

**ANA CLARA REIS TRANCOSO**

**ALTERAÇÕES FISIOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS E POTENCIAL DE  
ARMAZENAMENTO DE SEMENTES DE GRÃO-DE-BICO (*Cicer arietinum* 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*.

Orientadora: Denise Cunha F. dos Santos Dias

**VIÇOSA - MINAS GERAIS  
2023**

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

T

Trancoso, Ana Clara Reis, 1991-  
T772a Alterações fisiológicas e bioquímicas e potencial de  
2023 armazenamento de sementes de grão-de-bico (*Cicer arietinum*  
L.) colhidas em diferentes estádios de maturação / Ana Clara  
Reis Trancoso. – Viçosa, MG, 2023.  
1 dissertação eletrônica (60 f.): il. (algumas color.).

Orientador: Denise Cunha Fernandes dos Santos Dias.  
Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa,  
Departamento de Agronomia, 2023.

Referências bibliográficas: f. 54-60.

DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2023.302>

Modo de acesso: World Wide Web.

1. Grão-de-bico. 2. Sementes - Fisiologia. 3. Sementes -  
Armazenamento. 4. Sementes - Qualidade. I. Dias, Denise  
Cunha Fernandes dos Santos, 1958-. II. Universidade Federal de  
Viçosa. Departamento de Agronomia. Programa de  
Pós-Graduação em Fitotecnia. III. Título.

CDD 22. ed. 635.657


**ANA CLARA REIS TRANCOSO**

**ALTERAÇÕES FISIOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS E POTENCIAL DE  
ARMAZENAMENTO DE SEMENTES DE GRÃO-DE-BICO (*Cicer arietinum* 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: 01 de março de 2023.

Assentimento:

Documento assinado digitalmente  
 ANA CLARA REIS TRANCOSO  
Data: 19/05/2023 11:14:40-0300  
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

---

Ana Clara Reis Trancoso  
Autora

Documento assinado digitalmente  
 DENISE CUNHA FERNANDES DOS SANTOS  
Data: 23/05/2023 10:20:21-0300  
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

---

Denise Cunha Fernandes dos Santos Dias  
Orientadora

*Aos meus pais e querido esposo.*

## AGRADECIMENTOS

A Deus que sempre cuidou de mim, me deu força e sabedoria para concluir esse desafio.

Aos meus pais, Ildiomar e Alcimar, pelo amor incondicional e apoio em todos os momentos. Aos meus irmãos, Anne Caroline, Ana Luiza e Jeferson Ronaldo, por todo carinho e conversas de incentivo. Aos meus sobrinhos Eduardo Gabriel, Samuel e Anna Beatriz, por trazerem alegria aos meus dias. Ao meu cunhado Diego Macedo, por todo incentivo e palavra amiga.

Ao meu amigo e companheiro de vida, Rubens Alves da Silva Júnior, pela ajuda e paciência, por sempre estar comigo e por deixar a caminhada mais simples, leve e alegre.

À Universidade Federal de Viçosa e ao Departamento de Fitotecnia, pela oportunidade de fazer o doutorado.

À professora Dra. Denise Cunha Fernandes dos Santos Dias, pelo exemplo, orientação, apoio e confiança.

Aos meus coorientadores professor Dr. Laércio Junio da Silva e Dr. Warley Marcos Nascimento, pelo auxílio para a construção desta tese.

À Rafaela, João Paulo e Joyce (grupo do grão-de-bico), pela amizade, ajuda e motivação diária.

Aos colegas do Grupo de Estudos em Sementes - GSEM, por toda ajuda e incentivo.

Aos funcionários da Horta Nova, pela ajuda durante a fase de campo.

À Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA, Unidade Descentralizada Hortaliças, pelo apoio material e científico.

À Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais – EPAMIG Sudeste, pela disponibilização de material para realização da pesquisa.

Aos colegas e funcionários do Laboratório de pós-colheita e Laboratório de Sementes Florestais, por todo apoio.

A todos que direta ou indiretamente fizeram parte da construção da minha tese, o meu muito obrigada.

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

## RESUMO

TRANCOSO, Ana Clara Reis, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, março de 2023. **Alterações fisiológicas e bioquímicas e potencial de armazenamento de sementes de grão-de-bico (*Cicer arietinum* L.) colhidas em diferentes estádios de maturação.** Orientadora: Denise Cunha Fernandes dos Santos Dias.

A produção de grão-de-bico (*Cicer arietinum* L.) no Brasil vem aumentando a cada ano, visando tanto o consumo interno como a possibilidade de exportação para países consumidores. Neste contexto, a disponibilidade de sementes de alta qualidade no mercado é fundamental. Um dos fatores que influencia a qualidade das sementes está relacionado à época de colheita e à longevidade no armazenamento. Assim, objetivou-se com o estudo avaliar as alterações fisiológicas e bioquímicas, assim como o potencial de armazenamento de sementes de grão-de-bico colhidas em diferentes estádios de maturação. Sementes de grão-de-bico, cv. BRS Aleppo, foram produzidas em campo experimental do DAA/UFV durante o período de abril a setembro de 2020. A colheita das sementes foi realizada com base nos estádios fenológicos das plantas: R11, R11.5, R12 e R12+7 (50%, 75%, 90% das vagens com coloração amarelo-dourada e 7 dias após R12, respectivamente). Após a colheita e debulha manual, as sementes foram secas naturalmente até 12% de umidade, acondicionadas em sacos de papel e armazenadas por 0, 3, 6 e 9 meses em ambiente com temperatura de  $23 \pm 1,8$  °C e 66% de UR. Após cada período de armazenamento, foram realizados os seguintes testes: germinação, envelhecimento acelerado com solução salina, emergência de plântulas, índice de velocidade de emergência, condutividade elétrica, tetrazólio, atividade das enzimas antioxidativas SOD, APX e CAT e teor de proteína. Todos estes testes foram conduzidos em DIC, em esquema de parcelas subdivididas, com quatro repetições, sendo as quatro épocas de colheita alocadas nas parcelas e os quatro períodos de armazenamentos nas subparcelas. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias obtidas para épocas de colheita foram comparadas pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ). Para os dados referentes aos períodos de armazenamento, foi realizada a análise de regressão polinomial. Foi realizada ainda a análise multivariada de componentes principais. Sementes de grão-de-bico com maior qualidade fisiológica e potencial de armazenamento foram obtidas quando a colheita foi realizada nos estádios R11.5 e R12, equivalendo a 75% e 90% das vagens com coloração amarelo-dourada, respectivamente. Sementes de menor vigor, menor potencial de armazenamento e menor atividade das enzimas APX e CAT foram obtidas quando a colheita foi realizada em R12+7

dias. O armazenamento por nove meses reduz a germinação, o vigor e o teor de proteínas das sementes independente da época de colheita.

Palavras-chave: Pulses. Longevidade. Qualidade Fisiológica.

## ABSTRACT

TRANCOSO, Ana Clara Reis, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, March, 2023 **Physiological and biochemical changes and storage potential of chickpea (*Cicer arietinum* L.) seeds harvested at different maturation stages.** Adviser: Denise Cunha Fernandes dos Santos Dias.

Chickpeas (*Cicer arietinum* L.) production in Brazil has been increasing, aiming both domestic consumption and exporting possibility to consumer countries. Therefore, the availability of high-quality seeds in the market is essential. One of the factors that influence seed quality is related to harvest time and seed longevity during storage time. Thus, the objectives of this study were to evaluate the physiological and biochemical changes and the storage potential of chickpea seeds harvested at different times. Chickpea seeds, cv. BRS Aleppo, were produced in an experimental field at DAA/UFV from April to September 2020. The harvest time was based on the phenological stages of the plants: R11, R11.5, R12 and R12+7 (50%, 75%, 90% of the pods with golden yellow colors and seven days after R12, respectively). After harvesting and manual threshing, the seeds were naturally dried to 12% moisture, packed in paper bags and stored for 0, 3, 6 and 9 months in an environment with a temperature of  $23 \pm 1.8$  °C and 66% RH. After each storage period, the following tests were performed: germination, accelerated aging (saturated saline solution), seedling emergence, emergence speed index, electrical conductivity, tetrazolium, activity of antioxidative enzymes SOD, APX and CAT and protein content. These tests were conducted in DIC, in a split-plot scheme, with four replications, with the four harvest times allocated in the plots and the four processing periods in the subplots. Data were submitted to analysis of variance, and the means obtained for harvesting times were compared by Tukey's test ( $P < 0.05$ ). For data referring to storage periods, polynomial regression analysis was performed. A multivariate analysis of principal components was also performed. Chickpea seeds with higher physiological quality and storage potential were obtained when seed were harvested at the R11.5 and R12 stages, equivalent to 75% and 90% of the pods with a golden yellow color, respectively. Seeds with lower vigor, lower storage potential and lower activity of the APX and CAT enzymes were obtained when seeds were harvested in R12+7. Storage for nine months reduces seed germination, vigor and protein content regardless of harvest time.

Keywords: Pulses. Longevity. Physiological Quality.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Área experimental conduzida na UEPE Horta Nova do Departamento de Agronomia da UFV, situada no distrito de São José do Triunfo, em Viçosa – MG. Imagem: TRANCOSO, A.C.R. .... 19
- Figura 2.** Característica visual das plantas de grão-de-bico em campo no momento da colheita em cada um dos estádios reprodutivos. A - R11, 50% das vagens com coloração amarelo-dourada. B - R11.5, 75% das vagens com coloração amarelo-dourada. C - R12, 90% das vagens fisiologicamente maduras e com coloração amarelo-dourado. D - R12+7, sete dias após o campo atingir R12. Imagem: TRANCOSO, A.C.R. .... 20
- Figura 3.** Dados meteorológicos do município de Viçosa-MG durante o período de pré-colheita (06/04/2020 a 06/08/2020) (A) e no período de colheita (07/08/2020 a 04/09/2020) (B). Setas: datas em que cada colheita foi realizada. Precipitação total diária (mm), temperatura máxima e mínima diária (°C) e umidade relativa do ar máxima e mínima diária (UR%). Fonte: Estação Meteorológica 86824 localizada em Viçosa-MG. INMET (2020). ... 21
- Figura 4.** Padrão de plântulas normais (A) e anormais (B) adotados na avaliação do teste de germinação. Imagem: TRANCOSO, A.C.R. .... 23
- Figura 5.** Classificação das sementes para categorização da viabilidade e vigor. A - Classe 1, semente com todas estruturas do embrião intactas e coloração superficial uniforme. B - Classe 2, pequenos danos superficiais, localizados na superfície externas dos cotilédones e pequenos danos superficiais na região interna. Setas: danos externo e interno no cotilédone. C - Classe 3, danos mais extensos, danos que atingem o córtex, sem atingirem o cilindro central, estrias profundas externas e internas ao cotilédone e região vascular. Setas: dano interno ao cotilédone e no córtex. D - Classe 4, tecidos flácidos com pequenas manchas vermelho-carmin ou tecido branco leitoso. Danos que atingem o cilindro central e que comprometem o desenvolvimento normal da plântula. Setas: danos no cilindro central com coloração vermelho-carmin e região branca leitosa no eixo embrionário. E - Classe 5, semente morta. Escala: 1 cm. Imagem: TRANCOSO, A.C.R. .... 25
- Figura 6.** Grau de umidade (A) e matéria seca (B) de sementes de grão-de-bico colhidas em diferentes épocas. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ). .... 29
- Figura 7.** Grau de umidade após a secagem das sementes de grão-de-bico colhidas em diferentes épocas (R11, R11.5, R12 e R12+7) e armazenadas por 0, 3, 6 e 9 meses. .... 30
- Figura 8.** Germinação (A e B), envelhecimento acelerado (C e D) e condutividade elétrica (E e F) de sementes de grão-de-bico colhidas em diferentes épocas (R11, R11.5, R12 e R12+7) e armazenadas por 0, 3, 6 e 9 meses. Médias com letras iguais não diferem pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ) e comparam as épocas de colheita em cada tempo de armazenamento. .... 35
- Figura 9.** Emergência de plântulas (A e B) e índice de velocidade de emergência (C e D) de sementes de grão-de-bico colhidas em diferentes épocas (R11, R11.5, R12 e R12+7) e armazenadas por 0, 3, 6 e 9 meses. Médias com letras iguais não diferem pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ) e comparam as épocas de colheita em cada tempo de armazenamento. .... 38

**Figura 10.** Viabilidade, vigor e dano de deterioração por umidade em sementes de grão-de-bico colhidas em diferentes épocas (R11, R11.5, R12 e R12+7) e armazenadas por 0, 3, 6 e 9 meses. Médias com letras iguais não diferem pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ) e comparam as épocas de colheita em cada tempo de armazenamento.....41

**Figura 11.** Visão externa e interna do dano de deterioração por umidade em sementes de grão-de-bico. A - Visão externa do dano em formato de faixa simétrica com coloração branco leitosa e vermelho-carmim no eixo embrionário. B - Lesões simétricas com coloração branco leitosa na região externa dos cotilédones. C - Faixa simétrica nos cotilédones na região oposta ao hilo, com coloração branco leitosa. D - Estrias simétricas no eixo embrionário com coloração vermelho-carmin. Escala: 1 cm. Imagem: TRANCOSO, A.C.R.....44

**Figura 12.** Atividade das enzimas Superóxido Dismutase, Peroxidase do Ascorbáto e Catalase em sementes de grão-de-bico, obtidas em diferentes épocas de colheita e armazenadas por 0, 3, 6 e 9 meses. Médias com letras iguais não diferem pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ) e comparam as épocas de colheita em cada tempo de armazenamento. NS – não significativo. ....49

**Figura 13.** Conteúdo de proteína em sementes de grão-de-bico, obtidas em diferentes épocas de colheita e armazenadas por 0, 3, 6 e 9 meses. Médias com letras iguais não diferem pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ) e comparam as épocas de colheita em cada tempo de armazenamento.....51

**Figura 14.** Biplot da análise de componentes principais (PCA) obtidos pela combinação das variáveis relacionadas ao potencial fisiológico das sementes de grão-de-bico, colhidas em diferentes épocas e armazenadas por nove meses. Dim1: Componente principal 1; Dim2: Componente principal 2. ....52

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	11
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	17
ETAPA I.....	18
ETAPA II.....	22
Grau de umidade.....	22
Matéria seca de semente.....	22
Germinação.....	23
Envelhecimento acelerado com solução salina.....	23
Emergência de plântulas.....	24
Índice de velocidade de emergência.....	24
Condutividade elétrica.....	24
Tetrazólio.....	24
Atividade de enzimas antioxidativas e quantificação de proteína.....	25
Preparo do extrato enzimático.....	26
Superóxido dismutase (SOD).....	26
Peroxidase do ascorbato (APX).....	26
Catalase (CAT).....	27
Proteína.....	27
Delineamento experimental e análise estatística.....	27
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	28
4. CONCLUSÕES.....	53
REFERÊNCIAS.....	54

## 1. INTRODUÇÃO

O grão-de-bico (*Cicer arietinum* L.) é uma das espécies mais cultivadas do mundo, com uma produção global de 15,1 milhões de toneladas, movimentando cerca de US\$2,5 bilhões de dólares em volume de comércio no ano de 2020 (FAO, 2020). Os principais países produtores são Índia (11,08 milhões de toneladas), Turquia (630 mil toneladas), Paquistão (497 mil toneladas) e Mianmar (481 mil toneladas) (FAO, 2020; SWAMY; RAJA; WESLEY, 2020).

O grão-de-bico é classificado como uma pulse, grupo de leguminosas de sementes secas comestíveis, tais como feijões, ervilha e lentilha. É considerado um superalimento, devido à sua composição nutricional, que proporciona vários benefícios à saúde humana. Além de ser uma excelente fonte de proteínas, apresentando cerca de 20 a 25%, é rico em vitamina A e do complexo B, fibras e minerais como cálcio, fósforo e ferro. É rico em triptofano, aminoácido essencial responsável pela produção de serotonina, substância que promove sensação de bem-estar e saciedade, regulando sono, humor e apetite. Essa leguminosa tem papel importante na segurança alimentar da população mundial por ser base alimentar na dieta de vários países em desenvolvimento, principalmente onde predomina vegetariana, como a Índia (BOUKID *et al.*, 2019; MERGA; HAJI, 2019).

No Brasil, a demanda por grão-de-bico vem crescendo, o que pode ser atribuído tanto ao aumento de adeptos à dieta vegetariana e vegana, que representa 14% da população (cerca de 30 milhões de brasileiros), quanto pela população em geral. Essa demanda crescente no país e no mundo está relacionada principalmente ao seu valor nutricional e à maior procura por alimentos à base de proteína vegetal, denominados “plant-based” com aparência, textura e sabor que se assemelham aos produtos feitos com proteína animal, como carnes, hamburger, e nuggets (GALDEANO *et al.*, 2022). No Brasil, este segmento “plant-based” cresceu 11% ao ano entre 2018 e 2020, e até 2025 a expectativa é que esse mercado atinja um valor de

US\$131,8 milhões de dólares (EUROMONITOR, 2020). Neste contexto, o grão-de-bico vem se destacando como matéria prima destes novos produtos, destacando-se também para a produção de farináceos sem glúten, o que é interessante para o público intolerante ou celíacos (SOUSA JÚNIOR; VERDE; LANDIM, 2021).

No entanto, para suprir a demanda interna do Brasil, são importadas anualmente cerca de 8 mil toneladas de grão-de-bico, gerando um custo em torno de US\$12 milhões de dólares. Assim, a produção desse grão surge como uma grande oportunidade para abastecer o mercado interno brasileiro e também com possibilidade de exportação, já que existe interesse de países árabes e asiáticos (NASCIMENTO; SILVA, 2019; IBOPE, 2020). Como não há cultivares transgênicas de grão-de-bico cultivadas no Brasil este é um aspecto relevante que pode favorecer a exportação, principalmente para países que exigem certificação não OGM.

Há dois principais tipos de grão-de-bico: o desi e o kabuli, que são diferenciados principalmente quanto ao tamanho, forma e cor da semente (EKER *et al.*, 2022). O tipo desi possui sementes menores, coloridas e protegidas por um tegumento espesso. Seu cultivo ocupa cerca de 80 - 85% de área de produção mundial e é cultivado principalmente no sul da Ásia, África Oriental e Austrália (GAUR; SAMINENI; CHIBBAR, 2015). Seu consumo é em principalmente na forma de farinhas e grãos partidos (GAUR *et al.*, 2010; MARGHEIM *et al.*, 2004; NASCIMENTO *et al.*, 2016).

O tipo kabuli apresenta sementes com tegumento fino, liso, coloração branca ou bege e formato de “cabeça de carneiro”. Geralmente esse tipo é mais valorizado no mercado, pois apresenta sementes de tamanho maior, o que eleva o seu preço. É principalmente cultivado no Mediterrâneo e Ásia (TOKER *et al.*, 2021), sendo consumido principalmente na forma de grãos inteiros (GAUR *et al.*, 2010; NASCIMENTO *et al.*, 2016; R.F.; VIEIRA; VIEIRA; VIEIRA, 2001). Esse tipo é o mais cultivado no Brasil, no entanto pesquisas vêm sendo conduzidas para a adaptação do tipo desi ao território nacional.

O grão de bico é considerado mais rústico em comparação com outras leguminosas, tem menor exigência em água, bem adaptado a climas secos e amenos, e apresenta baixa incidência de pragas e de doenças foliares. Além disso, é uma grande fixadora de nitrogênio atmosférico por meio de fixação simbiótica, melhorando a fertilidade do solo (ASADI et al., 2020; BRAGA; VIEIRA; VIEIRA, 1997; NASCIMENTO et al., 2016). Assim, vem atraindo a atenção das empresas do agronegócio, pois possui menor custo de produção, cerca de 40% quando comprado com o feijão, por exemplo. É uma interessante opção para diversificação de culturas, sendo indicado para o cultivo de inverno ou para a segunda safra de verão na região do Cerrado (NASCIMENTO et al., 2016). Outra alternativa é o uso em sistemas de Integração Lavoura-Pecuária-Floresta (ILPF), que pode ser aderido por agricultores familiares e médios produtores rurais (LOBATO, 2022).

Para a expansão da cultura e aumento da produção é primordial fornecer sementes de alta qualidade física, fisiológica, genética e sanitária. O uso de sementes de elevada qualidade é fundamental para uma rápida emergência de plântulas em campo, lavouras uniformes e alta produtividade. Um dos fatores que afeta a qualidade da semente é a realização da colheita na época adequada (NASCIMENTO; SILVA, 2019).

O processo de desenvolvimento e maturação das sementes ocorre a partir da fertilização do óvulo e envolve uma série de alterações físicas, fisiológicas, bioquímicas e moleculares que continuam até o momento em que as sementes estão prontas para a colheita (MARCOS-FILHO, 2015). Durante esse processo ocorrem alterações no grau de umidade, massa da matéria seca, tamanho, germinação e vigor das sementes. Na fase inicial desse processo, o teor de água das sementes é alto e o acúmulo de massa seca da semente aumenta gradativamente até atingir um valor máximo. Neste ponto a semente atinge a maturidade fisiológica, desligando-se fisiologicamente da planta mãe, não havendo mais translocação de fotoassimilados (MARCOS-FILHO, 2015). Paralelamente ao aumento da massa seca, ocorre

também aumento da germinação e do vigor, de modo que o máximo potencial fisiológico da semente ocorre próximo ao ponto de maturidade fisiológica (MARCOS-FILHO, 2015; TRANCOSO et al., 2021).

Assim, este seria hipoteticamente o ponto ideal para a colheita das sementes, para a maioria das espécies. No entanto, nesse momento as sementes apresentam alta umidade, cerca de 50%, além disso grande quantidade de folhas verdes, o que pode provocar danos na colheitadeira, dano por amassamento na semente, e dificuldade na secagem. Por outro lado, o retardamento da colheita a partir da maturidade fisiológica pode influenciar negativamente na qualidade da semente, já que essas permanecem “armazenadas” em campo e ficam expostas às intempéries, o que pode provocar deterioração e conseqüentemente perda de qualidade fisiológica e bioquímica (EBONE; CAVERZAN; CHAVARRIA, 2019; FIALHO *et al.*, 2022). Esse fator já foi evidenciado em estudo com épocas de semeadura e de colheita de sementes de grão-de-bico, em que Avelar et al. (2018) verificaram que com atraso no plantio pode ocorrer chuvas na colheita, comprometendo a qualidades de sementes. Em sementes de soja, após o atraso na colheita de 10 dias, foi observada redução na porcentagem e na velocidade de emergência de plântulas (ZUFFO *et al.*, 2017).

Dentre os desafios encontrados na produção de grão-de bico a desuniformidade na maturação de vagens e sementes pode ser considerado o principal. A desuniformidade de maturação é consequência do hábito indeterminado da cultura, com florescimento e maturação contínuos, o que possibilita serem encontradas em uma mesma planta, vagens verdes e maduras (SUBEDI; WILLENBORG; VANDENBERG, 2017). Isso dificulta as práticas de colheita, bem como a determinação da época ideal para a colheita das sementes, visando aliar alta produtividade com a obtenção de sementes de alta qualidade.

O estabelecimento de parâmetros, como características fisiológicas da planta, dos frutos/sementes e dias após a antese podem ser utilizados para auxiliar na caracterização da

maturidade fisiológica das sementes, e também para determinar o estágio de maturação em que a qualidade das sementes é máxima, permitindo a indicação do momento ideal de colheita (DIAS; NASCIMENTO, 2009). Em estudos com sementes de grão-de-bico valores máximos de germinação e vigor foram observados por Samarah e Abu-Yahya (2008) em sementes obtidas de vagens marrons. Ao avaliar as principais alterações que ocorrem durante o processo de maturação das sementes de grão-de-bico tendo como base a cor da vagem e os dias após a antese (DAA), Trancoso *et al.* (2021) observaram que sementes colhidas de vagens amarelas, amarela-douradas e marrons apresentaram maior germinação e vigor em relação às de vagens verdes e verde-amarelas. A cor da semente foi utilizada para determinar a melhor época da colheita de sementes de grão-de-bico (YADAV *et al.*, 2020). Os autores concluíram que para se obter sementes com alta germinação e vigor a colheita deve ser realizada quando 91% a 99% das sementes apresentarem uma coloração marrom, nesse momento as sementes apresentaram conteúdo máximo de matéria seca. Em grão-de-bico, o tamanho e o conteúdo de matéria seca das sementes foi máximo quando as vagens apresentavam coloração amarela, enquanto máxima qualidade fisiológica foi constatada em sementes obtidas de vagens com coloração amarela, amarelo dourado e marrom (TRANCOSO *et al.*, 2021).

Dessa maneira, a época de colheita das sementes é considerada uma fase crítica, pois tem efeito significativo no desempenho das sementes em campo e no seu potencial de armazenamento (VERGARA *et al.*, 2019). Durante o armazenamento, a viabilidade das sementes é reduzida devido aos processos de deterioração que ocorrem nesse período (SANO *et al.*, 2016). A deterioração de sementes é um processo degenerativo contínuo que tem início a partir da maturidade fisiológica e se estende até a perda completa da viabilidade das sementes. Trata-se de um processo natural e irreversível, mas que pode ser retardado mediante a adoção de tecnologias adequadas de manejo e conservação das sementes (MITTLER, 2017).

A deterioração é desencadeada por várias reações que danificam biomoléculas por meio de reações bioquímicas. Nesse contexto, a produção e acúmulo progressivo de espécies reativas de oxigênio (EROs), quando em níveis acima dos basais e em desequilíbrio com os mecanismos antioxidativos, caracterizam o estresse oxidativo (MITTLER, 2017). Dentre os principais danos estão a peroxidação e a degradação de lipídeos de membranas, oxidação de proteínas, danos a ácidos nucleicos (DNA e RNA), inibição enzimática e, em níveis mais elevados, a morte celular (EBONE; CAVERZAN; CHAVARRIA, 2019; JEEVAN KUMAR *et al.*, 2015). Com a deterioração, alguns processos bioquímicos podem ficar comprometidos afetando conseqüentemente a germinação e vigor das sementes como visto em sementes de grão-de-bico (ALMEIDA *et al.*, 1997; CHORMULE; BHATIYA; PATIL, 2015), feijão caupi (SMIDERLE *et al.*, 2017), soja (ALMEIDA *et al.*, 2010; PINHEIRO *et al.*, 2021) e crambe (CARDOSO; BINOTTI; CARDOSO, 2012).

A intensidade de danos celulares, causados pelos processos de deterioração, é determinada pela capacidade das sementes de eliminar as EROs via sistema enzimático ou não enzimático. O sistema enzimático antioxidativo é composto por diversas enzimas, destacando-se a superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), peroxidase de ascorbato (APX) e peroxidase (POX) (MITTLER, 2017). Estudos comprovam que a redução das atividades enzimáticas pode ser responsável pelo acúmulo de EROs, levando à perda de vigor das sementes (YIN *et al.*, 2014). Portanto, a avaliação das enzimas do sistema antioxidativo pode fornecer respostas essenciais quanto ao potencial fisiológico das sementes (PINHEIRO *et al.*, 2020). A redução na atividade dessas enzimas durante o processo de deterioração das sementes foi observada em sementes de algodão (GOEL; KUMAR GOEL; SHEORAN, 2003), arroz (YIN *et al.*, 2014), soja (ALI *et al.*, 2018; EBONE *et al.*, 2020; FIALHO *et al.*, 2022; USHA; DADLANI, 2016), feijão mungo verde (SHARMA *et al.*, 2019), girassol (MORAIS *et al.*, 2021) e pepino (AHMAD *et al.*, 2021).

A época de colheita das sementes é uma etapa crítica, que influencia sua qualidade logo após a colheita e também seu potencial de armazenamento. Então é importante fazer essa avaliação, já que o período de colheita das sementes não coincide com a janela de plantio, necessitando assim de armazenar essas sementes. Alguns estudos mostram que a qualidade da semente de grão-de-bico cai drasticamente durante o armazenamento (ALMEIDA *et al.*, 1997; CHORMULE; BHATIYA; PATIL, 2015). Estudos que relacionam época de colheita e potencial de armazenamento de sementes de grão-de-bico são escassos, porém tais informações são importantes para se obter sementes com elevada germinação, vigor e capacidade de armazenamento.

Assim, o objetivo desse trabalho foi avaliar as alterações fisiológicas e bioquímicas, assim como o potencial de armazenamento de sementes de grão-de-bico colhidas em diferentes estádios de maturação.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

O trabalho foi dividido em duas etapas. A primeira consistiu no experimento de campo conduzido na Unidade de Ensino, Pesquisa e Extensão Horta Nova (UEPE Horta Nova) do Departamento de Agronomia da Universidade Federal de Viçosa (UFV), situada no distrito de São José do Triunfo, em Viçosa – MG, coordenadas geográficas 20° 45' de latitude Sul e 42° 51' de longitude Oeste. Conforme a classificação climática de Köppen, o clima regional é do tipo Cwb, mesotérmico úmido com verões chuvosos e invernos secos (VIANELLO; ALVES, 1991). A segunda etapa consistiu da análise da qualidade fisiológica e bioquímica das sementes conduzida no Laboratório de Pesquisa de Sementes do Departamento de Agronomia da UFV e no Laboratório de Sementes Florestais do Departamento de Engenharia Florestal.

## ETAPA I

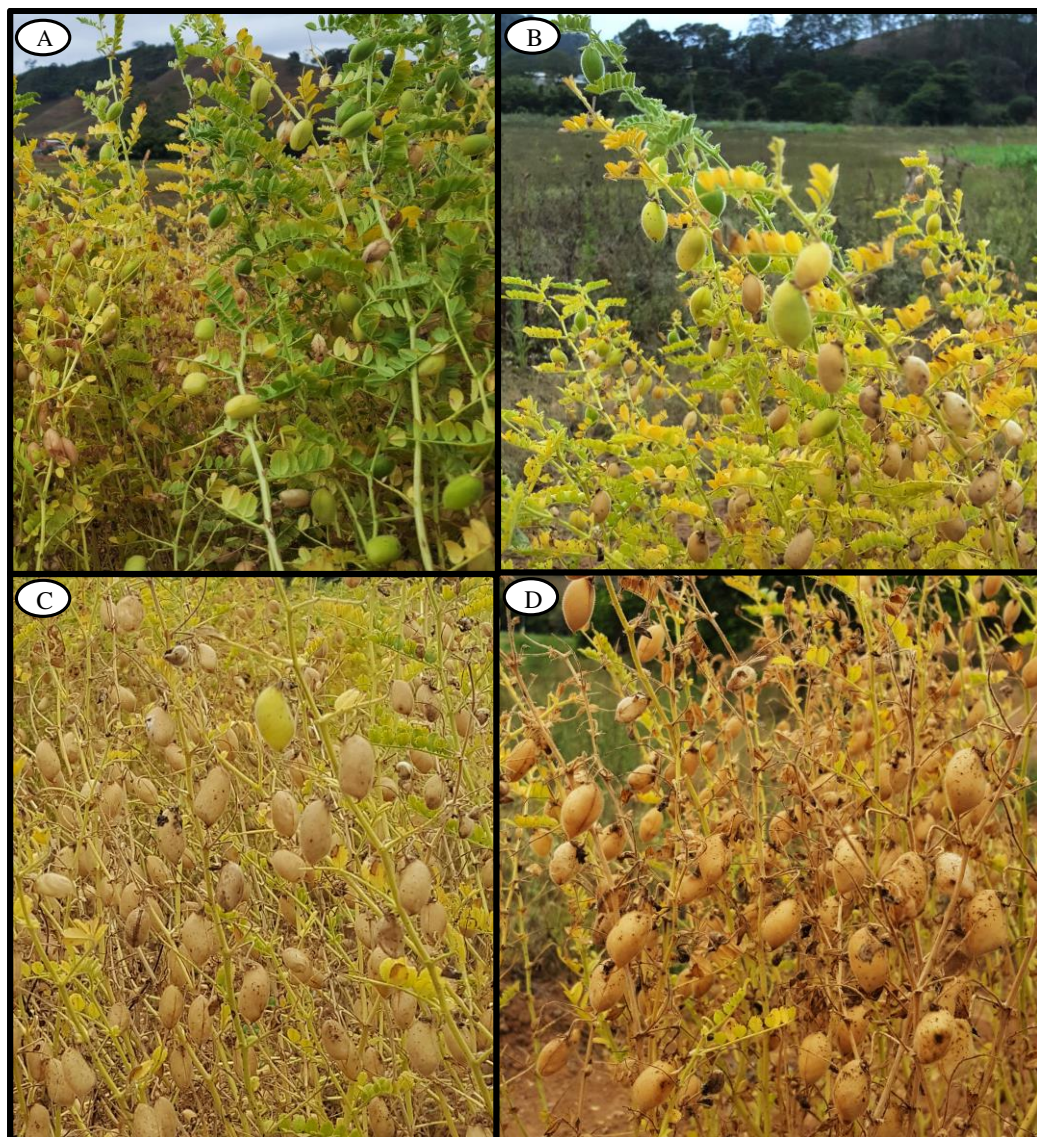
Para a implantação do experimento em campo foram utilizadas sementes básicas de grão-de-bico do cultivar BRS Aleppo fornecidas pela EMBRAPA Hortaliças. O delineamento experimental utilizado foi em blocos casualizados com quatro repetições. As parcelas experimentais apresentavam área total de 36 m<sup>2</sup> (6 m x 6 m), espaçamento entre linhas de 0,50 m e com área útil de 21 m<sup>2</sup>. Após o preparo do solo, a semeadura foi realizada em 06 de abril de 2020, sendo as sementes distribuídas manualmente, colocando-se 10 sementes por metro linear, objetivando-se uma população final equivalente a 200.000 plantas por hectare (NASCIMENTO *et al.*, 2016). Antes da semeadura, as sementes foram tratadas com o fungicida Protreat<sup>®</sup>, utilizando-se a dose de 200 mL 100<sup>-1</sup> Kg de sementes. A adubação de plantio foi realizada conforme resultados da análise de solo e os tratos culturais foram realizados conforme recomendações para cultura (NASCIMENTO *et al.*, 2016). A Figura 1 representa a área experimental para condução da etapa 1.



**Figura 1.** Área experimental conduzida na UEPE Horta Nova do Departamento de Agronomia da UFV, situada no distrito de São José do Triunfo, em Viçosa – MG. Imagem: TRANCOSO, A.C.R.

Os tratamentos referentes às épocas de colheita foram estabelecidos com base na fenologia da planta de grão-de-bico, seguindo classificação descrita por GRDC (2017), que quantifica a porcentagem de vagens maduras na planta. Assim, foram feitas quatro colheitas nos seguintes estádios fenológicos de reprodução: R11 – estágio em que 50% das vagens apresentam coloração amarelo-dourada - colheitas realizadas no dia 07 agosto de 2020; R11.5 – quando 75% das vagens estão com coloração amarelo-dourada - colheitas feitas nos dias 07, 13 e 19 de agosto de 2020; R12 – quando 90% das vagens estão fisiologicamente maduras e apresentam coloração amarelo-dourado - colheitas nos dias 13 e 19 de agosto de 2020; R12+7 – colheita feita após sete dias do campo atingir R12 - sementes colhidas nos dias 26 de agosto

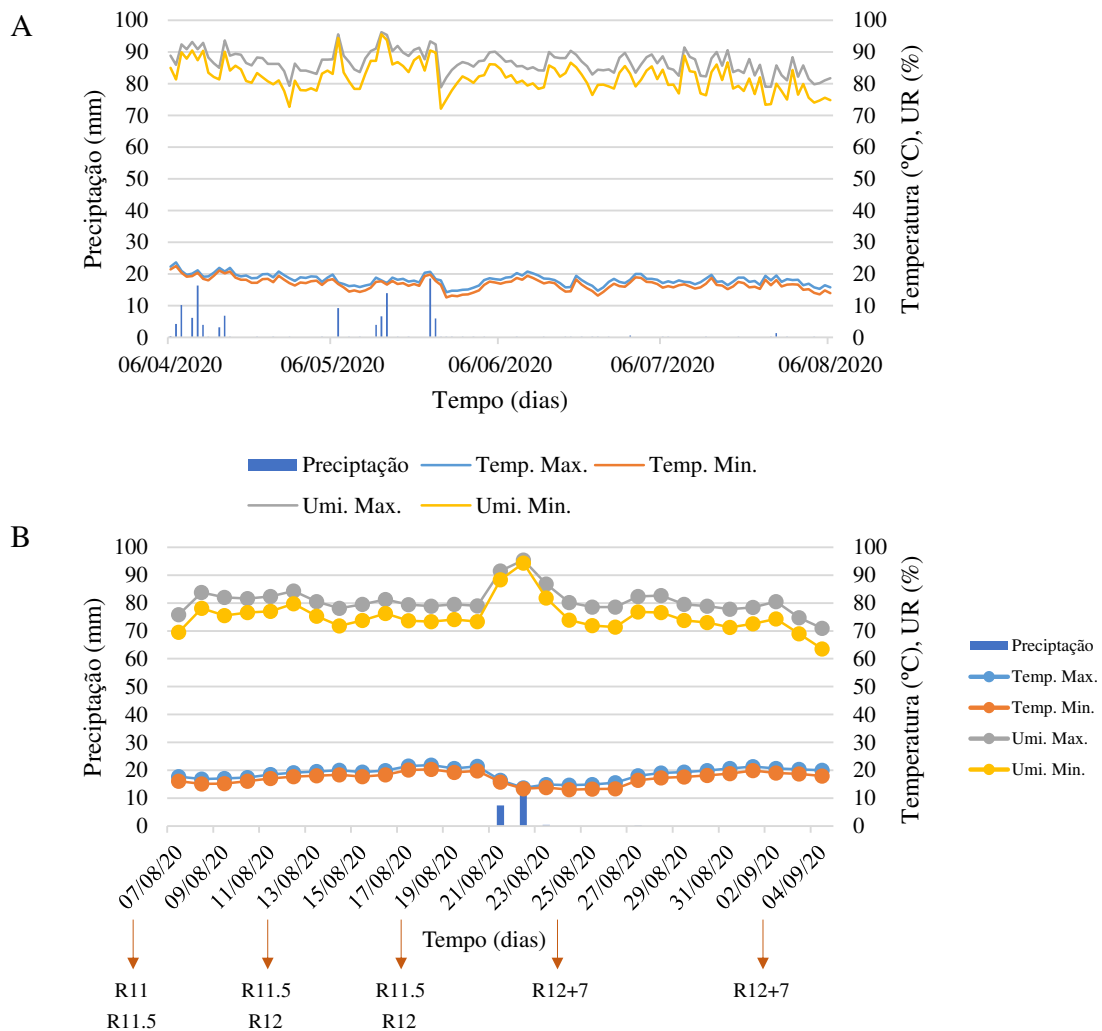
e 04 de setembro de 2020. O aspecto visual das plantas no momento da colheita está apresentado na Figura 2.



**Figura 2.** Característica visual das plantas de grão-de-bico em campo no momento da colheita em cada um dos estádios reprodutivos. A - R11, 50% das vagens com coloração amarelo-dourada. B - R11.5, 75% das vagens com coloração amarelo-dourada. C - R12, 90% das vagens fisiologicamente maduras e com coloração amarelo-dourado. D - R12+7, sete dias após o campo atingir R12. Imagem: TRANCOSO, A.C.R.

Amostragens do campo foram feitas para determinar o estágio de desenvolvimento em que as plantas de cada parcela se encontravam (FEHR; CAVINESS, 1997). Para isso, doze plantas por parcela foram avaliadas visualmente para se obter o estágio médio em que aquela

parcela se encontrava. Assim, as parcelas foram colhidas em cada época estabelecida após a amostragem. No momento da colheita para cada estágio, coletou-se uma amostra de sementes para a determinação do seu grau de umidade. As plantas foram colhidas manualmente na área útil em cada estágio entre os dias 07 de agosto e 04 de setembro de 2020. Em seguida, foram devidamente etiquetadas e mantidas em um galpão à sombra para retirada das vagens, que foram debulhadas manualmente. Os dados climáticos diários referentes ao período entre a semeadura e as colheitas estão apresentados na Figura 3.



**Figura 3.** Dados meteorológicos do município de Viçosa-MG durante o período de pré-colheita (06/04/2020 a 06/08/2020) (A) e no período de colheita (07/08/2020 a 04/09/2020) (B). Setas: datas em que cada colheita foi realizada. Precipitação total diária (mm), temperatura máxima e mínima diária (°C) e umidade relativa do ar máxima e mínima diária (UR%). Fonte: Estação Meteorológica 86824 localizada em Viçosa-MG. INMET (2020).

As sementes de cada tratamento foram mantidas em condição ambiente de laboratório até atingirem grau de umidade próximo de 12%. No Laboratório de Sementes do DAA/UFV, foi realizada uma limpeza manual para retirada de impurezas e as sementes foram classificadas em peneiras de crivos circulares para uniformização do tamanho antes da realização dos testes de avaliação da qualidade, sendo eliminadas as sementes com diâmetro inferior a 5 mm. Em seguida, as sementes foram acondicionadas em saco de papel Kraft e armazenadas por 3, 6 e 9 meses sob condição de ambiente de laboratório. O monitoramento da temperatura e da umidade relativa do ar foi registrado durante todo período de armazenamento, por meio de um termohigrógrafo, sendo a temperatura  $23,0 \pm 1,8^{\circ}\text{C}$  e a umidade relativa do ar  $66,1 \pm 6,1\%$ .

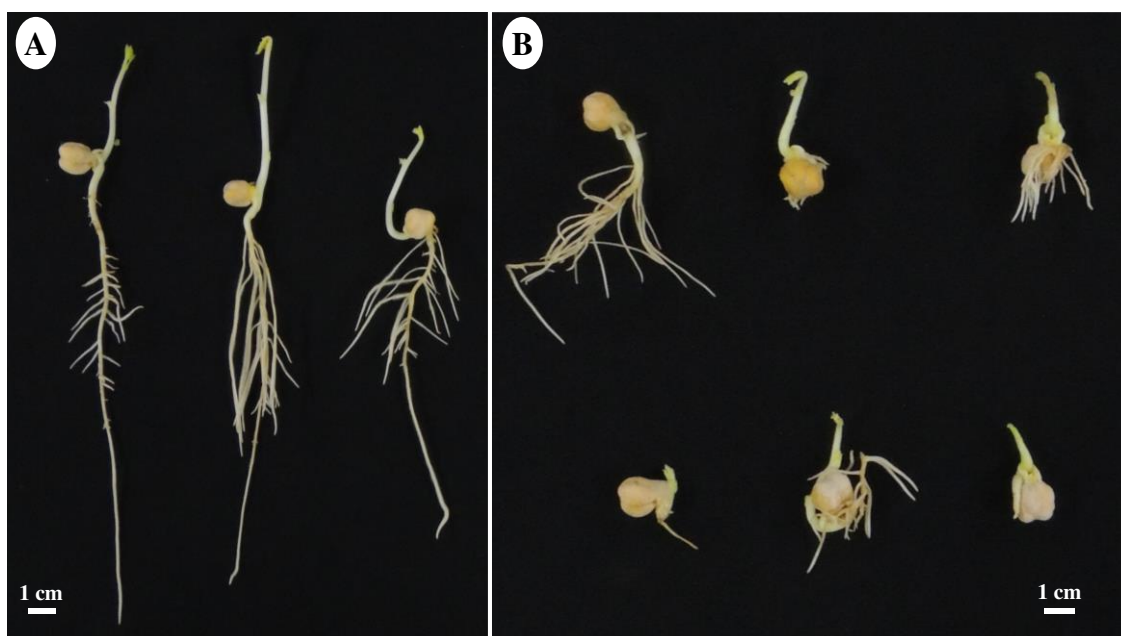
## **ETAPA II**

As sementes obtidas em cada época de colheita e armazenadas por 0, 3, 6 e 9 meses foram submetidas aos testes de avaliação da qualidade descritos a seguir. Para a realização dos testes de germinação e emergência de plântulas as sementes foram tratadas com o fungicida Protreat SC [Carbendazim + Thiram] na dose de 150 mL de produto comercial 100 Kg de sementes<sup>-1</sup>.

**Grau de umidade:** foi determinado pelo método da estufa a  $105^{\circ}\text{C}$ , durante 24 horas, utilizando-se quatro repetições de 25 sementes. Os resultados foram expressos em porcentagem (BRASIL, 2009).

**Matéria seca de semente:** a matéria seca de semente foi determinada juntamente com o grau de umidade das sementes (BRASIL, 2009), consistindo do peso médio final das quatro repetições de 25 sementes após secagem a  $105 \pm 3^{\circ}\text{C}$  por 24 horas. Os resultados foram expressos em g 100 semente<sup>-1</sup>.

**Germinação:** foram utilizadas quatro repetições de 50 sementes cada. As sementes foram semeadas em papel germitest umedecido com água destilada na quantidade equivalente a 2,5 vezes o peso do papel seco. Após a semeadura, foram confeccionados rolos que foram mantidos em germinador a 25 °C. Foram realizadas contagens no quinto e oitavo dia após a semeadura, sendo os resultados expressos em porcentagem de plântulas normais (BRASIL, 2009). Na Figura 4, é possível verificar o padrão de plântulas normais e anormais adotado na avaliação do teste de germinação.



**Figura 4.** Padrão de plântulas normais (A) e anormais (B) adotados na avaliação do teste de germinação. Imagem: TRANCOSO, A.C.R.

**Envelhecimento acelerado com solução salina:** para esse teste, uma camada uniforme de sementes foi distribuída sobre tela metálica fixada no interior de caixas plásticas do tipo gerbox, contendo, no fundo, 40 mL de solução saturada de NaCl de modo a se obter 76% de umidade no seu interior. As caixas tampadas foram mantidas por 48 horas em câmara incubadora do tipo B.O.D. regulada à temperatura de 41 °C (ARAÚJO *et al.*, 2021; NASCIMENTO *et al.*, 2016). Após este período, quatro repetições de 50 sementes foram

submetidas ao teste de germinação computando-se a porcentagem de plântulas normais obtidos no quinto dia após a semeadura.

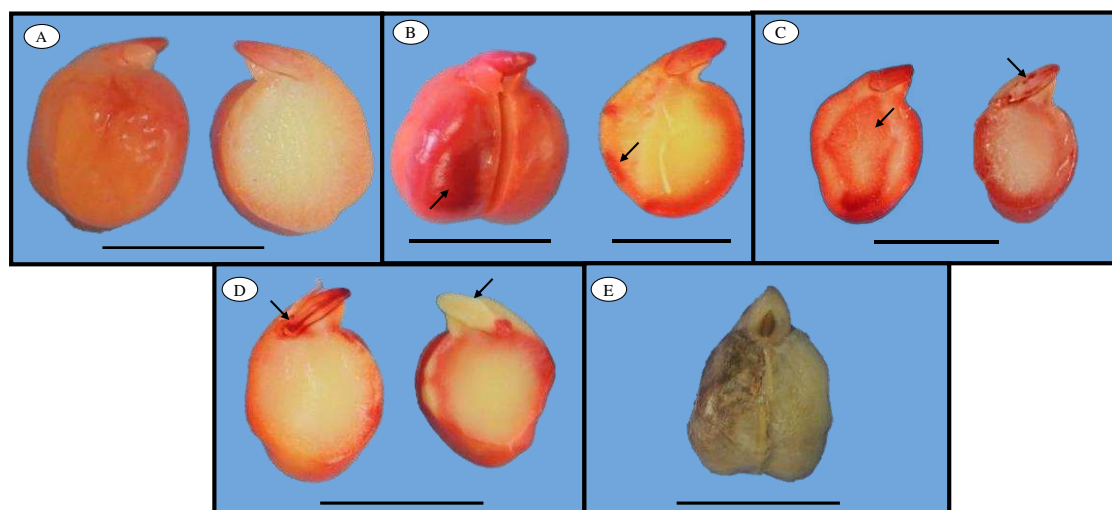
**Emergência de plântulas:** foi conduzido com quatro repetições de 25 sementes em câmara de crescimento vegetal, sendo a semeadura realizada a 1,0 cm de profundidade em mistura de solo e areia na proporção 1:1, contida em bandejas de isopor. Foram efetuadas contagens diárias do número de plântulas emergidas até esse número se manter constante. Os resultados foram expressos em porcentagem de plântulas emergidas.

**Índice de velocidade de emergência:** com base nos dados obtidos na contagem diária de plântulas emergidas durante o teste de emergência de plântulas, calculou-se o índice de velocidade de emergência, conforme (MAGUIRE, 1962).

**Condutividade elétrica:** quatro repetições de 50 sementes foram pesadas em balança com precisão de 0,001 g e logo após foram colocadas em copos plásticos contendo 100 mL de água destilada. Foram mantidas em câmara do tipo B.O.D. a 25 °C por 24 horas (ARAÚJO *et al.*, 2022). Após este período, foi determinada a condutividade elétrica em condutivímetro Digimed modelo CD 21 e os resultados expressos em  $\mu\text{S cm}^{-1} \text{ g}^{-1}$  de sementes (VIEIRA; KRZYZANOWSKI, 1999).

**Tetrazólio:** para esse teste foram utilizadas amostras de 100 sementes, com quatro repetições de 25 sementes de cada tratamento. As sementes foram inicialmente pré-condicionadas em rolos de papel germitest, umedecidos com água destilada na proporção de 2,5 vezes o peso do papel seco. Os rolos foram mantidos em câmara do tipo B.O.D. a 20 °C durante 16 horas. Após o pré-condicionamento, as sementes foram imersas em solução de 2,3,5-trifenil-cloreto-de-tetrazólio em concentração de 0,075%, onde permaneceram por 2 horas e 30 minutos, no escuro, à temperatura de 41 °C para coloração. Então, as sementes foram lavadas em água corrente e analisadas individualmente com auxílio de uma lupa conforme critérios de avaliação estabelecidos por (PARAÍSO *et al.*, 2019). Assim, foi possível classificar cada semente em classes de 1 a 5, separando-as em viáveis (classes 1 a 3), não viáveis (classe 4) e mortas (classe 5) (Figura 5). Os

resultados foram expressos em porcentagem de sementes obtidas nas classes 1 e 2, consideradas como vigorosas e nas classes 1 a 3, consideradas como viáveis. Foram calculadas as porcentagens de sementes com danos ocasionados por umidade em cada tratamento.



**Figura 5.** Classificação das sementes para categorização da viabilidade e vigor. A - Classe 1, semente com todas estruturas do embrião intactas e coloração superficial uniforme. B - Classe 2, pequenos danos superficiais, localizados na superfície externas dos cotilédones e pequenos danos superficiais na região interna. Setas: danos externo e interno no cotilédone. C - Classe 3, danos mais extensos, danos que atingem o córtex, sem atingirem o cilindro central, estrias profundas externas e internas ao cotilédone e região vascular. Setas: dano interno ao cotilédone e no córtex. D - Classe 4, tecidos flácidos com pequenas manchas vermelho-carmin ou tecido branco leitoso. Danos que atingem o cilindro central e que comprometem o desenvolvimento normal da plântula. Setas: danos no cilindro central com coloração vermelho-carmin e região branca leitosa no eixo embrionário. E - Classe 5, semente morta. Escala: 1 cm. Imagem: TRANCOSO, A.C.R.

### Atividade de enzimas antioxidativas e quantificação de proteína

Para estas análises foram utilizadas sementes em processo de embebição, para a ativação do metabolismo celular. Para tanto, quatro repetições de 20 sementes de cada tratamento foram colocadas para embeber por 16 h em papel toalha, conforme metodologia descrita para o teste de germinação. Decorrido este período, foi retirado o tegumento e, em seguida, os cotilédones e eixo embrionário foram congelados em nitrogênio líquido. Em seguida, os embriões congelados foram liofilizados por 48 h para a remoção total de água e

estabilização de compostos orgânicos. Após esse procedimento de conservação, os embriões foram macerados em moinho micro pulverizador (TECNAL, Modelo R-TE-350) por 30 a 40 segundos para homogeneização das amostras. Em seguida, cada tratamento foi acondicionado em microtubos e armazenados em dessecadores para evitar absorção de umidade do ambiente. A quantificação das enzimas foi realizada por meio de leituras de absorbâncias utilizando o espectrofotômetro, modelo Thermo Scientific™ UV-Vis Genesys 10S.

**Preparo do extrato enzimático:** para a obtenção dos extratos enzimáticos brutos, 0,1 g da amostra foram misturados a 2 mL do meio de homogeneização composto pelo tampão fosfato de potássio 0,1M, pH 6,8, ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) 0,1 mM, fluoreto de fenilmetilsulfônico (PMSF) 1 mM e polivinilpirrolidona (PVPP) 1% (p/v) (PEIXOTO et al., 1999). O meio de homogeneização e o material macerado foram agitados por um minuto e em seguida, foi feita uma centrifugação a 14.000 xg por 15 minutos, a 4 °C para retirada da camada do sobrenadante.

**Superóxido dismutase (SOD):** a atividade foi determinada adicionando 50 µL de extrato enzimático ao meio de reação constituído de tampão fosfato de sódio 50 mM, pH 7,8, metionina 13 mM, azul de p-nitro tetrazólio (NBT) 75 µM, EDTA 0,1 mM e riboflavina 2 µM (LONGO *et al.*, 1993). A reação é realizada em temperatura de 25 °C dentro de uma câmara revestida de papel alumínio com iluminação fluorescente de 15 W. Após 5 min de exposição a luz, a reação foi medida pela absorbância de 560 nm da formazan azul produzida pela fotorredução do NBT. As leituras da absorbância das amostras foram feitas no espectrofotômetro. Os resultados foram expressos com a quantidade de enzimas necessária para inibir em 50% a fotorredução do NBT (BEAUCHAMP; FRIDOVICH, 1971).

**Peroxidase do ascorbato (APX):** a atividade foi determinada adicionando 150 µL de extrato enzimático ao meio de reação constituído de tampão fosfato de potássio 50 mM, pH 7,8, ácido ascórbico 0,25 mM, EDTA 0,1 mM e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 0,3 mM. A reação é realizada em

temperatura de 25 °C com leituras das amostras pela absorvância de 290 nm utilizando espectrofotômetro. A atividade enzimática foi calculada com o coeficiente de extinção molar de  $2,8 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  e o resultado expresso em  $\text{nmol min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$  de proteína (NAKANO; ASADA, 1981).

**Catalase (CAT):** a atividade foi determinada adicionando 100  $\mu\text{L}$  de extrato enzimático ao meio de reação constituído de tampão fosfato de potássio 50 mM, pH 7,0 e  $\text{H}_2\text{O}_2$  12,5 mM (HAVIR; MCHALE, 1987). A reação é realizada em temperatura de 25 °C com leituras das amostras pela absorvância de 240 nm utilizando espectrofotômetro. A atividade enzimática foi calculada com o coeficiente de extinção molar de  $36 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  e o resultado expresso em  $\mu\text{mol min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$  de proteína (ANDERSON; PRASAD; STEWART, 1995).

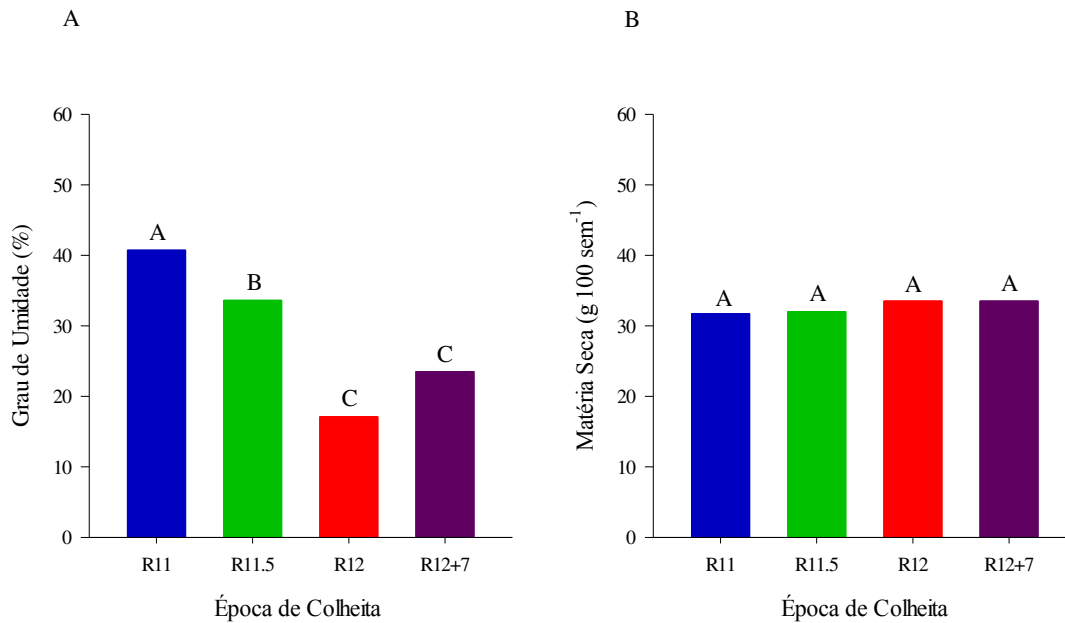
**Proteína:** a quantificação de proteínas solúveis foi determinada pelo método de Bradford (1976), no qual utiliza o reagente BSA como padrão. Uma alíquota de 5  $\mu\text{L}$  de extrato enzimático foi diluída em 0,995 mL de água destilada e adicionada em 1 mL de solução Bradford. As leituras da absorvância das amostras foram feitas no espectrofotômetro no comprimento de onda de 595 nm.

**Delineamento experimental e análise estatística:** utilizou-se delineamento inteiramente casualizado, em esquema de parcelas subdivididas com quatro repetições. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA), sendo as quatro épocas de colheita (R11, R11.5, R12 e R12+7) alocadas nas parcelas e os quatro períodos de armazenamentos das sementes (0, 3, 6 e 9 meses) nas subparcelas. Para avaliar o efeito das épocas de colheita, as médias, dentro de cada período de armazenamento, foram comparadas pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ). Para os dados referentes aos períodos de armazenamento, foi realizada a análise de regressão polinomial. Além disso, foi realizada uma análise de componentes principais (PCA)

para todas as características avaliadas. As análises estatísticas foram processadas no programa R (R Core Team, 2022).

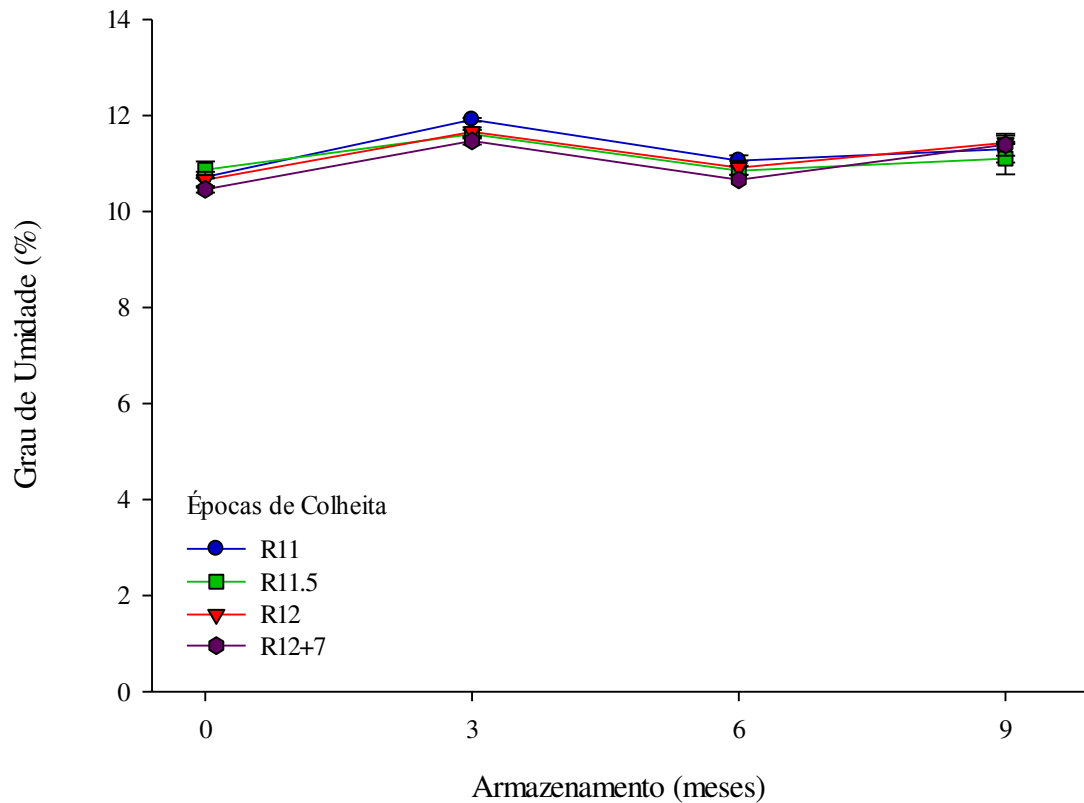
### **3. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

A Figura 6 representa os dados referentes ao grau de umidade e à matéria seca de sementes de grão-de-bico no momento da colheita. Observa-se que o grau de umidade das sementes diminuiu ao longo das épocas de colheita. Sementes colhidas no estágio R11, quando 50% das vagens estão com coloração amarela-dourada, apresentaram maior grau de umidade (41%), enquanto sementes colhidas em R12 e R12+7, quando 90% das vagens apresentavam coloração amarela-dourada e sete dias após a planta atingir R12, apresentaram menor umidade (17% e 23%, respectivamente). Em relação à matéria seca das sementes, não houve variação significativa entre as épocas de colheita, indicando que as sementes já tinham atingido a maturidade fisiológica (Figura 6B). Estudos relacionados com processo de desenvolvimento e maturação de sementes de grão-de-bico mostraram que as sementes atingiram a maturidade fisiológica quando as vagens estavam com coloração amarela e as sementes com grau de umidade em torno de 40-50% (SAMARAH; ABU-YAHYA, 2008; TRANCOSO et al., 2021).



**Figura 6.** Grau de umidade (A) e matéria seca (B) de sementes de grão-de-bico colhidas em diferentes épocas. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ).

Os valores apresentados para o grau de umidade e massa da matéria seca são referentes às sementes logo após a colheita, ou seja, sem terem sido submetidas à secagem (Figura 6). Após a secagem, as sementes apresentaram grau de umidade de aproximadamente 11% (TRANCOSO *et al.*, 2021). Não foram observadas alterações significativas no grau de umidade das sementes durante o armazenamento, que se manteve em torno de 11% - 12% ao longo de todo o período, ou seja, nove meses (Figura 7).



**Figura 7.** Grau de umidade após a secagem das sementes de grão-de-bico colhidas em diferentes épocas (R11, R11.5, R12 e R12+7) e armazenadas por 0, 3, 6 e 9 meses.

Em relação ao teste de germinação (Figura 8A), comparando os tratamentos em cada período de armazenamento, nota-se que não houve diferença significativa entre as épocas de colheita logo no início do armazenamento (0 meses). A porcentagem média de germinação das sementes foi de 92% nesse período. No entanto, aos três, seis e nove meses de armazenamento o atraso na colheita afetou a germinação, pois sementes colhidas em R12+7 apresentaram menor germinação. Ao se avaliar cada época de colheita ao longo do armazenamento, nota-se queda linear na porcentagem de germinação das sementes (Figura 8B), sendo mais expressiva para a colheita em R12+7. Nota-se que sementes de grão-de-bico colhidas em R11 mantiveram a germinação em torno de 80% até 9 meses de armazenamento. Já as sementes colhidas em R11.5 e R12 apresentaram germinação em torno de 80% até 6

meses de armazenamento. Sementes colhidas tardiamente em R12+7 mantiveram sua germinação em torno 80% até os 3 meses de armazenamento.

Nesse sentido, é importante destacar que sementes colhidas tardiamente, em R12+7, passaram por um período de precipitação pluviométrica seguida de estiagem antes da colheita (Figura 3B). Foi observado que sementes colhidas em R12+7 foram expostas à precipitação pluviométrica na pré-colheita (entre o dia 21 de agosto e 03 de setembro). A precipitação total nesse período foi de 21,40 mm e UR máxima e mínima de 81,9% e 76,4% respectivamente (Figura 3B). Esse fator pode justificar a redução mais significativa da qualidade dessas sementes ao longo do armazenamento. Sementes que permanecem mais tempo em campo estão expostas à ação do ambiente, como oscilações de temperatura e umidade relativa do ar, precipitação e ataques de pragas e doenças, o que pode provocar a sua deterioração e conseqüentemente causar redução no seu potencial fisiológico (EBONE; CAVERZAN; CHAVARRIA, 2019; FIALHO *et al.*, 2022). Assim, com a ocorrência de precipitação na pré-colheita (Figura 3), as sementes de grão-de-bico sofreram oscilações no seu grau de umidade antes da colheita. As oscilações rápidas de grau de umidade na semente podem estar relacionadas à permeabilidade e quantidade de lignina presentes no tegumento (OLIVEIRA *et al.*, 2014). É importante ressaltar que o tegumento de sementes de grão-de-bico, tipo kabuli, é composto por uma estrutura celular fina e fraca, além de conter alta concentração de pectina e baixa de lignina (TRANCOSO *et al.*, 2021; WOOD *et al.*, 2014; WOOD; KNIGHTS; CHOCT, 2011). Essas características do tegumento conferem alta permeabilidade às sementes de grão-de-bico, o que pode facilitar alterações rápidas no seu grau de umidade (TRANCOSO *et al.* 2021). Estudos mostram que a oscilação do grau da umidade das sementes que ocorre na fase de pré-colheita, é um dos principais fatores relacionados à sua deterioração em campo (JYOTI; MALIK, 2013). O alto grau de umidade das sementes intensifica os processos respiratórios, que por sua vez contribuem para maior degradação de reservas energéticas e

produção de EROs e, conseqüentemente, reduz seu potencial fisiológico (BEWLEY *et al.*, 2013; MARCOS-FILHO, 2015).

A redução da germinação das sementes de grão-de-bico foi relatada por Avelar *et al.* (2018) e Rajani *et al.* (2020) e foi atribuída à deterioração da semente devido à ocorrência de chuvas na colheita, ao atraso na colheita e ao aumento de EROs durante o armazenamento. Esses e outros fatores podem acelerar o processo de deterioração da semente, que é considerado um processo complexo, degenerativo contínuo que tem início a partir da maturidade fisiológica e se estende até a perda completa da viabilidade das sementes (MITTLER, 2017).

Pelo teste de envelhecimento acelerado (Figura 8C), verifica-se, nas sementes recém-colhidas e não armazenadas, menor vigor quando a colheita foi realizada em R12 e em R12+7 em comparação com a colheita em R11. Já as sementes colhidas em R12+7 e armazenadas por 3 e 6 meses mostraram-se bastante sensíveis às condições de estresse do teste, apresentando menor vigor em relação às colhidas nos demais estádios. Aos 9 meses de armazenamento menores valores foram obtidos para as sementes da colheita com atraso (R12+7), seguidas pelas da colheita mais precoce (R11), que foram inferiores às dos tratamentos R11.5 e R12, as de maior vigor. Ao avaliar cada época de colheita ao longo do armazenamento (Figura 8D), nota-se redução linear no vigor das sementes de todas as épocas de colheita. Essa redução foi mais expressiva para as sementes colhidas em R11 e R12+7. Em sementes de soja, Vergara *et al.* (2019), ao avaliar o vigor das sementes pelo teste de envelhecimento acelerado, observaram redução do vigor das sementes colhidas tardiamente em R7.8 + 21 (colheita após 21 dias). Os autores também verificaram que o atraso na colheita influenciou o potencial de armazenamento das sementes, pois sementes que permaneceram por mais tempo em campo apresentaram redução mais expressiva do vigor ao final de 120

dias de armazenamento, como também observado no presente trabalho ao final de nove meses de armazenamento (Figura 8D).

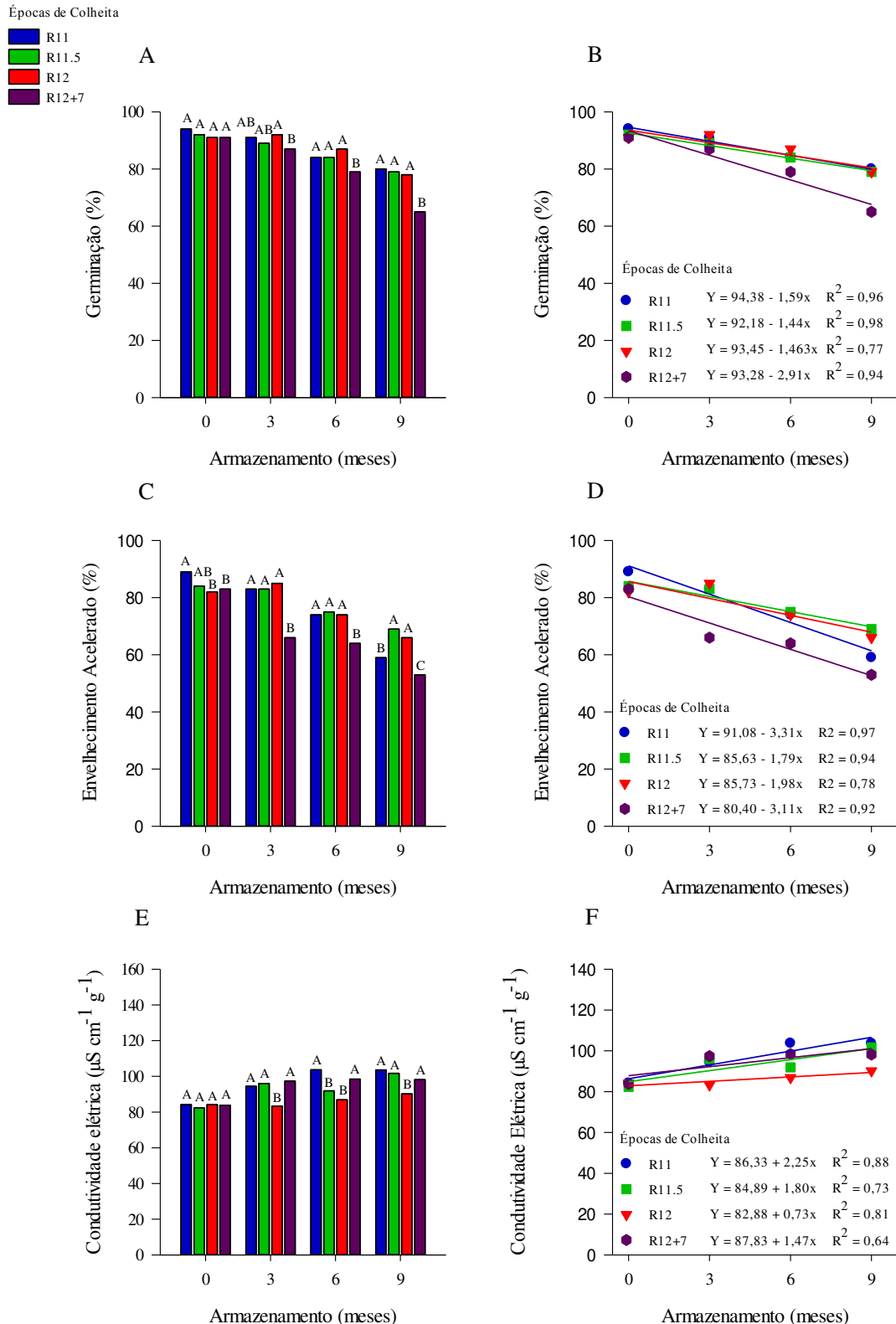
A redução do vigor devido à deterioração envolve várias reações que danificam biomoléculas. Dentre os principais danos estão a peroxidação e a degradação de lipídeos de membranas, oxidação de proteínas, danos a ácidos nucleicos (DNA e RNA), inibição enzimática e, em níveis mais elevados, a morte celular (EBONE; CAVERZAN; CHAVARRIA, 2019; KUMAR *et al.*, 2015). Com isso, alguns processos bioquímicos podem ficar comprometidos, tais como o metabolismo proteico e a produção de energia, afetando conseqüentemente a germinação e vigor das sementes (MIN *et al.*, 2017).

Pelo teste de condutividade elétrica (CE), nota-se que não houve diferença no vigor das sementes recém-colhidas dos diferentes estádios (Figura 8E). Destaque para sementes colhidas em R12, que a partir de três meses de armazenamento apresentaram maior vigor, ou seja, maior integridade das membranas celulares, representado por menores valores de CE. Ao avaliar o vigor das sementes ao longo do armazenamento, nota-se um aumento linear na CE, independentemente da época de colheita (Figura 8F). Esse aumento foi menos expressivo para sementes colhidas em R12, indicando maior capacidade de reorganização das membranas celulares em relação aos demais tratamentos de colheita. Durante o processo de maturação, na fase final de acúmulo de matéria seca, os mecanismos que conferem tolerância à dessecação da semente se instalam, resultando em maior proteção às membranas celulares por ocasião da secagem no final do ciclo. Tais mecanismos são importantes para a longevidade das sementes no armazenamento (LEPRINCE *et al.*, 2017).

O teste de CE é um indicador da integridade das membranas celulares e da lixiviação de íons, que por sua vez está diretamente relacionado ao declínio do vigor e da germinação. Assim, é possível observar que, independente da época de colheita, a redução da germinação (Figura 8B) e do vigor pelo teste de envelhecimento acelerado (Figura 8D) ao longo do

armazenamento acompanhou o aumento nos valores de condutividade elétrica (Figura 8F). Uma das primeiras manifestações da deterioração das sementes está relacionada à desestruturação das membranas celulares, devido à peroxidação dos fosfolipídeos presentes em sua constituição. Com a peroxidação dos fosfolipídios, a reorganização da configuração das membranas durante a embebição fica comprometida, acarretando aumento da lixiviação de solutos (COPLAND; MCDONALD, 2001).

Os lipídios presentes nas sementes estão na forma de triglicerídeos e fosfolipídios de membrana, com destaque para as membranas das mitocôndrias, que são as organelas responsáveis pela produção de energia das células. A mitocôndria apresenta ampla superfície de membrana, devido às cristas mitocondriais onde há maior predominância de lipídios insaturados, que por sua vez são mais instáveis, e sítio da peroxidação de lipídios com consequente formação de EROs. A peroxidação de lipídios é o principal fator que determina a deterioração das sementes (ZHAO *et al.*, 2018). O excesso de EROs ataca os ácidos graxos poliinsaturados das membranas gerando radicais livres, hidroperóxidos e compostos secundários, o que afeta a permeabilidade da membrana e a homeostase iônica (OENEL *et al.*, 2017; EBONE *et al.*, 2019). A peroxidação de lipídios afeta o funcionamento das mitocôndrias influenciando a produção de energia para a germinação das sementes. Além disso, os produtos finais formados a partir da peroxidação lipídica, como o malondialdeído (MDA), também estão envolvidos na deterioração das sementes (MARNETT, 1999).



**Figura 8.** Germinação (A e B), envelhecimento acelerado (C e D) e condutividade elétrica (E e F) de sementes de grão-de-bico colhidas em diferentes épocas (R11, R11.5, R12 e R12+7) e armazenadas por 0, 3, 6 e 9 meses. Médias com letras iguais não diferem pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ) e comparam as épocas de colheita em cada tempo de armazenamento.

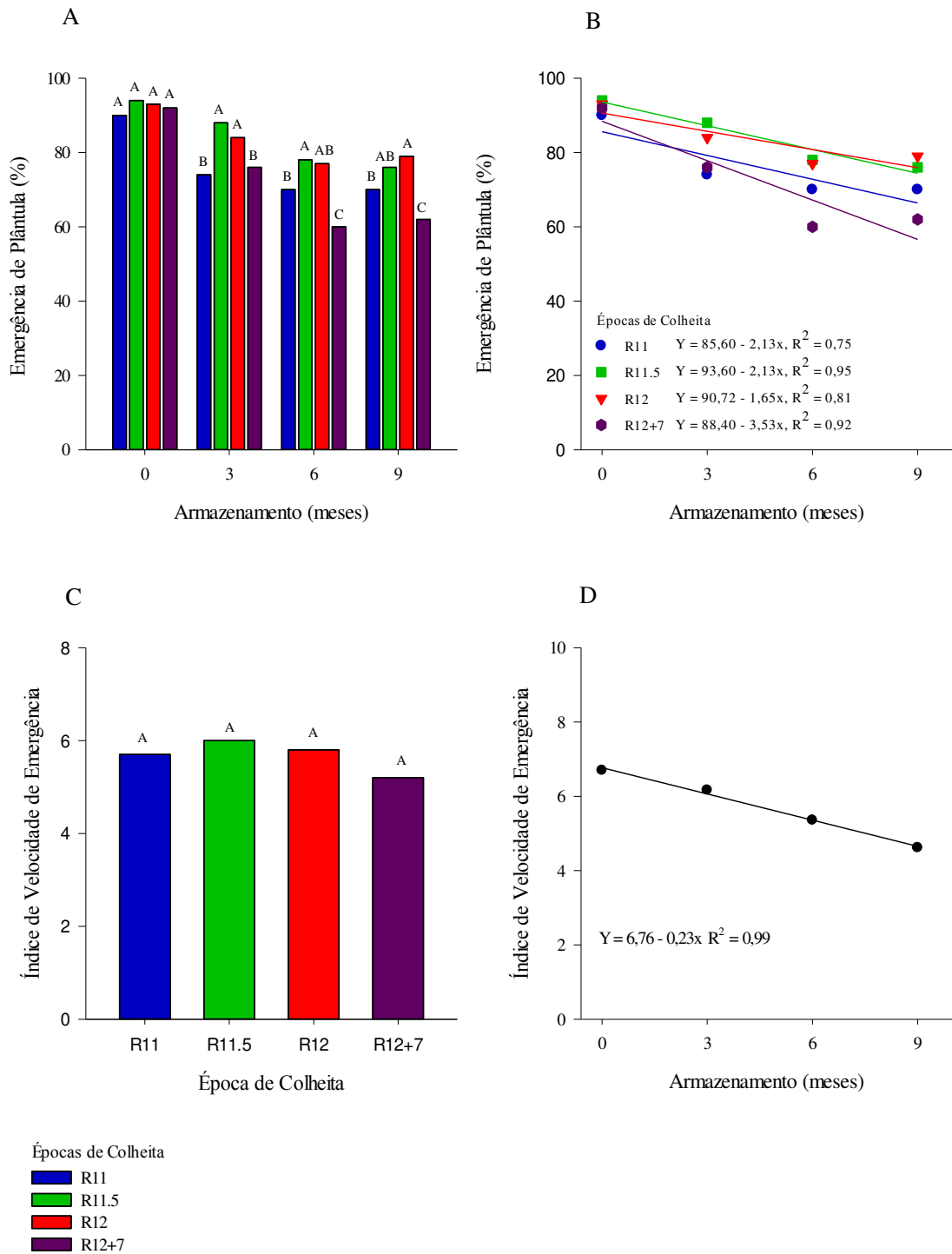
Pelos resultados do teste de emergência de plântulas (Figura 9A), nota-se que não houve diferença significativa entre as épocas de colheita para as sementes recém-colhidas. No entanto, após o armazenamento sementes colhidas em R11.5 e R12 apresentaram, em geral, melhor desempenho em relação às sementes colhidas precocemente em R11 e tardiamente em R12+7. Ao longo do armazenamento, houve redução linear na emergência de plântulas independente da época de colheita (Figura 9B). Essa redução foi mais expressiva em sementes colhidas em R11 e R12+7, como observado também pelo teste de envelhecimento acelerado. Estes resultados evidenciam que a colheita precoce ou o atraso na colheita pode contribuir para a redução da qualidade das sementes de grão-de-bico

O estágio de maturação da semente no momento da colheita é um fator primordial no processo de produção de sementes e irá influenciar sua qualidade fisiológica logo após a colheita, e também o seu potencial de armazenamento (FINCH-SAVAGE; BASSEL, 2016). Para se obter sementes de alta qualidade, a colheita deve ser feita quando as sementes atingem a maturidade fisiológica, momento em que as sementes podem apresentar máximo conteúdo de massa seca e quando não há translocação de assimilados da planta mãe para semente. Esse momento pode coincidir com a máxima qualidade fisiológica da semente ou ocorrer um pouco antes ou depois dependendo da espécie (TEKRONY; EGLI, 1997; VIDIGAL *et al.*, 2011). Assim, apesar das sementes colhidas em R11 terem atingido a maturidade fisiológica, nota-se, de modo geral, menor qualidade fisiológica em relação às sementes colhidas em R11.5 e R12. Além disso, observou-se que as plantas de grão-de-bico colhidas no estágio de maturação R11 apresentavam maior número de sementes ainda em desenvolvimento. Isso se deve principalmente ao grão-de-bico ser uma espécie de crescimento indeterminado. Nessas espécies é possível encontrar na mesma planta vagens verdes e maduras, culminando na maturação desuniforme (SUBEDI; WILLENBORG; VANDENBERG, 2017; ZHANG; JOHNSON; WILLENBORG, 2016). Assim, colheitas feitas no estágio de maturação R11

também apresentavam sementes imaturas, o que pode ter refletido em menor vigor e longevidade das sementes, conforme observado pelos testes de envelhecimento acelerado e emergência de plântulas (Figura 8C, Figura 8D, Figura 9A, Figura 9B). Por outro lado, sementes colhidas em R12+7, ou seja, submetidas a um atraso de 7 dias na colheita, apresentaram menor vigor devido ao processo de deterioração que foi potencializado pelas condições climáticas. Entre os dias 21 de agosto e 03 de setembro de 2020, período de pré-colheita das sementes em R12+7, as sementes ficaram expostas à precipitação pluviométrica e a alta umidade relativa (Figura 3B). Já foi evidenciado que chuvas em pré-colheita podem causar danos por umidade nos tecidos das sementes e assim expor os tecidos do embrião aos estresses ambientais (PINHEIRO *et al.*, 2021). Além disso, a composição química do tegumento da semente do grão-de-bico, baixo teor ou a ausência de lignina combinados com alta concentração de pectina, confere às sementes alta permeabilidade, o que pode facilitar alterações rápidas no seu grau de umidade e acelerar o processo de deterioração (TRANCOSO *et al.*, 2021).

Não houve interação significativa entre os fatores época de colheita e período de armazenamento para a variável Índice de Velocidade de Emergência (IVE). Nota-se que as épocas de colheita não influenciaram na velocidade de emergência das plântulas de grão-de-bico (Figura 9C). Já ao longo do armazenamento, houve uma queda linear do IVE (Figura 9D), como também observado nos testes de germinação, envelhecimento acelerado e emergência de plântulas (Figuras 8 e 9). Um dos eventos que caracteriza a evolução do processo de deterioração de sementes é a emergência lenta e a redução da emergência de plântulas em campo (DELOUCHE *et al.*, 1973). Em sementes de soja, foi observada redução na porcentagem e na velocidade de emergência de plântulas após 10 dias de atraso na colheita (ZUFFO *et al.*, 2017). Smiderle *et al.* (2017), ao avaliar a qualidade fisiológica de sementes de feijão-caupi após diferentes períodos de armazenamento, observaram queda do vigor das

sementes, avaliado pela emergência de plântulas e IVE, ao final do período de 270 dias de armazenamento.



**Figura 9.** Emergência de plântulas (A e B) e índice de velocidade de emergência (C e D) de sementes de grão-de-bico colhidas em diferentes épocas (R11, R11.5, R12 e R12+7) e

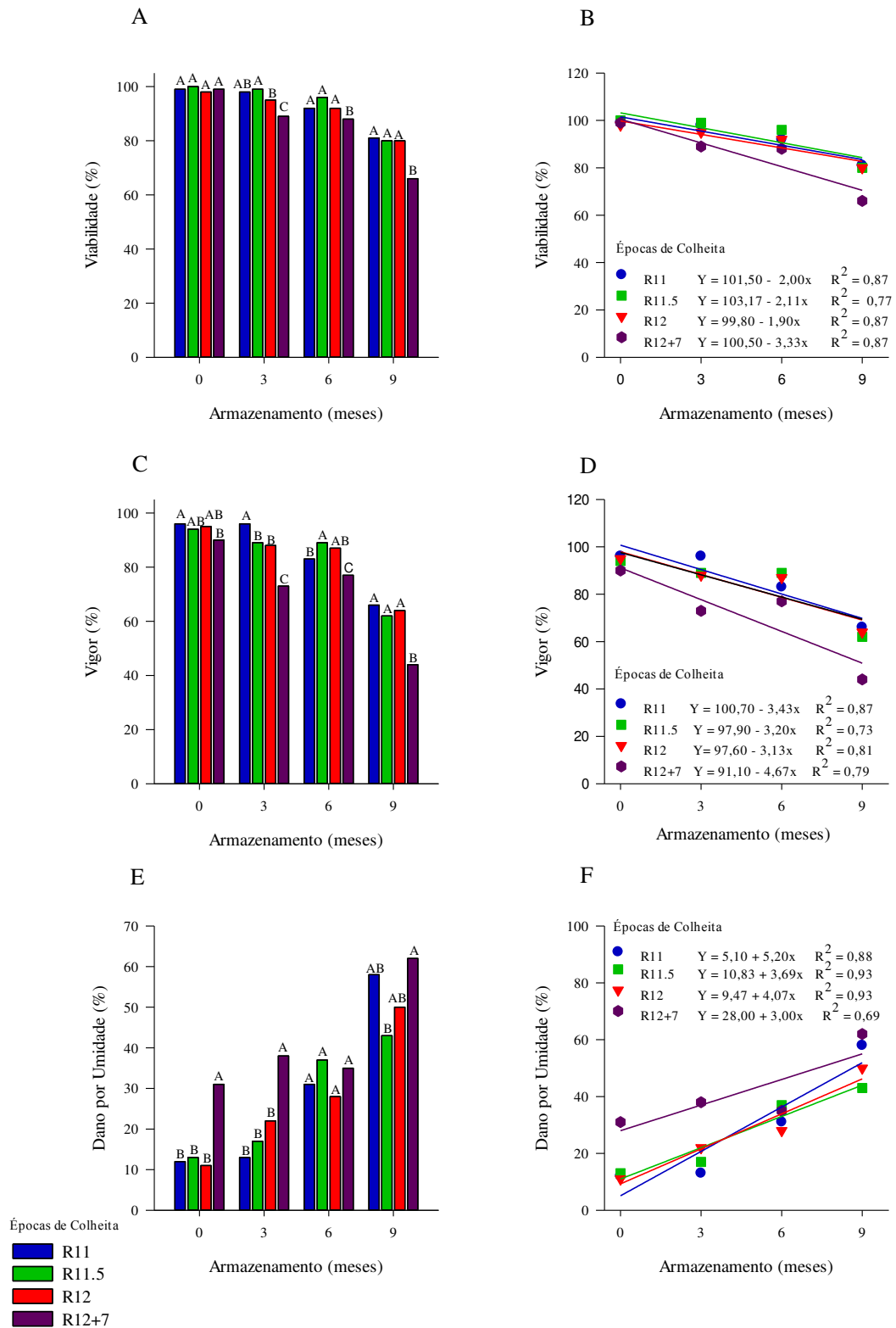
armazenadas por 0, 3, 6 e 9. Médias com letras iguais não diferem pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ) e comparam as épocas de colheita em cada tempo de armazenamento.

A qualidade inicial das sementes é um dos principais fatores que interfere no seu potencial de armazenamento, que é, segundo Peske *et al.* (2013), altamente comprometido com o atraso da colheita. É importante salientar que o armazenamento eficiente se dá pelo uso de sementes de alto vigor e pela manutenção de um ambiente adequado. A temperatura e a umidade relativa do ar durante o armazenamento são fatores que afetam a viabilidade das sementes. A umidade relativa do ar controla o teor de água das sementes, que por serem higroscópicas, perdem ou absorvem água até entrarem em equilíbrio com o ar do ambiente. Assim, alto teor de água na semente acelera os processos de deterioração e intensifica a respiração, consumo de reservas e proliferação de microrganismos (POPINIGIS, 1985). No presente estudo, o grau de umidade das sementes de grão-de-bico ficou em torno de 11 - 12% ao longo de todo período de armazenamento, valor este compatível com o armazenamento seguro (CARVALHO; NAKAGAWA, 2012).

A Figura 10 representa os dados referentes ao teste de tetrazólio. Esse teste tem como principal objetivo determinar rapidamente a viabilidade das sementes, categorizar as sementes em níveis de vigor e ainda identificar as causas da redução de qualidade da semente (BRASIL, 2009; FRANÇA-NETO; KRZYZANOWSKI, 2018). Ao avaliar as épocas de colheita em cada período de armazenamento, nota-se que a viabilidade das sementes das diferentes épocas de colheita não diferiu estatisticamente no início do armazenamento (época 0). Já aos três, seis e nove meses, é possível observar que sementes colhidas em R12+7 apresentaram menor viabilidade (Figura 10A). Aos 6 e 9 meses de armazenamento, sementes colhidas em R11, R11.5 e R12 tiveram viabilidade significativamente semelhante. Ao avaliar cada época de colheita ao longo do armazenamento, é possível notar redução linear da viabilidade das sementes, sendo mais expressiva quando a colheita foi realizada tardiamente,

ou seja, em R12+7. Esses resultados são semelhantes aos observados pelo teste de germinação (Figura 8A e 8B), indicando similaridade entre germinação e viabilidade pelo teste de tetrazólio.

O vigor das sementes, avaliado pelo teste de tetrazólio, antes do armazenamento foi maior para sementes colhidas em R11 em comparação com aquelas colhidas em R12+7, o que também foi observado aos 3 meses de armazenamento. Já aos 6 meses, o vigor foi maior nas sementes colhidas em R11.5 e menor em R12+7, sendo que ao final do armazenamento (9 meses) não houve diferença entre as sementes colhidas em R11, R11.5 e R12 que tiveram vigor superior às colhidas em R12+7. Assim, de modo geral, ficou evidente o menor vigor das sementes submetidas ao atraso de colheita. em cada período de armazenamento (Figura 10C). Ao avaliar o vigor das sementes ao longo do armazenamento, nota-se uma redução para todas as épocas de colheita (Figura 10D), semelhante aos resultados de viabilidade (Figura 10B), e também aos dos demais testes de vigor (Figuras 8D, 8F e 9B) em que a redução do vigor foi mais expressiva para sementes colhidas em R12+7.



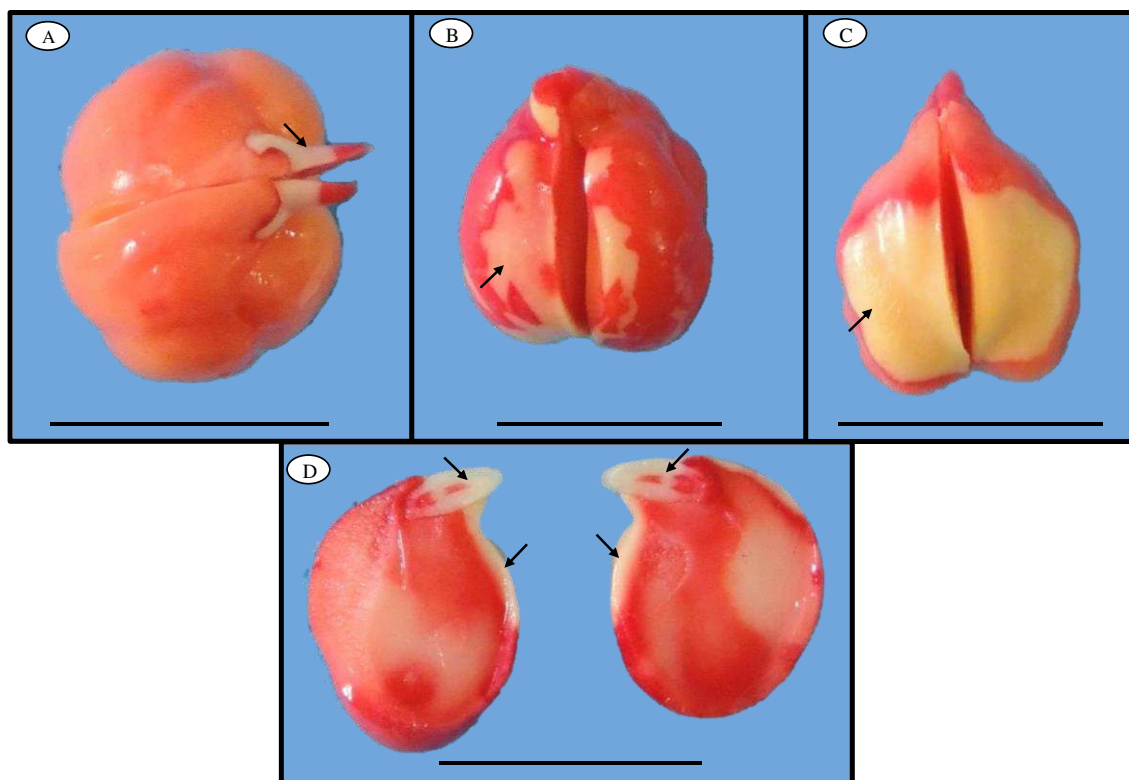
**Figura 10.** Viabilidade, vigor e dano de deterioração por umidade em sementes de grão-de-bico colhidas em diferentes épocas (R11, R11.5, R12 e R12+7) e armazenadas por 0, 3, 6 e 9 meses. Médias com letras iguais não diferem pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ) e comparam as épocas de colheita em cada tempo de armazenamento.

No presente estudo, o principal dano identificado pelo teste de tetrazólio nas sementes de grão-de-bico foi o de deterioração por umidade. Na colheita realizada em R12+7 houve maior porcentagem de sementes com este dano em comparação com as demais épocas de colheita, conforme se observa aos 0 e 3 meses de armazenamento (Figura 10E). Já aos 6 meses, não houve diferença entre os tratamentos de colheita, enquanto aos 9 meses maior proporção de sementes com dano por umidade ocorreu em R12+7, não diferindo de R11 e R12, com menores valores para sementes colhidas em R11.5 (Figura 10E). Com o decorrer do armazenamento, houve aumento linear da porcentagem de sementes com deterioração por umidade independente da época de colheita, em que sementes colhidas em R11 apresentaram aumento mais expressivo desse dano ao longo do tempo e menor incremento foi observado nas sementes colhidas em R12+7 (Figura 10F). No entanto, independente da época de colheita, foi observada uma sensibilidade ao dano por umidade nas sementes de grão-de-bico. Essa sensibilidade pode estar relacionada à composição química do tegumento, com maior presença de pectina e celulose, o que confere característica hidrofílica às paredes do tegumento, facilitando a absorção de água pela semente (TRANCOSO *et al.*, 2021). Assim, com o atraso da colheita por sete dias, as sementes ficaram mais expostas à precipitação pluviométrica na pré-colheita, o que levou ao maior dano por umidade nessas sementes.

As lesões de deterioração por umidade nas sementes evoluem em uma taxa mais elevada que qualquer outro tipo de dano durante o armazenamento (MOREANO *et al.*, 2011). Assim, reduções na germinação e vigor podem ocorrer como consequência dos processos de evolução desse dano durante o armazenamento, principalmente nos meses finais dessa etapa (FRANÇA-NETO; KRZYZANOWSKI, 2018). Com isso, pode-se afirmar que com a evolução das lesões de deterioração por umidade ao longo do armazenamento, houve redução na germinação e vigor das sementes de grão-de-bico, como verificado pelos testes de avaliação da qualidade fisiológica (Figura 8, Figura 9 e Figura 10). Resultados semelhantes

foram encontrados por Forti, Cicero e Pinto (2010) em sementes de soja. Os autores observaram evolução dos danos por umidade e, conseqüentemente, diminuição do potencial fisiológico durante o período de armazenamento das sementes de soja.

Assim, pelos resultados do teste de tetrazólio, nota-se menor qualidade fisiológica para sementes que permaneceram mais tempo em campo (Figura 10). A deterioração das sementes em campo envolve alterações físicas, fisiológicas, bioquímicas e sanitárias. A alteração física ocorre devido as sucessivas expansões e contrações de volume das sementes, decorrente das oscilações de umidade e temperatura. Em consequência disso, formam-se rugas ou estrias nos cotilédones na região oposta ao hilo ou sobre o eixo embrionário da semente (MARCOS-FILHO, 2015) como verificado nesse trabalho com sementes de grão-de-bico (Figura 11). Além disso, pode ocorrer o desgaste físico dos tecidos, ocasionando a ruptura do tegumento e dos tecidos embrionários, afetando assim o controle de permeabilidade das membranas em nível celular e sub-celular. O processo de deterioração também pode afetar organelas, como as mitocôndrias, havendo menor produção de energia necessária para germinação (MARCOS-FILHO, 2015).



**Figura 11.** Visão externa e interna do dano de deterioração por umidade em sementes de grão-de-bico. A - Visão externa do dano em formato de faixa simétrica com coloração branco leitosa e vermelho-carmim no eixo embrionário. B - Lesões simétricas com coloração branco leitosa na região externa dos cotilédones. C - Faixa simétrica nos cotilédones na região oposta ao hilo, com coloração branco leitosa. D - Estrias simétricas no eixo embrionário com coloração vermelho-carmin. Escala: 1 cm. Imagem: TRANCOSO, A.C.R.

Nesse contexto, a capacidade das sementes em eliminar EROs é o que determina a intensidade de danos celulares causados pelos processos de deterioração. Assim, a avaliação da atividade do sistema enzimático antioxidativo, como superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), peroxidase de ascorbato (APX) e peroxidase (POX), pode oferecer respostas importantes quanto ao potencial fisiológico das sementes.

Ao avaliar a atividade da enzima Superóxido Dismutase (SOD), observa-se que a época de colheita não influenciou na atividade dessa enzima no início do armazenamento (0 meses) e aos três meses de armazenamento. No entanto, sementes colhidas em R12 e R12+7, apresentaram maior atividade aos seis e nove meses de armazenamento, respectivamente (Figura 12A). A SOD é uma enzima que catalisa a dismutação do radical superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ )

em peróxido ( $H_2O_2$ ), atuando na linha de defesa contra as EROs (GILL *et al.*, 2015). Apesar de sementes colhidas em R12+7 apresentarem maior atividade da SOD ao final do armazenamento, foi observado menor qualidade fisiológica e maior deterioração por umidade nessas sementes em relação às sementes colhidas em R11.5 e R12 (Figuras 8, 9 e 10E). Esse resultado indica estresse oxidativo acima do que a atividade da SOD consiga neutralizar, levando ao acúmulo de  $O_2^{\cdot-}$  e, assim, à perda da qualidade fisiológica de sementes (GILL; TUTEJA, 2010; MITTLER, 2017).

Em relação a atividade da SOD ao longo do armazenamento, nota-se um ligeiro aumento linear para sementes colhidas em R11, R11.5 e R12. Já para sementes colhidas tardiamente, em R12+7, observa-se um comportamento quadrático ao longo do tempo (Figura 12B). Apesar de ter sido observado aumento na atividade da SOD ao longo do armazenamento, especialmente aos 9 meses para sementes colhidas em R12+7, houve redução na germinação (Figura 8B) e vigor das sementes (Figuras 8D e 8F). A manutenção do sistema enzimático antioxidante, composto pelas enzimas SOD, CAT e APX é importante para remover ou reduzir a ação de EROs que podem causar danos às células e afetar negativamente o potencial fisiológico das sementes (CHEN; ZHANG; SHEN, 2011; SHARMA *et al.*, 2012). Em estudo com lotes de soja com diferentes níveis de vigor, Usha e Dadlani (2016) observaram maior atividade de SOD e CAT nas sementes de maior vigor. Observaram ainda que, ao longo do período de armazenamento, a atividade das enzimas aumentou inicialmente e depois reduziu significativamente ao final do armazenamento em todos os lotes.

A enzima Peroxidase do Ascorbato (APX) apresentou maior atividade em sementes colhidas em R11 e R11.5 como observado logo após a colheita e aos três meses de armazenamento em relação ao observado em R12 e R12+7, com menor atividade nesta última época em que houve atraso na colheita (Figura 12C). Resultados semelhantes foram obtidos

aos seis meses, em que a atividade da APX permanece superior nas sementes colhidas em R11, se mantendo menor em R12+7. No entanto, aos nove meses de armazenamento, menor atividade foi obtida nas sementes colhidas em R11, seguida por aquelas colhidas em R12+7, com maior atividade quando a colheita foi realizada em R12. De um modo geral, pode-se afirmar que sementes colhidas tardiamente em R12+7 apresentaram menor atividade da APX em todos os períodos de armazenamento, exceto aos nove meses. A APX participa na redução do  $H_2O_2$  em  $H_2O$  e utiliza o ácido ascórbico como redutor. A menor atividade da APX indica menor atividade antioxidativa nestas sementes, o que pode ser relacionado ao avanço do processo de deterioração.

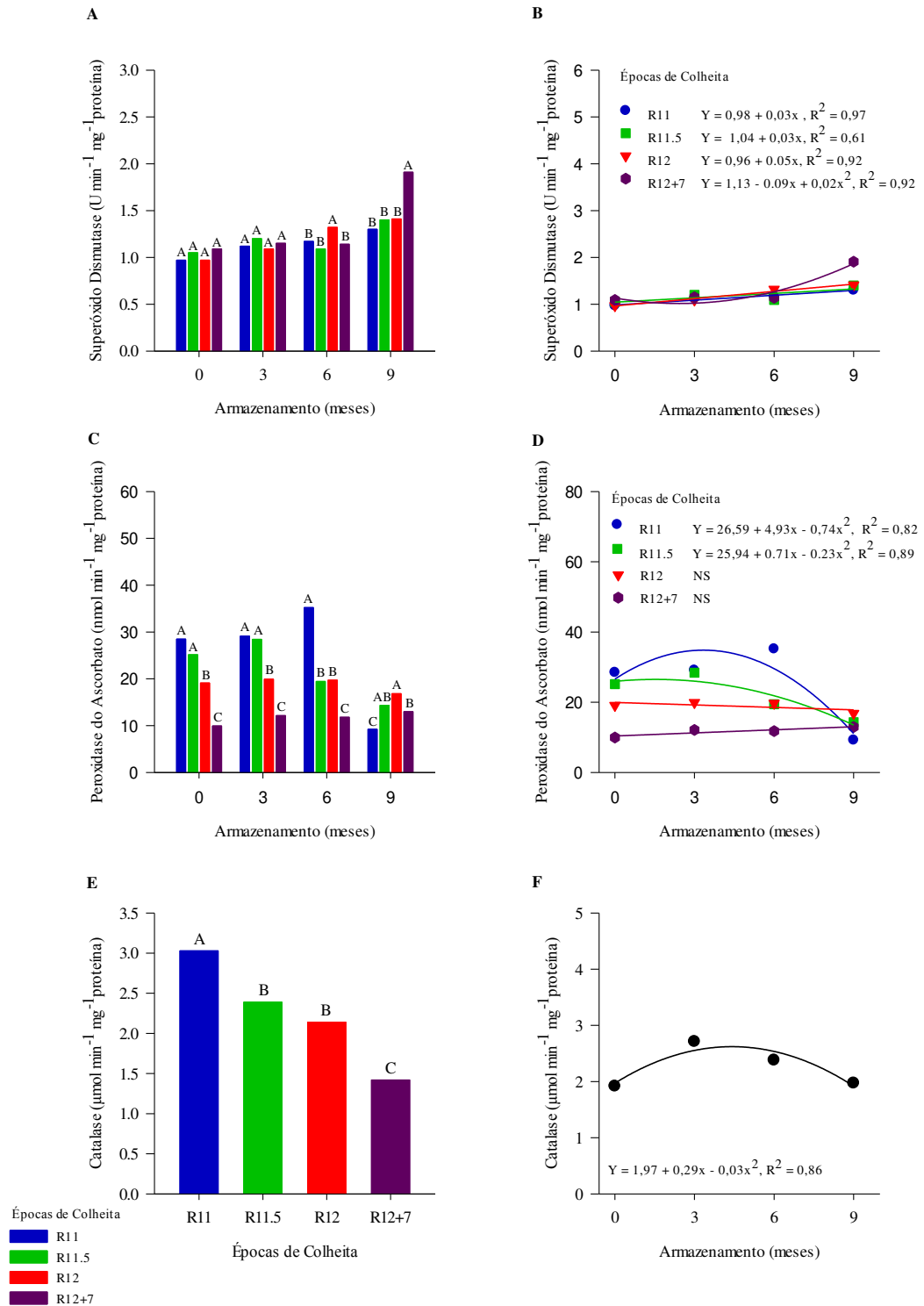
A atividade da APX ao longo do armazenamento, seguiu um modelo quadrático para sementes colhidas em R11 e R11.5, com aumento após o início do armazenamento e redução após três meses (Figura 12D). De modo geral, sementes colhidas em R11 e R11.5 apresentaram maior qualidade fisiológica e, conseqüentemente, menor deterioração no início (0 meses) e aos três meses de armazenamento. Assim, pode-se afirmar que o aumento da atividade da APX até os três meses de armazenamento possivelmente contribuiu para atenuar o estresse oxidativo nessas sementes. No entanto, a redução da atividade da APX após três meses de armazenamento pode ter influenciado no aumento do estresse oxidativo com conseqüente aumento da deterioração e redução da qualidade fisiológica ao final do período de armazenamento, principalmente para sementes colhidas em R11. Já para sementes colhidas em R12 e R12+7, a atividade da APX permaneceu constante ao longo do armazenamento (Figura 12D). Assim, é possível afirmar que para sementes colhidas em R12, a atividade constante da APX ao longo do armazenamento pode ter contribuído para diminuir os efeitos nocivos das EROs, já que apresentaram maior qualidade fisiológica e, portanto, menor deterioração no armazenamento. Por outro lado, a atividade da APX não foi suficiente para atenuar a possível maior produção de EROs nas sementes colhidas em R12+7, que

apresentaram menor vigor e, portanto, maior deterioração, também evidenciada pela maior incidência de danos por umidade conforme resultados do teste de tetrazólio (Figura 10F).

Não houve interação significativa entre os fatores época de colheita e período de armazenamento para a atividade da enzima Catalase (CAT), portanto os fatores foram avaliados separadamente. Nota-se que as épocas de colheitas influenciaram na atividade da CAT. Sementes colhidas em R11 apresentaram maior atividade em relação às demais épocas de colheita, seguidas por aquelas colhidas em R11.5 e R12, enquanto menor atividade foi observada para a colheita tardia em R12+7 (Figura 12E). Ao avaliar a atividade da CAT ao longo do armazenamento (Figura 12F), nota-se um comportamento quadrático, em que houve aumento da atividade após o início do armazenamento, com queda ao final do armazenamento.

A catalase está envolvida na quebra de  $H_2O_2$  em  $H_2O$  e  $O_2$ . São consideradas essenciais na defesa contra o estresse oxidativo gerado pelas EROs (KIBINZA *et al.*, 2011; LIU *et al.*, 2015). Portanto, menor atividade da CAT pode contribuir para a deterioração de sementes, uma vez que o acúmulo de  $H_2O_2$  está associado com a perda de germinação e vigor das sementes (KUREK; PLITTA-MICHALAK; RATAJCZAK, 2019). Nota-se maior atividade da CAT em sementes com maior qualidade fisiológica, portanto menos deterioradas (Figuras 8, 9 e 10). Assim, pode-se afirmar que a atividade da CAT pode ter sido importante para diminuir o estresse oxidativo de sementes colhidas em R11, R11.5 e R12. Observa-se menor atividade da CAT em sementes colhidas em R12+7, que apresentaram menor qualidade fisiológica, ou seja, maior deterioração. Assim, a menor atividade da CAT pode ter contribuído para o acúmulo de  $H_2O_2$ , e assim com a deterioração de sementes. Sementes colhidas em R12+7 permaneceram mais tempo em campo e sofreram chuva em pré-colheita, o que provavelmente acelerou seu processo de deterioração (Figura 3B).

O aumento da atividade da CAT no início do armazenamento foi importante para combater o acúmulo de EROs na semente. Pelos resultados de germinação e vigor (Figuras 8 a 10), nota-se queda linear da qualidade fisiológica das sementes ao longo do armazenamento, independente da época de colheita. Assim, a perda de qualidade de sementes pode estar associada também à diminuição da atividade da CAT no final do armazenamento. Em sementes de soja, Fialho *et al.* (2022) observaram redução na atividade da CAT após retardamento da colheita (30 dias após R8). Aumento na atividade da CAT também foi observado em sementes de pepino (AHMAD *et al.*, 2021), milho (KAVITHA *et al.*, 2017), e soja (CHANDEL *et al.*, 2016) após as serem submetidas à deterioração, o que indica a ação do mecanismo de proteção contra o estresse oxidativo.



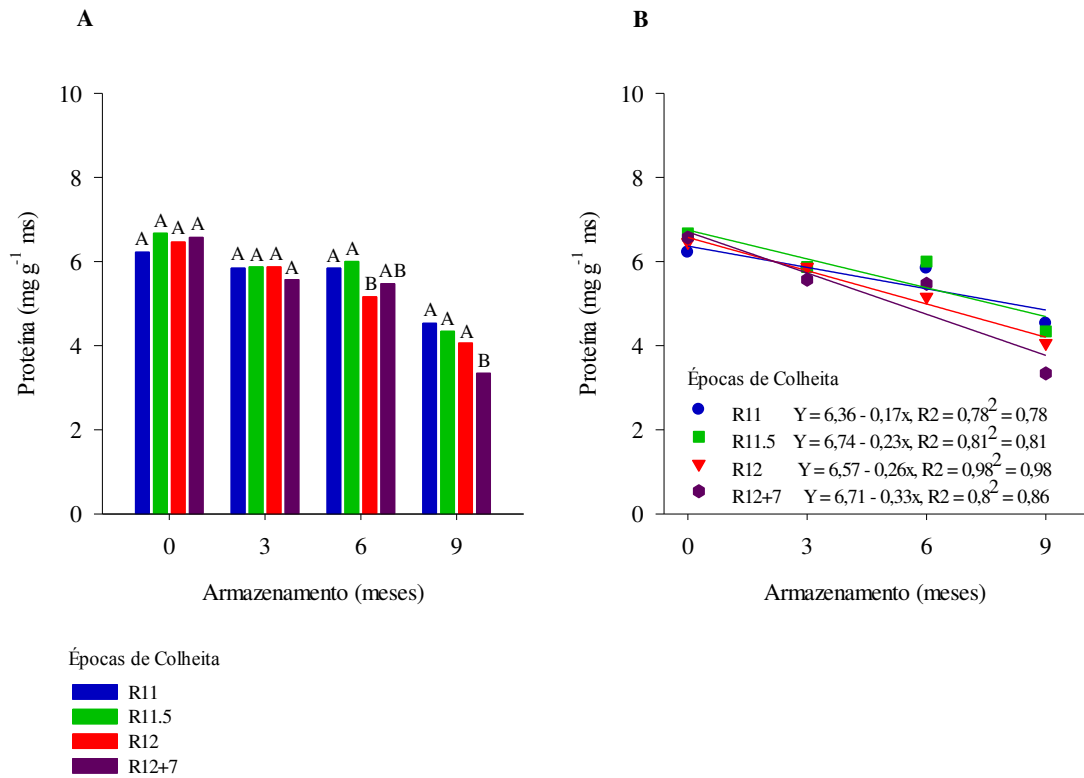
**Figura 12.** Atividade das enzimas Superóxido Dismutase, Peroxidase do Ascorbato e Catalase em sementes de grão-de-bico, obtidas em diferentes épocas de colheita e armazenadas por 0, 3, 6 e 9 meses. Médias com letras iguais não diferem pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ) e comparam as épocas de colheita em cada tempo de armazenamento. NS – não significativo.

O estresse oxidativo é caracterizado pelo desequilíbrio entre as EROs e o sistema antioxidativo, sendo um fator determinante na redução da germinação e do vigor das sementes (KIBINZA *et al.*, 2011; MIN *et al.*, 2017; SAHU *et al.*, 2017; WANG *et al.*, 2012). De maneira geral, a capacidade das sementes de eliminar as EROs via sistema enzimático foi reduzida com o avanço do armazenamento e nas sementes com maior deterioração, como observado nas sementes colhidas em R12+7 (Figura 12). Esses resultados evidenciam este desequilíbrio e corroboram os observados para germinação, vigor e dano por umidade (Figuras 8, 9 e 10).

Ao se determinar o teor de proteína verificou-se que não houve diferença significativa entre as sementes colhidas nas diferentes épocas no início (0 meses) e aos três meses de armazenamento. Aos seis e nove meses, observa-se que sementes colhidas em R12 e R12+7 apresentaram menor teor de proteína respectivamente, comparando com as demais sementes (Figura 13A). Esses resultados corroboram com os de germinação aos nove meses de armazenamento, em que sementes colhidas tardiamente em R12+7 apresentaram menor teor de proteína e menor germinação (Figura 8A). Menor teor de proteína pode levar a um fornecimento ineficiente de energia para a germinação das sementes (LV *et al.*, 2018).

Ao avaliar o teor de proteína ao longo do armazenamento, nota-se redução linear independente da época de colheita (Figura 13B), assim como os resultados de germinação (Figura 8B). Nota-se uma redução mais expressiva para sementes colhidas em R12+7, ou seja, submetidas a o atraso na colheita. Sementes deterioradas podem ter o processo de síntese *de novo* de proteínas comprometido, e a inibição deste processo pode ser um dos principais fatores que afetam não somente a germinação, mas também a longevidade da semente (SANO *et al.*, 2016). Em sementes de soja foi observado menor conteúdo de proteína para sementes submetidas ao retardamento de colheita após R8 (FIALHO, *et al.*, 2022). Em sementes de soja submetidas à deterioração por umidade, Pinheiro *et al.* (2021) observaram redução no

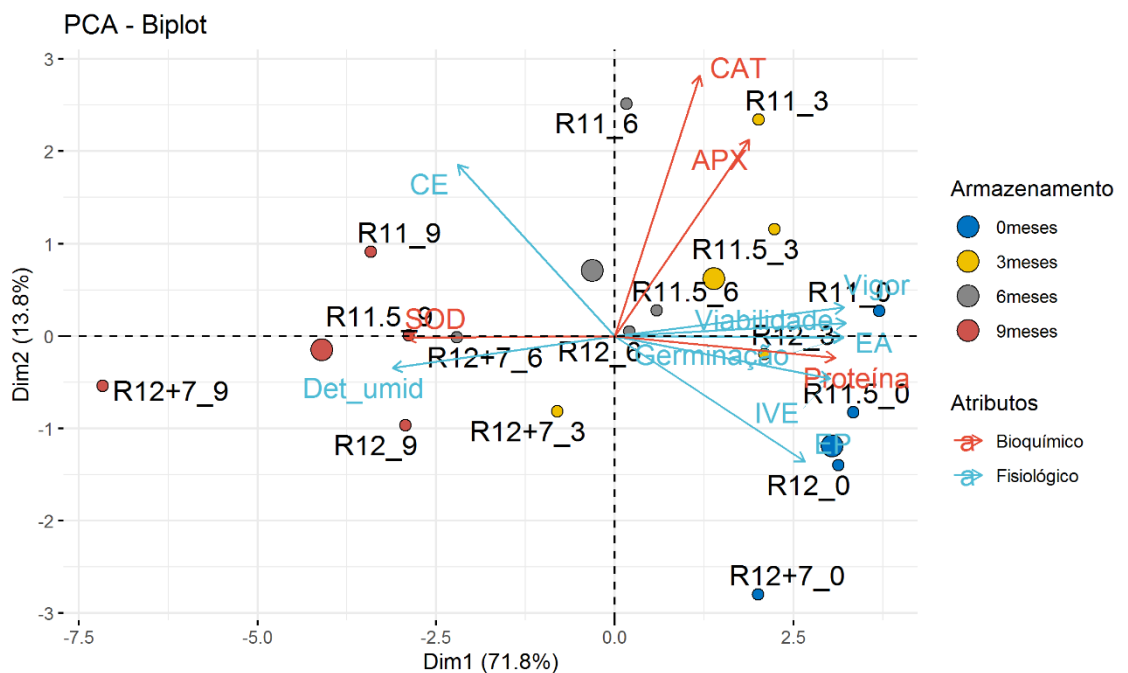
teor de proteínas e na atividade de enzimas antioxidativas, principalmente CAT, APX e POX com o avanço da deterioração.



**Figura 13.** Conteúdo de proteína em sementes de grão-de-bico, obtidas em diferentes épocas de colheita e armazenadas por 0, 3, 6 e 9 meses. Médias com letras iguais não diferem pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ) e comparam as épocas de colheita em cada tempo de armazenamento.

A análise multivariada de componentes principais (PCA) mostram os principais resultados dos testes bioquímicos e fisiológicos de sementes de grão-de-bico colhidas em diferentes épocas e armazenadas por nove meses (Figura 14). A PCA explica a distribuição dos dados (Dim1 e Dim2) em 85,6%. Os vetores referentes aos testes fisiológicos, em azul, destacam as sementes de alto vigor nos escores positivos (+Dim1) e baixo vigor nos escores negativos (-Dim1) e reforça as observações já mencionadas sobre a redução da qualidade das sementes. Houve redução de vigor ao longo do armazenamento independente da época de colheita, em que são observados conjuntos de tratamentos do lado oposto dos vetores dos

testes fisiológicos após 3 meses de armazenamento (Figura 14). De modo geral, sementes colhidas em R11.5 e R12 apresentaram maior vigor em cada período de armazenamento (Figura 14). Com relação aos testes bioquímicos, destacados pelos vetores em vermelho, o teor de proteína apresentou correlação positiva com as análises de qualidade fisiológica, uma vez que acompanha o mesmo sentido dos vetores que determinam alta germinação e vigor (Figura 14). Em relação à atividade da enzima SOD, observa-se uma correlação negativa com os testes de qualidade fisiológica, uma vez que acompanha o mesmo sentido de vetores que determinam baixo vigor, como condutividade elétrica e dano por deterioração por umidade (Figura 14).



**Figura 14.** Biplot da análise de componentes principais (PCA) obtidos pela combinação das variáveis relacionadas ao potencial fisiológico das sementes de grão-de-bico, colhidas em diferentes épocas e armazenadas por nove meses. Dim1: Componente principal 1; Dim2: Componente principal 2.

Esses resultados confirmam que a época de colheita interfere na qualidade fisiológica das sementes de grão-de-bico tanto logo após serem colhidas como ao longo do

armazenamento. Além disso, o armazenamento em condição de ambiente de laboratório com temperatura média de  $23,0 \pm 1,8^{\circ}\text{C}$  e umidade relativa do ar  $66,1 \pm 6,1\%$  causou redução na germinação e vigor das sementes, principalmente devido ao processo de deterioração, ocasionando estresse oxidativo e desequilíbrio dos mecanismos enzimáticos antioxidativos.

#### **4. CONCLUSÕES**

- Sementes de grão-de-bico com maior qualidade fisiológica e potencial de armazenamento foram obtidas quando a colheita foi realizada nos estádios R11.5 e R12, equivalendo a 75% e 90% das vagens com coloração amarelo-dourada, respectivamente.
- Sementes de menor vigor, menor potencial de armazenamento e menor atividade das enzimas APX e CAT foram obtidas quando a colheita foi realizada em R12+7 dias.
- O armazenamento em condições de ambiente de laboratório por nove meses reduz a germinação, o vigor e o teor de proteínas das sementes independente da época de colheita.

## REFERÊNCIAS

- AHMAD, D. *et al.* H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> as a better index of seed quality and mechanism of cucumber (*Cucumis sativus*) seed deterioration. **The Indian Journal of Agricultural Sciences**, v. 91, n. 10, 2021.
- ALI, I. M.; NULIT, R.; HAFIZ IBRAHIM, M.; KAMAL UDDIN, M. Effect of delay harvest on seed quality and germination of three varieties of soybean (*Glycine max*) seeds. **Plant Archives**, v. 18, n. 2, p. 1961 – 1966, 2018.
- ALMEIDA, L. D. *et al.* Comportamento de sementes de grão-de-bico na armazenagem. **Bragantia**, v. 56, n. 1, 1997.
- ALMEIDA, F. de A. C. *et al.* Estudo de técnicas para o armazenamento de cinco oleaginosas em condições ambientais e criogênicas. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v. 12, n. 2, p. 189–202, 2010.
- ANDERSON, M. D.; PRASAD, T. K.; STEWART, C. R. Changes in isozyme profiles of catalase, peroxidase, and glutathione reductase during acclimation to chilling in mesocotyls of maize seedlings. **Plant Physiology**, v. 109, n. 4, p. 1247 – 1257, 1995.
- ARAÚJO, J. O. *et al.* Adjustment of the electrical conductivity test to evaluate the seed vigor of chickpea (*Cicer arietinum* L.). **Journal of Seed Science**, v. 44, 2022.
- ARAÚJO, J. O. *et al.* Accelerated aging test and antioxidant enzyme activity to assess chickpea seed vigor. **Journal of Seed Science**, v. 43, 2021.
- ASADI, A. A. *et al.* Comprehensive functional analysis and mapping of SSR markers in the chickpea genome (*Cicer arietinum* L.). **Computational Biology and Chemistry**, v. 84, 1 fev. 2020.
- AVELAR, R. I. S.; COSTA, C. A.; BRANDÃO, D. da S. J.; PARAÍSO, H. A.; NASCIMEENTO, W. M. Production and quality of chickpea seeds in different sowing and harvest periods. **Journal of Seed Science**, v. 40, p. 1–10, 2018.
- BEAUCHAMP, C.; FRIDOVICH, I. Superoxide Dismutase: Improved Assays and an Assay Applicable to Acrylamide Gels. **Analytical Biochemistry**, v. 44, n. 1, p. 276 - 287, 1971.
- BEWLEY, J. D. *et al.* **No Seeds: physiology of development, germination and dormancy**. Springer, 2013. 392 p.
- BOUKID, F.; ZANNINI, E.; CARINI, E.; VITTADINI, E. Pulses for bread fortification: A necessity or a choice?. **Trends in Food Science and Technology**, v. 88, p. 416 – 428, 2019.

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

BRAGA, N. R.; VIEIRA, C.; VIEIRA, R. F. Comportamento de cultivares de Grão-de-bico (*Cicer arietinum* L.) na microrregião de Viçosa Minas Gerais. **Revista Ceres**, v. 44, n. 255, 1997.

BRASIL. MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. **Regras para análise de sementes**. Brasília: MAPA/ACS, 2009. 305p.

CARDOSO, R. B.; BINOTTI, F. F. S.; CARDOSO, E. D. Potencial fisiológico de sementes de crambe em função de embalagens e armazenamento. **Pesquisa Agropecuaria Tropical**, v. 42, n. 3, p. 272–278, 2012.

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

CHANDEL, R. E.; KHAN, Z. Changes in Enzyme Activity during Accelerated Ageing in Soybean (*Glycine max* (L.) Merrill). **Legume Genomics and Genetics**, v. 7, n. 9, p. 1-7, 2016.

CHEN, Q.; ZHANG, M.; SHEN, S. Effect of salt on malondialdehyde and antioxidant enzymes in seedling roots of Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.). **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 33, n. 2, p. 273–278, mar. 2011.

CHORMULE, S. R.; BHATIYA, V. J.; PATIL, A. S. Effect of seed treatments on quality of chickpea (*Cicer arietinum* L.). **AGRES – An International e-Journal**, v. 4, n. 1, p. 65–71, 2015.

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

DELOUCHE, J. C. *et al.* Storage of seed in sub-tropical and tropical regions. **Seed Science and Technology**, v. 1, p. 671 – 700, 1973.

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

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

EBONE, L. A. *et al.* Biochemical profile of the soybean seed embryonic axis and its changes during accelerated aging. **Biology**, v. 9, n. 8, p. 1–17, 2020.

EKER, T. *et al.* A kabuli chickpea ideotype. **Scientific Reports**, v. 12, n. 1, 2022.

FEHR, W. R.; CAVINESS, C. E. **Stages of soybean development**, CODEN:IWSRBC, 1977. 12 p.

FIALHO, C. A. *et al.* Antioxidant and physiological responses of seeds of soybean cultivars to delayed harvest. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 43, n. 3, p. 1127–1144, 2022.

FINCH-SAVAGE, W. E.; BASSEL, G. W. Seed vigour and crop establishment: Extending performance beyond adaptation. **Journal of Experimental Botany**, v. 67, n. 3, 2016.

FORTI, V. A.; CICERO, S. M.; FERREIRA PINTO, L. Avaliação da evolução de danos por “umidade” e redução do vigor em sementes de soja, cultivar tmgl13-rr, durante o armazenamento, utilizando imagens de raios x e testes de potencial fisiológico. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 32, n. 3, 2010.

FRANÇA-NETO, J. B.; KRZYZANOWSKI, F. C. Metodologia do teste de tetrazólio em sementes de soja. **EMBRAPA Soja**, 2018. 108 p.

GAUR, P. *et al.* **Chickpea Seed Production Manual**. Andra Pradexe, India: International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics. 2010. 28 p.

GAUR, P. M. *et al.* Achievements and challenges in improving nutritional quality of chickpea. **Legume Perspectives**, n. 9, 2015.

GILL, S. S. *et al.* Superoxide dismutase - mentor of abiotic stress tolerance in crop plants. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 22, p. 10375–10394, 2015.

GILL, S. S.; TUTEJA, N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 48, p. 909 – 930, 2010.

GOEL, A.; GOEL, A. K.; SHEORAN, S. Changes in oxidative stress enzymes during artificial ageing in cotton (*Gossypium hirsutum* L.) seeds. **Journal of Plant Physiology**, v. 160, p. 1093 – 1093, 2003.

HENRIQUE, P. H. P. *et al.* Aluminum effects on lipid peroxidation and on the activities of enzymes of oxidative metabolism in sorghum. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 11, n. 3, p. 137 – 143, 1999.

KAVITHA, S. *et al.* Accelerated ageing test in maize: pattern of seed deterioration. **Madras Agriculture Journal**, v. 104, p. 41 – 44, 2017.

KIBINZA, S. *et al.* Catalase is a key enzyme in seed recovery from ageing during priming. **Plant Science**, v. 181, n. 3, p. 309–315, 2011.

KUMAR, P. J. *et al.* Seed birth to death: dual functions of reactive oxygen species in seed physiology. **Annals of Botany**, v. 116, n. 4, p. 663–668, 2015.

KUREK, K.; PLITTA-MICHALAK, B.; RATAJCZAK, E. Reactive oxygen species as potential drivers of the seed aging process. **Plants**, v. 8, n. 174, 2019.

LEPRINCE, O. *et al.* Late seed maturation: drying without dying. **Journal of Experimental Botany**, vol. 68, v. 4, p. 827–841, 2017.

LIU, Y. *et al.* Cloning and allelic variation of two novel catalase genes (SoCAT-1 and SsCAT-1) in *Saccharum officinarum* L. and *Saccharum spontaneum* L. **Biotechnology and Biotechnological Equipment**, v. 29, n. 3, p. 431–440, 2015.

LV, Y. *et al.* Dynamic proteomic changes in soft wheat seeds during accelerated ageing. **PeerJ**, n. 11, 2018.

MAGUIRE, J. D. Speed of germination and seedling emergence and vigor. **Crop Science**, v. 2, p. 176–177, 1962.

MARCOS-FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Londrina: ABRATES, 2015. 659 p.

MARGHEIM, J. F. *et al.* EC04-183 Chickpea production in the high plains. Disponível em: <https://digitalcommons.unl.edu/cgi/viewcontent.cgi?article=1766&context=extensionhist>

MERGA, B.; HAJI, J. Economic importance of chickpea: Production, value, and world trade. **Cogent Food and Agriculture**, v. 4, n. 1, p. 1615718, 2019.

MIN, C. W. *et al.* In-depth proteomic analysis of *Glycine max* seeds during controlled deterioration treatment reveals a shift in seed metabolism. **Journal of Proteomics**, v. 169, p. 125–135, 2017.

MITTLER, R. ROS are good. **Trends in Plant Science**, v. 22, n. 1, p. 11 – 19, 2017.

MORAIS, T. D. C. *et al.* Physiological quality and antioxidant enzymatic action in sunflower seeds exposed to deterioration. **Revista Caatinga**, v. 34, n. 3, p. 570–579, 2021.

MOREANO, T. *et al.* Changes in the effects of weathering and mechanical damage on soybean seed during storage. **Seed Science and Technology**, v. 39, p. 604 – 611, 2011.

NAKANO, Y.; ASADA, K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. **Plant and Cell Physiology**, v. 22, n. 5, p. 867 – 880, 1981.

NASCIMENTO, W. M. *et al.* Grão-de-bico. *Em: Hortaliças Leguminosas*. Brasília, DF: Embrapa Hortaliças, 2016. p. 89–118.

OLIVEIRA, C. M. G. *et al.* Relationship between pod permeability and seed quality in soybean. **Journal of Seed Science**, v. 36, n. 3, p. 273–281, 2014.

PARAÍSO, H. A. *et al.* Adjustments in the tetrazolium test methodology for assessing the physiological quality of chickpea seeds. **Journal of Seed Science**, v. 41, n. 1, p. 7–12, 1 jan. 2019.

PINHEIRO, D. T. *et al.* Antioxidant enzyme activity and physiological potential of *Capsicum baccatum* var. *baccatum* seeds as a function of post-harvest storage of fruit. **Journal of Seed Science**, v. 42, p. e202042028, 2020.

PINHEIRO, D. T.; *et al.* Weathering deterioration in pre-harvest of soybean seeds: Physiological, physical, and morpho-anatomical changes. **Scientia Agricola**, v. 78, 2021.

RAJANI, K. *et al.* Physiological and biochemical assesment of chickpea and lentil grown in different agroclimatic zones of bihar. **Current Journal of Applied Science and Technology**, p. 68–78, 2020.

SAHU, B. *et al.* Insights on germinability and desiccation tolerance in developing neem seeds (*Azadirachta indica*): Role of AOS, antioxidative enzymes and dehydrin-like protein. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 112, p. 64–73, 2017.

SAMARAH, N. H.; ABU-YAHYA, A. Effect of maturity stages of winter- and spring-sown chickpea (*Cicer arietinum* L.) on germination and vigour of the harvested seeds. **Seed Science and Technology**, v. 36, n. 1, p. 177–190, 2008.

SANO, N. *et al.* Staying alive: molecular aspects of seed longevity. **Plant Cell Physiology**, v. 54, n. 4, p. 660–674, 2016.

SHARMA, P. *et al.* Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. **Journal of Botany**, v. 2012, p. 1–26, 24 abr. 2012.

SMIDERLE, O. J. *et al.* Physiological quality of cowpea seeds for different periods of storage. **Revista Ciência Agronômica**, v. 48, n. 5, p. 817–823, 2017.

SOUSA JÚNIOR, D. T.; VERDE, T. F. C. L.; LANDIM, L. A. S. R. Alimentos ricos em triptofano e seu efeito na liberação da serotonina e possíveis benefícios no transtorno de ansiedade. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 14, p. e471101422190, 2021.

SUBEDI, M.; WILLENBORG, C. J.; VANDENBERG, A. Influence of harvest aid herbicides on seed germination, seedling vigor and milling quality traits of red lentil (*Lens culinaris* L.). **Frontiers in Plant Science**, v. 8, 2017.

SWAMY, S. G.; RAJA, D. S.; WESLEY, B. J. Susceptibility of stored chickpeas to bruchid infestation as influenced by physico-chemical traits of the grains. **Journal of Stored Products Research**, v. 87, 2020.

TEKRONY, D. M.; EGLI, D. B. Accumulation of seed vigour during development and maturation. *Em*: ELLIS, R. H.; BLACK, M.; MURDOCK, A. J.; HONG, T. H. **Basic and applied aspects of seed biology**. Boston, MA, USA.: Kluwer Academic, 1997. p. 369–384.

TOKER, C. *et al.* *Cicer turcicum*: A new cicer species and its potential to improve chickpea. **Frontiers in Plant Science**, v. 12, 15 abr. 2021.

TRANCOSO, A. C. R. *et al.* Anatomical, histochemical and physiological changes during maturation of chickpea (*Cicer arietinum* L.) seeds. **Revista Ciência Agronômica**, v. 52, n. 4, p. e20207534, 2021.

USHA, T. N.; DADLANI, M. Study of free radical and peroxide scavenging enzymes and content in different vigour lots of soybean (*Glycine max*). **Legume Research**, v. 39, n. 2, p. 233–236, 2016.

VERGARA, R. *et al.* Harvest delay, storage and physiological quality of soybean seeds. **Journal of Seed Science**, v. 41, n. 4, p. 506–513, 2019.

VIDIGAL, D. *et al.* Changes in seed quality during fruit maturation of sweet pepper. **Scientia Agrícola**, v. 68, p. 535–539, 2011.

VIEIRA, R. D.; KRZYZANOWSKI, F. C. Teste de condutividade elétrica. *Em*: KRZYZANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA NETO, J. **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999. p. 1–26.

VIEIRA, R. F.; VIEIRA, C.; VIEIRA, R.F. Leguminosas graníferas. Viçosa: Editora UFV, 2001. 206p.

WANG, L. *et al.* Comparative proteomics analysis reveals the mechanism of pre-harvest seed deterioration of soybean under high temperature and humidity stress. **Journal of Proteomics**, v. 75, n. 7, p. 2109–2127, 2012.

WOOD, J. A. *et al.* Differences between easy- and difficult-to-mill chickpea (*Cicer arietinum* L.) genotypes. Part I: Broad chemical composition. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 94, n. 7, p. 1437–1445, 2014.

WOOD, J. A.; KNIGHTS, E. J.; CHOCT, M. Morphology of chickpea seeds (*Cicer arietinum* L.): comparison of desi and kabuli types. **Journal of Plant Science**, v. 172, n. 5, p. 632–643, 2011.

YADAV, R. *et al.* Effect of harvest stages on seed yield and its quality in chickpea (*Cicer arietinum* L.). **International Journal of Chemical Studies**, v. 8, n. 3, p. 1249–1251, 2020.

YIN, G. *et al.* Activity levels and expression of antioxidant enzymes in the ascorbate-glutathione cycle in artificially aged rice seed. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 80, p. 1–9, 2014.

ZHANG, T.; JOHNSON, E. N.; WILLENBORG, C. J. Evaluation of harvest-aid herbicides as desiccants in lentil production. **Weed Technology**, v. 30, n. 3, p. 629–638, 2016.

ZHAO, M. *et al.* Mobilization and role of starch, protein, and fat reserves during seed germination of six wild grassland species. **Frontiers in Plant Science**, v. 9, 2018.

ZUFFO, A. M. *et al.* Qualidade fisiológica e sanitária de sementes de soja colhidas em diferentes épocas e submetidas a armazenamento. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 47, n. 3, p. 312–320, 2017.