento em tamanho da semente é decorrente de divisões e expansões celulares. Ainda conforme esses autores, o tamanho, uma vez atingido o máximo, é mantido por certo tempo e, ao final da maturação, é pouco reduzido.

A maior parte das sementes, em torno de 59,1%, ficou retida na peneira de crivo 4,5 mm (Figura 9). Dessa forma, pode-se inferir que a maioria das sementes de *Crotalaria juncea* possui largura entre 4,5 e 5,0 mm, haja vista que os crivos das peneiras utilizadas são redondos, separando as sementes pela largura.

Botelho et al. (2010) verificaram diferença no tamanho das sementes de feijão, pelo teste de peneira, ao longo dos estádios de maturação. Esse resultado, somado a outros, como perdas na colheita, foi relacionado com o rendimento por esses autores. Em crotalária, no entanto, parece que o rendimento não é influenciado pelo tamanho das sementes. Mozambani et al. (1993) verificaram comportamento cúbico na largura das sementes em função do estágio de maturação, onde os maiores valores foram encontrados em sementes com alto grau de umidade, em estádios iniciais de maturação. Essa diferença se deve à utilização de metodologias diferentes. No presente estudo, as sementes foram submetidas à secagem antes das avaliações, ao passo que Mozambani et al. (1993) realizaram as avaliações antes da secagem das sementes.

Os dados referentes à porcentagem de sementes em cada estágio de maturação, segundo a coloração e textura do tegumento, apresentaram comportamento linear (Figura 10A). A quantidade relativa de sementes maduras (estádio III) aumentou de 47% na primeira colheita para 91% (dados observados) na última (Figura 10B). Por outro lado, as porcentagens de sementes mais imaturas (estádio I) e de sementes intermediárias (estádio II) reduziram-se ao longo dos estádios de maturação, com queda mais pronunciada naquelas em estágio I.

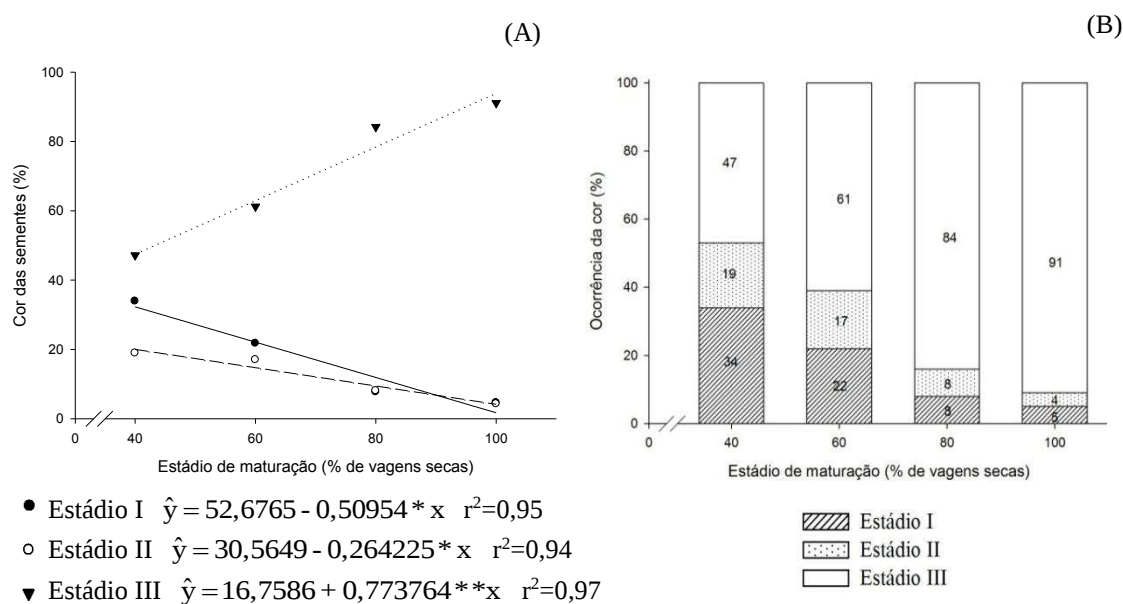


Figura 10. Caracterização visual (cor) do tegumento das sementes de *Crotalaria juncea* encontradas em cada estágio de maturação. A: resultado da análise de regressão. B: ilustração da distribuição (%) dos diferentes tipos de sementes dentro de cada estágio de maturação.

** e * significativo, respectivamente, em nível de 1 e de 5% pelo teste “t”.

De acordo com Pascualides e Ateca (2013), os lotes de sementes de *C. juncea* geralmente contém uma mistura de cores e tamanhos diferentes, como os encontrados no presente trabalho. O mesmo foi relatado por Silva et al. (1988) para sementes de *C.*

lanceolata E. Mey., que frisaram que a coloração do tegumento é um índice de maturação notável para essa espécie. Numerosos estudos apontam para a existência de relação entre a cor das sementes de Fabaceae com viabilidade e vigor (Peksen et al., 2004; Borji et al., 2007; Nakagawa et al., 2007a; Ertekin e Kirdar, 2010), bem como da composição química do tegumento da semente (Kantar et al., 1996).

Em espécies de *Crotalaria* sp., o polimorfismo na cor do tegumento da semente está relacionado com a dormência física (Egley, 1979; Saha e Takahashi, 1981; Buth e Narayan, 1987; Carreras et al., 2001), com os padrões de embebição durante a germinação (Pascualides e Planchuelo, 2007) e com o vigor (Silva et al., 1988; Pascualides e Ateca, 2013). Nakagawa et al. (2005; 2007a) também verificaram que, em mucuna-preta, a coloração está diretamente relacionada com a dureza da semente. Da mesma forma, Mertz et al. (2009) constataram essa relação em soja e Asiedu e Powell (1998) em sementes de *Vigna unguiculata* (L.) Walp.

De acordo com Pascualides e Ateca (2013), sementes de *C. juncea* maiores e de coloração uniforme apresentam maior vigor e que lotes com alta porcentagem de sementes variegadas apresentam baixa emergência. Esses autores ainda afirmaram que, por essas razões, é importante determinar a proporção de sementes variegadas em uma amostra representativa do lote, a fim de determinar a densidade adequada de semeadura.

Quanto à porcentagem de sementes duras, houve interação significativa entre o estágio de maturação e o armazenamento das sementes para as características dureza ao 10° e 17° dias após a montagem do teste de germinação (DAM) (Tabela 1), indicando que a porcentagem de sementes duras, colhidas em diferentes estádios de maturação, são afetados de maneira diferenciada pelo armazenamento.

Tabela 1 - Resumo da análise de variância dos dados de sementes impermeáveis à água no 10° (D10) e no 17° (D17) dias após montagem do teste de germinação e primeira contagem do teste de germinação (PC) de sementes de *Crotalaria juncea*, colhidas em diferentes estádios de maturação, antes e após o armazenamento.

Fontes de variação	GL	Quadrado médio		
		D10	D17	PC
Estádio de maturação (EM)	3	36,94**	53,23**	774,89**
Armazenamento (A)	1	216,95**	119,60**	3599,49**
EM x A	3	30,49**	34,17**	90,15**
Resíduo	16	4,17	4,60	12,96
CV (%)		16,85	22,50	6,69

**, significativo em nível de 1% pelo teste F

Os dados de sementes duras ao 10° e ao 17° DAM apresentaram comportamento quadrático ao longo dos estádios de maturação, antes do armazenamento (Figuras 11A e B). Na avaliação ao 10° DAM, estimou-se máxima porcentagem de sementes duras (17%) na colheita com 68% VS (Figura 11A). Ao 17° DAM, a máxima porcentagem de sementes duras (16%) ocorreu na colheita com 70% VS. Portanto, os pontos de máximo estão bem próximos entre as avaliações. Apenas 1% das sementes dormentes na primeira avaliação saiu dessa condição após sete dias de permanência no teste.

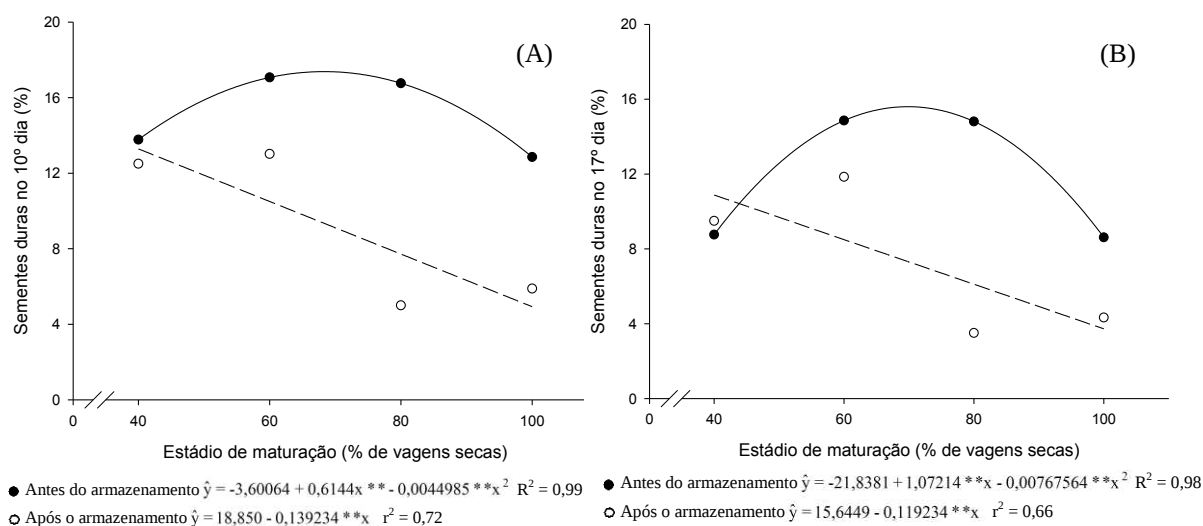


Figura 11. Sementes duras (%) de *Crotalaria juncea* ao 10° (A) e ao 17° dia (B) após montagem do teste de germinação em função do estágio de maturação e antes e após o armazenamento.

**significativo em nível de 1% pelo teste “t”.

A maior porcentagem de sementes duras (68 % VS) foi atingida anteriormente ao momento onde encontra-se o máximo acúmulo de matéria seca nas sementes (86,1%, Figura 6). Isso também foi observado em mucuna-preta por Nakagawa et al. (2007b). Segundo Baskin e Baskin (2001), o percentual e a intensidade de desenvolvimento da impermeabilidade do tegumento dependem, entre outros fatores, do estágio de maturação das sementes quando a secagem se inicia. Em mucuna-preta, Nakagawa et al. (2007a) verificaram que colheitas com sementes mais imaturas, quando submetidas à secagem, levam à formação de sementes duras, como foi observado neste trabalho.

Entre as espécies da família Fabaceae, existe uma grande uniformidade na estrutura do tegumento (Corner, 1976) e as sementes são consideradas duras devido à impermeabilidade da testa à entrada de água (Rolston, 1978). As sementes que permanecem no campo após a maturidade fisiológica, como ocorreu naquelas provenientes da colheita com 100% VS, estão sujeitas à alternância da temperatura e da umidade relativa do ar, que acontece naturalmente entre o dia e a noite. Isso predispõe a

ocorrência de injúrias ao tegumento, como consequência de expansões e contrações após uma série de eventos de absorção e perda de água pelas sementes. Como o tegumento não é perfeitamente elástico, podem surgir algumas rupturas (Marcos Filho, 2005), o que favorece a quebra de dormência das sementes (Elias et al., 2005; Castro, 2010; Pinto, 2013).

Na leguminosa *Trifolium alexandrinum* L., Bagoury e Niyasi (1973) também verificaram aumento progressivo da porcentagem de sementes duras ao longo dos estádios de maturação até a maturidade, onde, a partir desse ponto, iniciou-se uma queda, semelhante ao comportamento da crotalária. Os autores atribuíram esse fato à baixa umidade do ar e alta insolação na fase inicial e à ocorrência de flutuações de umidade e da temperatura ao final do estágio de maturação das sementes. A colheita com 100% VS ocorreu já no início do período chuvoso, onde também foi registrado aumento de temperaturas (Figura 1), o que pode ter levado à queda da dormência das sementes. Em sementes de leguminosas forrageiras, Norman et al. (2002) verificaram que a quantidade de sementes dormentes reduziu em colheitas no verão e outono, devido à combinação de temperaturas altas e oscilantes.

Os componentes que conferem a dormência física em sementes são estruturais e químicos (Kelly et al., 1992). Estão presentes na camada paliádica do tegumento, sendo essa dormência frequente em espécies da família Fabaceae (Baskin et al., 2000). Em geral, a escarificação é um requisito para a embebição da semente e germinação da maioria das espécies dessa família (Corner, 1951). À medida que as sementes amadurecem, normalmente a testa endurece, tornando-se impermeável quando as mesmas apresentam grau de umidade abaixo de 20-25% (Lush e Evans, 1980). Jayasuriya et al. (2013) realizaram testes de germinação com sementes de *Crotalaria micans* Link, *C. pallida* Ait., *C. verrucosa* L. e *C. quinquefolia* L. e não observaram germinação, exceto para a última, que apresentou 20%. Após a escarificação, no entanto, obtiveram 100% de germinação em todas as espécies. As sementes de *C. juncea*, no entanto, possuem dormência menos pronunciada (Mozambani et al., 1993; Lopes et al., 2005).

Após o armazenamento, tanto na avaliação ao 10° DAM quanto ao 17° DAM, os dados de sementes duras (%) apresentaram comportamento linear decrescente (Figuras 11A e B). Ao 10° DAM, a quantidade de sementes duras na primeira colheita foi de 13,3%, decrescendo para 4,9% na última colheita. Ao 17° DAM, a quantidade de sementes duras na primeira colheita foi de 10,9%, decrescendo para 3,7% na última colheita.

A intensidade da dormência de sementes de crotalária permanece maior, após o armazenamento, nas sementes colhidas mais precocemente do que naquelas colhidas mais maduras. Isso pode ter ocorrido devido ao maior grau de umidade no momento da colheita. Com a maturação e a secagem, a dormência física ocorre devido à contração sofrida pelas paredes das células da camada paliçada (Corner, 1951), presente no tegumento da crotalária (Pascualides e Planchuelo, 2007).

Com a secagem precoce das sementes colhidas com 40% VS, considerando o maior grau de umidade, o efeito de contração das paredes celulares do tegumento deve ter sido maior do que o que ocorreu nas sementes colhidas com 100% VS, uma vez que essas últimas já estavam em processo de secagem antes da colheita, de maneira mais lenta. Adicionalmente, o nível de ácido abscísico (ABA), hormônio responsável pela promoção da dormência durante a maturação das sementes, é mais elevado na primeira metade do desenvolvimento da semente, declinando apenas nos estádios mais tardios da maturação (Blöchl et al., 2005). A maior persistência da dormência nas sementes da primeira colheita, após o armazenamento, pode ter sido causada pela ação do ABA, uma vez que as sementes ainda se encontravam em processo de maturação no momento da colheita. Isso foi constatado em sementes de *Caesalpinia echinata* Lam. e de *Erythrina speciosa* Andrews, colhidas mais precocemente e submetidas à secagem e ao armazenamento (Mello, 2013).

Comparando-se o efeito do armazenamento dentro de cada estágio de maturação, verificou-se que não houve efeito do armazenamento na porcentagem de sementes duras na colheita com 40% de vagens secas (Figuras 12A e B). Na colheita com 60% VS, observou-se diferença significativa entre as sementes armazenadas e não armazenadas apenas na avaliação ao 10º DAM, não havendo mais essa diferença na avaliação ao 17º DAM. Já para nas colheitas de 80 e 100% VS, houve efeito significativo do armazenamento em ambas as avaliações, com menor porcentagem de sementes dormentes após o armazenamento. Diversas leguminosas apresentaram comportamento semelhante, como perda da dormência das sementes após o armazenamento (Bagoury e Niyasi, 1973; Ferreira et al., 1992; Santarém e Aquila, 1995).

O tegumento das sementes de crotalária possui exotesta formada por macroesclereídes (Pascualides e Planchuelo, 2007), cujas células têm paredes espessas fortemente unidas entre si, o que confere dureza às sementes. Isso favorece a conservação da viabilidade das sementes por maior período (Marcos Filho, 2005). Cavanagh (1983) também relatou esse comportamento em sementes de *Acacia* sp. Entretanto, ao longo do armazenamento, é comum observar a redução da dormência, devido à ocorrência de

rupturas no tegumento. Dentre os fatores que levam a esse fenômeno encontra-se a redução da umidade durante o armazenamento (Souza et al., 2012; Pinto, 2013).

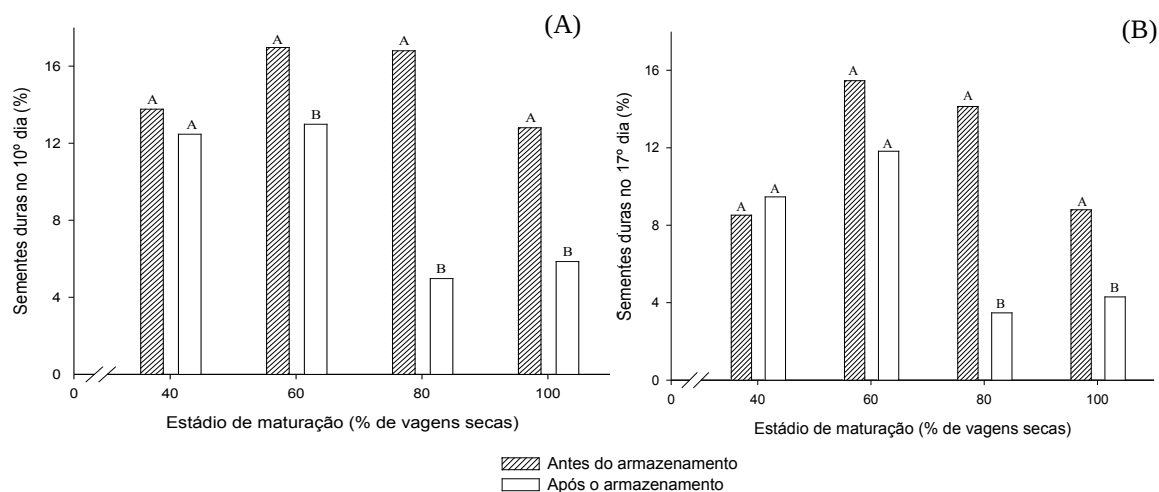


Figura 12. Sementes duras (%) de *Crotalaria juncea* ao 10º (A) e ao 17º dia (B) após montagem do teste de germinação, em função do estágio de maturação e antes e após o armazenamento. Dentro de cada estágio de maturação, médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($p \geq 0,05$).

Quanto à germinação, ao contrário do que foi observado nos resultados de sementes duras, não houve interação significativa entre o estágio de maturação e o armazenamento das sementes, tanto para os resultados obtidos ao 10º (G10) e ao 17º (G17) dias após a montagem do teste de germinação, quanto para aqueles obtidos após a escarificação (GAE) (Tabela 2). Isso significa que a porcentagem de germinação das sementes, colhidas em diferentes estádios de maturação, não é afetada de maneira diferenciada pelo armazenamento.

Os dados referentes às avaliações de G10 e G17, antes e após o armazenamento, apresentaram comportamento linear e crescente ao longo dos estádios de maturação (Figuras 13A e B). As menores médias foram observadas na colheita com 40% VS, sendo de 42,7% e 50,3% (dados observados), respectivamente para G10 e G17, antes do armazenamento e 50,0% e 53,0% (dados observados), respectivamente para G10 e G17, após o armazenamento. As maiores médias foram observadas na colheita com 100% VS, sendo de 71,0% e 81,0% (dados observados), respectivamente para G10 e G17, antes do armazenamento e 85,8% e 88,3% (dados observados), respectivamente para G10 e G17, após o armazenamento.

Tabela 2 - Resumo da análise de variância dos dados de germinação no 10° (G10) e no 17° (G17) dias após a montagem do teste e germinação após escarificação (GAE) em sementes de *Crotalaria juncea*, colhidas em diferentes estádios de maturação, antes e após o armazenamento.

Fontes de variação	GL	Quadrado médio		
		G10	G17	GAE
Estádio de maturação (EM)	3	1188,4**	1278,33**	1224,07**
Armazenamento (A)	1	1007,5**	284,40**	3,12 ^{ns}
EM x A	3	30,19 ^{ns}	17,82 ^{ns}	7,89 ^{ns}
Resíduo	16	18,07	19,40	18,41
CV (%)		6,68	6,42	5,54

^{ns}, não significativo; **, significativo em nível de 1% pelo teste F

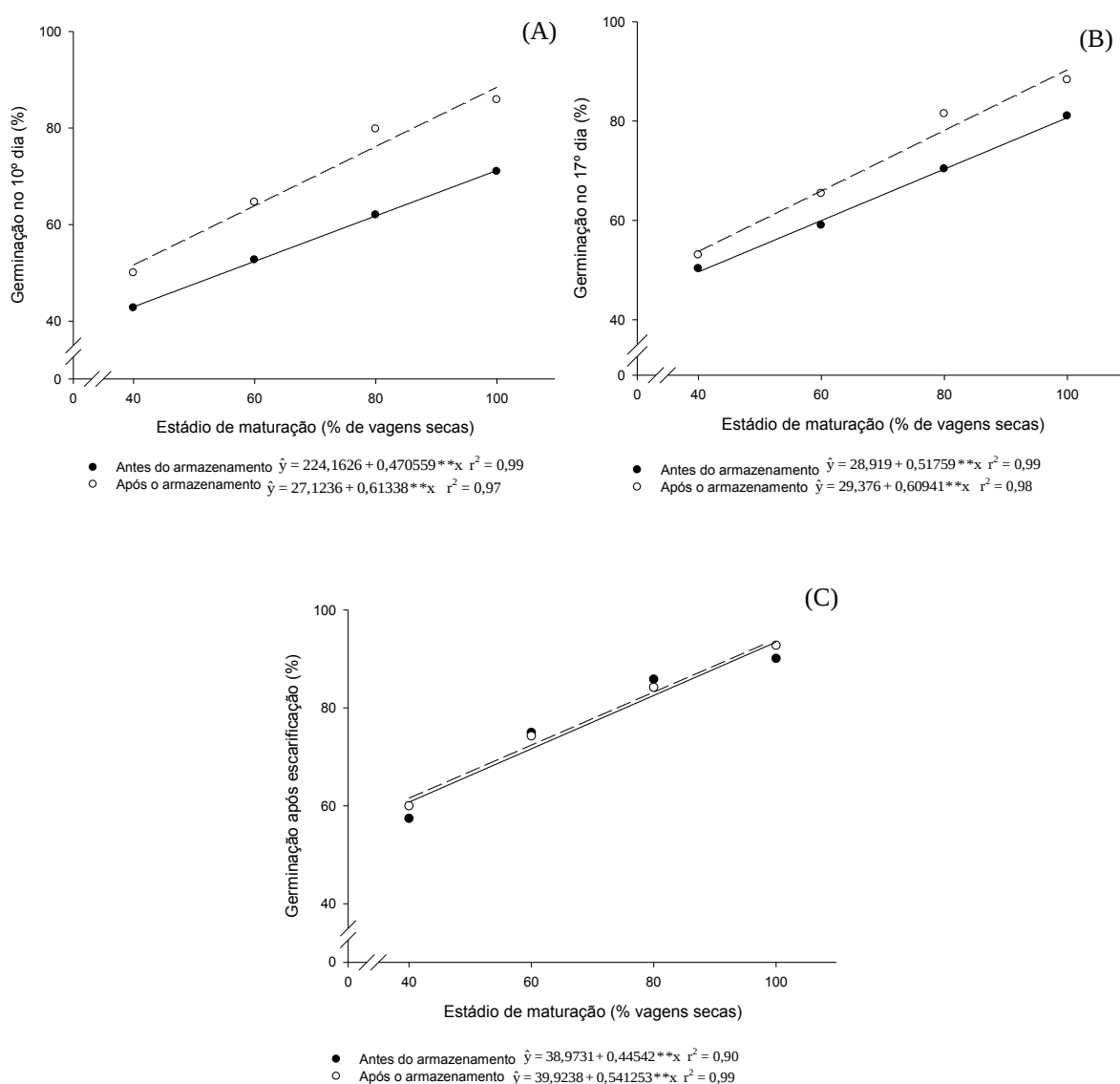


Figura 13. Germinação (%) de sementes de *Crotalaria juncea* ao 10° (A) e ao 17° dia (B) após montagem do teste de germinação e após a escarificação (C), em função do estágio de maturação e antes e após o armazenamento.

**significativo em nível de 1% pelo teste “t”.

Os dados referentes às avaliações de GAE, antes e após o armazenamento, também apresentaram comportamento linear e crescente ao longo dos estádios de maturação (Figura 13C). As menores médias também foram observadas na colheita com 40% VS, sendo 57,5% e 60,0% (dados observados), respectivamente, para antes e após o armazenamento. As maiores médias, observadas na colheita com 100% VS, foram 90,0% e 92,8% (dados observados), respectivamente, para antes e após o armazenamento.

O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), por meio da Instrução Normativa nº 30, de 21 de maio de 2008, estabelece os padrões para a produção e a comercialização de sementes de espécies de leguminosas forrageiras, dentre elas, a *C. juncea* (Brasil, 2008). Para a comercialização, as sementes dessa cultura, independentemente da categoria, devem apresentar, no mínimo, 60% de germinação.

Uma vez que as Regras para Análise de Sementes (Brasil, 2009) permitem a escarificação caso haja sementes dormentes, aqui, será considerada apenas o resultado das sementes escarificadas. As sementes provenientes da primeira colheita (40% VS) apresentaram germinação média de 58,8% (dado observado). Dessa forma, não poderiam ser comercializadas. Como a colheita e o beneficiamento dessas sementes foram realizadas manualmente talvez, na prática, onde esses procedimentos são realizados mecanicamente e, ainda, utiliza-se implementação de soja (observação pessoal), a germinação deve ser ainda menor, pela maior incidência de danos mecânicos.

Já as sementes do segundo período de colheita poderiam ser comercializadas, pois apresentaram 74,5% de germinação (dado observado). Com isso, vê-se a possibilidade de elevar a porcentagem mínima de germinação para a comercialização pelo MAPA, disponibilizando, no mercado, sementes dotadas de melhor qualidade fisiológica.

Quanto aos resultados dos testes de vigor (Figura 14), da mesma forma, verificou-se comportamento linear e crescente, independentemente do armazenamento, com as maiores médias observadas na última colheita.

Na literatura, observa-se uma controvérsia quanto ao momento em que ocorre a máxima germinação em relação ao máximo acúmulo de matéria seca em *C. juncea*. Segundo Mozambani et al. (1993), o máximo acúmulo de matéria seca ocorre após a máxima germinação e, segundo Lopes et al. (2005), o máximo acúmulo de matéria seca ocorre ligeiramente antes da máxima germinação. Neste trabalho, como já discutido anteriormente, o máximo acúmulo de matéria seca foi estimada na colheita com 86,1% VS, sendo, portanto, antes da máxima germinação, confirmando a informação de Lopes et al. (2005).

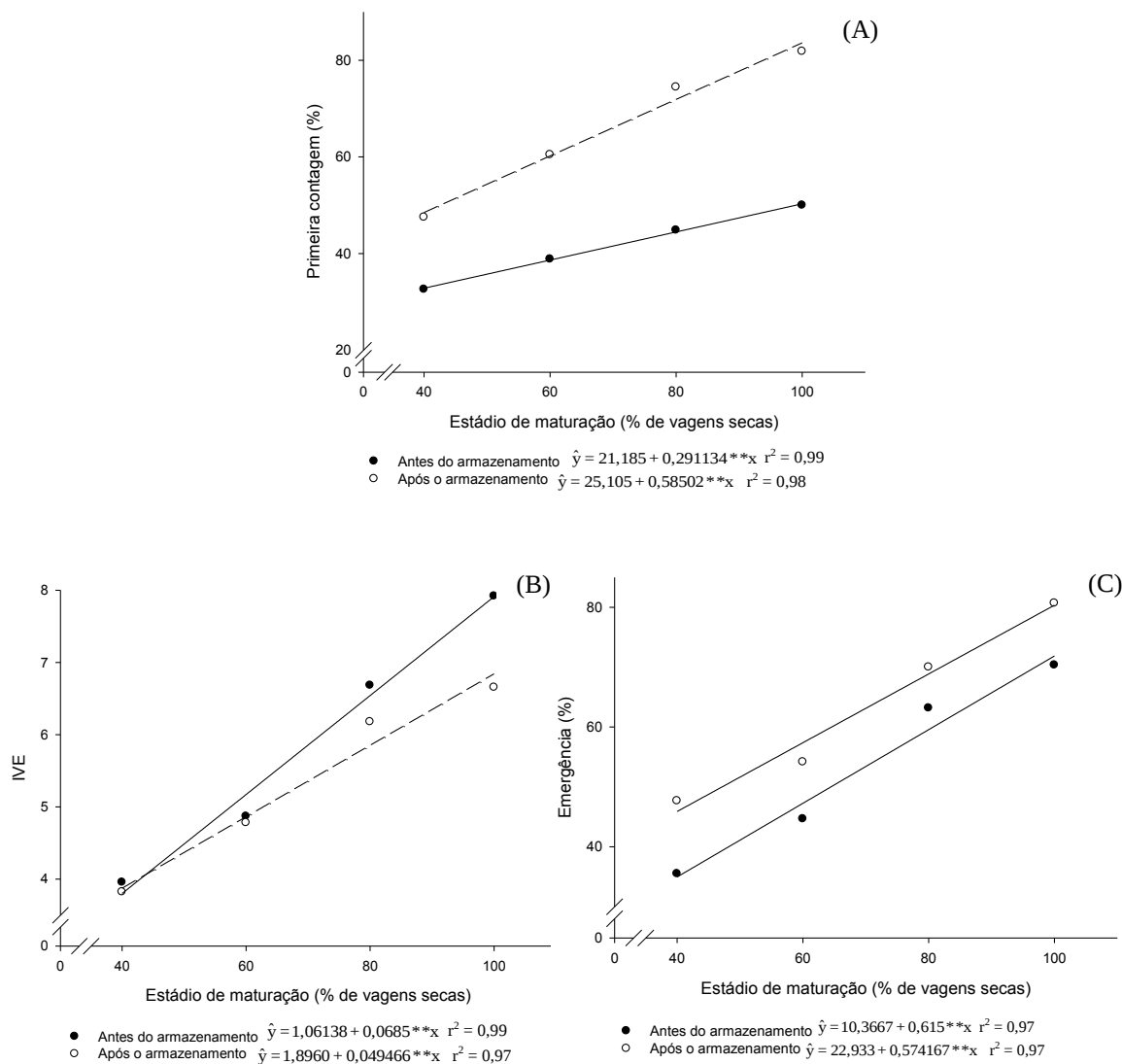


Figura 14. Primeira contagem do teste de germinação (%) (A), índice de velocidade de emergência (IVE) (B) e emergência de plântulas (%) (C) de *Crotalaria juncea* em função do estágio de maturação e antes e após o armazenamento.

**significativo em nível de 1% pelo teste “t”.

Conforme Bewley et al. (2013), a produção de sementes está associada ao acúmulo de matéria seca e ao rendimento, sendo focada a atenção na maturidade fisiológica (ou de massa) que, como já mencionado, é o ponto do desenvolvimento quando o acúmulo de matéria seca é máximo. Também foi postulado que nesse ponto encontra-se a máxima qualidade das sementes em relação à germinação e ao vigor e que, desse ponto em diante, as sementes passam a perder qualidade. Os estádios finais de maturação e a secagem têm sido considerados como processos relevantes para o desenvolvimento da qualidade das sementes. No entanto, ainda segundo Bewley et al. (2013), atualmente, sabe-se que o vigor e a longevidade das sementes continuam a aumentar após a maturidade fisiológica e que as últimas fases da maturação da semente são importantes para maximizar a qualidade das sementes.

Em soja, Zanakis et al. (1994) verificaram que vários componentes da qualidade das sementes, incluindo tolerância à dessecação, vigor e longevidade, desenvolveram-se após a maturidade fisiológica e antes da colheita, um período em que a umidade das sementes ainda está em declínio.

Em feijão, Neubern e Carvalho (1976) verificaram acréscimos na porcentagem de germinação após o máximo acúmulo de matéria seca e sugeriram que ocorre alguns ajustes metabólicos após a paralisação do fluxo de reserva para a semente. Os ajustes finais da organização do sistema de membranas, a síntese de certas enzimas e ajustes na estrutura e no metabolismo de desenvolvimento das sementes ortodoxas ocorre na Fase IV do processo de maturação (Marcos Filho, 2005). Isso também pode explicar os maiores valores de germinação das sementes colhidas na época de 100% VS, uma vez que permaneceram no campo após a maturidade fisiológica (Figura 6), não sendo submetidas à perda de água de maneira tão drástica como a ocorrida com as sementes provenientes da colheita com 40% VS.

A dessecação prematura afeta a síntese de proteínas, bem como a de enzimas essenciais ao desenvolvimento e à germinação. Dessa forma, a remoção das sementes da planta e sua secagem rápida podem determinar a perda completa da viabilidade, dependendo do estágio de desenvolvimento em que for efetuada e da espécie considerada. Os tecidos vegetais podem estar sujeitos à secagem em momentos imprevisíveis, durante os quais os mecanismos de tolerância devem estar suficientemente ativados para responder de maneira eficiente aos estresses (Bewley et al., 2013).

O sistema de membranas celulares da semente permanece desorganizado durante a maior parte do período de transferência de matéria da planta para as sementes (Abdul-Baki e Baker, 1972). Assim, em uma colheita mais precoce, como é o caso da colheita com 40% VS, onde a transferência de matéria seca e o processo de organização das membranas foram interrompidos abruptamente, poderá ser encontrada maior taxa de sementes mortas, resultando em queda na porcentagem de germinação. Quando há redução acentuada do teor de água, as estruturas de ácidos nucleicos, proteínas e lipídios polares podem ser alteradas devido ao enfraquecimento das interações hidrofílicas e hidrofóbicas (Justo et al., 2007).

Segundo Corbineau et al. (2000), as leguminosas só toleram a dessecação rápida na fase final do processo de acúmulo de matéria seca que, no caso da crotalária, ocorre entre as colheitas de 80 e 100% VS.

Na avaliação ao 10º dia após montagem do teste de germinação (G10), verificou-se que o armazenamento não afetou a germinação das sementes da primeira colheita

(Figura 15A). Nos demais estádios de maturação, o armazenamento favoreceu a germinação. No entanto, na avaliação ao 17º dia (G17), não mais se verificou o efeito do armazenamento na germinação, exceto para a colheita de 80% VS (Figura 15B). A manutenção da viabilidade nas sementes mesmo após o armazenamento pode ser devido à composição anatômica do tegumento.

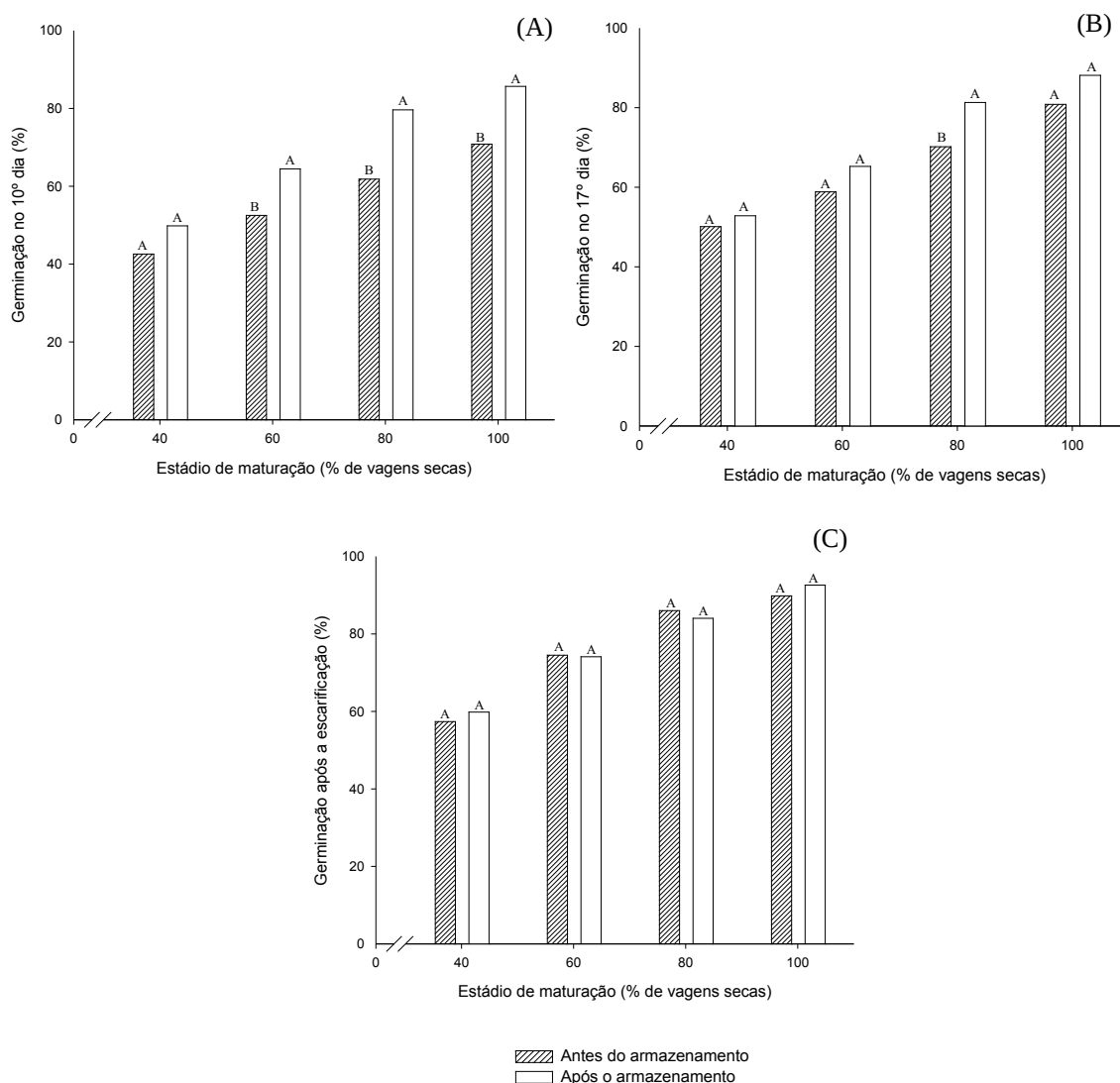


Figura 15. Germinação (%) de sementes de *Crotalaria juncea* ao 10º (A) e ao 17º dia (B) após montagem do teste de germinação e após a escarificação (C), colhidas em diferentes estádios de maturação, antes e após o armazenamento.

Dentro de cada estádio de maturação, médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($p \geq 0,05$).

A camada de macroesclereídes do tegumento, cujas células têm paredes espessas e fortemente unidas entre si, favorece a conservação da viabilidade das sementes. Isso ocorre porque os processos metabólicos como a respiração e a deterioração são contidos, principalmente pelo teor de água permanecer baixo e constante (Brancalion et al., 2010). Isso também foi relatado por Cavanagh (1983) em semente de *Acacia* sp. e em certas linhagens não melhoradas de soja (Mertz et al., 2009). A maior longevidade em

decorrência da dormência é vantajosa do ponto de vista biológico, uma vez que as sementes são distribuídas no tempo e no espaço, formando um banco de sementes persistente no solo (Egley, 1979; Baskin e Baskin, 2001).

A manutenção da viabilidade das sementes e o efeito da quebra da dormência durante o armazenamento ficou ainda mais evidente nos resultados obtidos com as sementes escarificadas (Figura 15C). Em cada estágio de maturação, não foi verificado efeito significativo do armazenamento nas sementes submetidas à escarificação.

Quanto ao vigor, analisando os resultados da primeira contagem do teste de germinação, em todas as colheitas verificaram-se maiores médias após o armazenamento (Figura 16). A maior dormência das sementes antes do armazenamento, bem como a redução da mesma ao longo do teste de germinação, devido à ação da água do substrato e da alternância de temperatura (20 e 30 °C), exerceram influência nesses resultados, e não o vigor em si. Isso indica que o teste de primeira contagem deve ser utilizado com cautela para a avaliação do vigor das sementes de *Crotalaria juncea*. Esse mesmo problema foi relatado por Nakagawa et al. (2007b) em sementes de mucuna-preta, também em face da presença de sementes duras.

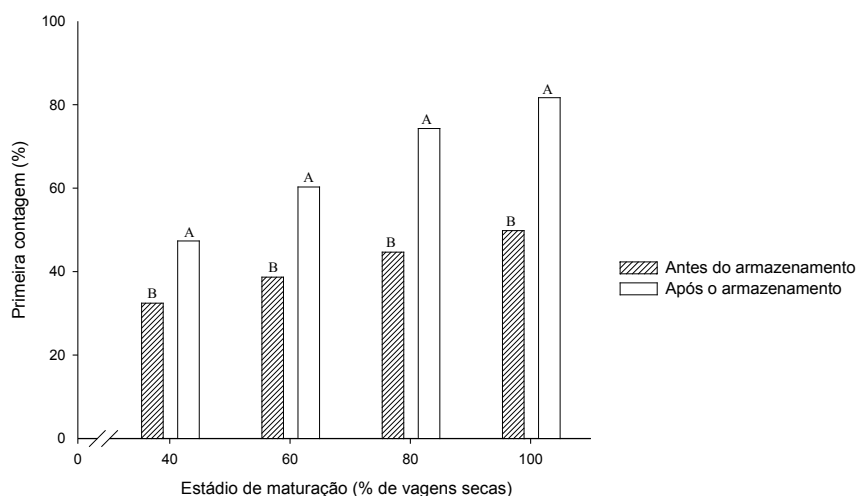


Figura 16. Primeira contagem do teste de germinação (%) de sementes de *Crotalaria juncea* colhidas em diferentes estádios de maturação, antes e após o armazenamento.

Dentro de cada estágio de maturação, médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($p \geq 0,05$).

Como já relatado anteriormente, as médias obtidas antes e após o armazenamento, com os testes de IVE e de emergência de plântulas, não serão comparadas entre si devido às diferenças na metodologia (itens 3.4 e-f).

4.2. Caracterização anatômica e histoquímica

As principais estruturas das sementes de *C. juncea* foram ilustradas na Figura 17. A semente é constituída por tegumento, endosperma e embrião. Trata-se, portanto, de uma semente albuminosa. A morfologia de *C. juncea* segue o padrão de distribuição anatômica descrito para a maioria das leguminosas, especialmente para aquelas pertencentes à subfamília Faboideae (Corner, 1951).

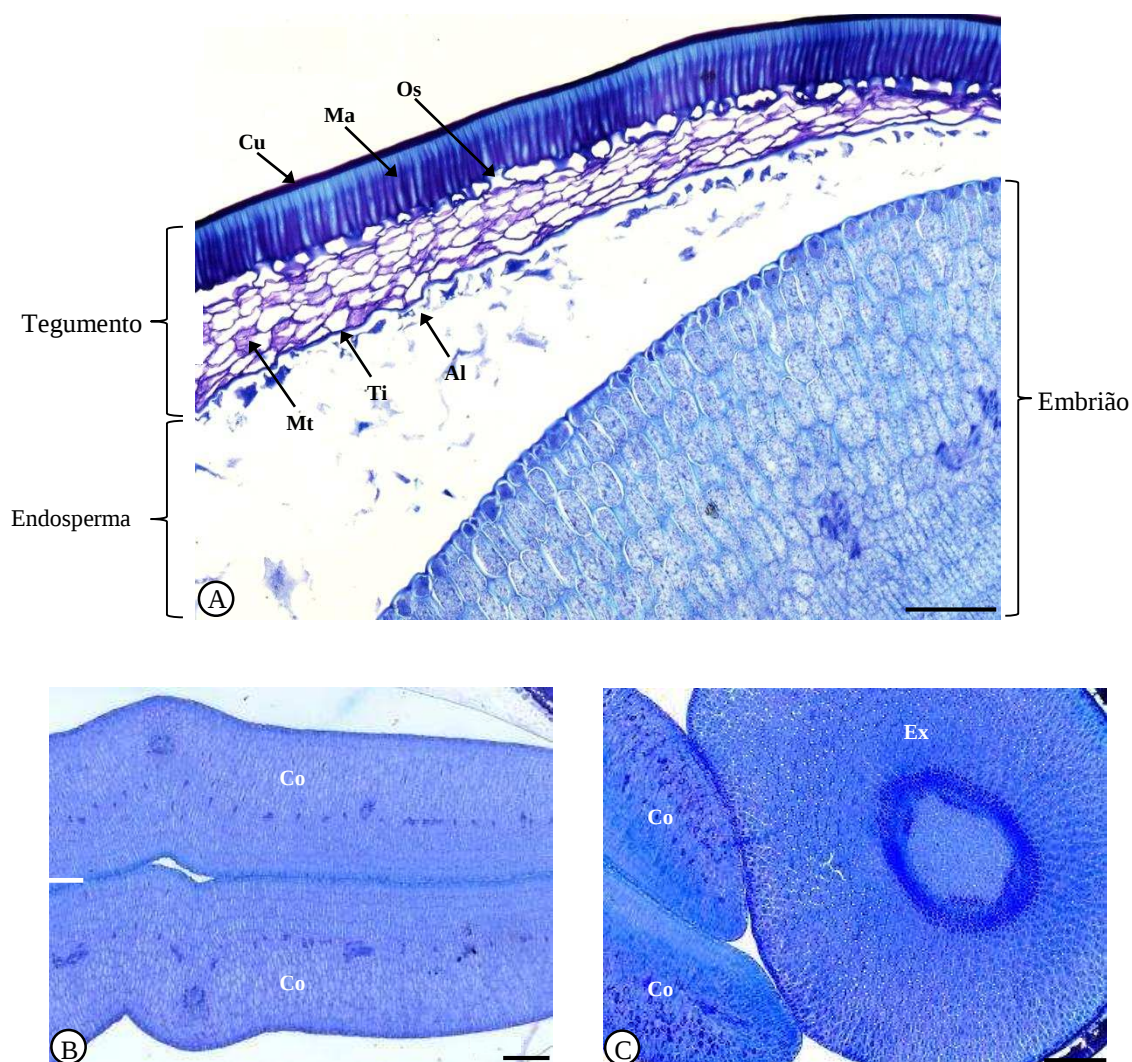


Figura 17. Principais estruturas das sementes de *Crotalaria juncea*. Seções transversais, corados com Azul de Toluidina. Al: camada de aleurona; Co: cotilédone; Cu: cutícula; Ti: células remanescentes do tegumento interno e do nucelo; Ex: eixo hipocótilo-radícula; Ma: macroesclereídes; Mt: mesotesta; Os: osteoesclereídes. Barra A: 100 µm. Barras B e C: 200 µm.

Segundo Polhill et al. (1981), as espécies pertencentes à subfamília Faboideae, como a crotalária, são consideradas mais derivadas do que as espécies das subfamílias Caesalpinioideae e Mimosoideae. Dentre os caracteres derivados, a ocorrência de

cotilédones carnosos pode ser destacada, já que cotilédones foliáceos são considerados como estruturas mais primitivas.

Sobre a camada de macroesclereídes do tegumento, há uma fina camada que apresentou reação negativa com o vermelho neutro, mas positiva com o PAS e com o vermelho de rutênio, indicando presença de polissacarídeos e de substâncias pécticas, respectivamente. Miller (1967) também notou a presença de revestimento de natureza péctica e hemicelulósica, em sementes de *Crotalaria* sp.. Como não foi detectada diferença visual entre os diferentes tratamentos, essa camada não foi objeto de estudo.

O estudo das células que compõem o tegumento torna-se importante porque é por meio desse tecido que a água atinge o embrião das sementes de grande parte das leguminosas (Chachalis e Smith, 2000). Sementes de leguminosas são tipicamente testais, produzidas por óvulos bitegumentados, em que, com frequência, ocorre a redução do tegumento interno (tégmen) (Eames e MacDaniels, 1953; Corner, 1951, 1976). Beltrati e Poli (2006) generalizam que, quando se trata de sementes unitegumentadas, existe apenas a testa.

Em *C. juncea*, a exotesta é constituída por uma camada de macroesclereídes, também denominada de células de Malpighi, que são células com paredes espessas, fortemente unidas entre si, perpendicularmente dispostas em relação à superfície. A espessura da exotesta foi semelhante ao longo da semente.

Na maioria das leguminosas, o tegumento resistente possivelmente se restringe à região cônica das macroesclereídes (Melo-Pinna et al., 1999). A camada paliádica apresenta dureza característica, devido à contração das paredes das células, durante o amadurecimento da semente (Corner, 1951). Diversos trabalhos desenvolvidos com sementes de leguminosas comprovaram que a impermeabilidade das sementes é devido à presença de macroesclereídes. Como exemplo, têm-se as seguintes espécies: *Acacia* sp. (Cavanagh, 1983), *Caesalpinia ferrea* Mart. ex Tul., *C. pyramidalis* Tul., *Senna martiana* (Benth.) Irwin e Barneby, *S. spectabilis* (D.C.) Irwin e Barneby (Melo-Pinna et al., 1999), *Dipteryx odorata* (Aubl.) Willd. (Bessa et al., 2001), *Senna occidentalis* (L.) Link. (Bitencourt et al., 2008), *Acacia bonariensis* Grill e *Mimosa bimucronata* (D.C.) O.K. (Ferreira et al., 2011).

Internamente às macroesclereídes, encontra-se a hipoderme, constituída por uma camada de osteoesclereídes, que são células esclereficadas, colunares e acinturadas em forma de ampulheta. Apresenta espaços aeríferos amplos entre si, característica muito encontrada em leguminosas (Corner, 1951; Oliveira e Paiva, 2005). As osteoesclereídes se desenvolvem a partir da hipoderme do integumento externo e, somadas à camada

paliádica, constitui característica marcante no que tange à identificação de sementes de leguminosas (Cutter, 1986).

Abaixo dos osteoesclereídes encontra-se a mesotesta, formada por células parenquimatosas. Essa porção do tegumento possui espessura irregular ao longo da semente, sendo colapsada em alguns pontos e alongada em outros, dependendo do padrão de desenvolvimento do embrião.

Abaixo da mesotesta, encontram-se resíduos de células, colapsadas, remanescentes do tegumento interno e do nucelo. Alguns autores acompanharam a ontogênese de espécies com tegumentos anatomicamente semelhantes à *C. juncea*, como *Tipuana tipu* (Benth) (Martins e Oliveira, 2001), *Centrolobium tomentosum* Guill (Oliveira et al., 2007), *Pterocarpus violaceus* Vogel (Nakamura e Oliveira, 2005), *Chamaecrista latistipula* Benth., *Chamaecrista flexuosa* L. e *Chamaecrista nictitans* L. (De-Paula e Oliveira, 2012). Esses estudos revelaram que o tegumento interno e o nucelo são comprimidos e absorvidos durante o desenvolvimento da semente, como supõe-se que ocorreu nas sementes de crotalária. Nessas sementes, caracteristicamente, o tégmen e o nucelo têm pouca ou nenhuma especialização mecânica (Beltrati e Paoli, 2006). Eames e MacDaniels (1953) e Boesewinkel e Bouman (1984) generalizaram que ocorre a completa absorção desses tecidos nas sementes de leguminosas, ao longo da maturação. Há, no entanto, algumas raras exceções, como *Calliandra haematocephala* Hassk. (Dnyansagar, 1958) e *Pterodon emarginatus* J. Vogel (Oliveira e Paiva, 2005).

À medida que se avança o estágio de maturação da semente, verifica-se progressiva lignificação das macroesclereídes (Figura 18). Esse comportamento pode ser verificado pela reação do azul de toluidina com a lignina, que cora de azul claro. Verificou-se, também, que o processo de lignificação é heterogêneo. A deposição de lignina é diferente entre as células de uma mesma região e entre diferentes regiões da semente.

A coloração mais escura da exotesta das sementes maduras se deve à oxidação desse composto fenólico, comumente observado em leguminosas (Boesewinkel e Bouman, 1984; Legesse e Powell, 1996). Além disso, as substâncias fenólicas conferem dureza e impermeabilidade aos tegumentos, agindo no combate à herbívora e ao ataque de patógenos (Suárez e Engleman, 1980; Boesewinkel e Bouman, 1984). Sementes de soja com maior teor de lignina no tegumento possuem qualidade fisiológica superior àquelas com menor teor de lignina. Esse comportamento ocorre devido à proteção mecânica conferida por esse composto e, conseqüentemente, menor deterioração das

sementes (Menezes et al., 2009). Os resultados do presente trabalho corroboraram os obtidos por Menezes et al. (2009).

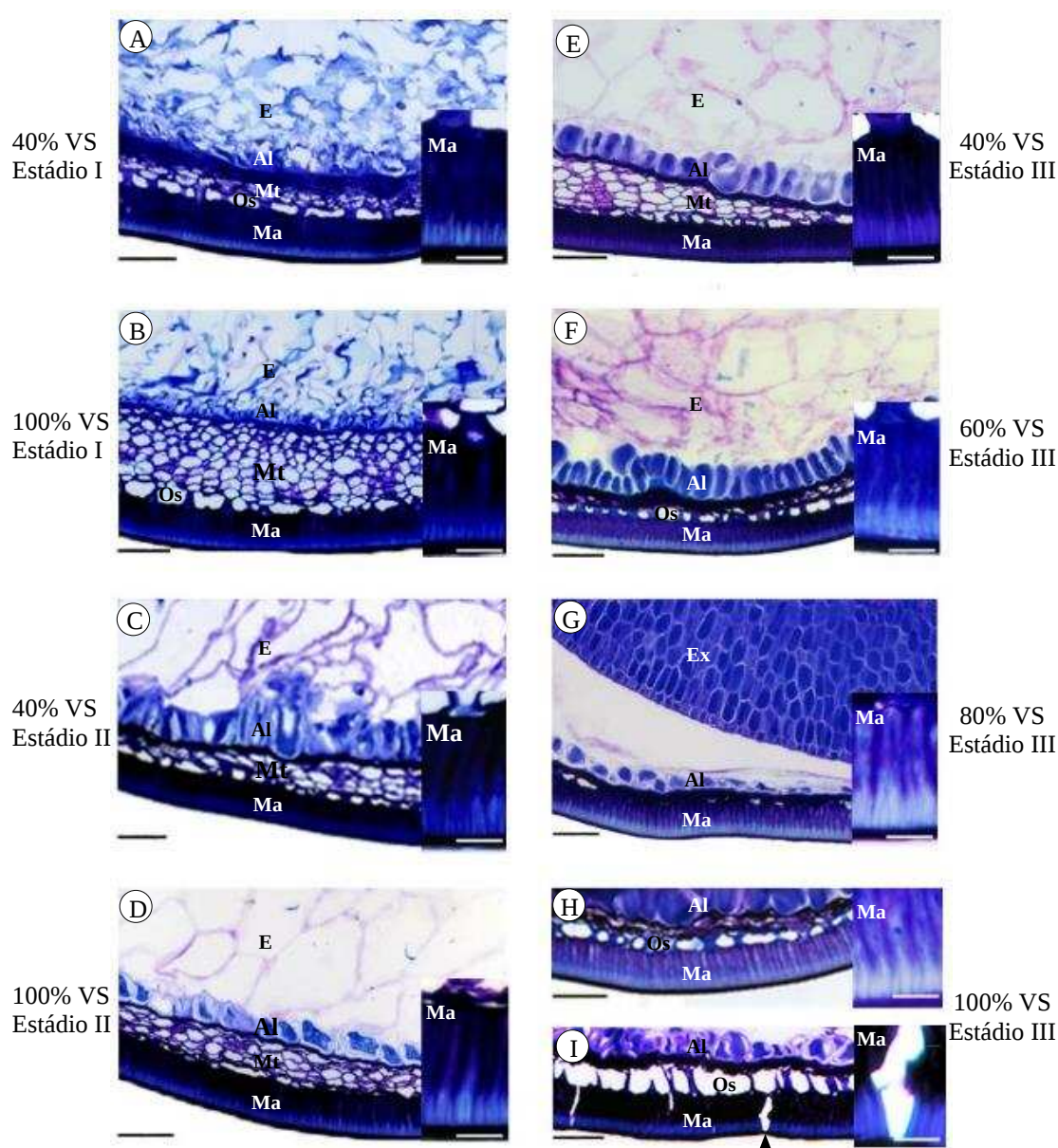


Figura 18. Cortes transversais do tegumento das sementes de *Crotalaria juncea* colhidas em diferentes estádios de maturação, corados com azul de toluidina. A. Colheita com 40% de vagens secas (VS), estágio de maturação I. B. Colheita com 100% VS, estágio de maturação I. C. Colheita com 40% VS, estágio de maturação II. D. Colheita com 100% VS, estágio de maturação II. E. Colheita com 40% VS, estágio de maturação III. F. Colheita com 60% VS, estágio de maturação III. G. Colheita com 80% VS, estágio de maturação III. H. Colheita com 100% VS, estágio de maturação III. I. Colheita com 100% VS, estágio de maturação III, evidenciando as rupturas no tegumento (ponta de seta). Barras pretas: 100 μ m. Barras brancas: 25 μ m. Al: camada de aleurona; E: endosperma; Ex: eixo hipocótilo-radícula; Ma: macroesclereídes; Mt: mesotesta; Os: osteoesclereídes.

Mesmo em sementes já maduras (estádio III), isto é, naquelas com coloração predominantemente marrom escura, verificou-se que o processo de lignificação continua à medida que as sementes permanecem no campo (Figuras 18 E-H). Isso justifica a

crescente porcentagem de sementes dormentes verificada até na colheita com 80% VS (Figuras 11A e B, antes do armazenamento).

Entretanto, nas sementes maduras colhidas quando as plantas apresentavam 100% VS, e apenas nessas sementes, foi verificada a ocorrência de fissuras nas macroesclereídes (Figura 18I). A lignificação heterogênea e o consequente potencial diferente de hidratação das células desse tecido podem contribuir para a formação dessas fissuras. Essas fissuras justificam a redução da dormência nas sementes, observadas nesse ponto de colheita (Figuras 11A e B, antes do armazenamento).

Em Fabaceae, a principal resistência à entrada de água é conferida pela testa, pois, com a ruptura desta camada, ocorre rápida absorção de água, iniciando-se a germinação (Montardo et al., 2000). As expansões e contrações, em decorrência das variações da temperatura e da umidade relativa do ar, podem causar rupturas no tegumento das sementes, por tratar-se de um tecido pouco elástico (Marcos Filho, 2005).

As fissuras ocorrem quando as células da superfície da semente expandem-se, exercendo uma compressão. Ou ainda, quando as células da região interna contraem-se e desenvolvem uma tensão sobre a porção interna, a partir do gradiente de pressão decrescente na semente após o período de rápida secagem. O efeito da temperatura sobre a ocorrência de fissuras é indireto, pois influencia na mudança da umidade relativa do ar e pressão de vapor e, consequentemente, no teor de água das sementes (Kunze, 1979). Esse fenômeno pode ter contribuído para a formação das fissuras observadas nas sementes da última colheita, uma vez que permaneceram expostas às condições adversas do campo por um período maior.

Em sementes de garapa (*Apuleia leiocarpa* J. F. Macbr.), Castro (2010) verificou a ocorrência natural de fissuras no tegumento de semente não dormentes e atribuíram isso à ocorrência da grande amplitude térmica durante o desenvolvimento. Elias et al. (2005) verificaram que as variações na temperatura e na umidade relativa do ar promovem o desenvolvimento de fissuras nos grãos de arroz, sendo o gradiente de umidade mais eficiente no desenvolvimento de fissuras do que o gradiente térmico. Algumas sementes de *Senna multijuga* (Rich.) H. S. Irwin e Barneby, recém colhidas, já apresentam rachaduras na região das macroesclereídes (Pinto, 2013). Em sementes dormentes, essa autora também verificou que a alternância de temperaturas de 20 e 40 °C ou o armazenamento em sílica (ambiente seco) por cinco semanas também favorece a ocorrência dessas rachaduras. Segundo Yap e Wong (1983), a ação de altas temperaturas exerce um papel ecológico importante na superação da dormência das sementes de algumas espécies florestais, devido às fissuras no tegumento das mesmas, facilitando a

absorção de água e gases e, conseqüentemente, desencadeando a germinação e a regeneração natural dessas espécies.

Com a aplicação dos testes histoquímicos (PAS, reagente de Lugol, vermelho de rutênio, vermelho neutro e XP) em cada grupo de maturação (estádio I, II e III), não verificaram-se diferenças significativas nos resultados entre as épocas de colheita (40, 60, 80 e 100% VS). Dessa forma, para maior padronização, utilizaram-se apenas imagens das sementes colhidas no momento em que as plantas atingiram 100% de vagens secas.

Em Fabaceae, o endosperma varia de abundante a ausente (Corner, 1951, 1976; Gunn, 1981). No caso da crotalária, o tegumento da semente é separado do embrião por endosperma. Esse é caracterizado pelas maiores células encontradas na semente, que são de formato irregular, e apresenta uma camada de aleurona na porção mais externa, isto é, mais próxima do tegumento (Figuras 19A-C). As células de aleurona são pequenas, com paredes espessas e contêm grãos de aleurona (Figura 23F), enquanto o restante do endosperma é composto de células grandes com paredes não lignificadas (Figura 18).

Em leguminosas, as principais reservas normalmente encontradas nos cotilédones são amido, óleos e proteínas. Em espécies exalbuminosas é comum o amido constituir-se no principal composto de reserva, seguido de proteínas e, em menor proporção, de lipídios (Seno et al., 1996; Nakamura e Oliveira, 2005). Entretanto, sementes com cotilédones com alto teor de proteína e que apresentam endosperma persistente na maturidade, como é o caso da crotalária (Pandey e Srivastava, 1990), geralmente possuem um tipo de polissacarídeo neutro de reserva não encontrada nos cotilédones, denominada galactomanano (Reid, 1971).

Em sementes de *Ceratonia siliqua* L. (Fabaceae: Caesalpinioideae), as células endospermicas são vivas e o galactomanano pode ser visto como um espessamento da parede. Nesse caso, não há uma distinção clara entre o endosperma e a camada de aleurona, e as enzimas são, provavelmente, produzidas e liberadas dentro da parede celular pelas próprias células endospermicas (Seiler, 1977). Por outro lado, nas sementes de *Trigonella foenum-graecum* Fenugreek (Fabaceae: Faboideae) e *Cyamopsis tetragonolobus* (L) Taub. (Fabaceae: Caesalpinioideae), as células endospermicas não são vivas, sendo que, durante a maturação, o citoplasma é reduzido em função da deposição maciça do galactomanano nas paredes celulares (Reid, 1971; McClendon et al., 1976).

O resultado do teste com o PAS permitiu verificar a deposição de polissacarídeo no endosperma de sementes maduras de *C. juncea*. A descrição anatômica e histoquímica do endosperma de *T. foenum-graecum*, realizada por Reid (1971), é semelhante às características observadas nas sementes de crotalária, o que nos permite supor que as

sementes dessa espécie também armazenam galactomanano. Buckeridge e Dietrich (1996) utilizaram a técnica do PAS e também detectaram a presença de galactomanano em sementes de *Sesbania marginata*.

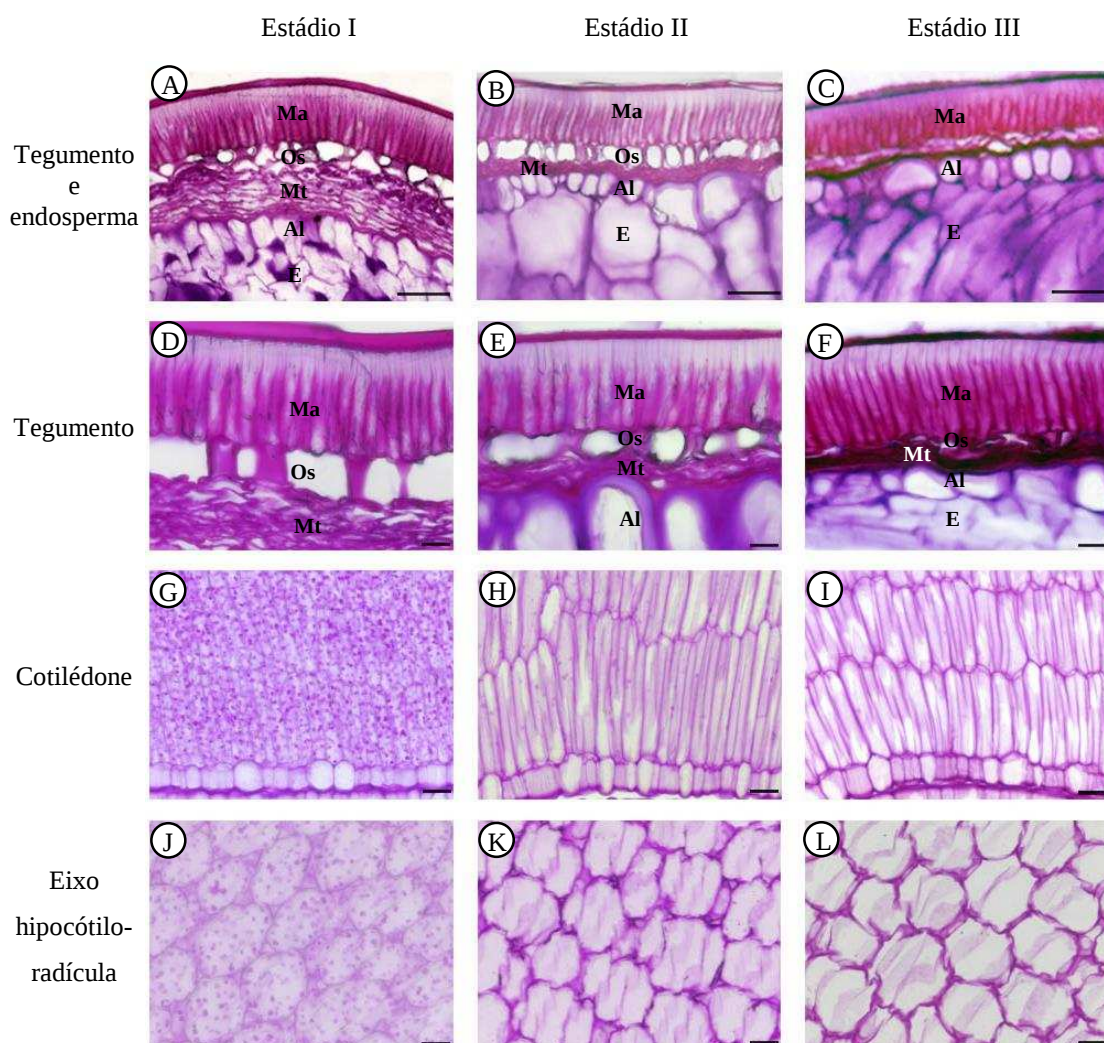


Figura 19. Cortes transversais do tegumento e endosperma (A-C), do tegumento (D-F) do cotilédone (G-I) e do eixo hipocótilo-radícula (J-L) de sementes de *Crotalaria juncea* colhidas quando as plantas apresentavam 100% de vagens secas, corados com PAS, evidenciando polissacarídeos totais. A, D, G e J: sementes em estágio de maturação I. B, E, H e K: sementes em estágio de maturação II. C, F, I e L: sementes em estágio de maturação III. Barras A-C: 100 μ m. Barras D-L: 20 μ m. Al: camada de aleurona E: endosperma; Ex: eixo hipocótilo-radícula; Ma: macroesclereídes; Mt: mesotesta; Os: osteoesclereídes.

Além do papel de reserva, o galactomanano influencia no fluxo de água, devido a sua maior solubilidade nos primeiros estádios da germinação. Esse polissacarídeo absorve, proporcionalmente, grande quantidade de água e a distribui ao redor do embrião. O endosperma embebido protege o embrião contra a perda de água, atuando como um tampão, durante períodos de seca pós-embebição (Reid e Bewley, 1979). Conforme Andrade et al. (2008), o endosperma da *Crotalaria lanceolata* E. Mey é mucilaginoso e é capaz de absorver água em grande quantidade. Outras leguminosas tropicais, como a *Dimorphandra mollis* Benth (Buckeridge et al., 1995a) e a *Sesbania marginata*

(Buckeridge e Dietrich, 1996), apresentam um comportamento similar. De toda água absorvida pela semente, o endosperma de *Sesbania marginata* e o de *T. foenum-graecum* detém, respectivamente, 57% (Buckeridge e Dietrich 1996) e 60% (Reid e Bewley, 1979). Isso ocorre devido às ramificações altamente hidrofílicas que levam à absorção de altas quantidades de água na estrutura que envolve o embrião (Reid, 1985).

Para Reid (1971), a deposição de galactomanano no endosperma em alguns gêneros da família Fabaceae, cuja maioria das espécies são exalbuminosas, é uma adaptação daquelas espécies nativas de regiões mais áridas. Tanto a espécie estudada por esse autor (*T. foenum-graecum*), quanto a *C. juncea*, naturalmente dispersam suas sementes no período mais seco do ano. Daí a vantagem de se manter como material de reserva um composto com tanta afinidade com a água como o galactomanano, mesmo após finalizada a maturação.

Verificou-se que a deposição de polissacarídeo é maior nas sementes mais maduras (Figura 19C) do que nas sementes mais imaturas (Figura 19A). Essa constatação ajuda a explicar a diferença na qualidade fisiológica das sementes nas diferentes colheitas, uma vez que, na última colheita, quase a totalidade das sementes já se encontravam no estágio de maturação III, ao passo que, na primeira colheita, boa parte das sementes ainda apresentava-se no estágio de maturação I (Figura 10B).

Nas sementes do estágio III houve maior deposição de polissacarídeos neutros nas macroesclereídes do que nas sementes em estágio I e II (Figuras 19D-F). Em contrapartida, nas sementes do estágio I, encontrou-se maior deposição de polissacarídeos neutros no citoplasma das células que compõe a mesotesta do que naquelas do estágio II e, nessas, maior teor do que aquelas do estágio III (Figuras 19D-F). Comportamento semelhante foi detectado nos cotilédones (Figuras 19G-I) e no eixo hipocótilo-radícula (Figuras 19J-L).

Com o resultado do teste com o reagente de Lugol, evidenciou-se a presença de amido em diferentes regiões da semente (Figura 20A-H).

A deposição de amido foi maior nas sementes em estágio de maturação I, sendo detectado, principalmente, na mesotesta (Figura 20A e C). Esse mesmo comportamento foi observado em *Senna occidentalis* (L.) Link (Fabaceae: Caesalpinioideae) (Bitencourt et al. 2008). Também foi encontrado em abundância no citoplasma das células dos cotilédones, exceto nos feixes vasculares (Figura 20E) e, relativamente em menor quantidade, no citoplasma das células do eixo hipocótilo-radícula (Figura 20G). Esse comportamento também foi evidenciado com o PAS (Figura 19 G e J).

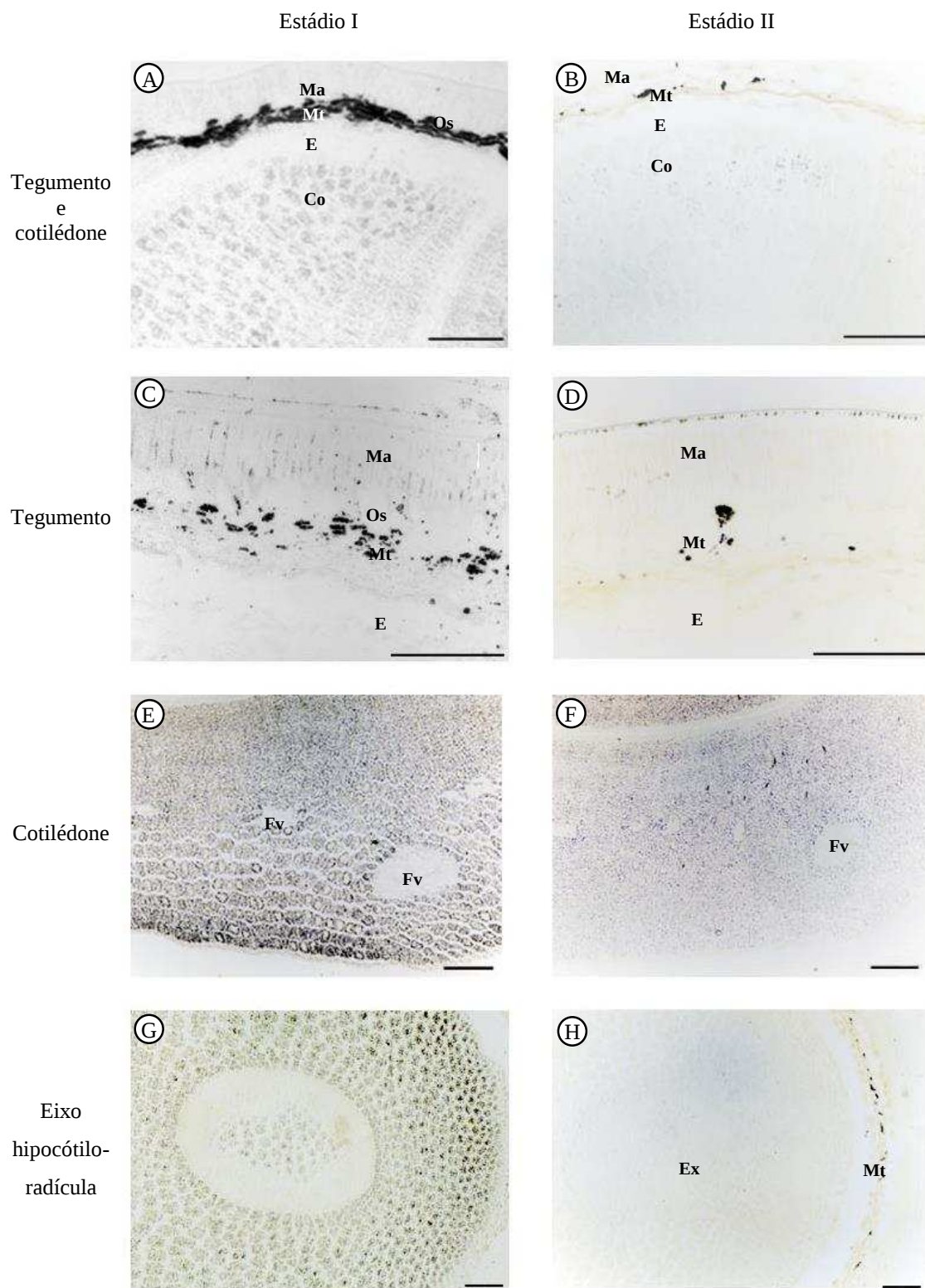


Figura 20. Cortes transversais do tegumento (A-D), do cotilédone (E-F) e do eixo hipocótilo-radícula (G-H) de sementes de *Crotalaria juncea* colhidas quando as plantas apresentavam 100% de vagens secas, corados com o reagente de Lugol, evidenciando amido. A, C, E e G: sementes em estágio de maturação I. B, D, F e H: sementes em estágio de maturação II. Barras: 100 μ m. Al: camada de aleurona E: endosperma; Ex: eixo hipocótilo-radícula; Fv: feixes vasculares; Ma: macroesclereídes; Mt: mesotesta; Os: osteoesclereídes.

Nos tecidos das sementes em estágio de maturação II, detectou-se menos amido (Figuras 20B, D, F e H). Já nas sementes em estágio III, o resultado do teste com o reagente de Lugol foi negativo, sendo, por isso, não ilustrado.

Assim, para as sementes de crotalária, o amido constitui-se em uma fonte de reserva transitória. Conforme Zeeman et al. (2010), o amido pode ser acumulado transitoriamente em algumas células, em estádios de desenvolvimento específicos. O amido presente nos estádios mais iniciais de maturação provavelmente foi convertido em outros compostos, como açúcares solúveis. O amido transitório é utilizado como fonte principal de carbono na divisão, expansão e diferenciação de células (Jordy, 2004). É também utilizado como fonte de carbono para a síntese de outros compostos de reserva como proteínas e lipídios, ou ainda como fonte de energia para o metabolismo celular (Andriotis et al., 2010).

Em sementes maduras de *Sesbania marginata* (Buckeridge e Dietrich, 1996), de *Trigonella foenum-graecum* (Reid, 1971) e de *Pterodon emarginatus* (Oliveira e Paiva, 2005), todas pertencentes à mesma subfamília da crotalária, também não foi encontrado amido em sementes maduras.

O resultado do teste com o vermelho de rutênio foi positivo para todos os tecidos da semente, com menor intensidade na porção de reserva do endosperma (Figura 21).

Entre as paredes primárias de células encontra-se a lamela média, que é formada basicamente por substâncias pécticas (Silveira e Amaral, 2000). As pectinas são polissacarídeos ramificados, altamente hidratados e heterogêneos, constituídos por ácido galacturônico. Têm papel fundamental no transporte de íons, além de determinar a porosidade da parede e regular a adesão célula-célula por meio da lamela média, participando, ainda, da defesa celular, entre outras funções (Carpita e McCann, 2000).

A exotesta das sementes em estágio de maturação I e II (Figuras 21A e B, respectivamente) apresenta maior teor de pectina do que a exotesta das sementes em estágio III (Figuras 21C). Como já discutido, a lignina é depositada no tegumento ao longo do desenvolvimento da semente (Figura 18), reduzindo, por conseguinte, o teor de pectinas. Essa diferença de deposição não foi notada no eixo hipocótilo-radícula.

Por outro lado, na camada de aleurona (Figuras 21D-F) e nos cotilédones (Figuras 21G-I), verificou-se maior deposição de pectinas em sementes no estágio de maturação mais avançado. A maior deposição de pectina nesse estágio nos cotilédones, órgão que ocupa o maior volume na semente, pode se traduzir em maior preparação para o processo de dessecação, como foi descrito em sementes de ervilha por McCartney et al. (2000). Esses autores constataram que existem alterações espaço-temporais na deposição das

pectinas e que essas modificações estariam relacionadas com as propriedades mecânicas dessas paredes, o que seria uma preparação para a dessecação, já que ocorrem ao final da fase de maturação.

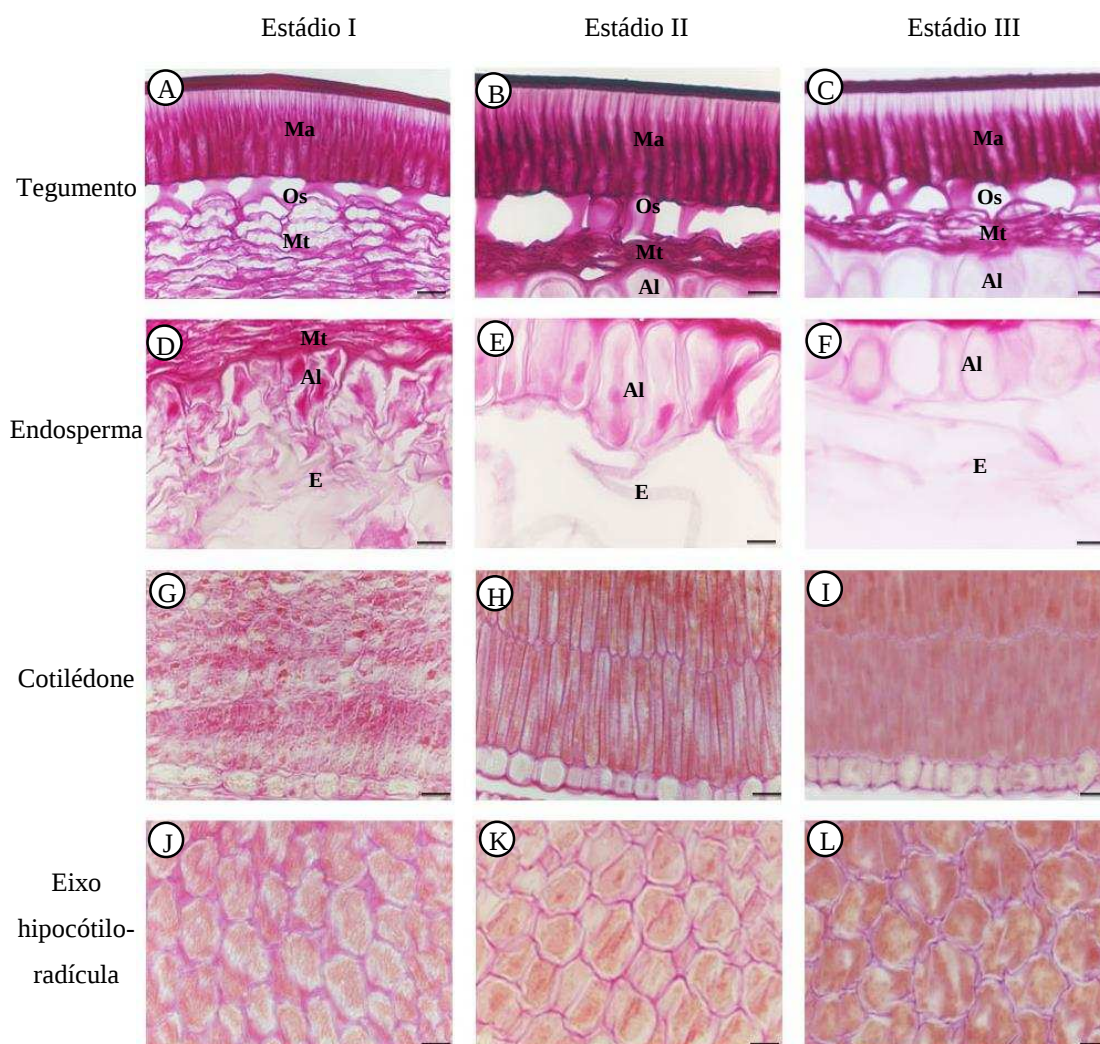


Figura 21. Cortes transversais do tegumento (A-C), do endosperma (D-F) do cotilédone (G-I) e do eixo hipocótilo-radícula (J-L) de sementes de *Crotalaria juncea* colhidas quando as plantas apresentavam 100% de vagens secas, corados com vermelho de rutênio, evidenciando pectinas. A, D, G e J: sementes em estágio de maturação I. B, E, H e K: sementes em estágio de maturação II. C, F, I e L: sementes em estágio de maturação III. Barras: 20 µm. Al: camada de aleurona; E: endosperma; Ma: macroesclereídes; Mt: mesotesta; Os: osteoesclereídes.

O teste com vermelho neutro apontou resultados positivos para lipídios apenas nas sementes em estágio de maturação III (Figuras 22A e B), sendo depositados junto à camada de aleurona. Em sementes de soja, o teor de lipídios aumenta à medida que as sementes passam pelo processo de maturação, verificando teores maiores em estágios de colheita mais tardios (Diniz, 2009; Sharma et al., 2011).

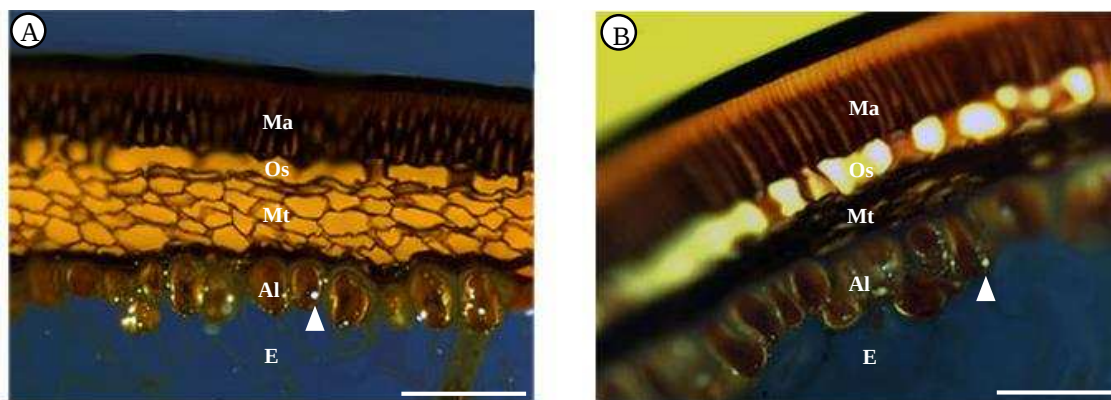


Figura 22. A e B: Cortes transversais da região da camada de aleurona de sementes de *Crotalaria juncea*, em estágio de maturação III, colhidas quando as plantas apresentavam 100% de vagens secas, corados com vermelho neutro e submetidos à luz ultravioleta, evidenciando lipídios. Barras: 100 µm. As ponta de seta indicam corpos lipídicos. Al: camada de aleurona; E: endosperma; Ma: macroesclereídes; Mt: mesotesta; Os: osteoesclereídes.

Em *Crotalaria unifoliata* Benth., Miller (1967) também relatou a presença de lipídios junto à camada de aleurona. Segundo Oliveira e Paiva (2005), em *Pterodon emarginatus*, há uma reserva de lipídios nas camadas de células periféricas do endosperma, que apresentam uma elevada densidade citoplasmática, aparentemente tratando-se de camada de aleurona. Os autores enfatizaram a necessidade de mais pesquisas para elucidar o papel desses lipídios. Conforme Pavithra et al. (2014), as proteínas podem se associar aos corpos lipídicos, prevenindo sua coalescência pela ação de enzimas hidrolíticas. Isso pode ajudar a explicar a presença dos lipídios junto à camada de aleurona, dada a importância dessas células na germinação.

Os lipídios de reserva são sintetizados em organelas presentes no citoplasma, sendo acumulados em corpos lipídicos onde há predominância de triacilglicerídeos, que fornecem energia para o estágio inicial de germinação e crescimento do embrião (Graham, 2008). Sua quebra é mais lenta do que a dos carboidratos e demanda maior gasto energético, uma vez que várias etapas metabólicas estão envolvidas. Sua disponibilização ocorre por meio do ciclo do glicoxilato, onde os lipídios insolúveis das sementes são convertidos a açúcares solúveis (sacarose), que são deslocados aos pontos onde há demanda de energia e clivada pelas enzimas sacarolíticas e disponibilizados (Bewley et al., 2013).

Conforme Pandey e Srivastava (1990), a semente de *C. juncea* possui apenas 3,4% de extrato etéreo. Miller (1967) encontrou 3,6%. Os autores, no entanto, não citaram o estágio de maturação em que se encontravam as sementes utilizadas na pesquisa.

O baixo teor de extrato etéreo nas sementes de crotalárias também pode explicar a manutenção da qualidade fisiológica das sementes após o armazenamento (Figura 14C). Isso porque sementes ricas em óleo são mais propensas à deterioração durante o

armazenamento, que é representada por uma série de alterações bioquímicas e metabólicas que acarretam modificações no potencial fisiológico das sementes, culminando com a sua morte. Destacam-se as alterações na atividade respiratória e enzimática, nas membranas celulares e cromossomos, nos processos de síntese e nos compostos de reserva (Abdul-Baki e Anderson, 1972).

Os lipídios caracterizam a fração constituinte mais suscetível à deterioração durante o armazenamento, devido à redução do seu conteúdo total e pela suscetibilidade a alterações estruturais. As ações de lipases, galactolipases e fosfolipases das próprias sementes e das produzidas pela microflora associada contribuem para o rompimento das ligações éster dos glicerídeos neutros, aumentando o teor de ácidos graxos livres (Pomeranz, 1992). Segundo Abdul-Baki e Anderson (1972), a acidificação é responsável pelo aumento de ácidos graxos, de fosfatos ácidos e de aminoácidos, produzidos pela ação das lipases, das fitases e das proteases, respectivamente. Entre os três grupos de compostos, o maior e o mais rápido aumento ocorrem nos ácidos graxos (Smith e Berjak, 1995).

A reação com o corante Xylidine Ponceau possibilitou visualizar que as proteínas totais, que representam importante composto de reserva das sementes de crotalária, foram depositadas principalmente no embrião, durante a formação das sementes (Figuras 23G-L). Miller (1967) e Pandey e Srivastava, (1990) também verificaram predominância de proteína na constituição das sementes de *C. juncea*, encontrando, respectivamente, 35,4 e 39,63% do total dos constituintes. De acordo com esses autores, dentro do gênero, a *C. juncea* é uma das mais proteicas. O teor médio de proteínas totais encontrado na soja é de 38% (Wilcox e Cavines, 1992), bem próximo, portanto, ao encontrado nas sementes em estudo.

Em sementes são encontradas, principalmente, duas classes de proteínas de reservas, as globulinas e as prolaminas (Marty, 1999). Essas proteínas são sintetizadas no retículo endoplasmático e, em seguida, transportadas até o seu local de acúmulo (Herman e Larkins, 1999), sendo esses denominados como vacúolos proteicos (Stone e Gifford, 1997), ou corpos proteicos (Buckeridge et al., 2004). Essa forma de deposição impede a atuação de proteases, presentes no citoplasma das células (Shutov et al., 2003), evitando a clivagem dessas proteínas e, assim, ocorre o armazenamento desse composto de reserva, sendo, posteriormente, mobilizadas durante o processo de germinação das sementes (Weber et al., 2010).

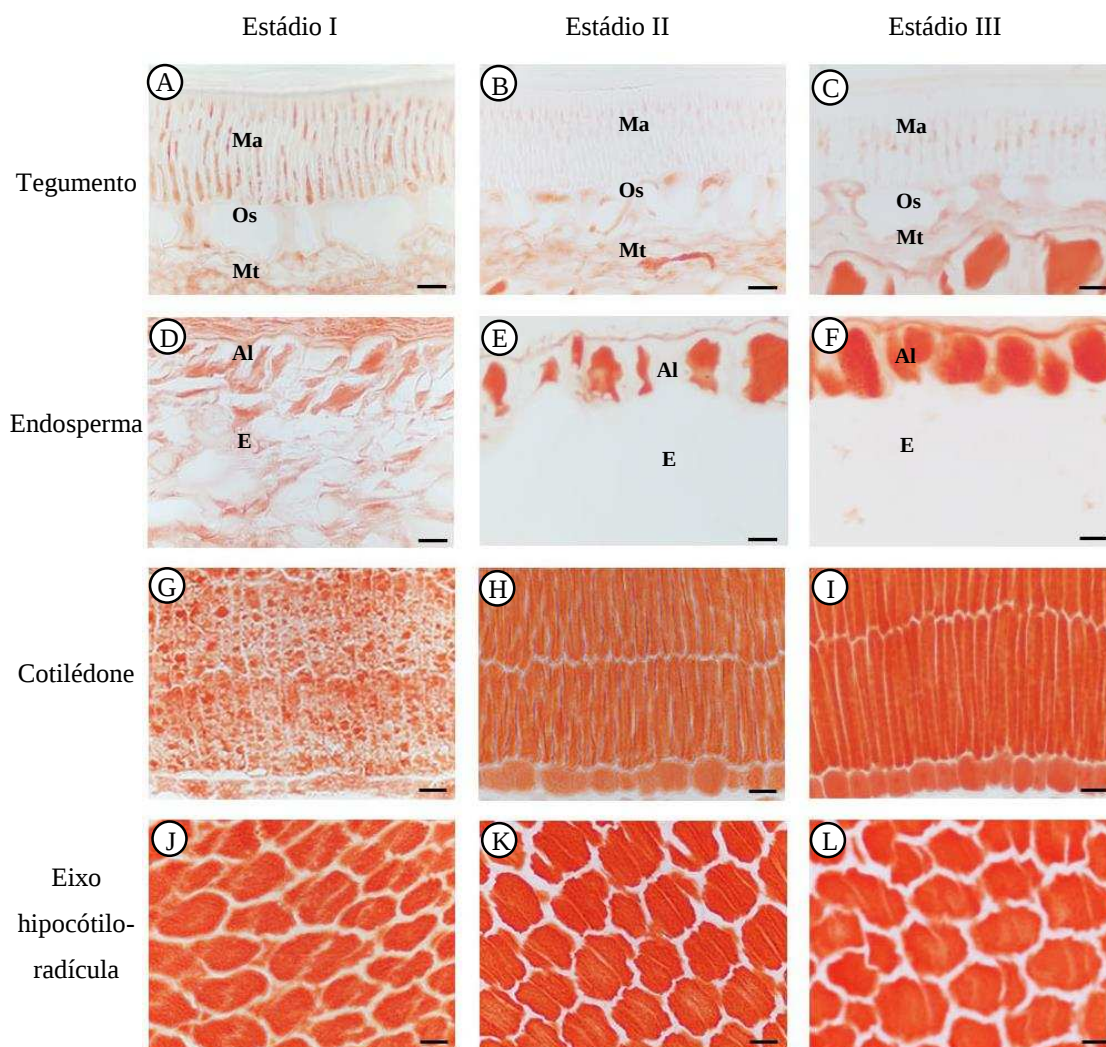


Figura 23. Cortes transversais do tegumento (A-C), do endosperma (D-F) do cotilédone (G-I), e do eixo hipocótilo-radícula (J-L) de sementes de *Crotalaria juncea* colhidas quando as plantas apresentavam 100% de vagens secas, corados com XP, evidenciando proteínas. A, D, G e J: sementes em estágio de maturação I. B, E, H e K: sementes em estágio de maturação II. C, F, I e L: sementes em estágio de maturação III. Barras: 20 µm. Al: camada de aleurona; E: endosperma; Ma: macroscleídes; Mt: mesotesta; Os: osteosclereídes.

Durante a germinação, as reservas proteicas são hidrolisadas a seus aminoácidos constituintes, os quais são utilizados para produção de novos aminoácidos ou proteínas ou para fornecer energia e esqueletos carbonados, por meio da via respiratória, após desaminação (Buckeridge et al., 2004; Caccere et al., 2013). Por ser a única fonte de nitrogênio proveniente das reservas das sementes, as proteínas assumem papel importante no estabelecimento das plântulas (Werker et al., 1997). Além de nitrogênio, as proteínas também fornecem enxofre, ambos essenciais para a síntese de novas proteínas, ácidos nucleicos e compostos secundários na plântula em crescimento (Lima et al., 2008; Taiz e Zeiger, 2009).

A síntese e a deposição de proteínas de reserva em sementes, de acordo com Herman e Larkins (1999), estão sujeitas a uma regulação espacial e temporal, o que pode

variar entre as espécies e em diferentes estádios de desenvolvimento das sementes. Isso foi constatado nas sementes de crotalária. À medida que ocorreu o desaparecimento gradual do amido como fonte de reserva no embrião (Figuras 20E-H), houve a deposição de proteínas (Figuras 23G-L). Nota-se que as células do eixo hipocótilo-radícula das sementes em estágio de maturação I estão já totalmente ou pelo menos quase totalmente preenchidas com proteína (Figura 23J). Dessa forma, pode-se inferir que o acúmulo de reservas proteicas é iniciado no eixo hipocótilo-radícula e, em seguida, se acumulam nas células do cotilédone. Comportamento semelhante foi relatado em soja (Finoto, 2008; Diniz, 2009).

Em geral, observa-se um aumento na concentração de proteínas ao longo do desenvolvimento das sementes (Pavithra et al., 2014). Esse comportamento foi observado nas sementes de crotalária.

No tegumento das sementes mais imaturas (Figura 23A), observou-se maior deposição de proteínas do que nos demais estádios. Portanto, esses compostos foram consumidas ou realocadas ao longo da maturação (Figuras 23B e C). Isso também foi verificado no endosperma, exceto na camada de aleurona, cuja maior deposição ocorreu nas sementes mais maduras (Figuras 23D-F). Como no tegumento e no endosperma dessas sementes ainda encontravam-se em intensa atividade metabólica, por estarem ainda em processo de maturação, esse resultado era esperado. Isso porque, segundo Bortolotto et al. (2008), além de atuarem como substância de reserva e estrutural, as proteínas têm funções metabólicas, na maioria das vezes catalisando reações químicas. As proteínas estão diretamente associadas à síntese de material genético e a reações enzimáticas essenciais ao metabolismo celular (Bewley et al., 2013).

Pavithra et al. (2014) correlacionaram a germinação ineficiente de sementes imaturas de *Pongamia pinnata* (L.) Pierre à menor deposição de proteínas. A menor germinação observada na colheita com 40% VS (Figura 13) também pode ser relacionada à menor deposição de proteínas detectadas nos cotilédones das sementes em estágio I (Figura 23D), posto que, nessa colheita, ocorreu maior quantidade de sementes nesse estágio (Figura 10).

Além das proteínas solúveis, em muitos casos, é observado o aumento da expressão de proteínas resistentes ao calor ao longo da maturação. Esse tipo de proteínas é encontrado em todos os organismos vivos. Em vegetais, já foram encontradas mais de 30 famílias dessas proteínas que são altamente conservadas (Walters et al., 2013) e sintetizadas durante o desenvolvimento do embrião e maturação das sementes (Kalemba et al., 2012). Vários mecanismos, como a presença de açúcares solúveis, de enzimas que

atuam contra o sistema de oxidação lipídica, anti-oxidantes e de proteínas específicas têm sido envolvidos na aquisição e manutenção da tolerância à dessecação, conferindo proteção contra as consequências da perda de água, em diferentes níveis de hidratação. Apesar de serem determinados geneticamente, a presença desses mecanismos pode ser intensificada ou reduzida de acordo com a taxa de secagem da semente ou com o meio ambiente no qual a semente se desenvolveu (Guimarães, 1999).

Analisando conjuntamente todos os resultados obtidos nesta pesquisa, nota-se que a colheita das sementes de *C. juncea* deve ser realizada, preferencialmente, quando as plantas atingirem entre 80 e 100% de vagens secas. Entre esses pontos, grande parte das sementes já atingiram a maturidade fisiológica, apresentam grau de umidade favorável à colheita mecânica e à secagem rápida e detém alta qualidade fisiológica, que permanece mesmo após o armazenamento. Além disso, nesse estágio, encontra-se maior quantidade de sementes maduras, com o tegumento com a coloração marrom, cujas características anatômicas, como completa formação do tegumento e da camada de aleurona e histoquímicas, como maior deposição de proteínas, aumentarão as chances de sucesso no estabelecimento da plântula após a germinação. Além disso, a partir da colheita com 80% de vagens secas, o rendimento de sementes é mais elevado.

Uma ressalva, no entanto, deve ser feita quanto à incidência de chuvas dias antes da colheita. Caso haja previsões de chuvas nessa época, a colheita mais antecipada, mais próxima ao estágio com 80% de vagens secas, deve ser levada em consideração, para que não haja proliferação de fungos patogênicos e decréscimos no rendimento, sem maiores prejuízos na germinação e no vigor das sementes.

5. CONCLUSÕES

A dormência das sementes de *Crotalaria juncea* é física. Essa dormência é adquirida ao longo da maturação e se intensifica com a permanência das sementes no campo, devido à maior deposição de lignina na camada de macroesclereídes do tegumento.

O armazenamento, por oito meses, reduz a dormência e, conseqüentemente, eleva a germinação em sementes de *Crotalaria juncea*.

As sementes de *Crotalaria juncea* são albuminosas, possuem camada de aleurona no endosperma e cotilédones carnosos.

O amido é ausente nas sementes maduras de *Crotalaria juncea*. As reservas lipídicas estão presentes apenas nas sementes maduras e são depositadas, em pequenas quantidades, junto à camada de aleurona, no endosperma. As proteínas são os principais compostos de reserva e são estocadas no embrião.

A determinação do ponto de colheita de sementes de *Crotalaria juncea* baseada na porcentagem de vagens secas é eficiente.

A maturidade fisiológica das sementes de *Crotalaria juncea* é atingida quando as plantas apresentam aproximadamente 86,1% de vagens secas.

A colheita de sementes de *Crotalaria juncea* deve ser realizada no ponto em que as plantas apresentarem entre 80 e 100% de vagens secas.

6. REFERÊNCIAS

- ABDUL-BAKI, A.A.; ANDERSON, J.D. Physiological and biochemical deterioration of seeds. In: KOZLOWSKI, T.T. (Ed.). **Seed Biological**. New York: Academic Press, v. 2, 1972. p. 283-315.
- AFONSO JÚNIOR, P.C.; CORRÊA, P.C. Efeitos imediato e latente da secagem de sementes de feijão colhidas com diferentes níveis de umidade. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 24, n. especial, p. 33-40, 2000.
- ALBRECHT, L.P.; BRACCINI, A.L.; ÁVILA, M.R.; SCAPIM, C.A.; BARBOSA, M.C.; STÜLP, M. Sementes de soja produzidas em épocas de safrinha na região oeste do Estado do Paraná. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 31, n. 1, p. 121-127, 2009.
- ALBRECHTOVÁ, J. **Plant Anatomy in Environmental Physiology**. 2004, 38 f. Habilitation (Assoc. Prof.) Thesis, Faculty of Science, Charles University in Prague, 2004.
- ALVAREZ, J.C., KRZYZANOWSKI, F.C., MANDARINO, J.M.G.; FRANÇA-NETO, J.B. Relationship between soybean seed coat lignin content and resistance to mechanical damage. **Seed Science and Technology**, v. 25, n. 2, p. 209-214, 1997.
- AMABILE, R.F.; CARVALHO, A.M.; DUARTE, J.B.; FANCELLI, A.L. Efeito de épocas de semeadura na fisiologia e produção de matéria seca de leguminosas nos Cerrados da região do Mato Grosso de Goiás. **Scientia Agricola**, v. 53, n. 2/3, p. 296-303, 1996.
- AMABILE, R.F.; FANCELLI, A.L.; CARVALHO, A.M. Comportamento de espécies de adubos verdes em diferentes épocas de semeadura e espaçamento na região do Cerrado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 35, n. 1, p. 47-54, 2000.
- AMARAL, D.R.; OLIVEIRA, D.F.; CAMPOS, V.P.; CARVALHO, D.A. Efeito de alguns extratos vegetais na eclosão, mobilidade, mortalidade e patogenicidade de *Meloidogyne exigua* do cafeeiro. **Nematologia Brasileira**, v. 26, n. 1, p. 43-46, 2002.
- AMARAL, L.I.V.; GASPAR, M.; COSTA, P.M.F.; AIDAR, M.P.M.; BUCKERIDGE, M.S. Novo método enzimático rápido e sensível de extração e dosagem de amido em materiais vegetais. **Hoehnea**, v. 34, n. 4, p. 425-431, 2007.
- ANDRADE, D.A.V.; ORTOLANI, F.A.; MORO, J.R.; MORO, F.V. Aspectos morfológicos de frutos e sementes e caracterização citogenética de *Crotalaria lanceolata* E. Mey. (Papilionoideae - Fabaceae). **Acta Botanica Brasilica**, v. 22, n. 3, p. 621-625, 2008.
- ANDRIOTIS, V.M.E.; PIKE, M.J.; KULAR, B.; RAWSTHORNE, S.; SMITH, A.M. Starchturnover in developing oil seed embryos. **New Phytologist**, v. 187, n. 3, p. 791-804, 2010.
- ANGELOVICI, R.; GALILI, G.; FERNIE, A.R.; FAIT, A. Seed desiccation: a bridge between maturation and germination. **Trends in Plant Science**, v. 15, n. 4, p. 211-218, 2010.

ANTONIOLOLI, Z.I.; BELLÉ, R.A.; GIRACCA, E.M.; THOMAS, P.S. Dormancy break of *Crotalaria* seeds. **Ciência Rural**, v. 23, n. 2, p. 165-168, 1993.

ARANTES, H.A.G.; ROCHA, V.S.; SILVA, E.A.M.; SEJIYAMA, T. Espessura do tegumento, embebição em água e qualidade fisiológica da semente de soja. **Revista Ceres**, v. 41, n. 234, p. 126-132, 1994.

ARAUJO, J.B.S.; RODRIGUES, M.C.; RODRIGUES, L.B.; SANTOS, R.H.S.; MARTINEZ, H.E.P. Nitrogen fertilization of coffee: organic compost and *Crotalaria juncea* L. **Revista Ceres**, v. 60, n. 6, p. 842-851, 2013.

ASIEDU, E.A.; POWELL, A.A. Comparisons of storage potential of cultivar of cowpea (*Vigna unguiculata*) differing in seed coat pigmentation. **Seed Science and Technology**, v. 26, n. 1, p. 211-221, 1998.

AZERO, E.G.; ANDRADE, C.T. Extração e caracterização da galactomanana de sementes de *Caesalpinia pulcherrima*. **Polímeros**, v. 9, n. 2, p. 54-59, 1999.

BAGOURY, O.H.EL.; NIYASI, M.A. Effect of different fertilizers on the germination and hard seeds percentage of Egyptian clover seeds (*Trifolium alexandrinum* L.). **Seed Science and Technology**, v. 1, n. 3, p. 773-779, 1973.

BASKIN, J.M., BASKIN, C.C.; LI, X. Taxonomy, anatomy and evolution of physical dormancy in seeds. **Plant Species Biology**, v. 15, n. 2, p. 139-152, 2000.

BASKIN, C.C.; BASKIN, J.M. **Seeds: ecology, biogeography, and evolution of dormancy and germination**. San Diego: Academic Press, 2001. 666 p.

BELTRATI, C.M.; PAOLI, A.A.S. Semente. In: APEZZATO-DA-GLÓRIA, B.; CARMELLO-GUERREIRO, S.M. (Ed.). **Anatomia Vegetal**. 2. ed. Viçosa: Editora UFV, 2006. p.399-424.

BERGER, F., HAMAMURA, Y.; INGOUFF, M.; HIGASHIYAMA, T. Double fertilization - caught in the act. **Trends in Plant Science**, v. 13, n. 8, p. 664 - 670, 2008.

BESSA, D.T.O.; MENDONÇA, M.S.; ARAÚJO, M.G.P. Morfo-anatomia de sementes de *Dipteryx odorata* (Aubl.) Willd. (Fabaceae) como contribuição ao estudo farmacognóstico de plantas da região Amazônica. **Acta Amazônica**, v. 31, n. 3, p. 357-364, 2001.

BEWLEY, J.D.; BRADFORD, K.J.; HILROST, H.W.M.; NONOGAKI, H. **Seeds: physiology of development, germination and dormancy**. 3. ed., New York: Springer, 2013. 392 p.

BITENCOURT, G.A.; RESENDE, U.M.; FAVERO, S. Descrição morfo-anatômica das sementes de *Senna occidentalis* (L.) Link. (Fabaceae-Caesalpinoideae) e *Phyllanthus niruri* L. (Euphorbiaceae). **Revista da Biologia e Farmácia**, v. 3, n. 1, p. 38-44, 2008.

BLÖCHL, A.; MARCH, G.G.; SOURDIOUX, M.; PETERBAUER, T.; RICHTER, A. Induction of raffinose oligosaccharide biosynthesis by abscisic acid in somatic embryos of alfalfa (*Medicago sativa* L.). **Plant Science**, v. 168, n. 4, p. 1075-1082, 2005.

BOESEWINKEL, F.D.; BOUMAN, F. The seed: Structure. In: JOHRI, B.M. (Ed.). **Embryology of angiosperms**. Berlin: Springer-Verlag, 1984. p. 567-610.

BORJI, M.; GHORBANLI, M.; SARLAK, M. Some seed traits and their relationship to seed germination, emergence rate, and electrical conductivity in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Asian Journal of Plant Science**, v. 6, n. 5, p. 781-787, 2007.

BORTOLOTO, R.P.; MENEZES, N.L.; GARCIA, D.C.; MATTIONI, N.M. Teor de proteína e qualidade fisiológica de sementes de arroz. **Bragantia**, v. 67, n. 2, p. 513-520, 2008.

BOTELHO, F.J.E.; GUIMARÃES, R.M.; OLIVEIRA, J.A.; EVANGELISTA, J.R.E.; ELOI, T.A.; BALIZA, D.P. Desempenho fisiológico de sementes de feijão colhidas em diferentes períodos do desenvolvimento. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 34, n. 4, p. 900-907, 2010.

BRACCINI, A.L.; ALBRECHT, L.P.; ÁVILA, M.R.; SCAPIM, C.A.; BIO, F.E.I.; SCHUAB, S.R.P. Qualidade fisiológica e sanitária das sementes de quinze cultivares de soja (*Glycine max* (L.) Merrill) colhidas na época normal e após o retardamento da colheita. **Acta Scientiarum - Agronomy**, v. 25, n. 2, p. 449-457, 2003.

BRANCALION, P.H.S.; NOVEMBRE, A.D.L. C.; RODRIGUES, R.R.; MARCOS FILHO, J. Dormancy as exaptation to protect mimetic seeds against deterioration before dispersal. **Annals of Botany**, v. 105, n. 6, p. 991-998, 2010.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução normativa nº 30, de 21 de maio de 2008. Estabelece normas e padrões para produção e comercialização de sementes de espécies forrageiras de clima tropical. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, 23 mai. 2008. Seção 1, p.45.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Brasília: Mapa/ACS, 2009. 399 p.

BRIGGS, C.L.; MORRIS, E.C.; ASHFORD, A.E. Investigations into seed dormancy in *Grevillea linearifolia*, *G. busifolia* and *G. sericea*: anatomy and histochemistry of the seed coat. **Annals of Botany**, v. 96, n. 6, p. 965-980, 2005.

BUCKERIDGE, M.S.; DIETRICH, S.M.C. Mobilisation of the raffinose family oligosaccharides and galactomannan in germinating seeds of *Sesbania marginata* Benth. (Leguminosae-Faboideae). **Plant Science**, v. 117, n. 1, p. 33-43, 1996.

BUCKERIDGE, M.S.; PANEGASSI, V.R.; DIETRICH, S.M.C. Storage carbohydrate mobilisation in seeds of *Dimorphandra mollis* Benth. (Leguminosae) following germination. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 18, n. 2, p. 171-175, 1995a.

BUCKERIDGE, M.S.; PANEGASSI, V.R.; ROCHA, D.C.; DIETRICH, S.M.C. Seed galactomannan in the classification and evolution of the Leguminosae. **Phytochemistry**, v. 38, n. 4, p. 871-875, 1995b.

BUCKERIDGE, M.S.; SANTOS, H.P.; TINÉ, M.A.S.; AIDAR, M.P. Mobilização de reservas. In: FERREIRA, A.G.; BORGHETTI, F. (Ed.) **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2004. p. 163-185.

BUCKERIDGE, M.S.; REID, J.S.G. Major cell wall storage polysaccharides in legume seeds: Structure, catabolism and biological functions. **Ciência e Cultura**, v. 48, n. 3, p. 153-162, 1996.

BUCKERIDGE, M.S.; TINÉ, M.A.S.; SANTOS, H.P.; LIMA, D.U. Polissacarídeos de reserva de parede celular em sementes. Estrutura, metabolismo, funções e aspectos ecológicos. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 12, Edição Especial, p. 137-162, 2000.

BURLE, M.L.; CARVALHO, A.M.; AMABILE, R.F.; PEREIRA, J. Caracterização das espécies de adubo verde. In: CARVALHO, A.M.; AMABILE, R.F. (Ed.). **Cerrado: adubação verde**, Planaltina-DF: Embrapa Cerrados, 2006. p.71-142.

BUTH, G.M.; NARAYAN, A. Seed and seed coat anatomy of some members of *Crotalaria* (Papilionaceae). **Journal of the Indian Botanical Society**, v. 66, p. 317-324, 1987.

CARRERAS, M.E.; PASCUALIDES, A.L.; PLANCHUELO, A.M. Comportamiento germinativo de las semillas de *Crotalaria incana* L. (Leguminosae) en relación a la permeabilidad de la cubierta seminal. **AgriScientia**, v. 18, p. 45-50, 2001.

CACCERE, R.; TEIXEIRA, S.P.; CENTENO, D.C.; FIGUEIREDO-RIBEIRO, R.C.L.; BRAGA, M.R. Metabolic and structural changes during early maturation of *Inga veraseeds* are consistent with the lack of a desiccation phase. **Journal of Plant Physiology**, v. 170, n. 9, p. 791-800, 2013.

CALEGARI, A.; ALCÂNTARA, P.B.; MIYASAKA, S.; AMADO, T.J.C. Caracterização das principais espécies de adubo verde. In: COSTA, M.B.B. (Coord.). **Adubação verde no Sul do Brasil**. 2. ed. Rio de Janeiro: AS-PTA, 1993. p. 207-328.

CALEGARI, A. Rotação de culturas e uso de plantas de cobertura. In: Adubos verdes: espécies, características, ações e vantagens, diferentes métodos, plano de rotação e correção orgânica de acidez no perfil do solo. **Agroecologia Hoje**, n. 14, p. 12, 2002.

CARPITA, N.; MCCANN, M. The Cell Wall. In **Biochemistry & molecular biology of plants**. BUCHANAN, B.B., GRUISSEM, W., JONES, R.L. (Eds). Rockville: American Society of Plant Physiologists, 2000. p. 53-107.

CARVALHO, A.M.; BURLE, M.L.; PEREIRA, J.; SILVA, M.A. **Manejo de adubos verdes no cerrado**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 1999. 28 p. (Embrapa Cerrados. Circular Técnica, 4).

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

CASTRO, D.D. **Superação de dormência em sementes de garapa (*Apuleia leiocarpa* (Vogel) J. F. Macbr.)**. 2010. 53 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Viçosa, 2010.

CASTRO, R.D.; BRADFORD, K.J.; HILHORST, H.W.M. Desenvolvimento de sementes e conteúdo de água. In: FERREIRA, A.G.; BORGHETTI, F. **Germinação**: do básico ao aplicado. Porto Alegre: ARTMED, 2004. p. 51-67.

CAVANAGH, A.K. The anatomy and morphology of Acacia seeds in relation to germination. Bull. **Groupe International pour l'etude des Mimosoideae**, v. 11, p. 58-62, 1983.

CESAR, M.N.Z.; RIBEIRO, R.L.D.; PAULA, P.D.; POLIDORO, J.C.; MANERA, T.C.; GUERRA, J.G.M. Desempenho do pimentão em cultivo orgânico, submetido ao desbaste e consórcio. **Horticultura Brasileira**, v. 25, n. 3, p. 322-326, 2007.

CHACHALIS, D.; SMITH, M.L. Imbibition behavior of soybean (*Glycine max* L. Merrill) accessions with different testa characteristics. **Seed Science and Technology**, v. 28, n. 2, p.321-331, 2000.

COOK, C.G.; WHITE G.A. *Crotalaria juncea*: a potential multi-purpose fiber crop. In: JANICK, J. (Ed.). **Progress in new crops**. Arlington: ASHS Press, 1996. p. 389-394.

CORBINEAU, F., PICARD, M.A., FOUGEREUX, J.A., LADONNE, F.; CÔME, D. Effects of dehydration conditions on desiccation tolerance of developing pea seeds as related to oligosaccharide content and cell membrane properties. **Seed Science Research**, v. 10, n. 3, p. 329-339, 2000.

CORNER, E.J.H. The leguminous seed. **Phytomorphology**, v. 1, p. 117-150, 1951.

CORNER, E.J.H. **The seeds of dicotyledons**. Cambridge: University Press, 1976. v. 2, 552 p.

CROMARTY, A.S.; ELLIS, R.H.; ROBERTS, E.H. **Design of seed storage facilities for genetic conservation**. Rome: International Board of Plant Genetic Resources, 1985. 100 p.

CUTTER, E.C. **Anatomia vegetal: Órgãos**. Parte II. Botucatu: Roca, 1986. 336 p.

DEMIR, I. Occurrence of hardseededness in relation to seed development in okra (*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench). **Plant Varieties and Seeds**, v. 10, n. 1, p. 7-13, 1997.

DESAI, B.B.; KOTTECHA, P.M.; SALUNKHE, D.K. **Seeds handbook**: biology, production, processing and storage. 1 ed. New York: Basel, 1997, 627 p.

DE-PAULA, O.C.; OLIVEIRA, D.M.T. Seed ontogeny of *Chamaecrista* and its systematic implications in Cassiinae (Leguminosae, Caesalpinioideae). **Plant Systematics and Evolution**, v. 298, n. 9, p. 1659-1669, 2012.

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

DINIZ, E.R.; VARGAS, T.O.; PEREIRA, W.D.; GUEDES, A.F. ; SANTOS, R.H.S.; PETERNELLI, L.A. Decomposição e mineralização do nitrogênio proveniente do adubo verde *Crotalaria juncea*. **Científica**, v. 42, n. 1, p. 51-59, 2014.

DINIZ, F.O. **Qualidade fisiológica e sanitária, teor de óleo e proteína de sementes de cultivares de soja, em três épocas de colheita**. 2009. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2009. 67 p.

DOURADO, M.C.; SILVA, T.R.B.; BOLONHEZI, A.C. Matéria seca e produção de grãos de *Crotalaria juncea* L. submetida à poda e adubação fosfatada. **Scientia Agricola**, v. 58, n. 2, p. 287-293, 2001.

DOURADO NETO, D.; FANCELLI, A. L. **Produção de feijão**. Guaíba: Agropecuária, 2000, 385 p.

DNYANSAGAR, V.R. Embryological studies in the Leguminosae. VIII. *Acacia auriculaeformis* A. Cunn., *Adenanthera pavonina* Linn., *Calliandra hematocephala* Hassk., and *Calliandra grandiflora* Benth. **Lloydia**, v. 21, n. 1, p. 1-25, 1958.

DUARTE JUNIOR, J.B.; COELHO, F.C. Adubos verdes e seus efeitos no rendimento da cana-de-açúcar em sistema de plantio direto. **Bragantia**, v. 67, n. 3, p. 723-732, 2008.

DUKE, J.A. **Handbook of legumes of world economic importance**. New York: Plenum Press, 1981. 345 p.

EAMES, A.J.; MacDANIELS, L.H. **An introduction to plant anatomy**. New Delhi: Tata McGraw-Hill Publishing, 1953. 518 p.

EGLEY, G.H. Seed coat impermeability and germination of showy *Crotalaria* (*Crotalaria spectabilis*) seeds. **Weed Science**, v. 27, n. 4, p. 355-361, 1979.

ELIAS, M.C.; DIAS, A.R.G.; SCHIRMER, M.A.; GULARTE, M.A.; FAGUNDES, C.A.A.; AMATO, G. **Industrialização do arroz**. Pelotas: Universidade Federal de Pelotas; Cachoeirinha: Instituto Rio-grandense do Arroz (IRGA), 2005. 30 p.

ELLIS, R.H.; PIETA FILHO, C. Seed development and cereal seed longevity. **Seed Science Research**, v. 2, n. 1, p. 9-15, 1992.

ERTEKIN, M.; KIRDAR, E. Effects of seed coat colour on seed characteristics of honeylocust (*Gleditsia triacanthos*). **African Journal of Agricultural Research**, v. 5, n. 17, p. 2434-2438, 2010.

FARRANT, J.M.; PAMMENTER, N.W.; BERJAK, P.; WALTERS, C. Subcellular organization and metabolic activity during the development of seeds that attain different levels of desiccation tolerance. **Seed Science Research**, v. 7, n. 2, p. 135-144, 1997.

FERRAZ, S.; VALLE, L.A.C. **Controle de fitonematoides por plantas antagonistas**. Viçosa: Editora UFV, 1997. 73 p. (Cadernos Didáticos, 7).

FERREIRA, A.G.; JOÃO, K.H.L.; HEUSER, E.D. Efeitos de escarificação sobre a germinação e do pH no crescimento de *Acacia bonariensis* Grill e *Mimosa bimucronata* (D.C.) O.K. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v.4, n. 1, p.63-65, 1992.

FERREIRA, N.R.; FRANKE, L.B.; MOCO, M.C.C. Estudos morfo-anatômicos relacionados à dormência em sementes de *Adesmia tristis* Vogel (Fabaceae). **Revista Brasileira de sementes**, v. 33, n. 3, p. 447-453, 2011.

FINCH-SAVAGE, W.E.; LEUBNER-METZGER, G. Seed dormancy and the control of germination. **New Phytologist**, v. 171, n. 3, p. 501–523, 2006.

FINOTO, E.L. **Variabilidade fenotípica dos teores de óleo e proteína de cultivares de soja em diferentes ambientes**. 2008. 116p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Viçosa, 2008.

FONTANÉTTI, A.; CARVALHO, G.J.; GOMES, L.A.A.; ALMEIDA, K.; MORAES, S.R.G.; DUARTE, W.F. Efeito alelopático da adubação verde no controle de tiririca (*Cyperus rotundus* L.). **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 2, n. 1, p.1365-1368, 2007.

FOSU, M., KUHNE, R.F.; VLEK, P.L.G. Improving maize yield in the Guinea Savannah Zone of Ghana with leguminous cover crops and PK fertilization. **Journal of Agronomy**, v. 3, n. 2, p. 115-121, 2004.

GARRIDO, M.S.; SOARES, A.C.F.; COIMBRA, J.L.; SOUSA, C.S. Management of crotalaria and pigeon pea for control of yam nematode diseases. **Summa Phytopathologica**, v. 34, n. 3, p. 222-227, 2008.

GIURIZATTO, M.I.K.; SOUZA, L.C.F.; ROBAINA, A.D.; GONÇALVES, M.C. Efeito da época de colheita e da espessura do tegumento sobre a viabilidade e o vigor de sementes de soja. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 27, n. 4, p. 771-779, 2003.

GRAHAM, I.A. Seed storage oil mobilization. **Annual Review of Plant Biology**, v. 59, n. 1, p. 115-142, 2008.

GRISI, P.U.; SANTOS, C.M. Influência do armazenamento, na germinação das sementes de girassol. **Horizonte Científico**, v. 1, n. 7, p. 1-14, 2007.

GUIMARÃES, R.M. **Fisiologia de sementes**. Lavras: UFLA-FAEPE, 1999. 132 p. (Curso de Especialização Pós-Graduação "Lato Sensu" por tutoria à distância).

GUNN, C.R. Seeds of Leguminosae, In: POLHILL R.M.; RAVEN, P.H. (Eds.), **Advances in legume systematics**, Part 1. Kew: Royal Botanic Gardens, 1981. p. 913-925.

HARRINGTON, J. F. Seed storage and longevity. In: KOZLOWSKI, T.T. **Seed biology**. New York: Academic, 1972. v. 3, p. 145-245.

HEHENBERGER, E.; KRADOLFER, D.; KÖHLER, C. Endosperm cellularization defines an important developmental transition for embryo development. **Development**, v. 139, n. 11, p. 2031 - 2039, 2012.

HILHORST, H.W.M. Seed dormancy. **Seed Science Research**, v. 7, p. 221-223, 1997.

- HERMAN, E.M.; LARKINS, B.A. Protein storage bodies and vacuoles. **The Plant Cell**, v. 11, n. 4, p. 601 - 613, 1999.
- HOEKSTRA, F.A.; GOLOVINA, E.A.; BUITINK, J. Mechanisms of plant desiccation tolerance. **Trends in Plant Science**, v. 6, n. 9, p. 431-438, 2001.
- HORLINGS, G.; GAMBLE, E.E.; SHANMUGASUNDARAM, S. The influence of seed size and seed coat characteristics on seed quality of soybean in the tropics: field weathering. **Seed Science and Technology**, v. 19, n. 3, p. 665-685, 1991.
- INGRAM, G.C. Family life at close quarters: communication and constraint in angiosperm seed development. **Protoplasma**, v. 247, n. 3-4, p. 195 - 214, 2010.
- JASY, T.; KOSHY, P.K. Effect of certain leaf extracts and leaves of **Glyricidia maculate** (H. B. & K) Steud. as green manure on *Radopholus similis*. **Indian Journal of Nematology**, v. 22, n. 2, p. 117-121, 1994.
- JAYASURIYA, K.M.G.G.; WIJETUNGA, A.S.T.B.; BASKIN, J.M.; BASKIN, C.C. Seed dormancy and storage behaviour in tropical Fabaceae: a study of 100 species from Sri Lanka. **Seed Science Research**, v. 23, n. 4, p. 257-269, 2013.
- JENSEN, W.A. **Botanical histochemistry**: principles and practice. 1. ed., Berkley: W. H. Freeman e Co, 1962. 408 p.
- JESUS, R.P.; CORCIOLI, G.; DIDONET, A.D.; BORGES, J.D.; MOREIRA, J.A.A.; SILVA, N.F. Plantas de cobertura de solo e seus efeitos no desenvolvimento da cultura do arroz de terras altas em cultivo orgânico. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 37, n. 4, p. 214-220, 2007.
- JOHANSEN, D.A. **Plant microtechnique**. New York: McGraw- Hill, 1940. 523p.
- JORDY, M.N. Seasonal variation of organogenetic activity and reserves allocation in the shoot apex of *Pinus pinaster* Ait. **Annals of Botany**, v. 93, n. 1, p. 25 - 37, 2004.
- JUSTO, C.F.; ALVARENGA, A.A.; ALVES, E.; GUIMARÃES, R.M.; STRASSBURG, R.C. Efeito da secagem, do armazenamento e da germinação sobre a micromorfologia de sementes de *Eugenia pyriformis* Camb. **Acta Botânica Brasileira**, v. 21, n. 3, p. 539-551, 2007.
- KALEMBA, E.M.; JANOWIAK, F.; PUKACKA, S. Association of protective proteins with dehydration and desiccation of orthodox and recalcitrant category seeds of three *Acer* genus species. **Journal Plant Growth Regulation**, v. 31, n. 3, p.351–362, 2012.
- KANTAR, F.; PILBEAM, C.J.; HEBBLETHWAITE, P.D. Effect of tannin content of faba bean (*Vicia faba*) seed on seed vigour, germination and field emergence. **Annals Applied Biology**, v. 128, n. 1, p. 85-93, 1996.
- KAPPES, C.; ARF, O. SÁ, M.E.; FERREIRA, J.P.; PORTUGAL, J.R.; ALCALDE, A.M.; VILELA, R.G. Reguladores de crescimento e seus efeitos sobre a qualidade fisiológica de sementes e crescimento de plântulas de crotalária. **Bioscience Journal**, v. 28, n. 2, p. 180-190, 2012.

- KELLY, K. M.; VAN STADEN, J.; BELL, W. E. Seed coat structure and dormancy. **Plant Growth Regulation**, v. 11, n. 3, p.201-209, 1992.
- KESAVAN, M.; SONG, J.T.; SEO, H.S. Seed size: a priority trait in cereal crops. **Physiology Plantarum**, v. 147, n. 2, p. 113-120, 2013.
- KIRK JUNIOR, P.W. Neutral red as a lipid fluorochrome. **Stain Technology**, v. 45, n. 1, p. 1-4, 1970.
- KUNZE, O.R. Fissuring of the rice grain after heated air drying. **Transactions of the ASAE**, v. 22, n. 5, p. 1197-1207, 1979.
- KUO, W.H.J.; CHEN, P.H. Effects of dormancy breaking methods on the germination and permeability of the hard seeds of *Crotalaria pallida* and *C. zanzibarica*. **Memoirs of the College of Agriculture National Taiwan University**, v. 32, n. 4, v. 346-357, 1992.
- LANGE, A.; BOLOGNA, I.R.; FARONI, C.E.; TRIVELIN, P.C.O. Aproveitamento pelo trigo do nitrogênio residual da crotalária (*Crotalaria juncea*) e da uréia aplicado ao solo em cultivo precedente. **Ciência Rural**, v. 39, n. 6, p. 1715-1720, 2009.
- LEGESSE, N.; POWELL, A.A. Relationship between the development of seed coat pigmentation, seed coat adherence to the cotyledons and the rate of imbibition during the maturation of grain legumes. **Seed Science and Technology**, v.24, n. 1, p.23-32, 1996.
- LEITÃO FILHO, H.F. **Observações sobre alguns gêneros de leguminosa – Papilionoideae**. Campinas: Instituto Agrônomo, 2009. 67 p. (Série Pesquisa APTA. Boletim Científico, 15).
- LEPRINCE, O.; BUITINK, J. Desiccation tolerance: From genomics to the field. **Plant Science**, v. 179, n. 6, p. 554-564, 2010.
- LIMA, R.B.S.; GONÇALVES, J.F.C.; PANDO, S.C.; FERNANDES, V.; SANTOS, A.L.W. Primary metabolite mobilization during germination in rosewood (*Aniba rosaedora* Ducke) seeds. **Revista Árvore**, v. 32, n. 1, p. 19-25, 2008.
- LOPES, H.M.; QUEIROZ, O.A.; MOREIRA, L.B. Características agronômicas e qualidade de sementes de crotalária (*Crotalaria juncea* L.) na maturação. **Revista Universidade Rural** v. 25, n. 2, p. 24-30, 2005.
- LUSH, W.M.; EVANS, L.T. The seed coats of cowpeas and other legumes: structure in relation to function. **Field Crops Research**, v. 3, p. 267-286. 1980.
- MAGUIRE, J.D. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, v. 2, n. 1, p. 176-177, 1962.
- MANZ, B.; MÜLLER, K.; KUCERA, B.; VOLKE, F.; LEUBNER-METZGER, G. Water uptake and distribution in germinating tobacco seeds investigated in vivo by nuclear magnetic resonance imaging. **Plant Physiology**, v. 138, n. 3, p. 1538-1551, 2005.
- MARBACH, I.; MAYER, A.M. Changes in catechol oxidase and permeability to water in seed coats of *Pisum elatius* during seed development and maturation. **Plant Physiology**, v. 56, n. 1, p. 93-96, 1975.

MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba: FEALQ, 2005. 495 p.

MARTINS, M.A.G.; OLIVEIRA, D.M.T. Morfo-anatomia e ontogênese do fruto e da semente de *Tipuana tipu* (Benth.) O. Kuntze (Fabaceae: Faboideae). **Revista Brasileira de Botânica**, v. 24, n. 1, p.109-121, 2001.

MARTY, F. Plant vacuoles. **Plant Cell**, v. 11, n. 4, p. 587-599, 1999.

McCARTNEY, L., ORMEROD, A.P., GIDLEY, M.J.; KNOX, J.P. Temporal and spatial regulation of pectic (1→4)-β-D-galactan in cell walls of developing pea cotyledons: implications for mechanical properties. **Plant Journal**, v. 22, n. 2, p. 105-113, 2000.

McCLENDON, J.H.; NOLAN, W.G.; WENZLER, H.F. The role of the endosperm in the germination of legumes: galactomannan, nitrogen, and phosphorus changes in the germination of guar (*Cyamopsis tetragonolobus*, Leguminosae). **American Journal of Botany**, v. 63, n. 5, p. 790-797, 1976.

MELLO, J.I.O. **Alterações bioquímicas durante o armazenamento e a germinação de sementes de *Caesalpinia echinata* e *Erythrina speciosa*, leguminosas nativas da Floresta Atlântica**. 2013. 133 f. Tese (Doutorado em Biodiversidade vegetal e meio ambiente) – Instituto de Botânica da Secretaria de Estado do Meio Ambiente, 2013.

MELO-PINNA, G.F.A.; NEIVA, M.S.M.; BARBOSA, D.C.A. Estrutura do tegumento seminal de quatro espécies de Leguminosae (Caesalpinioideae), ocorrentes numa área de caatinga (PE Brasil). **Revista Brasileira de Botânica**, v.22, n.3, p.375-379, 1999.

MENEZES, M.; VON PINHO, E.V.R.; JOSÉ, S.C.B.R.; BALDONI, A.; MENDES, F.F. Aspectos químicos e estruturais da qualidade fisiológica de sementes de soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 44, n. 12, p. 1716- 1723, 2009.

MERTZ, L.M.; HENNING; F.A.; CRUZ; H.L.; MENEGHELLO, G.E.; FERRARI, C.S.; ZIMMER, P.D. Diferenças estruturais entre tegumentos de sementes de soja com permeabilidade contrastante. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 31, n. 1, p. 23-29, 2009.

MILLER, R.H. **Crotalaria seed morphology, anatomy, and identification**. Washington: Government Printing Office, 1967. 73p. (USDA Technical Bulletin n. 1373).

MONQUERO, P.A.; AMARAL, L.R.; INÁCIO, E.M.; BRUNHARA, J.P.; BINHA, D.P.; SILVA, P.V.; SILVA, A.C. Efeito de adubos verdes na supressão de espécies de plantas daninhas. **Planta Daninha**, v. 27, n. 1, p. 85-95, 2009.

MONTARDO, D.P.; CRUZ, F.P.; CAETANO, J.H.; BOLDRINI, I.I.; DALL'AGNOL, M. Efeito de dois tratamentos na superação de dormência de sementes de cinco espécies de *Adesmia* DC. **Revista Científica Rural**, v. 5, n. 1, p. 1-7, 2000.

MORAES, S.R.G., CAMPOS, V.P., POZZA, E.A., FONTANETTI, A., CARVALHO, G.J.; MAXIMINIANO, C. Influência de leguminosas no controle de fitonematoides em cultivo orgânico de alface americana e repolho. **Fitopatologia Brasileira**, v. 31, n. 2, p. 188-191, 2006.

MOZAMBANI, A.E.; SADER, R.; PINTO, L.R. Maturação fisiológica e retardamento de colheita de sementes de crotalaria (*Crotalaria juncea* L.). **Revista Brasileira de Sementes**, v. 15, n. 1, p. 55-62, 1993.

MURAOKA, T.; AMBROSANO, E.J.; ZAPATA, F.; BORTOLETTO, N.; MARTINS, A.L.M.; TRIVELIN, P.C.O.; BOARETTO, A.E.; SCIVITTARO, W.B. Eficiência de abonos verdes (*crotalaria* y *mucuna*) y urea, aplicados solos o juntamente, como fuentes de N para el cultivo de arroz. **Terra (Chapingo)**, v. 20, n. 1, p. 17-23. 2002.

MYERS, A.M.; MORELL, M.K.; JAMES, M.G.; BALL, S.G. Recent progress toward understanding biosynthesis of the amylopectin crystal. **Plant Physiology**, v. 122, n. 4, p. 989-997, 2000.

NAKAGAWA, J.; CAVARIANI, C.; MARTINS, C.C.; COIMBRA, R.A. Intensidade de dormência durante a maturação de sementes de mucuna-preta. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 29, n. 1, p. 165-170, 2007a.

NAKAGAWA, J.; CAVARIANI, C.; ZUCARELI, C. Maturação, formas de secagem e qualidade fisiológica de sementes de mucuna-preta. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 27, n. 1, p. 45-53, 2005.

NAKAGAWA, J.; ZUCARELI, C.; CAVARIANI, C.; GASPAR-OLIVEIRA, C. Maturação de sementes de mucuna-preta. **Bioscience Journal**, v. 23, n. 1, p. 41-47, 2007b.

NAKAMURA, A.T.; OLIVEIRA, D.M.T. Morfoanatomia e ontogênese da sâmara de *Pterocarpus violaceus* Vogel (Fabaceae: Faboideae). **Revista Brasileira Botânica**, v. 28, n. 2, p. 375-387, 2005.

NEUBERN, R.G.; CARVALHO, N.M. Maturação de sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). **Científica**, v. 4, n. 1, p. 28-32, 1976.

NONOGAKI, H.; BASSEL, G.W.; BEWLEY, J.D. Germination still a mystery. **Plant Science**, v.179, n.1, p.574-581, 2010.

NORMAN, H.C.; GALWEY, N.W.; COCKS, P.S. Hardseededness in annual clovers: variation within populations and subsequent shifts due to environmental changes. **Australian Journal of Agricultural Research**, v. 53, n. 7, p. 831-836, 2002.

O'BRIEN, T.P.; FEDER, N.; McCULLY, M.E. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. **Protoplasma**, v. 59, n. 2, p. 368 - 373, 1964.

O'BRIEN, T.P.; McCULLY, M.E. **The study of plant structure principles and selected methods**. Melbourne: Termarcarphi Pty., 1981. 345 p.

OJAYI, O.A; CLARK, B. High velocity impact of maize kernels. **Journal of Agricultural Engineering Research**, v. 67, n. 2, p. 97-104, 1997.

OLIVEIRA, D.M.T.; PAIVA, E.A.S. Anatomy and ontogeny of *Pterodon emarginatus* (Fabaceae: Faboideae) seed. **Brazilian Journal of Biology**, v. 65, n. 3, p. 483-494, 2005.

OLIVEIRA, D.M.T.; SIQUEIRA, A.C.N.; NAKAMURA, A.T. Anatomia e ontogênese da sâmara de *Centrolobium tomentosum* Guill. ex Benth. (Leguminosae: Papilionoideae). **Rodriguésia**, v. 58, n. 2, p. 231-247, 2007.

PAMMENTER, N.W.; BERJAK, P. A review of recalcitrant seed physiology in relation to desiccation-tolerance mechanisms. **Seed Science Research**, v. 9, n. 1, p. 13-37, 1999.

PANDEY, V.N.; SRIVASTAVA, A.K. Seed protein yield from some *Crotalaria* spp and in vitro nutritional quality of that from *C. juncea*. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 40, n. 3, p. 195-200, 1990.

PANEGASSI, V.R.; SERRA, G.E.; BUCKERIDGE, M.S. Potencial tecnológico do galactomanano de sementes de faveiro (*Dimorphandra mollis*) para uso na indústria de alimentos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 20, n. 3, p. 406-415, 2000.

PAOLI, A.A.S. Semente. In: SOUZA, L.A. (Org.). **Anatomia do fruto e da semente**. Ponta Grossa, Editora Universidade Estadual de Ponta Grossa, 2006. p. 125-161.

PASCUALIDES, A.L.; PLANCHUELO, A.M. Seed morphology and imbibition pattern of *Crotalaria juncea* L. (Fabaceae). **Seed Science and Technology**, v. 35, n. 3, p. 760-764, 2007.

PASCUALIDES, A.L.; ATECA, N.S. Germinación y vigor de morfotipos de semillas de *Crotalaria juncea* L. (Fabaceae). **Phyton Buenos Aires**, v. 82, n. 2, p. 313-319, 2013.

PAVITHRA, H.R.; GOWDA, B.; SHIVANNA, M.B. Biochemical changes in the composition of developing seeds of *Pongamia pinnata* (L.) Pierre. **Industrial Crops and Products**, v. 53, p. 199-208, 2014.

PEKSEN, A.; PEKSEN, E.; BOZOGLU, H. Relationships among some seed traits, laboratory germination and field emergence in cowpea [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] genotypes. **Pakistan Journal of Botany**, v. 36, n. 2, p. 311-320, 2004.

PESKE, S.; PEREIRA, L.A.G. Tegumento da semente de soja. **Tecnologia de Sementes**, v. 6, n. 1/2, p. 23-24, 1983.

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

PINTO, T.T. **Morfoanatomia e fisiologia de sementes com dormência física de *Colubrina glandulosa* Perkins (Rhamnaceae) e *Senna multijuga* (Rich.) H. S. Irwin & Barneby (Caesalpinioideae - Fabaceae)**. 2013. 68 f. Dissertação (Mestrado em Biologia de Fungos, Algas e Plantas) – Universidade Federal de Santa Catarina, 2013.

POISOT, T.; BEVER, J.D.; NEMRI, A.; THRALL, P.H.; HOCHBERG, M.E. A conceptual framework for the evolution of ecological specialisation. **Ecology Letters**, v. 14, n. 9, p. 841-851, 2011.

POMERANZ, Y. Biochemical, functional, and nutritive changes during storage. In: SAUER, D.B. (Ed.) **Storage of cereal grains and their products**. 4 ed. Saint Paul: American Association of Cereal Chemists, 1992. p. 55-141.

POLHILL, R.M., RAVEN, P.H.; STIRTON, C.H. Evolution and systematics of the Leguminosae. In: POLHILL R.M.; RAVEN, P.H. (Ed.). **Advances in legume systematics**. Part 1. Kew: Royal Botanic Gardens, 1981. p.1-26.

POPINIGIS, F. **Fisiologia da semente**. 2. ed. Brasília: AGIPLAN, 1985. 289 p.

REID, J.S.G.; BEWLEY, J.D. A dual rôle for the endosperm and its galactomannan reserves in the germinative physiology of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.), na endospermic leguminous seed. **Planta**, v. 147, n. 2, p. 145-150, 1979.

REID, J.S.G. Reserve carbohydrate metabolism in germinating seeds of *Trigonella foenum-graecum* L. (Leguminosae). **Planta**, v. 100, n. 2, p. 131-142, 1971.

REID, J.S.G. Structure and function in legumeseed polysaccharides. In: BRETT, C. (Ed.) **Biochemistry of the plant cell walls**. Cambridge: Cambridge University Press, 1985. p. 259-268.

RIBAS, R.G.T.; JUNQUEIRA, R.M.; OLIVEIRA, F.L.; GUERRA, J.G.M.; ALMEIDA, D.L.; RIBEIRO, R.L.D. Desempenho do quiabeiro (*Albemoschus esculentus*) consorciado com *Crotalaria juncea* sob manejo orgânico. **Revista Agronomia**, v. 37, n. 2, p. 80-84, 2003.

ROLSTON, M.P. Water impermeable seed dormancy. **The Botanical Review**, v. 44, n. 33, p. 365-396, 1978.

SAHA, P.K.; TAKAHASHI, N. Seed dormancy and water uptake in *Crotalaria sericea* Retz. **Annals of Botany**, v. 47, n. 3, p. 423-425, 1981.

SALTON, J.C.; PITOL, C.; ERBES, E. **Cultivo de primavera**: alternativa para produção de palha em Mato Grosso do Sul. Maracaju: Fundação MS para Pesquisa e Difusão de Tecnologias Agropecuárias, 1993. 6 p. (Informativo Técnico, 1).

SAMARAH, N.H.; ALLATAIFEH, N.; TURK, M.A.A.; TAWAHA, A.A.M. Seed germination and dormancy of fresh and air-dried seeds of common vetch (*Vicia sativa* L.) harvested at different stages of maturity. **Seed Science and Technology**, v. 32, n. 1, p. 11-19, 2004.

SANTARÉM, E.R.; AQUILA, M.E.A. Influência de métodos de superação de dormência e do armazenamento na germinação de sementes de *Senna macranthera* (Colladon) Irwin & Barney (Leguminosae). **Revista Brasileira de Sementes**, v. 17, n. 2, p. 205-209, 1995.

SANTIN, J.A.; REIS, E.M.; MATSUMURA, A.T.S.; MORAES, M.G. Efeito do retardamento da colheita de milho na incidência de grãos ardidos e de fungos patogênicos. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 3, n. 2, p. 182-192, 2004.

SANTOS, J.B.; FERREIRA, E.A.; SILVA, A.A.; SILVA, F.M.; SANTOS, E.A.; FERREIRA, L.R. Avaliação do carfentrazone-ethyl como dessecante em pré-colheita de sementes de feijão. **Revista Ceres**, v. 52, n. 304, p. 831-843, 2005.

SANTOS, A.P.S.A.; SILVA, B.T.F.; RIBEIRO, D.L.; BARROQUEIRO, E.S.B.; CARTAGENES, E.S.B.; NUNES, S.; SILVA, S.N.; NUNES, S.P.H. **Bioquímica**

prática: protocolos para análise de biomoléculas e exercícios complementares. Maranhão: UFMA, 2013. 93 p.

SEGATO, S.V.; PENARIOL, A.L. A cultura do amendoim em áreas de reforma de canavial. In: SEGATO, S.V.; FERNANDES, C.; SENE PINTO, A. **Expansão e Renovação de Canavial**. Piracicaba: Editora CP 2, 2007, p 85-116.

SEILER, A. Galaktomannanabbau in keimenden Johannisbrotsamen (*Ceratonia siliqua* L.) **Planta**, v. 134, n. 3, p. 209-221, 1977.

SENO, M.S., GOMES, L. CORTELAZZO, A.L. Caracterização do material de reserva em feijão-guandu. **Brasileira**, v. 55, n. 1, p. 57-65, 1996.

SEVERINO, F.J.; CRISTOFFOLETI, P.J. Efeitos de quantidades de fitomassa de adubos verdes na supressão de plantas daninhas. **Planta Daninha**, v. 19, n. 2, p. 223-228, 2001.

SHARMA, S.; GULERIA, S.; GILL, B.S.; MUNSHISK, S.K. Lipid accumulation in developing soybean: influence of seed position on stem axis. **Genetics and Plant Physiology**, v. 1, n. 1-2, p. 56-67, 2011.

SHUTOV, A.D.; BAUMLEIN, H.; BLATTNER, F.R.; MUNTZ, K. Storage and mobilization as antagonistic functional constraints on seed storage globulin evolution. **Journal of Experimental Botany**, v. 54, n. 388, p.1645 - 1654, 2003.

SILVA, E.C.; MURAOKA, T.; VILLANUEVA, F.C.A.; ESPINAL, F.S.C. Aproveitamento de nitrogênio pelo milho, em razão da adubação verde, nitrogenada e fosfatada. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 44, n. 2, p. 118-127, 2009.

SILVA, M.F.; GOLDMAN, G.H.; MAGALHÃES, F.M.; MOREIRA, F.W. Germinação natural de 10 espécies arbóreas da Amazônia. **Acta Amazônica**, v. 18, n. 1/2, p. 9-26, 1988.

SILVA, P.A.; DINIZ, K.A.; OLIVEIRA, J.A.; VON PINHO, E.V.R. Análise fisiológica e ultra-estrutural durante o desenvolvimento e a secagem de sementes de soja. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 29, n. 2, p. 15-22, 2007.

SILVEIRA, C.E.S.; AMARAL, L.I.V. Parede celular vegetal. **Revista Universa da Universidade Católica de Brasília**, v. 8, n.1, p. 65-100, 2000.

SMIDERLE, O.J.; PEREIRA, P.R.V.S. Épocas de colheita e qualidade fisiológica das sementes de arroz irrigado cultivar BRS 7 TAIM, em Roraima. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 30, n. 1, p.74-80, 2008.

SMITH, M.T.; BERJAK, P. Deteriorative changes associate with the loss of viability of stored desiccation-tolerant and desiccation-sensitive seeds. In: KIGEL, J.D.; GALILI, G. (Eds). **Seed development and germination**. New York: Marcel Dekker, 1995. p. 701-746.

SOUZA, T.V.; VOLTOLINI, C.H.; SANTOS, M.; PAULILO M.T.S. Water absorption and dormancy-breaking requirements of physically dormant seeds of *Schizolobium parahyba* (Fabaceae – Caesalpinioideae). **Seed Science Research**, v. 22, n. 3, p. 169-176, 2012.

STONE, S.L.; GIFFORD, D.J. Structural and biochemical changes in loblolly pine (*Pinus taeda* L.) seeds during germination and early-seedling grown. I. Storage protein reserves. **International Journal of Plant Science**, v. 158, n. 6, p. 727-737, 1997.

SUÁREZ, G.R.; ENGLEMAN, E.M. Depósito de taninos en la testa de *Amaranthus hypochondriacus* L. (alegría). **Agrociencia**, v. 42, n. 1, p. 35-50, 1980.

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

TEKRONY, D.M.; EGLI D.B. Accumulation of seed vigour during development and maturation. In: ELLIS, R.H.; BLACK, M.; MURDOCH, A.J.; HONG, T.D. (Eds). **Basic and applied aspects of seed biology**. Boston: Kluwer Academic Publishers, 1997. p.369-384.

TERASAWA, J.M.; PANOBIANCO, M.; POSSAMAI, E.; KOEHLER, H.S. Antecipação da colheita na qualidade fisiológica de sementes de soja. **Bragantia**, v. 68, n. 3, p. 765-773, 2009.

VEIGA, A.D.; ROSA, S.D.V.F.; SILVA, P.A., OLIVEIRA, J.A.; ALVIM, P.O., DINIZ, K.A. Tolerância de sementes de soja à dessecação. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 31, n. 3, p. 773-780, 2007.

VENZON, M.; ROSADO, M.C.; EUZÉBIO, D.E.; SOUZA, B.; SCHOEREDER, J.H. Suitability of leguminous cover crop pollens as food source for the green lacewing *Chrysoperla externa* (Hagen) (Neuroptera: Chrysopidae). **Neotropical Entomology**, v. 35, n. 3, p. 371-376, 2006.

VIDAL, B.C. Dichroism in collagen bundles stained with xylidine ponceau 2R, **Annales Histochimie**, v. 15, n. 4, p. 289-296, 1970.

VIANELLO, R.L.; ALVES, A.R. **Meteorologia básica e aplicações**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 1991. 448 p.

VIDIGAL, D.S.; DIAS, D.C.F.S.; DIAS, L.A.S.; FINGER, F.L. Changes in seed quality during fruit maturation of sweet pepper. **Scientia Agricola**, v. 68, n. 5, p. 535-539, 2011.

VIEIRA, R.D.; VIEIRA, R.V.; CARVALHO, N.M.; NUNES, O.L.G.S. Maturação de sementes de guandu (*Cajanus cajan* (L.) Millsp.), labe-labe (*Dolichos lablab* L.) e mucuna-preta (*Stylobium atterrimum* Piper & Tracy). **Científica**, v. 16, n. 1, p. 125-131, 1988.

WALTERS, C.; BERJAK, P.; PAMMENTER, N.; KENNEDY, K.; RAVEN, P. Preservation of recalcitrant seeds. **Science**, v. 339, n. 6122, p. 915-916, 2013.

WANG, K.H.; SIPES, B.S.; SCHMITT, D.P. Crotalaria as a cover crop for nematode management: a review. **Nematropica**, v. 32, n. 1, p. 35-57, 2002.

WEBER, H.; SREENIVASULU, N.; WESCHKE, W. Molecular physiology of seed maturation and seed storage protein biosynthesis. In: PUA, E.C.; DAVEY, M.R. (Eds.) **Plant Developmental Biology: Biotechnological Perspectives**. Berlin, Heidelberg: Springer, v. 2, 2010. p. 83-104.

WERKER, E. **Seed anatomy**. Berlin, Stuttgart: Gebruder Borntraeger, 1997. 424 p.

WILCOX, J.R.; CAVINES, J.F. Normal and low linolenic acid soybean strains: response to planting date. **Crop Science**, v. 32, n. 5, p. 1248-1251, 1992.

WILLIS, C.G.; BASKIN, C.C.; BASKIN, J.M.; AULD, J.R.; VENABLE, D.L.; CAVENDER-BARES, J.; DONOHUE, K.; CASAS, R.R. The evolution of seed dormancy: environmental cues, evolutionary hubs, and diversification of the seed plants. **New Phytologist**, v. 203, n. 1, p. 300-309, 2014.

WUTKE, E.B.; CALEGARI, A. WILDNER, L.P. Espécies de adubos verdes e plantas de cobertura e recomendações para seu uso. In: LIMA FILHO, O.F.; AMBROSANO, E.J.; ROSSI, F.; CARLOS, J.A.D. (Eds.) **Adubação verde e plantas de cobertura no Brasil: Fundamentos e práticas**. Brasília: Embrapa, 2014. p. 61-167.

WUTKE, E.B.; MAEDA, J.A.; PIO, R.M. Superação da dormência de sementes de mucuna-preta pela utilização de “calor seco”. *Scientia Agricola*, v. 52, n. 3, p. 482-490, 1995.

YAP, S.K.; WONG, S.M. Seed biology of *Acacia mangium*, *Albizia falcataria*, *Eucalyptus* sp., *Gmelina arborea*, *Malsopsis eminiis*, *Pinus caribaea* and *Tectona grandis*. **The Malaysian Forester**, v. 6, n. 1, p. 16-45, 1983.

YEDEGARI, R.; GOLDBERG, R.B. Embryogenesis in dicotyledonous plants. In: LARKINS, B.A.; VASIL, I.K. (Eds.). **Cellular and molecular biology of plant seed development**, Dordrecht: Kluwer Press, 1997. p. 3-52.

ZANAKIS, G.N.; ELLIS, R.H.; SUMMERFIELD, R.J. Seed quality in relation to seed development in three genotypes of soybean (*Glycine max*). **Experimental Agriculture**, v. 30, n. 2, p. 139-156, 1994.

ZEEMAN, S.C; KOSSMANN, J.; SMITH, A.M. Starch: Its metabolism, evolution and biotechnological modification in plants. **Annual Review Plant Biology**, v. 61, p. 209-234, 2010.