

DEBORAH DE SOUZA VIDIGAL

**ALTERAÇÕES FISIOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS EM SEMENTES DE
PIMENTA EM FUNÇÃO DO ESTÁDIO DE MATURAÇÃO DOS FRUTOS**

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

**VIÇOSA
MINAS GERAIS - BRASIL
2008**

DEBORAH DE SOUZA VIDIGAL

**ALTERAÇÕES FISIOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS EM SEMENTES DE
PIMENTA EM FUNÇÃO DO ESTÁDIO DE MATURAÇÃO DOS FRUTOS**

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

APROVADA: 22 de fevereiro de 2008.

Pesq. Roberto Fontes Araújo

Prof. Múcio Silva Reis

Prof. Eduardo Fontes Araújo

Prof. Derly José H. da Silva

**Prof^a. Denise Cunha F. dos S. Dias
(Orientadora)**

Aos meus pais, José Ulisses e Zeni, a minha irmã, Isabella e ao meu lindo sobrinho
Bernardo pelo amor, carinho, apoio e amizade,

OFEREÇO

Ao Fabiano pelo amor, ajuda, incentivo, apoio e por ensinar-me a controlar os
pensamentos em direção da harmonia e felicidade.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Viçosa (UFV) e ao Departamento de Fitotecnia pela oportunidade de realização do curso;

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq, pela concessão da bolsa de estudos;

À Professora Denise Cunha Fernandes dos Santos Dias, pela orientação, pelos ensinamentos, pelo apoio e pela amizade desde minha graduação.

À pesquisadora Maria Carmen Bhering, um exemplo de amor à profissão, sempre presente como amiga e como conselheira. Obrigada por contribuir tanto para a minha formação profissional.

Aos meus co-orientadores, Prof. Luiz Antônio Santos Dias e Prof. Fernando Finger, pela atenção e apoio concedido.

À Professora Édila Vilela de Resende Von Pinho (UFLA), pela atenção e pela grande ajuda na elaboração das análises eletroforéticas.

Aos professores, estudantes e funcionários do Laboratório de Análise de Sementes da UFLA, em especial a Elenir, Pâmela, Franciele e Rondon, pelo apoio e ajuda na realização deste trabalho.

A todos os colegas do Laboratório de Pesquisa de Sementes da UFV pela confiança, pelo incentivo, pelos ensinamentos e pelo constante apoio e em especial ao Daniel pela grande amizade desde o início da graduação e ao Márcio pela ajuda nessa reta final.

À amiga Beatriz Gonçalves Brasileiro pela ajuda, apoio e amizade ao longo dessa jornada.

A todos os profissionais da UFV, em especial aos professores Eduardo Fontes Araújo, Eveline Mantovani Alvarenga e Múcio Silva Reis, que desde o início do meu curso, sempre estiveram dispostos a compartilhar seus conhecimentos com muita dedicação.

Aos funcionários da ‘Horta Nova’ do DFT pela grande ajuda na execução do trabalho em campo.

Aos amigos Michelle e Raul pela amizade e apoio durante essa batalha.

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

Muito obrigada.

BIOGRAFIA

DEBORAH DE SOUZA VIDIGAL, filha de José Ulisses de Carvalho Vidigal e Zeni Dilma de Souza Vidigal, nasceu na cidade de Ubá-MG, no dia 15 de dezembro de 1980.

Em 2001, iniciou o curso de graduação em Agronomia na Universidade Federal de Viçosa, graduando-se em maio de 2006.

Ainda em 2006, iniciou o programa de Mestrado em Fitotecnia na Universidade Federal de Viçosa, concentrando seus estudos na área de Produção e Tecnologia de Sementes.

SUMÁRIO

	Pág.
RESUMO.....	vi
ABSTRACT.....	viii
INTRODUÇÃO GERAL.....	1
ARTIGOS	
1. Vidigal, D.S.; Dias, D.C.F.S. Maturação fisiológica de sementes de pimenta ‘Amarela Comprida’ (<i>Capsicum annuum</i> L.). (normas da Revista Brasileira de Sementes).....	9
2. Vidigal, D.S.; Dias, D.C.F.S. Qualidade de sementes de pimenta (<i>Capsicum annuum</i> L.) e atividade de proteínas LEA em função da idade e do armazenamento pós-colheita dos frutos. (normas da Revista Brasileira de Sementes).....	29
3. Vidigal, D.S.; Dias, D.C.F.S. Alterações fisiológicas e enzimáticas durante a maturação de sementes de pimenta (<i>Capsicum annuum</i> L.). (normas da Revista Brasileira de Sementes).....	54
ANEXOS.....	74

RESUMO

VIDIGAL, Deborah de Souza, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2008. **Alterações fisiológicas e bioquímicas em sementes de pimenta em função do estágio de maturação dos frutos.** Orientadora: Denise Cunha Fernandes dos Santos Dias. Co-orientadores: Luiz Antônio dos Santos Dias e Fernando Luiz Finger.

A pesquisa teve por objetivos: i) estudar o processo de maturação das sementes de pimenta (*Capsicum annuum* L.), variedade Amarela Comprida, para determinação da maturidade fisiológica e definição do ponto adequado para a colheita das sementes. ii) avaliar a influência do estágio de maturação e do armazenamento pós-colheita de frutos na atividade de proteínas LEA (Late embryogeneses accumulated) e na qualidade fisiológica de sementes de pimenta. iii) avaliar alterações fisiológicas e enzimáticas em sementes de pimenta obtidas de frutos colhidos em diferentes estágios de maturação e submetidos ao armazenamento pós-colheita. Para tanto, foi conduzido um experimento em campo, onde foram colhidos frutos aos 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70 e 75 dias após a antese (DAA). Os frutos colhidos aos 40, 50, 60 e 70 DAA foram submetidos ao armazenamento pós-colheita por 0, 3, 6, 9, 12 e 15 dias. Os frutos foram avaliados em relação ao peso, diâmetro, comprimento e número de sementes por fruto. As sementes, após serem extraídas dos frutos, foram submetidas aos seguintes testes e determinações: grau de umidade, massa de matéria seca por semente, peso de mil sementes, germinação, primeira contagem de germinação, índice de velocidade de emergência, comprimento de plântula, deterioração controlada, envelhecimento acelerado e condutividade elétrica. Foram determinados ainda os padrões eletroforéticos das seguintes enzimas: Peroxidase (PO), Superóxido Dismutase (SOD), Malato Desidrogenase (MDH), Álcool Desidrogenase (ADH) e de proteínas LEA. Utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições, sendo os dados submetidos à análise de variância e de regressão. A maturidade fisiológica das sementes

de pimenta, cv. Amarela Comprida ocorre aos 70 DAA, quando as sementes possuíam teor de água de 46%. A qualidade fisiológica das sementes foi máxima entre 65 e 70 DAA, quando os frutos estavam com a cor vermelha e vermelha intensa, respectivamente, indicando que a colheita deve ser feita a partir desta faixa. Colheitas precoces (40 DAA) não são benéficas à qualidade fisiológica das sementes de pimenta, mesmo quando associadas a um período de armazenamento pós-colheita dos frutos por até 15 dias. Para frutos colhidos aos 50 DAA, o armazenamento pós-colheita por 12 dias é imprescindível para melhoria da qualidade fisiológica das sementes. Sementes de pimenta colhidas a partir dos 60 DAA apresentam alta qualidade fisiológica, não sendo necessário o armazenamento dos frutos após a colheita. A síntese de proteínas LEA ocorre a partir de 60 DAA, estando diretamente relacionada com a qualidade fisiológica de sementes de pimenta. Maior atividade das enzimas ADH e SOD foram constatadas em sementes obtidas de frutos colhidos aos 60 e 70 DAA, independente do período de armazenamento pós-colheita.

ABSTRACT

VIDIGAL, Deborah de Souza, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, February of 2008. **Physiological and biochemical alterations in pepper seeds in maturation state function of fruits.** Adviser: Denise Cunha Fernandes dos Santos Dias. Co-advisers: Luiz Antônio dos Santos Dias and Fernando Luiz Finger.

The present research had objectives: i) to study the maturation process of pepper seeds (*Capsicum annuum* L.), “Amarela Comprida” variety, aiming to determine the physiological maturity of seeds and the adequate moment for seed harvest. ii) to evaluate the influence of maturation state and post-harvest storage of fruits in LEA (Late embryogenesis accumulated) proteins activity and physiological quality of seeds; iii) to evaluate physiological and enzymatic alterations in pepper seeds harvested at different maturation state and submitted to post-harvest storage of fruits. An experiment was conducted in the field and fruits were harvested at 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70 and 75 days after anthesis (DAA). The fruits harvested at 40, 50, 60 and 70 DAA were stored for 0, 3, 6, 9, 12 and 15 days. Then fruits were appraised in relation to the weigh, diameter, length and number of seeds per fruit. The seeds were submitted to the following tests and determinations: moisture content, dry matter, weight of thousand seeds, germination, first count of germination, speed emergence index, seedling length, controlled deterioration, accelerated aging and electrical conductivity. Isoenzymatic patterns of Peroxidase, Superoxide Dismutase, Malate Desidrogenase, Alcohol Desidrogenase and LEA proteins were determined by electrophoretic analysis. The experiment was conducted in completely randomized design, with four replications, and the data were submitted to variance analysis and regression. The physiological maturity of pepper seeds, cv. “Amarela Comprida”, happened at 70 DAA, when the seeds presented 46.1% moisture content. The maximum physiological quality of seeds occurred between 65 and 70 DAA, indicating that harvest can be made in this period. Precocious harvest (40 DAA) was not beneficial to physiological quality of seeds when

associated to 15 days post-harvest storage. For fruits harvested at 50 DAA, post-harvest storage of fruit for 12 days was indispensable to assure the physiological quality of seeds. Pepper seeds harvested from 60 DAA presented high physiological quality, not being necessary the post-harvest storage of fruits. The LEA proteins synthesis occurred at 60 DAA, being directly related to physiological quality of seeds. Higher activity of Alcohol Dehydrogenase and Superoxide Dismutase enzymes were verified in the seeds obtained from fruits harvested at 60 and 70 DAA, regardless post-harvest storage.

INTRODUÇÃO GERAL

As espécies de pimentas (*Capsicum* spp.) pertencem à família Solanaceae, constituem um grupo de espécies botânicas com características próprias, que produzem frutos geralmente com sabor picante, embora também existam pimentas doces, muito utilizadas na fabricação de páprica.

O cultivo de pimentas ocorre praticamente em todas as regiões do país e é um dos melhores exemplos de agricultura familiar e de integração pequeno agricultor-agroindústria (Reifschneider, 2000). A área anual cultivada é de cerca de 2000 ha e os principais estados produtores são Minas Gerais, Goiás, São Paulo, Ceará e Rio Grande do Sul. A crescente demanda do mercado, estimado em 80 milhões de reais ao ano, tem impulsionado o aumento da área cultivada e o estabelecimento de agroindústrias, tornando o agronegócio de pimentas (doces e picantes) um dos mais importantes do país (Rufino e Penteadó, 2006).

Atualmente, parte da produção brasileira de pimentas é exportada, em diferentes formas, como páprica, pasta, desidratada e conservas ornamentais. Em 2005, o volume de exportações de *Capsicum* atingiu 9.222 toneladas, fazendo com que as pimentas fossem posicionadas como a segunda principal hortaliça exportada (Napoleão, 2006).

No Brasil, a produção de sementes de pimentas se concentra principalmente no RS, MG, GO e PE, sendo necessário recorrer à importação para atender a demanda interna (Nascimento et al., 2006). Aspectos relacionados à produção e qualidade destas sementes são pouco estudados em nossas condições, o que pode ser atribuído a algumas peculiaridades, como baixo rendimento, dificuldade de extração e problemas relacionados à qualidade fisiológica das sementes.

Neste contexto, estudos relacionados à maturação e colheita das sementes são importantes, uma vez que estas alcançam sua qualidade fisiológica máxima no campo. Tais conhecimentos são imprescindíveis, principalmente, no que se refere ao

planejamento e definição da época ideal de colheita para minimizar os efeitos da deterioração das sementes provocados pela permanência prolongada no campo, além de aumentar a produtividade das sementes, uma vez que a colheita precoce poderá acarretar grande proporção de sementes imaturas.

As sementes se desenvolvem a partir de óvulos fertilizados. A partir daí, ocorrem diversas modificações até que a maturidade fisiológica seja atingida, quando cessa a translocação de assimilados da planta para a semente (Carvalho e Nakagawa, 2000). De acordo com Bewley e Black (1994), em geral, o desenvolvimento das sementes pode ser dividido em três fases: a fase de histodiferenciação, onde são intensas as divisões celulares logo após a fertilização; a segunda fase caracterizada pelo aumento no acúmulo de matéria seca no endosperma e/ou embrião, seguida pela terceira fase, quando ocorre a secagem ou dessecação, caracterizada pela redução no teor de água da semente.

Durante o desenvolvimento das sementes, ocorrem modificações em algumas características físicas e fisiológicas, como tamanho, teor de água, conteúdo de matéria seca, capacidade de germinação e nível de vigor (Carvalho e Nakagawa, 2000). Assim, após o óvulo ser fecundado, as sementes crescem em tamanho rapidamente, atingindo o máximo em período de tempo muito curto em relação à duração total do período de maturação. Isso ocorre devido à intensa divisão celular, acompanhada por alongamento das células que constituem o eixo-embrionário e o tecido de reserva.

A semente por ser dreno, recebe os produtos da fotossíntese, o que resulta em aumento no conteúdo de matéria seca, representada por proteínas, açúcares, lipídios e outras substâncias, até atingir valor máximo, quando cessa a translocação planta-semente (Dias, 2001). Durante esta fase, o teor de água das sementes mantém-se alto, decrescendo lentamente à medida que a água vai sendo substituída pelas reservas sintetizadas (Carvalho e Nakagawa, 2000). Para diversos autores, a máxima massa da

matéria seca tem sido considerada como o ponto em que a semente atingiu a maturidade fisiológica, caracterizando que cessou a translocação de assimilados da planta para a semente (Harrington, 1972; Tekrony et al., 1980; Demir e Ellis, 1992). Neste ponto, geralmente, a qualidade fisiológica (germinação e vigor) da semente é máxima e a deterioração é mínima (Carvalho e Nakagawa, 2000). No entanto, segundo Pieta Filho e Ellis (1991), o ponto de máxima matéria seca representa a maturidade de massa, pois nem sempre neste ponto a qualidade da semente será máxima, preferindo empregar o termo “maturidade fisiológica” para caracterizar o ponto onde a germinação e o vigor são máximos, o que pode ocorrer um pouco antes ou após a maturidade de massa.

A partir do ponto de máxima matéria seca, não há mais conexão vascular entre a planta e a semente, e o teor de água das sementes que vinha decrescendo lentamente tende a diminuir drasticamente, até entrar em equilíbrio com o ambiente, comportamento este típico de sementes ortodoxas. Esta secagem natural é importante para evitar que, com a respiração intensa das sementes, ainda úmidas, ocorra a deterioração ou, então, que as sementes germinem no fruto. A velocidade de desidratação depende das condições climáticas durante o processo de maturação da semente e das características de cada espécie, sendo mais evidente em espécies de frutos secos em relação às de frutos carnosos (Dias, 2001).

Sementes ortodoxas, durante a fase de deposição de reservas, desenvolvem mecanismos para prevenir alguns danos provenientes da remoção de água de seus tecidos durante o processo final de maturação. Essa tolerância à dessecação ocorre durante o desenvolvimento da semente e é resultado de alguns mecanismos de proteção capazes de manter os sistemas de membranas das células e as substâncias de reserva em condições de readquirir suas funções fisiológicas quando as sementes são reumbeidas (Bewley e Black, 1994). O desenvolvimento destes mecanismos depende de características genéticas das espécies que determinam a presença de substâncias como

açúcares, anti-oxidantes, enzimas que atuam contra o sistema de oxidação lipídica e proteínas específicas (*lea - late embryogeneses accumulated* – LEA proteínas) que têm função protetora e são induzidas por ácido abscísico (ABA) (Faria et al., 2004; Rosa et al., 2005; Veiga et al., 2007).

Segundo Kermode (1997), a regulação da expressão dos genes LEA, provavelmente, envolve componentes de outras vias de tradução de sinais, além do ABA. Proteínas LEA são tipicamente acumuladas durante as fases finais da embriogênese ou em resposta à desidratação, baixa temperatura, salinidade ou tratamento exógeno de ABA, indicando a sua função na desidratação celular.

Teoricamente, o ponto ideal de colheita das sementes seria na maturidade fisiológica, caracterizada segundo diversos autores pelo máximo conteúdo de matéria seca (Tekrony et al., 1980; Demir e Ellis, 1992), que pode coincidir ou não com a qualidade máxima da semente. Oliveira et al. (1999) observaram em sementes de pimentão que o máximo acúmulo de matéria seca foi alcançado antes da qualidade máxima da semente. Já para sementes de tomate, Dias et al. (2006) verificaram que o acúmulo máximo de matéria seca ocorreu, em geral, depois da qualidade máxima da semente.

Para espécies de crescimento indeterminado, como as pimentas, onde o florescimento e a frutificação são contínuos, são encontrados na mesma planta frutos em diferentes estádios de maturação. Isso dificulta determinar a época em que ocorre a maturidade fisiológica das sementes e o momento ideal para a colheita dos frutos, visando obter o máximo rendimento em sementes de alto vigor. Como os frutos das diferentes espécies de pimenta são carnosos, o processo de maturação das sementes continua mesmo após a colheita dos frutos. Logo, o emprego adequado de técnicas de repouso ou armazenamento pós-colheita dos frutos, antes da extração das sementes, é um aspecto vantajoso, pois permite colher os frutos precocemente, evitando riscos com

possíveis condições desfavoráveis. Também permite reduzir o número de colheitas, colhendo simultaneamente frutos em diversos estádios de maturação, extraíndo-se imediatamente as sementes dos frutos maduros e submetendo-se os demais a período adequado de armazenamento. Durante este período, sementes ainda não totalmente maduras completariam sua maturação, enquanto aquelas já maduras teriam sua qualidade preservada por manterem-se em equilíbrio osmótico dentro do fruto, ou seja, com alto grau de umidade (Barbedo et al., 1994).

Neste contexto, o trabalho teve como objetivos monitorar as alterações físicas, fisiológicas e bioquímicas em sementes de pimenta obtidas de frutos colhidos em diferentes estádios de maturação e submetidos ao armazenamento pós-colheita, buscando ainda caracterizar a maturidade fisiológica das sementes e definir o ideal de colheita.

REFERÊNCIAS

- BARBEDO, C.J.; NAKAGAWA, J.; BARBEDO, A.S.C.; ZANIN, A.C.W. Influência da idade e do período de repouso pós-colheita de frutos de pepino cv. Rubi na qualidade fisiológica de sementes. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 12, n. 2, p.118-124, 1994.
- BEWLEY, J.D.; BLACK, M. **Seeds: physiology of development and germination**. 2 ed., New York: Plenum Press, 1994. 420p.
- CARVALHO, N.M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 4 ed. Jaboticabal: Funep, 2000. 588 p.
- DEMIR, I. ELLIS, R.H. Changes in seed quality during seed development and maturation in tomato. **Seed Science Research**, Wallingford, v.2, p.81-87, 1992.
- DIAS, D.C.F.S. Maturação fisiológica de sementes: o processo. **Seed News**, Pelotas, v.5, n.6, p.22-24, 2001.
- DIAS, D.C.F.S.; RIBEIRO, F.P.; DIAS, L.A.S.; SILVA, D.J.H.; VIDIGAL, D.S. Maturação de sementes de tomate em função da ordem de frutificação na planta. **Revista Ceres**, Viçosa, v.53, n.308, p.446-456, 2006.
- FARIA, M.A.V.R.; VN PINHO, R.G.; VON PINHO, E.V.R.; GUIMARÃES, R.M.; FREITAS, F.E.O. Germinabilidade e tolerância à dessecação em sementes de milho colhidas em diferentes estádios de maturação. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v.3, n.2, p.276-289, 2004.
- HARRINGTON, J.F. Seed storage longevity. In: KOZLOWSKY, T.T. (Ed.) **Seed biology**. New York: Academic Press, v.3, p.145-245, 1972.

KERMODE, A. R. Approaches to elucidate the basis of desiccation-tolerance in seeds. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 7, n. 2, p. 75-95, June 1997.

NAPOLEÃO, B.A. Futuro promissor para a cultura da pimenta. **Informe agropecuário: Cultivo da pimenta**, Belo Horizonte, v. 27, n.235, p.3, 2006.

NASCIMENTO, W.M.; DIAS, D.C.F.S.; FREITAS, R.A. Produção de sementes de pimentas. **Informe agropecuário: cultivo da pimenta**, Belo Horizonte, v. 27, n.235, p.30-39, 2006.

OLIVEIRA, A.P.; GONÇALVES, C.P.; BRUNO, R.L.A.; ALVES, E.U. Maturação fisiológica de sementes de pimentão, em função de idade de frutos após a antese. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.21, n.2, p.88-94, 1999.

PIETA FILHO, C.; ELLIS, R.H. The development of seed quality in spring barley in four environments. I. Germination and longevity. **Seed Science Research**, Wallingford, v.1, p.163-177, 1991.

REIFSCHNEIDER, F.J.B. **Capsicum. Pimentas e pimentões no Brasil**. Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia/Embrapa Hortaliças, 2000. 113p.

ROSA, S.D.V.F.; VON PINHO, E.V.R.; VIEIRA, E.S.; VEIGA, R.D.; VEIGA, A.D. Enzimas removedoras de radicais livres e proteínas *Lea* associadas à tolerância de sementes de milho à alta temperatura de secagem. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.27, n.2, p.91-101, 2005.

RUFINO, J.L.S.; PENTEADO, D.C.S. Importância econômica, perspectivas e potencialidades do mercado para pimenta. **Informe agropecuário: Cultivo da pimenta**, Belo Horizonte, v. 27, n.235, p.7-15, 2006.

TEKRONY, D.M.; EGLY, D.B.; PHILLIPS, A.D. Effects of field weathering on the viability and on vigor of soybean seed. **Agronomy Journal**, Madison, v.72, n.5, p.749-753, 1980.

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

MATURAÇÃO FISIOLÓGICA DE SEMENTES DE PIMENTA ‘AMARELA COMPRIDA’ (*Capsicum annuum* L.)¹

DEBORAH DE SOUZA VIDIGAL², DENISE CUNHA F. SANTOS DIAS³.

RESUMO – Um aspecto importante da produção de sementes é a determinação da maturidade fisiológica e do momento ideal de colheita, visando obter sementes de alta qualidade, minimizando a sua deterioração no campo. Diante disso, a pesquisa teve por objetivo estudar o processo de maturação das sementes de pimenta (*Capsicum annuum* L.), variedade Amarela Comprida, para determinação da maturidade fisiológica e definição do ponto adequado para a colheita das sementes. As sementes foram obtidas de frutos colhidos aos 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70 e 75 dias após a antese (DAA). Determinaram-se o peso, comprimento e diâmetro dos frutos, peso de mil sementes, grau de umidade, massa da matéria seca por semente, germinação, primeira contagem de germinação, comprimento de plântula, envelhecimento acelerado, índice de velocidade de emergência e condutividade elétrica. A maturidade fisiológica das sementes de pimenta, cv. Amarela Comprida ocorre aos 70 DAA, quando as sementes possuíam teor de água de 46%. A qualidade fisiológica das sementes foi máxima entre 65 e 70 DAA, quando os frutos estavam com a cor vermelha e vermelha intensa, respectivamente, indicando que a colheita deve ser feita a partir desta faixa.

Termos para indexação: maturidade fisiológica, colheita, vigor.

¹ Submetido em _____. Aceito para publicação em _____. Parte da Dissertação de Mestrado do primeiro autor apresentada a UFV.

² Estudante de Pós-Graduação, Depto. de Fitotecnia, Universidade Federal de Viçosa, 36571-000 – Viçosa – MG. E-mail: dsvdigal@gmail.com

³ Prof. Associado, Depto. de Fitotecnia, Universidade Federal de Viçosa, 36571-000 – Viçosa – MG. E-mail: dcdias@ufv.br

PHYSIOLOGICAL MATURATION OF PEPPER ‘AMARELA COMPRIDA’ (*Capsicum annuum* L.) SEEDS

ABSTRACT – An important aspect of the production of seeds is the determination of the physiological maturity and the ideal moment of harvest to obtain high quality seeds. This work aimed to study the maturation of pepper (*Capsicum annuum* L.) seeds, “Amarela Comprida” cultivar, in order to determine the physiological maturity of seeds and the adequate moment for seeds harvest. The seeds were obtained from fruits harvested at 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70 and 75 days after anthesis (DAA). Before the seeds extraction the fruits were appraised in relation to the weigh, diameter, length and number of seeds per fruit. The seeds were submitted to following tests and determinations: moisture content, dry matter, weight of thousand seeds, germination, first count of germination, speed emergence index, seedling length, controlled deterioration, accelerated aging and electrical conductivity. The experiment was conducted in completely randomized design, with four replications, and the data were submitted to variance analysis and regression. The physiological maturity of pepper seeds, cv. “Amarela Comprida”, happened at 70 DAA, when the seeds presented 46.1% moisture content. The maximum physiological quality of the seeds occurred between 65 and 70 DAA, indicating that harvest can be made in this moment.

Index terms: physiological maturity, harvest, vigour.

INTRODUÇÃO

A produção de pimenta (*Capsicum* spp.) para uso como condimento a mesa e de produtos alimentícios industrializados vem crescendo e, atualmente, é uma atividade olerícola bastante rentável, principalmente quando o produtor agrega valor ao produto, na forma de molhos, conservas pápricas, geléias, dentre outros.

Como toda espécie de planta propagada sexuadamente, o cultivo de pimentas deve se iniciar com a utilização de sementes de alta qualidade. Dentre os fatores que determinam a alta qualidade das sementes está a colheita na época correta. Para tanto, o conhecimento do processo de maturação das sementes é fundamental, considerando que estas alcançam qualidade máxima no campo. Torna-se imprescindível o conhecimento do processo de maturação, principalmente no que se refere à definição da época ideal de colheita, buscando minimizar a deterioração das sementes provocada por uma permanência prolongada no campo, além de aumentar a produtividade das sementes, uma vez que com a colheita precoce haverá grande proporção de sementes imaturas.

Em geral, para espécies cujas sementes estão contidas em frutos carnosos, como é o caso das pimentas, a máxima germinação e o máximo vigor ocorrem quando a semente atinge a maturidade fisiológica, ou seja, o máximo conteúdo de matéria seca (Nascimento et al., 2006); a partir daí, a germinação e o vigor geralmente declinam. Contudo, há controvérsias quanto à ocorrência da qualidade máxima das sementes durante o seu desenvolvimento. Em diversos trabalhos, a máxima massa de matéria seca não coincidiu com a máxima qualidade fisiológica das sementes, como observado em pimentão (Demir e Ellis, 1992b; Oliveira et al., 1999), melão (Welbaum e Bradford, 1988) e tomate (Kwon e Bradford, 1987; Berry e Bewley, 1991; Demir e Ellis, 1992a; Valdes e Gray, 1998; Demir e Samit, 2001; Dias et al., 2006a). Em sementes de tomate, Kwon e Bradford (1987) afirmaram que a germinação e o vigor máximos ocorreram 15 dias após o conteúdo mais elevado de matéria seca das sementes, semelhantemente ao

que foi observado por Demir e Ellis (1992a), onde a máxima germinação ocorreu aos 70 DAA, enquanto o conteúdo máximo de matéria seca foi verificado aos 50 DAA. Resultados semelhantes foram encontrados por Oliveira et al. (1999), com pimentão, onde a germinação e o conteúdo de matéria seca máximos ocorreram aos 60 DAA e 50 DAA, respectivamente.

Em geral, a partir da maturidade fisiológica iniciam-se, nas sementes, alterações degenerativas que comprometem a germinação e o vigor (Carvalho e Nakagawa, 2000). Assim, o reconhecimento prático da maturidade fisiológica é estratégico para a definição do momento ideal de colheita, contribuindo para a produção de sementes de elevada qualidade fisiológica e sanitária.

Para a determinação da maturidade fisiológica das sementes têm sido utilizados diversos marcadores, como a mudança de coloração dos frutos (Barbedo et al., 1994; Valdes e Gray, 1998 e Dias et al., 2006c), tamanho dos frutos e peso das sementes (Oliveira et al., 1999; Fessel et al., 2001; Dias et al., 2006a,b; Costa et al., 2006) e teor de água (Demir e Ellis, 1992a, Fessel et al., 2001 e Araujo et al., 2006).

Diante disso, o objetivo desta pesquisa foi estudar o processo de maturação das sementes de pimenta (*Capsicum annuum* L.), variedade Amarela Comprida, para determinação da maturidade fisiológica e definição do ponto adequado para a colheita das sementes.

MATERIAL E MÉTODOS

O campo de produção de sementes foi instalado em área experimental denominada “Horta Nova” do Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa (UFV), no período de fevereiro a julho de 2007. O município de Viçosa localiza-se na Zona da Mata de Minas Gerais, a 689,7 m de altitude e coordenadas geográficas 20° 45’ de latitude Sul e 42° 51’ de longitude Oeste (IBGE, 1991).

Foram utilizadas sementes de pimenta (*Capsicum annuum* L.), variedade Amarela Comprida. Após a semeadura e obtenção das mudas em viveiro, estas foram transplantadas, aos 40 dias de idade, para o local definitivo. No campo, as plantas foram dispostas em espaçamento de 1,2 x 0,8 m. O cultivo das plantas seguiu as recomendações usuais para pimenta (Filgueira, 2005), com irrigação, por aspersão, sempre que necessária. As plantas foram tutoradas com o auxílio de estacas. A adubação foi feita de acordo com recomendações de Ribeiro et al. (1999). Durante a fase de florescimento, as flores foram etiquetadas diariamente, no dia da antese, até se obter número suficiente de frutos. Foram colhidos frutos aos 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70 e 75 dias após a antese (DAA). Em seguida, com base na coloração dos frutos (aspecto visual externo), estes foram classificados quanto ao seu estágio fenológico (Figura 1): 20 a 40 DAA (frutos completamente verdes); 45 e 50 DAA (frutos com coloração amarela); 55 a 65 DAA (frutos vermelhos); 70 e 75 DAA (frutos vermelhos intensos).

Logo após a colheita, as sementes foram extraídas dos frutos manualmente e lavadas em água corrente. Após a lavagem, foram colocadas para secar em condição de ambiente de laboratório, por período de tempo suficiente (2 a 3 dias) para atingir grau de umidade compatível com o armazenamento (aproximadamente 10%). Após a secagem, as sementes foram tratadas com o produto comercial Captan 750 TS. 24 (3g produto/kg de sementes). Apenas as sementes destinadas à realização do teste de condutividade elétrica não foram tratadas com fungicida. Em seguida, foram armazenadas em geladeira (10°C) até a realização das análises em laboratório. Foram realizados os seguintes testes e determinações: **Peso de fruto** – 30 frutos colhidos foram pesados em balança digital (precisão 0,001 g), sendo que cada fruto constituiu de uma repetição. Determinou-se o peso médio de frutos, em grama/fruto. **Diâmetro e comprimento de fruto** – 30 frutos colhidos tiveram o diâmetro e o comprimento

mensurados, em milímetros, com auxílio de um paquímetro, sendo que cada fruto constituiu de uma repetição. Determinou-se o diâmetro e o comprimento médio dos frutos (mm/fruto). **Grau de umidade** – nas sementes recém extraídas dos frutos foi determinado o grau de umidade, conforme metodologia prescrita nas Regras para Análise de Sementes (Brasil, 1992), pelo método da estufa, a $105 \pm 3^{\circ}\text{C}$, durante 24 horas, utilizando-se três subamostras de 50 sementes, sendo os resultados expressos em porcentagem (base úmida). **Massa da matéria seca por semente** - foi determinado juntamente com o grau de umidade das sementes (Brasil, 1992), consistindo do peso médio final das três subamostras de 50 sementes após secagem a $105^{\circ}\pm 3^{\circ}\text{C}$ por 24 h. Os resultados foram expressos em mg/semente. **Peso de 1000 sementes** - foram utilizadas 8 subamostras de 100 sementes que foram pesadas em balança com precisão de 0,001g, sendo os cálculos efetuados conforme recomendações das RAS (Brasil, 1992) e os resultados expressos em gramas. **Teste de germinação** - foram utilizadas quatro subamostras de 50 sementes distribuídas sobre duas folhas de papel toalha umedecido com volume de solução de nitrato de potássio (KNO_3) 0,2% equivalente a 2,5 vezes o peso do papel seco, em caixas gerbox. As caixas foram mantidas em germinador a 25°C (Brasil, 1992). As avaliações foram feitas no décimo e décimo sétimo dias após a semeadura e os resultados expressos em porcentagem de plântulas normais. **Primeira contagem de germinação** - consistiu do registro da porcentagem de plântulas normais obtidas no décimo dia após a montagem do teste de germinação. **Comprimento de plântula** - foram utilizadas quatro subamostras de 20 sementes, que foram semeadas em duas linhas traçadas ao longo da extremidade superior do papel toalha, colocado na base de caixas plásticas (tipo gerbox), usando-se a tampa encaixada sobre a base da caixa para fixar as sementes. Foram utilizadas duas folhas de papel toalha umedecidas com volume de KNO_3 equivalente a 2,5 vezes o peso do papel seco. As caixas plásticas

foram colocadas em germinador a 25°C, distribuídas inclinadamente nas bandejas, formando ângulo de 45°. A avaliação foi realizada aos 10 dias após a semeadura, tomando-se o comprimento, em milímetro, das plântulas normais. Os resultados foram expressos em mm/plântula. **Envelhecimento acelerado** - inicialmente, 300 sementes foram distribuídas uniformemente sobre bandeja de tela acoplada à caixas gerbox, contendo, ao fundo, 40mL de água. As caixas foram tampadas e mantidas em incubadora BOD, a 42°C, por 96h (Bhering et al., 2006). Decorrido este período, duas subamostras de 50 sementes foram utilizadas para a determinação do grau de umidade das sementes, pelo método da estufa a 105±3°C por 24 h e quatro subamostras de 50 sementes foram submetidas ao teste de germinação, conforme descrito anteriormente. Os resultados foram expressos em porcentagem de plântulas normais obtidas no décimo quarto dia após a semeadura. **Índice de velocidade de emergência** - quatro subamostras de 50 sementes foram distribuídas a 0,3 cm de profundidade, em sulcos, em bandejas plásticas contendo substrato comercial (Bioplant). As bandejas foram mantidas em casa de vegetação (temperatura média de 23,4°C). Foram feitas contagens diárias do número de plântulas emergidas até 30 dias após a semeadura, calculando-se o índice de velocidade de emergência (IVE), conforme Maguire (1962). **Condutividade Elétrica** - adotou-se a metodologia estabelecida pela ISTA (1995), empregando-se quatro subamostras de 50 sementes, com massas conhecidas, imersas em 25mL de água destilada e mantidas em incubadora BOD, a 25°C, por 24 horas. Após esse período, a condutividade elétrica de cada solução foi determinada em condutivímetro, e os resultados expressos em $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$ de sementes. **Delineamento experimental e análise estatística** - utilizou-se delineamento inteiramente casualizado, em quatro repetições para a maioria das variáveis analisadas, exceto: o peso, diâmetro e comprimento dos frutos, com 30 repetições; o grau de umidade e a massa da matéria seca por semente, com 3

repetições e o peso de mil sementes, com 8 repetições. As análises estatísticas foram processadas no Sistema SAS de Análise Estatística (SAS, 1989). Os valores obtidos para as variáveis foram submetidos a testes de normalidade e homogeneidade, que indicaram a não necessidade de transformação. Na seqüência, os valores obtidos para cada variável foram submetidos à análise de variância e regressão, em nível de 5% de probabilidade, pelo teste “F”. As estimativas dos parâmetros da regressão foram analisadas pelo teste “t” em nível de 5% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Figura 1 apresenta o aspecto visual dos frutos de pimenta, cv. Amarela comprida, colhidas aos 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70 e 75 DAA. De 20 a 40 DAA, os frutos estavam completamente verdes; aos 45 e 50 DAA, houve mudança de coloração dos frutos que apresentavam-se com pericarpo amarelo. De 55 a 65 DAA, os frutos apresentaram pericarpo vermelho e aos 70 e 75 DAA, vermelho intenso.

Pela Figura 2, o peso máximo dos frutos (47,8g) ocorreu aos 58 DAA. Já o maior diâmetro (39,1mm) e maior comprimento (145mm) ocorreram próximo aos 55 DAA, sendo que este diminuiu para 137mm aos 75 DAA. Esta redução pode ser atribuída ao fato de se tratar de uma espécie de crescimento indeterminado, onde o tamanho dos frutos tende a diminuir com o aumento da ordem de frutificação na planta. Dias et al. (2006b) verificaram diferenças entre o peso dos frutos de tomate, em relação a ordem de frutificação da planta, observando que os frutos colhidos em racimos superiores, ou seja, mais tardios possuíam peso menor do que os colhidos no primeiro racimo.

A massa da matéria seca das sementes (Figura 2) aumentou com o aumento da idade dos frutos, até 70 DAA, quando se obteve o valor máximo (0,0063mg/semente).

A partir daí, não houve acréscimo, mantendo-se estável até 75 DAA, indicando que cessou a translocação de assimilados da planta para a semente.

A massa máxima da matéria seca tem sido apontada por diversos autores como um indicativo da maturidade fisiológica das sementes (Tekrony et al., 1980; Demir e Ellis, 1992a). Em sementes de pimentão, a massa máxima da matéria seca foi obtida próximo aos 50 DAA, quando os frutos estavam com 50% da coloração vermelha (Demir e Ellis, 1992b). Já sementes de tomate alcançaram o máximo acúmulo de matéria seca aos 75 DAA, quando os frutos estavam com 90% do pericarpo vermelho (Dias et al., 2006a). Quando se determinou o peso de mil sementes verificou-se que o valor máximo (7,5g) foi obtido aos 70 DAA, coincidindo com o momento em que o conteúdo de matéria seca foi máximo (Figura 2). Resultado semelhante foi encontrado por Ribeiro (2004) que observou, em sementes de tomate, que o peso máximo de mil sementes coincidiu com o acúmulo máximo de matéria seca, que ocorreu na faixa de 70 a 80 DAA.

O grau de umidade das sementes (Figura 2) decresceu com o avanço do processo de maturação, sendo que aos 20 DAA, onde os frutos se encontravam totalmente imaturos, o teor de água das sementes era de 96,6%. A partir daí decresceu até 70 DAA, quando as sementes possuíam teor de água de 46%, momento em que a semente atingiu a maturidade fisiológica, estabilizando a partir deste ponto até 75 DAA. Assim, observou-se que mesmo com a redução gradativa do teor de água das sementes ao longo do seu desenvolvimento, o valor encontrado ao final do processo pode ser considerado relativamente alto (46%), o que também foi descrito por outros autores para sementes de frutos carnosos (Demir e Ellis, 1992a,b; Bewley e Black, 1994; Demir et al., 2002; Dias et al., 2006a,c; Vidigal et al., 2006). Segundo Welbaum e Bradford (1988), para espécies de frutos carnosos ocorre um equilíbrio osmótico entre o pericarpo do fruto,

rico em solutos, e as sementes, resultando na estabilização do teor de água destas ao final da maturação.

Embora seja utilizado, o teor de água das sementes não é um indicador adequado de maturidade fisiológica, por sofrer influências ambientais e genéticas. Isso foi demonstrado por Demir e Ellis (1992a) que, por ocasião da maturidade fisiológica, observaram valores diferentes para o teor de água das sementes de tomate, nos dois anos agrícolas estudados, constatando valores de 53% e 72%, respectivamente, em 1989 e 1990. Resultados semelhantes foram obtidos por Demir et al. (2002) em sementes de berinjela.

É importante ressaltar que, de 20 DAA até 40 DAA, a germinação das sementes de pimenta foi nula, de modo que os dados referentes à colheita realizada aos 20, 25, 30 e 35 DAA não foram incluídos na Figura 3. A partir dos 45 DAA (Figura 3), observa-se um aumento gradativo da germinação com o decorrer do processo de maturação até atingir o valor máximo aos 68 DAA, ou seja, próximo ao ponto de máximo acúmulo de matéria seca da semente (70 DAA) (Figura 2). Estudos sobre maturação de sementes têm mostrado resultados contraditórios quanto à ocorrência da qualidade máxima da semente durante o seu desenvolvimento. Demir e Ellis (1992a) verificaram que a máxima qualidade das sementes de tomate ocorreu mais de 20 dias após a massa máxima da matéria seca. Resultados semelhantes foram constatados por Demir et al. (2002) em sementes de berinjela e Oliveira et al. (1999) e Demir e Ellis (1992b) em sementes de pimentão. Por outro lado, Dias et al. (2006a) constataram que os maiores valores de germinação de sementes de tomate foram obtidos antes do máximo acúmulo de matéria seca.

De modo geral, o vigor das sementes aumentou gradativamente ao longo do processo de maturação, havendo variação entre os testes de primeira contagem de germinação, comprimento de plântula, envelhecimento acelerado, índice de velocidade

de emergência e condutividade elétrica quanto à indicação do momento em que o vigor foi máximo (Figura 3). Aos 75 DAA registraram-se valores máximos para a primeira contagem de germinação (78%) e aos 68 DAA o comprimento de plântula foi máximo (60,8 mm/plântula), neste caso, coincidindo com a germinação máxima.

Verifica-se ainda, pelo teste de envelhecimento acelerado, que o vigor máximo (86%) ocorreu aos 75 DAA. E pelo índice de velocidade de emergência, o máximo vigor foi observado aos 72 DAA.

Os resultados de condutividade elétrica (Figura 3) indicam que valores mais elevados foram encontrados aos 20 DAA, decrescendo a partir daí até 68 DAA, praticamente estabilizando a partir deste ponto. Estes resultados indicam que o sistema de membranas celulares das sementes, inicialmente, não se apresentava com a organização ideal; com o decorrer da maturação, houve redução na lixiviação de solutos em decorrência da estruturação adequada das membranas celulares.

Verifica-se, portanto, que a máxima qualidade fisiológica das sementes de pimenta, com base nos resultados de germinação e vigor, ocorreu em frutos com idade entre 65 e 70 DAA, coincidindo com a maturidade fisiológica, representada pelo acúmulo máximo de matéria seca, que ocorreu aos 70 DAA. Os resultados deste trabalho corroboram com a hipótese proposta por Harrington (1972) de que a máxima qualidade de sementes é atingida ao final do período de acúmulo de matéria seca, o que também foi constatado por Welbaum e Bradford (1988) e Demir et al. (2004).

CONCLUSÕES

A maturidade fisiológica das sementes de pimenta, cv. Amarela Comprida, ocorre aos 70 DAA, quando as sementes possuíam teor de água de 46%.

A qualidade fisiológica das sementes foi máxima entre 65 e 70 DAA, quando os frutos estavam com a cor vermelha e vermelha intensa, respectivamente, indicando que a colheita deve ser feita a partir desta faixa.

REFERÊNCIAS

- ARAÚJO, E.F.; ARAÚJO, R.F.; SOFIATTI, V.; SILVA, R.F. Maturação de sementes de Milho-Doce – Grupo Super Doce. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v.28, n.2, p.69-76, 2006.
- BARBEDO, C.J.; NAKAGAWA, J.; BARBEDO, A.S.C.; ZANIN, A.C.W. Influência da idade e do período de repouso pós-colheita de frutos de pepino cv. Rubi na qualidade fisiológica de sementes. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 12, n. 2, p.118-124, 1994.
- BERRY, T.; BEWLEY, J.D. Seeds of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) which develop in a fully hydrated environment in the fruit switch from a developmental to a germinative mode without a requirement for desiccation. **Planta**, Berlim, v.186, n.1, p.27-34, 1991.
- BEWLEY, J. D.; BLACK, M. **Seed: physiology of development and germination**. 2 ed. New York: Plenum Press, 1994. 445 p.
- BHERING, M.C.; DIAS, D.C.F.S.; VIDIGAL, D.S.; NAVEIRA, D.S.P. Teste de envelhecimento acelerado em sementes de pimenta. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v.28, n.3; p.64-71, 2006.
- BRASIL. Ministério da Agricultura. **Regras para análise de sementes**. Brasília: Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária, 1992. 365 p.
- CARVALHO, N.M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 4 ed. Jaboticabal: Funep, 2000. 588 p.

COSTA, C.J.; CARMONA, R.; NASCIMENTO, W.M. Idade e tempo de armazenamento de frutos e qualidade fisiológica de sementes de abóbora híbrida. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v.28, n.1, p.127-132, 2006.

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

DEMIR, I.; ELLIS, R.H. Development of pepper (*Capsicum annuum* L.) seed quality. **Annals of Applied Biology**, Oxford, v.121, n.2, p.385-399, 1992b.

DEMIR, I.; MAVI, K.; OZCOBAN, M. Changes in germination and potential longevity of watermelon (*Citrullus lanatus*) seeds during development. **New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science**, Wellington, v. 32, p.139–145, 2004.

DEMIR, I.; MAVI, K.; SERMENLI, T.; OZCOBAN, M. Seed development and maturation in Aubergine (*Solanum melongena* L.) **Gartenbauwissenschaft**, Stuttgart, v.67, n.4, p.148-154, 2002.

DEMIR, I.; SAMIT, Y. Seed quality in relation to fruit maturation and seed dry weight during development in tomato. **Seed Science and Technology**, Zürich, v.29, p.453-462, 2001.

DIAS, D.C.F.S.; RIBEIRO, F.P.; DIAS, L.A.S.; SILVA, D.J.H.; VIDIGAL, D.S. Maturação de sementes de tomate em função da ordem de frutificação na planta. **Revista Ceres**, Viçosa, v.53, n.308, p.446-456, 2006a.

DIAS, D.C.F.S.; RIBEIRO, F.P.; DIAS, L.A.S.; SILVA, D.J.H.; VIDIGAL, D.S. Tomato seed quality harvested from different trusses. **Seed Science and Technology**, Zürich, v.34, n.3, p.681-689, 2006b.

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

FESSEL, S.A.; VIEIRA, R.D.; MENDONÇA, E.A.F.; CARVALHO, R.V. Maturação fisiológica de sementes de milho. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.23, n.1, p.191-197, 2001.

FILGUEIRA, F.A. **Novo Manual de Olericultura: Agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças**. 2^oed. Viçosa : UFV, 2005. 412p.

HARRINGTON, J.F. Seed storage longevity. In: KOZLOWSKY, T.T. (Ed.) **Seed biology**. New York: Academic Press, v.3, p.145-245, 1972.

IBGE. Centro Demográfico. **Resultados do universo relativo às características da população e dos domicílios**. Rio de Janeiro, n.18, 1991.

ISTA – International seed testing association. **Handbook of vigour test methods**. 3 ed. Zürich, 1995. 117p.

KWON, O.S.; BRADFORD, K.J. Tomato seed development and quality as influenced by preharvest treatment with ethephon. **HortScience**, Alexandria, v.22, n.3, p.588-591, 1987.

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

NASCIMENTO, W.M.; DIAS, D.C.F.S.; FREITAS, R.A. Produção de sementes de pimentas. **Informe agropecuário: Cultivo da pimenta**, Belo Horizonte, v. 27, n.235, p.30-39, 2006.

OLIVEIRA, A.P.; GONÇALVES, C.P.; BRUNO, R.L.A.; ALVES, E.U. Maturação fisiológica de sementes de pimentão, em função de idade de frutos após a antese. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.21, n.2, p.88-94, 1999.

RIBEIRO, A.C.; GUIMARÃES, P.T.G.; ALVAREZ, V.H. **Recomendações para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais - 5ª aproximação**. Viçosa: CFSEMG, 1999. 359 p.

RIBEIRO, F.P. **Produção e qualidade de sementes de tomate em função do estágio de maturação dos frutos e da ordem de frutificação na planta**. 2004. 101p. Tese (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2004.

SAS Institute. **Statistical user's guide**, version 6, fourth edition, volume 2 cary, NC: SAS Institute Inc, 1989. 846p

TEKRONY, D.M.; EGLY, D.B.; PHILLIPS, A.D. Effects of field weathering on the viability and on vigor of soybean seed. **Agronomy Journal**, Madison, v.72, n.5, p.749-753, 1980.

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

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

WELBAUM, G.E; BRADFORD, K.J. Water relations of seeds development and germination in muskmelon (*Cucumis melo* L.). I. Water relations of seeds and fruit development. **Plant Physiology**, Rockville, v.86, p.406-411, 1988.



FIGURA 1. Aspecto visual dos frutos de pimenta, cv. Amarela Comprida, em diferentes estádios de maturação: 20, 25, 30, 35 e 40 DAA, frutos verdes; 45 e 50 DAA, frutos amarelos; 55, 60 e 65 DAA, frutos vermelhos e 70 e 75 DAA, frutos vermelho intenso.

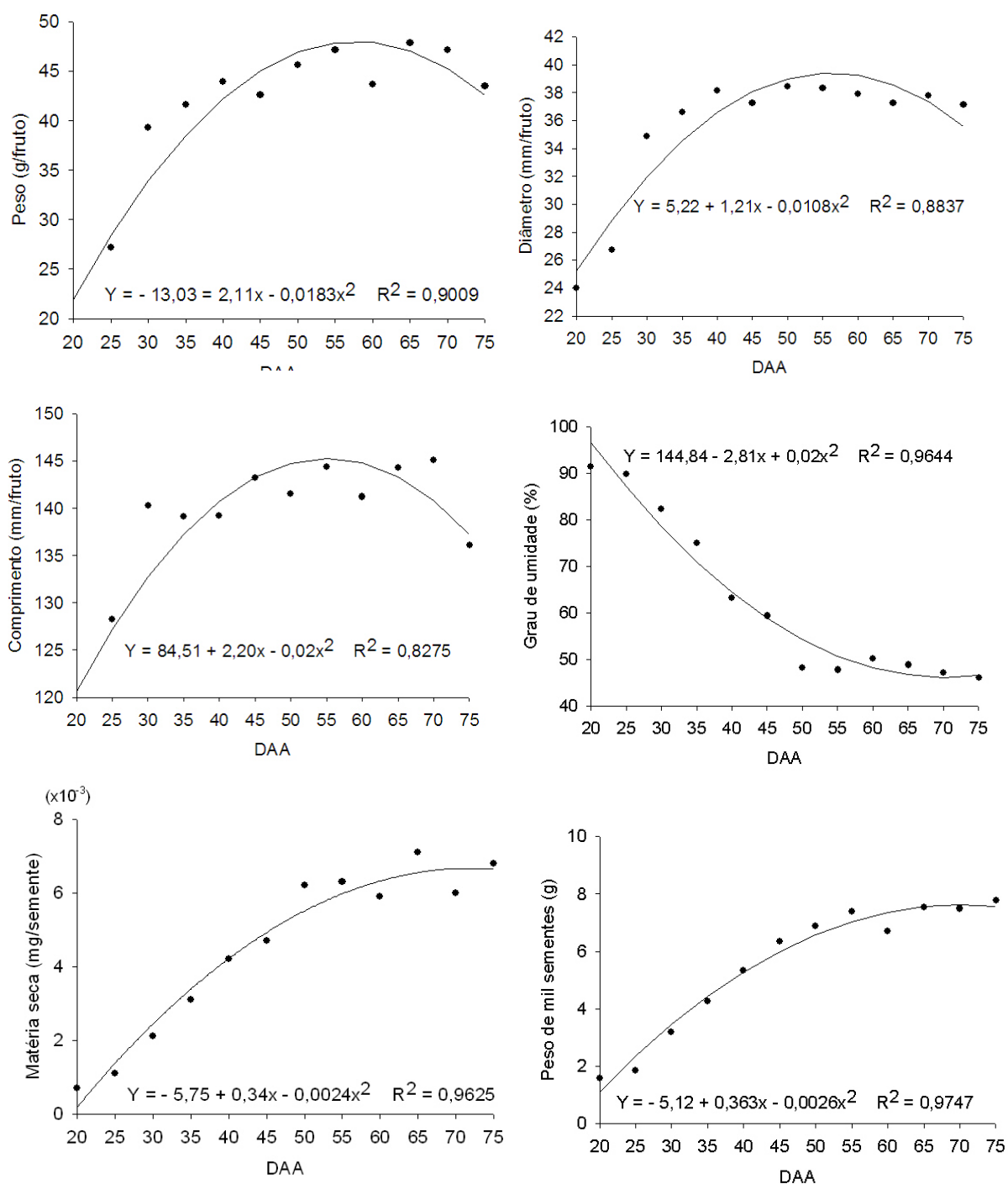


FIGURA 2. Desenvolvimento de frutos e sementes de pimenta: peso, diâmetro e comprimento do fruto, grau de umidade e matéria seca da semente e peso de mil sementes, em função dos dias após a antese (DAA).

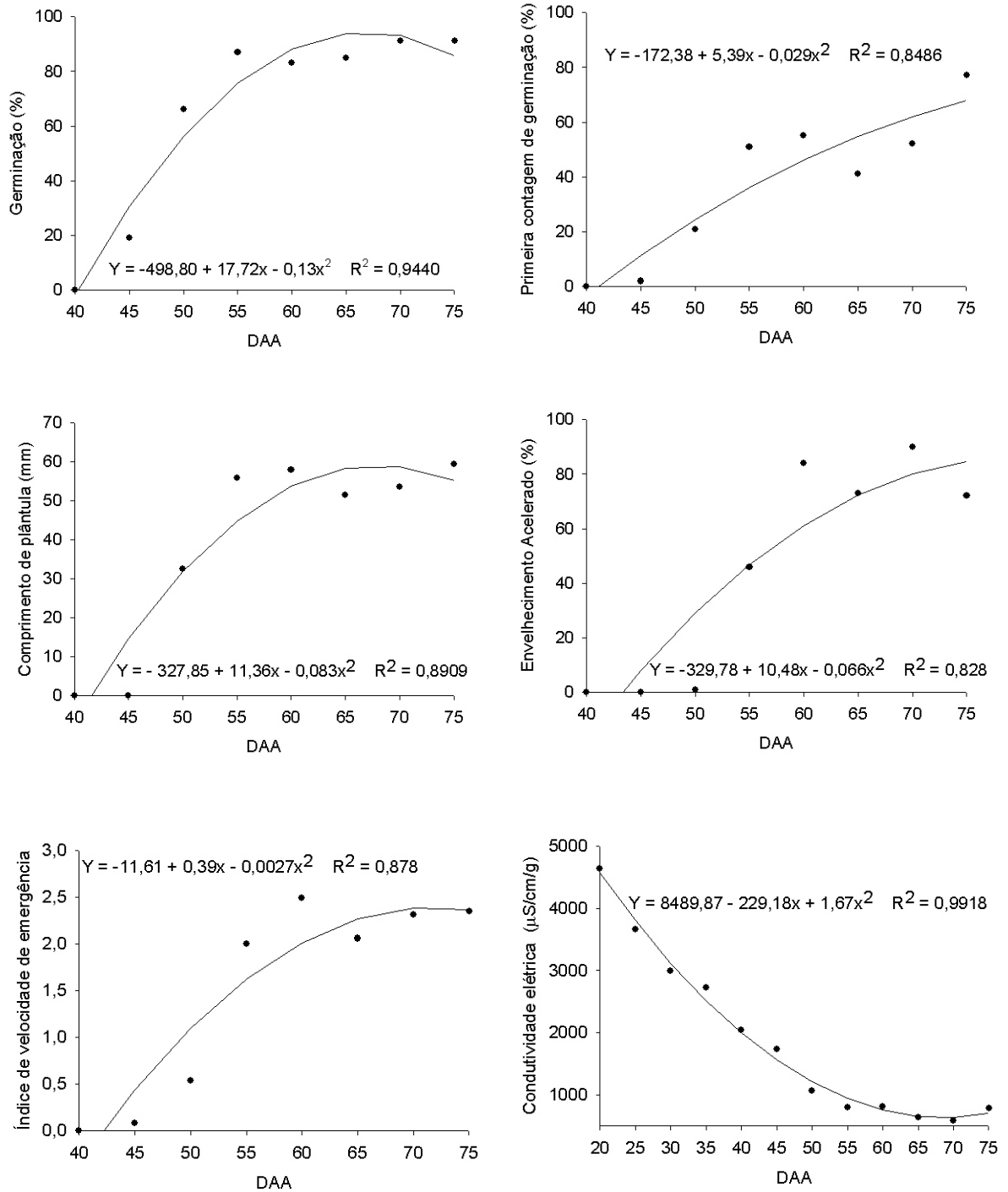


FIGURA 3. Germinação, primeira contagem de germinação, comprimento de plântula, germinação após envelhecimento acelerado, índice de velocidade de emergência e condutividade elétrica de sementes de pimenta, em função dos dias após a antese (DAA).

**QUALIDADE DE SEMENTES DE PIMENTA (*Capsicum annuum* L.) E
ATIVIDADE DE PROTEÍNAS LEA EM FUNÇÃO DA IDADE E DO
ARMAZENAMENTO PÓS-COLHEITA DOS FRUTOS¹**

DEBORAH DE SOUZA VIDIGAL², DENISE CUNHA F. SANTOS DIAS³

RESUMO – O trabalho teve como objetivos avaliar a influência do estágio de maturação e do armazenamento pós-colheita de frutos na atividade de proteínas LEA e qualidade fisiológica de sementes de pimenta, cv. Amarela Comprida. Os frutos foram colhidos aos 40, 50, 60 e 70 dias após a antese (DAA) e submetidos ao armazenamento pós-colheita por 0, 3, 6, 9, 12 e 15 dias para, então, proceder à extração das sementes. As sementes foram submetidas aos testes de germinação, primeira contagem de germinação, comprimento de plântula, envelhecimento acelerado, índice de velocidade de emergência e condutividade elétrica. Determinou-se, ainda, a atividade de proteínas LEA em sementes extraídas de frutos colhidos aos 40, 50, 60 e 70 DAA e armazenados por 0, 6 e 12 dias. Colheitas precoces (40 DAA) não são benéficas à qualidade fisiológica das sementes de pimenta, mesmo quando associadas a um período de armazenamento pós-colheita dos frutos por até 15 dias. Para frutos colhidos aos 50 DAA, o armazenamento pós-colheita por 12 dias é imprescindível para assegurar a qualidade fisiológica das sementes. Sementes de pimenta colhidas a partir dos 60 DAA apresentam alta qualidade fisiológica, não sendo necessário o armazenamento dos frutos após a colheita. A síntese de proteínas LEA ocorre a partir de 60 DAA, estando diretamente relacionada com a qualidade fisiológica de sementes de pimenta.

Termos para indexação: Late Embriogenesis Accumulating, germinação, vigor.

¹ Submetido em _____. Aceito para publicação em _____. Parte da Dissertação de Mestrado do primeiro autor apresentada a UFV.

² Estudante de Pós-Graduação, Depto. de Fitotecnia, Universidade Federal de Viçosa, 36571-000 – Viçosa – MG. E-mail: dsvdigal@gmail.com

³ Prof. Associado, Depto. de Fitotecnia, Universidade Federal de Viçosa, 36571-000 – Viçosa – MG. E-mail: dcdias@ufv.br

**PEPPER SEED QUALITY AND LEA PROTEINS ACTIVITY IN
RELATION TO FRUIT MATURATION AND POST-HARVEST STORAGE**

ABSTRACT – This study was conducted to evaluate the influence of fruit maturity and post-harvest storage on physiological quality and LEA proteins activity of pepper (*Capsicum annuum* L.) seeds. Fruits were harvested at 40, 50, 60 and 70 days after anthesis (DAA) and stored for 0, 3, 6, 9, 12 and 15 days before seed extraction. Seeds were evaluated by germination, first count, seedling length, accelerated aging, speed emergence index and electrical conductivity tests. Electrophoretic analysis for proteins LEA were conducted for seeds obtained from fruits harvested at 40, 50, 60 and 70 DAA and stored for 0, 6 e 12 days. It was verified that precocious harvest (40 DAA) was not beneficial to physiological quality of pepper seeds even when associated to 15 days post-harvest storage. For fruits harvested at 50 DAA, 12 days post-harvest storage was indispensable to assure the physiological quality of seeds. Pepper seeds harvested from 60 DAA presented high physiological quality, not being necessary the post-harvest storage of fruits. LEA proteins synthesis occurred at 60 DAA, being directly related to physiological quality of pepper seeds.

Index terms: Late Embryogenesis Accumulating, germination, vigour.

INTRODUÇÃO

O processo de desenvolvimento e maturação das sementes envolve uma série de alterações bioquímicas, fisiológicas e morfológicas que ocorrem desde a fertilização do óvulo até a colheita das sementes. O início deste processo é marcado por intensa divisão e expansão celular e diferenciação de tecidos, cujos eventos, coletivamente, são denominados de histodiferenciação (Bewley e Black, 1994). Em seguida, ocorre uma fase de aumento progressivo da massa seca das sementes, resultado da síntese e deposição de reservas, havendo aumento significativo, também, na sua capacidade de germinação, permanecendo alto o teor de água das sementes. O final desta fase é marcado pelo conteúdo máximo de massa da matéria seca das sementes, caracterizando o ponto de maturidade fisiológica. A partir daí, intensifica-se a desidratação das sementes, caracterizando a fase de secagem ou dessecação, típica das sementes ortodoxas (Bewley e Black, 1994; Marcos Filho, 2005).

As três fases descritas ocorrem com velocidade variável, de acordo com a espécie, e são reguladas por atividade hormonal (Marcos Filho, 2005). Diversos estudos comprovam que a concentração de ABA permanece elevada durante as fases de histodiferenciação e de acúmulo de massa seca, garantindo o fluxo de massa seca e a síntese de enzimas, que atuam, especificamente, nos processos anabólicos e impedindo a germinação precoce da semente ainda em desenvolvimento (Bewley e Black, 1994; Marcos Filho, 2005). Próximo ao final do processo de acúmulo de massa seca há um declínio na concentração de ABA, acompanhado por um aumento na tolerância à dessecação (Pammenter et al., 1994).

Nas fases iniciais do desenvolvimento, as sementes não são capazes de tolerar a dessecação. A aquisição desta tolerância está associada, principalmente, a dois mecanismos protetores que se instalam nas sementes antes ou durante a fase final de secagem: a síntese de proteínas LEA (*Late Embriogenesis Accumulating*) e a síntese de

açúcares solúveis, mais especificamente a sacarose e oligossacarídeos, como a rafinose e estaquiose (Kermode, 1990, 1997 e Hoekstra et al., 2001).

As proteínas LEA são hidrofílicas, estáveis, não se desnaturando sob altas temperaturas, sendo sintetizadas no início do desenvolvimento das sementes, quando o conteúdo de ABA ainda é alto, e a partir da fase de secagem rápida que ocorre no final da maturação. Sua capacidade de atrair moléculas de água mantém o ambiente onde se encontram hidratado (Galau et al., 1987; Han et al., 1997). As proteínas LEA encontradas em plantas superiores são compostas, principalmente, por aminoácidos hidrofílicos ordenados em seqüências repetidas, estando divididas em cinco grupos com base em suas propriedades bioquímicas e nas semelhanças de função (Hong-Bo et al., 2005), destacando-se as deidrininas, ricas em lisina, já identificadas em sementes de várias espécies. Foram detectadas pela primeira vez em embriões de algodão em desenvolvimento (Dure e Crouch, 1981) e, posteriormente, em sementes de várias outras espécies como soja (Blackman et al., 1991), mamona (Han et al., 1997), beterraba (Capron et al., 2000), *Arabidopsis* (Delseny et al., 2001), milho (Faria et al., 2004 e Rosa et al., 2005), arroz (Chourey et al., 2003) e couve-flor (Soeda et al., 2005), em estádios tolerantes à dessecação, durante o desenvolvimento das sementes, ou após o início de embebição.

Há relatos de que as proteínas LEA, além de serem sintetizadas durante a embriogênese das sementes, também se acumulam em resposta a situações de estresse hídrico, baixa temperatura, salinidade ou aplicação exógena de ABA, indicando a sua função protetora na desidratação celular (Hong-Bo et al., 2005).

Nas nossas condições, os principais estudos referentes à maturação de sementes estão relacionados ao monitoramento das modificações fisiológicas que acontecem durante o processo, especialmente, conteúdo de massa seca, germinação e vigor. São escassas, portanto, informações referentes às alterações na atividade de proteínas

resistentes ao calor durante o desenvolvimento e maturação das sementes, especialmente de hortaliças.

Neste contexto, o trabalho teve como objetivo avaliar a influência do estágio de maturação e do armazenamento pós-colheita de frutos na atividade de proteínas LEA e na qualidade fisiológica de sementes de pimenta.

MATERIAL E MÉTODOS

O campo de produção de sementes foi instalado em área experimental denominada “Horta Nova” do Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa (UFV), no período de fevereiro a julho de 2007. O município de Viçosa localiza-se na Zona da Mata de Minas Gerais, a 689,7 m de altitude e coordenadas geográficas 20° 45’ de latitude Sul e 42° 51’ de longitude Oeste (IBGE, 1991). As análises laboratoriais foram feitas no Laboratório de Pesquisa em Sementes da UFV e no Laboratório de Análise de Sementes da Universidade Federal de Lavras (UFLA).

Foram utilizadas sementes de pimenta (*Capsicum annuum* L.), variedade Amarela Comprida. Após a semeadura e obtenção das mudas em viveiro, estas foram transplantadas, aos 40 dias de idade, para o local definitivo. No campo, as plantas foram dispostas em espaçamento de 1,2 x 0,8m. O cultivo das plantas seguiu as recomendações usuais para pimenta (Filgueira, 2005), com irrigação, por aspersão, sempre que necessária. As plantas foram tutoradas com o auxílio de estacas. A adubação foi feita de acordo com recomendações de Ribeiro et al. (1999). Durante a fase de florescimento, as flores foram etiquetadas diariamente, no dia da antese, até se obter número suficiente de frutos. Foram colhidos frutos aos 40, 50, 60 e 70 dias após a antese (DAA). Em seguida, com base na coloração dos frutos (aspecto visual externo), estes foram classificados quanto ao seu estágio fenológico (Figura 1): 40 DAA (fruto

completamente verde); 50 DAA (fruto amarelo); 60 DAA (fruto vermelho); 70 DAA (frutos vermelhos intensos).

Os frutos obtidos em cada época de colheita foram armazenados em laboratório a 25°C, por 0, 3, 6, 9, 12 e 15 dias. Em seguida, as sementes foram extraídas dos frutos, manualmente, e lavadas em água corrente. Após a lavagem, foram colocadas para secar em condição de ambiente por período de tempo suficiente (2 a 3 dias) para atingir grau de umidade compatível com o armazenamento (aproximadamente 10%). Após a secagem, as sementes foram tratadas com o produto comercial Captan 750 TS. 24 (3g produto/kg de sementes). Apenas as sementes destinadas à realização do teste de condutividade elétrica não foram tratadas com fungicida. Em seguida, foram armazenadas em geladeira (10°C) até a realização das análises em laboratório. As sementes foram submetidas aos seguintes testes e determinações: **Grau de umidade** – nas sementes recém extraídas dos frutos foi determinado o grau de umidade, conforme metodologia prescrita nas Regras para Análise de Sementes (Brasil, 1992), pelo método da estufa, a $105 \pm 3^\circ\text{C}$, durante 24 horas, utilizando-se três subamostras, sendo os resultados expressos em porcentagem de umidade (base úmida). **Massa da matéria seca por semente** - foi determinado juntamente com o grau de umidade das sementes (Brasil, 1992), consistindo do peso médio final das três subamostras de 50 sementes após secagem a $105 \pm 3^\circ\text{C}$ por 24 h. Os resultados foram expressos em mg/semente. **Teste de germinação** – foram utilizadas quatro subamostras de 50 sementes distribuídas sobre duas folhas de papel toalha umedecido com volume de solução de nitrato de potássio (KNO_3) 0,2% equivalente a 2,5 vezes o peso do papel seco, em caixas gerbox. As caixas foram mantidas em germinador a 25 °C. As avaliações foram feitas no décimo e décimo sétimo dias após a semeadura e os resultados expressos em porcentagem de plântulas normais (Brasil, 1992). **Primeira contagem de germinação** - consistiu do

registro da porcentagem de plântulas normais obtidas no décimo dia após a montagem do teste de germinação. **Comprimento de plântula** - foram utilizadas quatro subamostras de 20 sementes, que foram semeadas em duas linhas traçadas ao longo da extremidade superior do papel germitest, colocado na base de caixas plásticas (tipo gerbox), usando-se a tampa encaixada sobre a base da caixa para fixar as sementes. Foram utilizadas duas folhas de papel toalha umedecidas com volume de KNO_3 equivalente a 2,5 vezes o peso do papel seco. As caixas gerbox foram colocadas em germinador a 25°C , distribuídas inclinadamente nas bandejas formando um ângulo de 45° . A avaliação foi realizada aos 10 dias após a semeadura, tomando-se o comprimento, em milímetro, das plântulas normais. Os resultados foram expressos em mm/plântula. **Envelhecimento acelerado** - inicialmente, 300 sementes foram distribuídas uniformemente sobre bandeja de tela acoplada à caixas gerbox, contendo, ao fundo, 40mL de água. As caixas foram tampadas e mantidas em incubadora BOD, a 42°C , por 96h (Bhering et al., 2006). Decorrido este período, duas subamostras de 50 sementes foram utilizadas para a determinação do grau de umidade das sementes, pelo método da estufa a $105\pm 3^\circ\text{C}$ por 24 h e quatro subamostras de 50 sementes foram submetidas ao teste de germinação, conforme descrito anteriormente. Os resultados foram expressos em porcentagem de plântulas normais obtidas no décimo quarto dia após a semeadura. **Condutividade elétrica** - adotou-se a metodologia estabelecida pela ISTA (1995), empregando-se quatro subamostras de 50 sementes, com massas conhecidas, imersas em 25mL de água destilada e mantidas em incubadora BOD, a 25°C , por 24 horas. Após esse período, a condutividade elétrica de cada solução foi determinada em condutivímetro, e os resultados foram expressos em $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$ de sementes. **Índice de velocidade de emergência** - quatro subamostras de 50 sementes foram distribuídas a 0,3 cm de profundidade, em sulcos, em bandejas plásticas contendo substrato comercial

(Bioplant). As bandejas foram mantidas em casa de vegetação (temperatura média de 23,4°C). Foram feitas contagens diárias do número de plântulas emergidas até 30 dias após a semeadura, calculando-se o índice de velocidade de emergência (IVE), conforme Maguire (1962). **Análise eletroforética de proteínas LEA** – para esta determinação, foram utilizadas apenas sementes extraídas de frutos colhidos aos 40, 50, 60 e 70 DAA e armazenados por 0, 6 e 12 dias. As sementes de cada tratamento foram acondicionadas em papel toalha umedecido durante cinco horas, em germinador, a 25°C, para embebição. Após este período, foi feita a extração dos eixos embrionários, que foram colocados em microtubos e mantidos a -81°C. No momento da extração das proteínas, 100 mg de eixos embrionários foram moídos em mortar sobre gelo, na presença de solução tampão (50 mM Tris-HCL-7,5; 500 mM NaCl; 5 mM MgCl₂; 1mM PMSF), na proporção de 1:10 (peso do material: volume do tampão de extração) e transferidos para microtubos de capacidade de 1500 µL. Os homogeneizados foram centrifugados a 16000 xg por 30 minutos, a 4°C, e o sobrenadante foi incubado em banho-maria, a 85°C, por 15 minutos, sendo novamente centrifugado como citado acima. O sobrenadante foi vertido em microtubos e o pellet, descartado. Antes da aplicação no gel, os tubos contendo 70 µL de extrato + 40 µL de solução tampão da amostra (2,5 mL de glicerol; 0,46 g de SDS; 20 mg de azul de Bromofenol e completado o volume para 20 mL de tampão de extração Tris pH7,5) foram colocados em banho-maria com água em ebulição por 5 minutos. Foram aplicados 60 µL do extrato + tampão da amostra por canaleta, em gel de poliacrilamida SDS-PAGE a 12,5% (gel separador) e 6% (gel concentrador). A corrida eletroforética foi realizada a 120 V, os géis, corados em Coomassie Blue a 0,05% (Alfenas, 2006), durante 12 horas, e descorados em solução de ácido acético 10%. **Delineamento experimental e análise estatística** - utilizou-se delineamento inteiramente casualizado, em quatro repetições para a maioria das variáveis

analisadas, exceto: o grau de umidade e a massa da matéria seca por semente, com 3 repetições, em esquema fatorial 4 x 6, sendo 4 épocas de colheitas (40, 50, 60 e 70 DAA) e 6 períodos de armazenamento pós-colheita dos frutos (0, 3, 6, 9, 12 e 15 dias). As análises estatísticas foram processadas no Sistema SAS de Análise Estatística (SAS, 1989). Os valores obtidos para as variáveis foram submetidos a testes de normalidade e homogeneidade, que indicaram a não necessidade de transformação. As estimativas dos parâmetros de regressão foram analisadas pelo teste “t” a 5% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Figura 1 verifica-se o aspecto visual dos frutos de pimenta, cv. Amarela Comprida, colhidos aos 40 DAA, apresentando coloração verde. Os frutos colhidos aos 50, 60 e 70 DAA apresentavam pericarpo amarelo, vermelho e vermelho intenso, respectivamente.

Pela Figura 2 verificam-se maiores teores de água para as sementes obtidas de frutos colhidos aos 40 DAA, variando de 63,2% (frutos não armazenados) a 58,6% (frutos armazenados por 15 dias). O armazenamento pós-colheita dos frutos colhidos com 50 DAA e 70 DAA praticamente não afetou o teor de água das sementes, que se manteve entre 52,4 e 51,3% (50 DAA) e 47,7 e 46,7% (70 DAA). Já nas sementes obtidas de frutos com idade de 60 DAA e não armazenados, o teor de água foi de 50,2%, reduzindo para 48,9%, com o armazenamento dos frutos por três dias, valor este que foi, praticamente, mantido até 12 dias de armazenamento, quando houve então um decréscimo, atingindo 47,7%, aos 15 dias de armazenamento. O teor de água das sementes que se desenvolvem no interior de frutos carnosos como tomate (Demir e Ellis, 1992a; Dias et al., 2006), pimentão (Demir e Ellis, 1992b), melão (Welbaum e Bradford, 1988) e berinjela (Demir et al., 2002), geralmente oscila entre 38 e 45%,

permanecendo elevado durante todo o período de maturação, mesmo após o acúmulo máximo de matéria seca.

Verificou-se que a massa da matéria seca das sementes (Figura 2) foi praticamente constante nos frutos colhidos aos 40 DAA, sendo que, naqueles colhidos aos 50, 60 e 70 DAA, as massas das matérias secas dos frutos não armazenados, foram semelhantes para as três épocas de colheita. Aos 50 DAA houve uma redução na massa da matéria seca de 0,0061 mg/semente (sem o armazenamento pós-colheita dos frutos), para 0,0056 mg/semente, quando os frutos foram armazenados por 12 dias. Já aos 60 e 70 DAA ocorreu aumento no acúmulo de matéria seca, ao longo de 9 dias de armazenamento pós-colheita dos frutos. A massa máxima da matéria seca das sementes (0,007 mg/semente) ocorreu em frutos colhidos aos 70 DAA e após seis dias de armazenamento pós-colheita. De acordo com Carvalho e Nakagawa (2000), mesmo as sementes armazenadas dentro do fruto tendem a respirar mais, devido sua alta umidade; com isso, o consumo de reservas aumenta, diminuindo a massa da matéria seca. Por outro lado, alguns estudos têm relatado um aumento significativo da massa da matéria seca durante o armazenamento pós-colheita dos frutos, devido à transferência de nutrientes entre o fruto e a semente (Alvarenga et al., 1991; Barbedo et al., 1994). Dias et al. (2006) verificaram que ocorreu, em sementes de tomate, um pequeno declínio do acúmulo da matéria seca durante o armazenamento pós-colheita dos frutos. Já para Sanchez et al. (1993), o armazenamento pós-colheita dos frutos de pimentão não afetou o conteúdo de matéria seca das sementes.

A germinação das sementes obtidas nas colheitas mais precoces (40 DAA e 50 DAA) aumentou ao longo do período de armazenamento pós-colheita dos frutos (Figura 3), sendo os maiores valores obtidos aos 12 dias de armazenamento, com ligeiro decréscimo a partir daí. Nota-se, contudo, que as sementes de frutos colhidos aos 40 DAA não atingiram níveis satisfatórios de germinação, mesmo quando os frutos foram

armazenados por 12 dias. Sementes de pimentão, extraídas de frutos colhidos aos 30 DAA (coloração externa verde), não germinaram, independente do período de armazenamento pós-colheita destes, de 7 a 28 dias (Sanchez et al., 1993). Também, Barbedo et al. (1999) observaram baixa germinação em sementes de pepino obtidas de colheitas precoces (20 a 35 DAA), mesmo quando os frutos foram armazenados por 15 dias.

Já para os frutos colhidos aos 60 e 70 DAA, quando apresentavam coloração vermelha e vermelha intensa, respectivamente, o armazenamento pós-colheita não promoveu aumento considerável na germinação das sementes. Resultados semelhantes foram obtidos com tomate, onde o armazenamento pós-colheita dos frutos com idade de 50 e 60 DAA não favoreceu a germinação das sementes (Vidigal et al., 2006). Por sua vez, Sanchez et al. (1993) constataram aumento na germinação de sementes de pimentão extraídas de frutos colhidos aos 40 DAA (coloração verde) e aos 50 DAA (coloração vermelha) e armazenados por períodos de 14 a 28 dias.

Pela primeira contagem de germinação, o vigor foi crescente com o armazenamento pós-colheita dos frutos, independente da época de colheita (Figura 3). Os maiores valores de germinação na primeira contagem foram obtidos para sementes de frutos colhidos aos 70 DAA e armazenados por períodos superiores a 9 dias. Observa-se, ainda, melhor desempenho para as sementes obtidas de frutos colhidos aos 60 e 70 DAA em relação àqueles colhidos aos 40 e 50 DAA, o que pode ser constatado também pelos resultados de comprimento de plântula, envelhecimento acelerado, IVE e condutividade elétrica (Figura 3). Esses resultados são similares aos observados em tomate (Vidigal et al., 2006 e Dias et al., 2006), abóbora italiana (Alvarenga et al., 1991) e melancia (Alvarenga et al., 1984).

O armazenamento pós-colheita dos frutos, praticamente, não alterou o comprimento de plântula para colheitas realizadas aos 60 DAA, ocorrendo um ligeiro

aumento quando os frutos foram colhidos aos 70 DAA e armazenados por períodos superiores a 9 dias (Figura 3). Por outro lado, de modo geral, valores crescentes foram obtidos com o armazenamento de frutos colhidos aos 40 e 50 DAA, embora inferiores aos observados aos 60 e 70 DAA.

Ainda na Figura 3, verifica-se que o vigor, avaliado pelo teste de envelhecimento acelerado, foi semelhante para as sementes colhidas aos 60 e 70 DAA, não sendo influenciado pelo período de armazenamento pós-colheita dos frutos, sendo superior ao obtido para as colheitas de 40 e 50 DAA, semelhantemente ao observado para o comprimento de plântula (Figura 3). No entanto, o armazenamento de frutos colhidos aos 50 DAA promoveu aumento no vigor das sementes, de modo que, com 15 dias de armazenamento pós-colheita, os valores obtidos foram semelhantes aos observados aos 60 e 70 DAA. Resultados semelhantes foram observados para o IVE, exceto com relação às colheitas realizadas aos 60 e 70 DAA, onde houve um ligeiro aumento da velocidade de emergência com o armazenamento dos frutos por 3 e 6 dias, praticamente estabilizando a partir daí.

Corroborando os resultados dos demais testes de vigor, menores valores de condutividade elétrica (Figura 3) foram obtidos com o aumento da idade dos frutos, indicando maior organização do sistema de membranas das sementes com o decorrer da maturação. Demir e Ellis (1992a) verificaram que a condutividade elétrica de sementes de tomate que era máxima aos 25 DAA, atingiu valor mínimo aos 55 DAA, coincidindo com o potencial máximo de germinação das sementes. Observa-se, ainda, na colheita mais precoce (40 DAA), que o armazenamento pós-colheita dos frutos promoveu redução significativa na quantidade de exsudatos liberados pelas sementes, em função da estruturação das membranas, o que foi observado de modo bem menos pronunciado nas colheitas seguintes, especialmente naquelas realizadas aos 60 e 70 DAA. Neste caso, as membranas já se encontravam estruturadas logo após a colheita dos frutos,

indicando que o armazenamento dos mesmos não foi necessário, pois não favoreceu a qualidade das sementes. Resultados semelhantes foram observados por Vidigal et al. (2006) e Dias et al. (2006) em sementes de tomate obtidas de frutos em diferentes estádios de maturação e também submetidos ao armazenamento pós-colheita.

Em síntese, sementes de maior vigor foram obtidas aos 60 e 70 DAA, sendo que o armazenamento pós-colheita dos frutos não contribuiu para melhorar significativamente o desempenho destas sementes, exceto quando se avaliou a primeira contagem de germinação (Figura 3). Por outro lado, com o armazenamento dos frutos colhidos aos 50 DAA (coloração amarela) houve aumento significativo no desempenho das sementes, sendo necessário um período de armazenamento de 15 dias para que o nível de vigor das sementes fosse semelhante ao obtido nas colheitas mais tardias (60 e 70 DAA), quando os frutos tinham coloração vermelha.

O perfil eletroforético de proteínas do tipo LEA (Figura 4) indicam ausência de bandas nos estádios iniciais de maturação das sementes (seta preta), ou seja, aos 40 DAA; observa-se ainda, para esta época de colheita, que o armazenamento pós-colheita dos frutos não interferiu no padrão de bandas obtido. Já para frutos colhidos aos 50 DAA, verifica-se que só houve expressão de proteínas LEA, embora apresentando bandas de menor intensidade, quando os frutos foram armazenados por 12 dias. Observa-se, pela Figura 3, que nesta ocasião as sementes deste tratamento atingiram seu máximo vigor, conforme resultados de primeira contagem de germinação, envelhecimento acelerado e IVE. Nas sementes obtidas de frutos colhidos aos 60 e 70 DAA houve atividade de LEA em todos os períodos de armazenamento, ocorrendo aumento na intensidade das bandas a partir de 60 DAA e seis dias de armazenamento pós-colheita.

As bandas representadas pela seta vermelha indicam que essa proteína foi acumulada apenas a partir dos 60 DAA e seis dias de armazenamento pós-colheita dos frutos.

Essas modificações nas proteínas LEA são coincidentes com as alterações fisiológicas observadas nos testes de germinação e vigor (Figura 3), indicando que a partir dos 60 DAA, independente do período de armazenamento dos frutos, as sementes, provavelmente, adquirem tolerância à dessecação, característica que está associada à ocasião em que a maturidade fisiológica é atingida, o que coincide, geralmente, com a máxima qualidade das sementes (Bewley e Black, 1994). Observa-se, pelos resultados de condutividade elétrica (Figura 3), que nas colheitas realizadas a partir de 60 DAA, independente do período de armazenamento pós-colheita dos frutos, houve menor lixiviação de solutos em relação às demais épocas de colheita, indicando organização adequada do sistema de membranas, o que coincidiu com o aumento da atividade das LEA (Figura 4). Isto pode ser um indicativo da ação destas proteínas como agente protetor de membranas, concordando com relatos de Baker et al. (1988) e Dure et al. (1989). Tais proteínas são altamente estáveis, ricas em glicina e outros aminoácidos hidrofílicos e atuam em sinergismo com açúcares solúveis na inibição da cristalização do citoplasma e na proteção da superfície das membranas, desempenhando, portanto, papel estrutural como protetoras contra danos ocasionados pela dessecação (Kermode, 1997).

Diversos trabalhos têm demonstrado que embriões maduros contêm alta concentração de proteínas LEA, as quais, presumidamente, estão envolvidas na aquisição de tolerância à dessecação durante os estádios finais de desenvolvimento da semente (Galau et al., 1987; Kermode, 1997; Walters et al., 1997; Faria et al., 2004; Rosa et al., 2005). Em sementes de algodão, o máximo acúmulo de proteínas LEA ocorreu cerca de 50 DAA, três dias antes do início da fase de dessecação, constatando-

se, ainda, intensa atividade na fase final da maturação das sementes até que estas atingissem cerca de 25% de água (Galau et al., 1987). Segundo Silva (2006), os níveis de proteínas LEA em sementes de soja são induzidos pela diminuição no conteúdo de água das sementes, a partir de 60 % de umidade, estando diretamente relacionada com a qualidade fisiológica das sementes.

Em sementes de mamona, Han et al. (1997) observaram maior intensidade de algumas bandas de LEA a partir dos 35 dias após a polinização. Mais recentemente, Faria et al. (2004), também, constataram ausência de atividade de LEA nas fases iniciais do desenvolvimento de sementes de milho e aumento de atividade a partir da linha de leite 3, fase de aquisição de tolerância à dessecação, quando as sementes apresentaram alta qualidade fisiológica.

CONCLUSÕES

Colheitas precoces (40 DAA) não são benéficas à qualidade fisiológica das sementes de pimenta, mesmo quando associadas a um período de armazenamento pós-colheita dos frutos por até 15 dias.

Para frutos colhidos aos 50 DAA, o armazenamento pós-colheita por 12 dias é imprescindível para melhoria da qualidade fisiológica das sementes.

Sementes de pimenta colhidas a partir dos 60 DAA apresentam alta qualidade fisiológica, não sendo necessário o armazenamento dos frutos após a colheita.

A síntese de proteínas LEA ocorre a partir de 60 DAA, estando diretamente relacionada com a qualidade fisiológica de sementes de pimenta.

REFERÊNCIAS

- ALFENAS, A. C. **Eletroforese e marcadores bioquímicos em plantas e microrganismo**. 2 ed. Viçosa: UFV, 2006. 627 p.
- ALVARENGA, E.M.; SILVA, R.F.; ARAUJO, E.F.; CARDOSO, A.A. Influência da idade e armazenamento pós-colheita dos frutos na qualidade de sementes de melancia. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.2, n.2, p.5-8, 1984.
- ALVARENGA, E.M.; SILVA, R.F.; ARAUJO, E.F.; LEIRO, L.S. Maturação fisiológica de sementes de abóbora italiana. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.13, n.2, p.147-150, 1991.
- BAKER, J.; STEELE, C.; DURE, L.III. Sequence and characterization of 6 *Lea* proteins and their genes from cotton. **Plant Molecular Biology**, Dordrecht, v.11, n.3, p.277-291, 1988.
- BARBEDO, A.S.C.; ZANIN, A.C.W.; BARBEDO, C.J.; NAKAGAWA, J. Efeitos da idade e do período de repouso pós-colheita dos frutos sobre a qualidade de sementes de berinjela. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.12, p. 18-21, 1994.
- BARBEDO, C.J.; BARBEDO, A.S.C.; NAKAGAWA, J.; SATO, O. Efeito da idade e do repouso pós-colheita de frutos de pepino na semente armazenada. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.34, n.5, p.839-847, 1999.
- BEWLEY, J. D.; BLACK, M. **Seed: physiology of development and germination**. 2 ed. New York: Plenum Press, 1994. 445 p.

BHERING, M.C.; DIAS, D.C.F.S.; VIDIGAL, D.S.; NAVEIRA, D.S.P. Teste de envelhecimento acelerado em sementes de pimenta. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v.28, n.3, p.64-71, 2006.

BLACKMAN, S.A.; WETTLAUFER, S.H.; OBENDORF, R.L.; LEOPOLD, A.C. Maturation proteins associated with desiccation tolerance in soybean seeds. **Plant Physiology**, Rockville, v. 96, n. 3, p.868-874, 1991.

BRASIL - Ministério da Agricultura. **Regras para análise de sementes**. Brasília: Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária, 1992. 365 p.

CAPRON, I.; CORBINEAU, F.; DACHER, F.; JOB, C., CÔME, D.; JOB, D. Sugarbeet seed priming: effects of priming conditions on germination, solubilization of 11-S globulin and accumulation of LEA proteins. **Seed Science Research**, Wallingford, v.10, p.243-254, 2000.

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

CHOUREY, K.; RAMANI, S.; APTE, S.K. Accumulation of LEA proteins in salt (NaCl) stressed young seedlings of rice (*Oryza sativa* L.) cultivar Bura Rata and their degradation during recovery from salinity stress. **Journal of Plant Physiology**, Jena, v.160, p.1165-1174, 2003.

DELSENY, M.; BIES-ETHEVE, N.; CARLES, C.; HULL, G., VICIENT, C. RAYNAL, M.; GRELLET, F.; ASPART, L. Late embryogenesis abundant (LEA) protein gene regulation during Arabidopsis seed maturation. **Journal of Plant Physiology**, Jena, v.158, p.419-427, 2001.

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

DEMIR, I.; ELLIS, R.H. Development of pepper (*Capsicum annuum*) seed quality. **Annals of Applied Biology**, Oxford, v.121, n.2, p.385-399, 1992b.

DEMIR, I.; MAVI, K.; SERMENLI, T.; OZCOBAN, M. Seed development and maturation in Aubergine (*Solanum melongena* L.) **Gartenbauwissenschaft**, Stuttgart, v.67, n.4, p.148-154, 2002.

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

DURE, L.H.; CROUCH, M.; HARADA, J.; HO, T.D.; MUSNDY, J.; QUATRANO, R.; THOMAS, T.; SUNG, Z.R. Common amino acid sequence domains among the LEA proteins of higher plants. **Plant Molecular Biology**, Dordrecht, v.12, n.5, p.475-486, 1989.

DURE, L.H.; CROUCH, M. Developmental biochemistry of cotton seed embryogenesis, and termination: changing messenger ribonucleic acid populations as shown by vitro and vivo protein synthesis. **Biochemistry**, Washington, v.20, p. 4162-4168, 1981.

FARIA, M.A.V.R.; VON PINHO, R.G.; VON PINHO, E.V.R.; GUIMARÃES, R.M.; FREITAS, F.E.O. Germinabilidade e tolerância à dessecação em sementes de milho colhidas em diferentes estádios de maturação. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v.3, n.2, p.276-289, 2004.

FILGUEIRA, F.A. **Novo Manual de Olericultura: Agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças**. 2 ed. Viçosa : UFV, 2005. 412p.

GALAU, G.A.; BIJAISORADAT, N.; HUGHES, D.W. Accumulation kinetics of cotton late embryogenesis-abundant (*Lea*) mRNAs and storage protein mRNAs: coordinate regulation during embryogenesis and the role of abscisic acid. **Developmental Biology**, Amsterdam, v.123, n.1, p.198-212, 1987.

HAN, B.; HUGHES, W.; GALAU, G.A.; BEWLEY, J.D.; KERMODE, A.R. Changes in late-embryogenesis-abundant (LEA) messenger RNAs and dehydrins during maturation and premature drying of *Ricinus communis* L. seeds. **Planta**, Heidelberg, v.201, p.27-35, 1997.

HOEKSTRA, F.A.; GOLOVINA, E.A.; BUITINK, J. Mechanisms of plant desiccation tolerance. **TRENDS in Plant Science**, London, v.6, n.9, p.431-438, 2001.

HONG-BO, S.; ZONG-SUO, L.; MING-AN, S. LEA proteins in higher plants: structure, function, gene expression and regulation. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, Amsterdam, v.45, p.131-135, 2005.

IBGE - Centro Demográfico. **Resultados do universo relativo às características da população e dos domicílios**. Rio de Janeiro, n.18, 1991.

ISTA – International seed testing association. **Handbook of vigour test methods**. 3 ed. Zürich, 1995. 117p.

KERMODE, A.R. Approaches to elucidate the basis of desiccation-tolerance in seeds. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 7, n. 2, p. 75-95, 1997.

KERMODE, A.R. Regulatory mechanisms involved in the transition from seed development to germination. **Critical Reviews in Plant Sciences**, Colchester, v.9, n.2, p.155-195, 1990.

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

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

PAMMENTER, N. W.; BERJAK, P.; FARRANT, J. M.; SMITH, M. T.; ROSS, G. Why do stored, hydrated recalcitrant seeds die? **Seed Science Research**, Wallingford, v.4, n.2, p.187-191, 1994.

RIBEIRO, A.C.; GUIMARÃES, P.T.G.; ALVAREZ, V.H. **Recomendações para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais - 5ª aproximação**. Viçosa: CFSEMG, 1999. 359 p.

ROSA, S.D.V.F.; VON PINHO, E.V.R.; VIEIRA, E.S.N.; VEIGA, R.D.; VEIGA, A.D. Enzimas removedoras de radicais livres e proteínas *LEA* associadas à tolerância de sementes de milho à alta temperatura de secagem. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v.27, n.2, p.91-101, 2005.

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

SAS Institute. **Statistical user's guide**, version 6, fourth edition, volume 2 Cary, NC: SAS Institute Inc, 1989. 846p.

SILVA, P.A. **Estudo da qualidade fisiológica, bioquímica e ultra-estrutural durante o desenvolvimento e a secagem de sementes de soja**. 2006. 55f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2006.

SOEDA, Y.; KONINGS, M.C.J.M.; VORST, O.; VAN HOUWELINGEN, A.M.M.L.; STOOPEN, G.M.; MALIEPAARD, C.A.; KODDE, J.; BINO, R.J.; GROOT, S.P.C.; VAN DER GEEST, A.H.M. Gene expression programs during *Brassica oleracea* seed maturation, osmopriming, and germination are indicators of progression of the germination process and the stress tolerance level. **Plant Physiology**, Rockville, v.137, p.354-368, 2005.

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

WALTERS, C.; RIED, J.L.; WALKER-SIMMONS, M.K. Heat-soluble proteins extracted from wheat embryos have tightly bound sugar and unusual hydration properties. **Seed Science Research**, Wallingford, v.7, p.125-134, 1997.

WELBAUM, G.E; BRADFORD, K.J. Water relations of seeds development and germination in muskmelon (*Cucumis melo* L.). I. Water relations of seeds and fruit development. **Plant Physiology**, Rockville, v.86, p.406-411, 1988.



FIGURA 1. Aspecto visual dos frutos de pimenta, cv. Amarela Comprida, em diferentes estádios de maturação: 40 DAA (frutos verdes), 50 DAA (frutos amarelos), 60 (frutos vermelhos) e 70 DAA (frutos vermelho intenso).

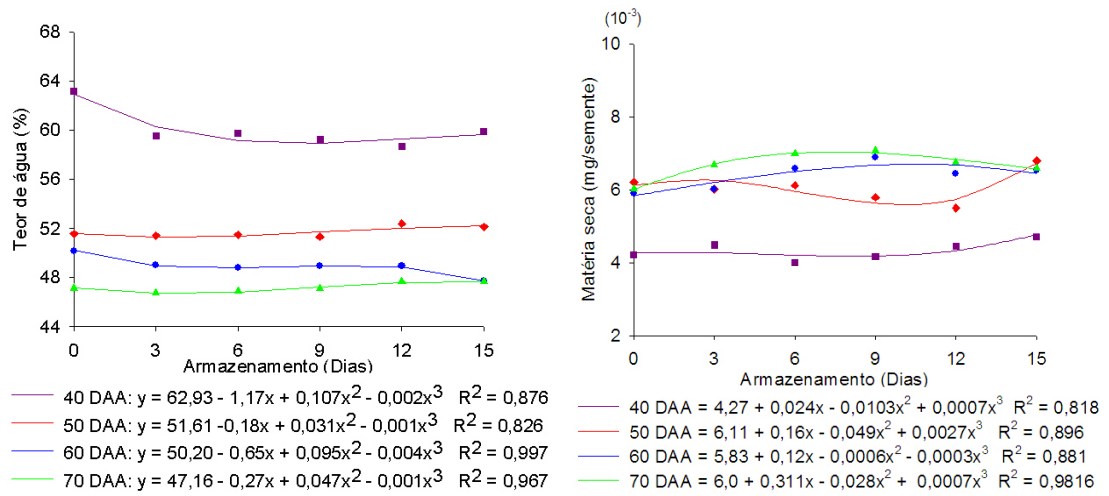


FIGURA 2. Teor de água e massa da matéria seca de sementes de pimenta extraídas de frutos colhidos aos 40, 50, 60 e 70 DAA e armazenados por 0, 3, 6, 9, 12 e 15 dias.

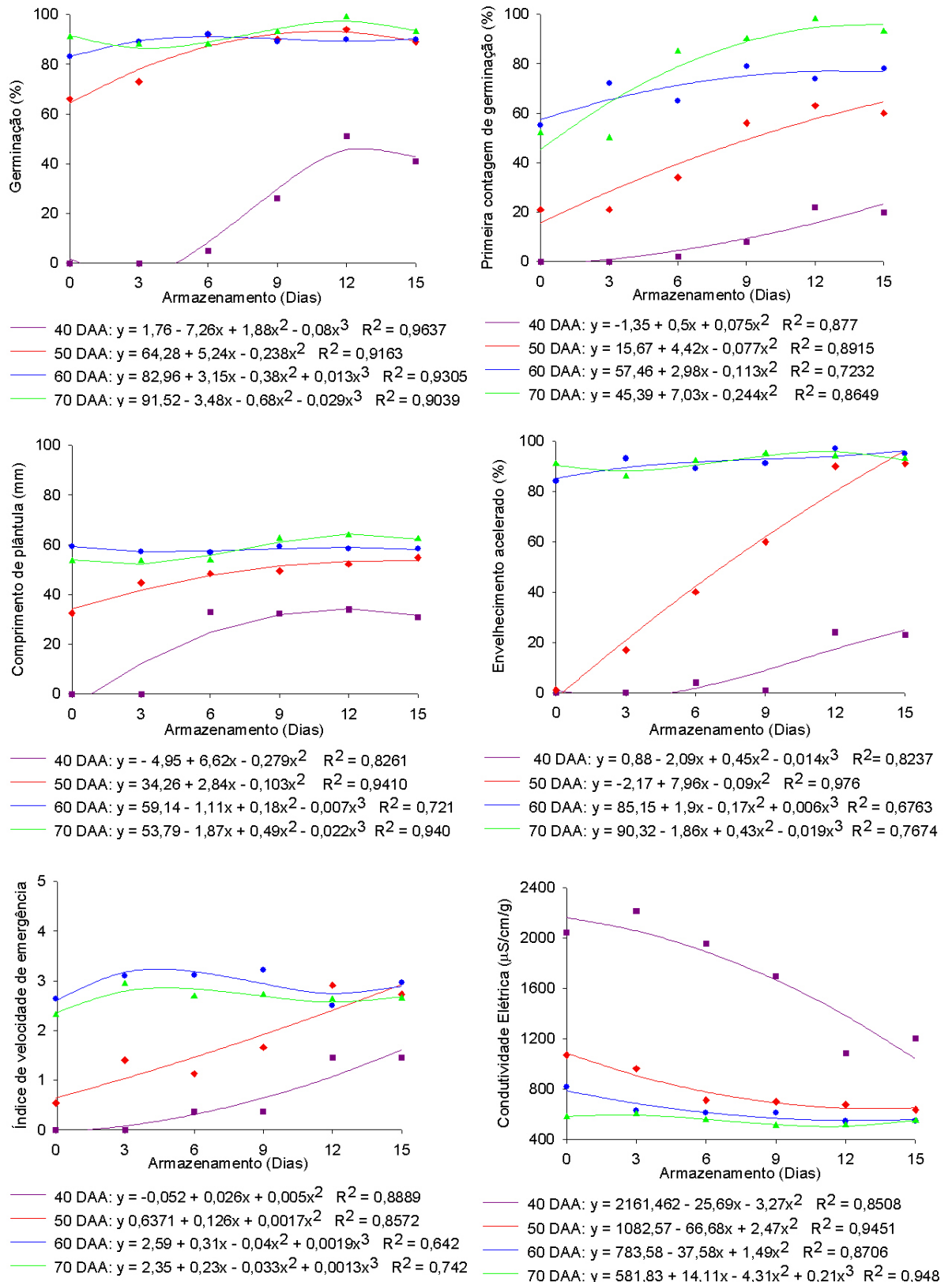


FIGURA 3. Plântulas normais (%) obtidas no teste de germinação, primeira contagem de germinação, comprimento de plântula, envelhecimento acelerado e índice de velocidade de emergência e condutividade elétrica de sementes de pimenta extraídas de frutos colhidos aos 40, 50, 60 e 70 DAA e armazenados por 0, 3, 6, 9, 12 e 15 dias.

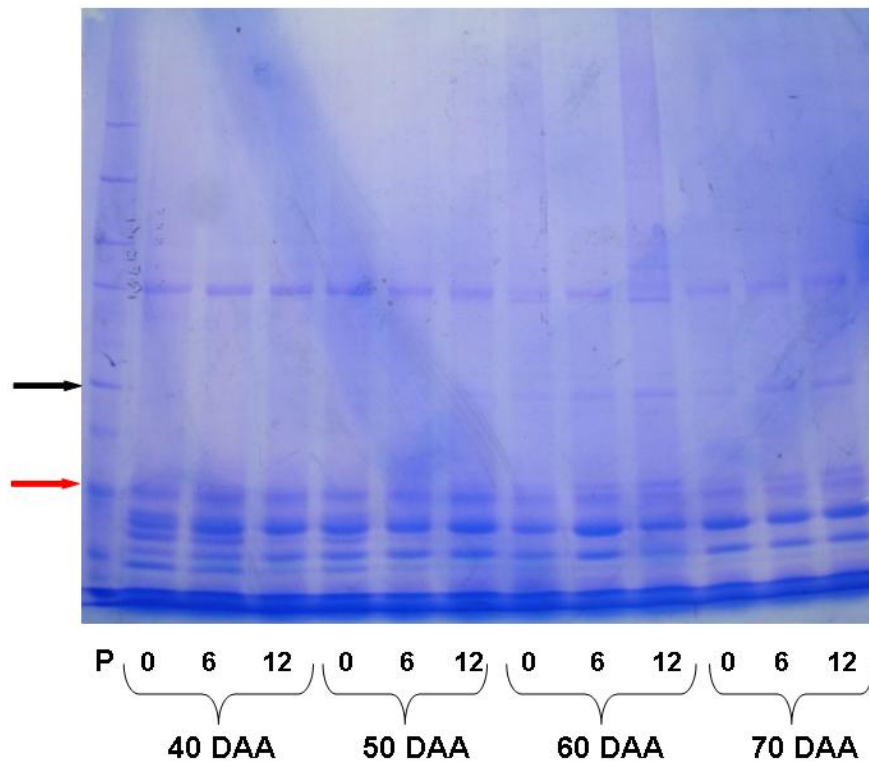


FIGURA 4. Perfil eletroforético de proteínas LEA em sementes de pimenta obtidas de frutos colhidos aos 40, 50, 60 e 70 DAA e armazenados por 0, 6 e 12 dias.

ALTERAÇÕES FISIOLÓGICAS E ENZIMÁTICAS DURANTE A MATURAÇÃO DE SEMENTES DE PIMENTA (*Capsicum annuum* L.)¹

DEBORAH DE SOUZA VIDIGAL², DENISE CUNHA F. SANTOS DIAS³

RESUMO – O trabalho teve como objetivo avaliar as alterações fisiológicas e enzimáticas em sementes de pimenta, cv. Amarela Comprida, obtidas de frutos colhidos em diferentes estádios de maturação e submetidos ao armazenamento pós-colheita. Os frutos foram colhidos aos 40, 50, 60 e 70 dias após a antese (DAA) e submetidos ao armazenamento por 0, 3, 6, 9, 12 e 15 dias para, então, proceder à extração das sementes. A qualidade fisiológica das sementes foi avaliada pelos testes de germinação, primeira contagem de germinação, deterioração controlada e condutividade elétrica. Avaliaram-se, ainda, as alterações nos sistemas enzimáticos malato desidrogenase (MDH), álcool desidrogenase (ADH), superóxido dismutase (SOD) e peroxidase (PO), utilizando sementes extraídas de frutos colhidos aos 40, 50, 60 e 70 DAA e armazenados por 0, 6 e 12 dias. Sementes de elevada qualidade são obtidas de frutos colhidos a partir de 60 DAA, não sendo necessário o armazenamento destes após a colheita. Maior atividade das enzimas ADH e SOD foram constatadas em sementes obtidas de frutos colhidos aos 60 e 70 DAA, independente do período de armazenamento pós-colheita.

Termos para indexação: germinação, vigor, isoenzimas, maturidade, *Capsicum annuum* L.

¹ Submetido em _____. Aceito para publicação em _____. Parte da Dissertação de Mestrado do primeiro autor apresentada a UFV.

² Estudante de Pós-Graduação, Depto. de Fitotecnia, Universidade Federal de Viçosa, 36571-000 – Viçosa – MG. E-mail: dsvdigal@gmail.com

³ Prof. Associado, Depto. de Fitotecnia, Universidade Federal de Viçosa, 36571-000 – Viçosa – MG. E-mail: dcdias@ufv.br

**PHYSIOLOGICAL AND ENZYMATIC CHANGES DURING PEPPER SEEDS
(*Capsicum annuum* L.) MATURATION**

ABSTRACT – Physiological and enzymatic changes on pepper seeds obtained from fruits harvested at different maturation stadium and submitted to post-harvest storage were assessed. Pepper fruits, ‘Amarela Comprida’ cultivar, were harvested at 40, 50, 60 and 70 days after anthesis (DAA) and stored for 0, 3, 6, 9, 12 and 15 days before seed extraction. The seeds were evaluated by germination, first count, controlled deterioration and electrical conductivity tests. The alterations in the enzyme systems malate desidrogenasis (MDH), alcohol desidrogenasis (ADH), superoxide dismutase (SOD) and peroxidase (PO) were also determined. The seeds extracted form fruits harvested from 60 DAA had high quality, regardless post-harvest storage period. Higher activity of ADH and SOD enzymes were found for seeds obtained from fruits harvested at 60 and 70 DAA, regardless of post-harvest storage period.

Index terms: germination, vigour, isoenzyme, maturity, *Capsicum annuum* L..

INTRODUÇÃO

Um dos fatores determinantes da produção de sementes de alta qualidade é a colheita na época correta. Durante o desenvolvimento das sementes, o estágio no qual a sua qualidade fisiológica é máxima varia entre espécies, ocorrendo, geralmente, ao final do período de acúmulo de matéria seca; a partir daí, tem início o processo de deterioração que, dependendo da intensidade, provoca redução do vigor e da viabilidade da semente (Tekrony et al., 1980).

A deterioração é um processo determinado por uma série de alterações fisiológicas, bioquímicas, físicas e citológicas, com início a partir da maturidade fisiológica, que ocorrem de maneira progressiva, determinando redução na qualidade e culminando com a morte da semente (Marcos Filho, 2005). As principais alterações relacionadas ao processo de deterioração são degradação e inativação de enzimas (Priestley, 1986; Dell' Aquilla, 1994), redução da atividade respiratória (Ferguson et al., 1990) e perda de integridade das membranas celulares (Sun e Leopold, 1993). Embora haja regiões da célula mais propensas à deterioração, as membranas, provavelmente, representam os principais alvos das transformações prejudiciais às sementes (Marcos Filho, 2005).

Por serem constituídas de uma dupla camada lipídica, as membranas são o sítio principal do processo de peroxidação de lipídios, que leva à produção de radicais livres altamente reativos, acarretando desorganização do sistema de membranas com conseqüente declínio no vigor das sementes (McDonald, 1999). Alterações nas membranas, portanto, ocasionam aumento da quantidade de solutos lixiviados durante o processo de embebição das sementes (Lin, 1988; Marcos Filho et al., 1990). As células, no entanto, apresentam um complexo sistema de defesa antioxidante para proteção contra os danos causados pelos radicais livres (Mc Donald, 1999). Este mecanismo de proteção envolve várias enzimas removedoras de radicais livres e de peróxidos, como

superóxido dismutase, catalase, peroxidase e ascorbato peroxidase (Halmer e Bewley, 1984; McDonald, 1999).

Assim, variações nos perfis de proteínas e de enzimas específicas, principalmente aquelas relacionadas ao processo respiratório e à peroxidação de lipídios, podem se constituir em ferramenta eficiente para monitorar as alterações bioquímicas resultantes da deterioração (Chauhan et al., 1985). Em sementes de milho, as variações eletroforéticas de proteínas e isoenzimas foram relacionadas ao processo deteriorativo, ocorrendo redução na intensidade das bandas das enzimas álcool desidrogenase, sorbitol desidrogenase, glutamato desidrogenase, malato desidrogenase, peroxidase e esterase (Brandão Jr. et al., 1999). Alterações na qualidade fisiológica de sementes de milho doce armazenadas também foram detectadas por mudanças nos sistemas enzimáticos da malato desidrogenase (Camargo, 2003). Santos et al. (2004) verificaram que a atividade das enzimas fosfatase ácida, malato desidrogenase, glutamato desidrogenase e esterase é influenciada pelo período de envelhecimento e pela qualidade inicial das sementes de feijão.

A enzima malato desidrogenase catalisa a conversão de malato à oxalacetato, tendo importante função dentro do ciclo de Krebs, além de participar do movimento de malato através da membrana mitocondrial e da fixação de CO₂ nas plantas (Taiz e Zeiger, 2004). Segundo Shatters et al. (1994), a atividade desta enzima foi pouco afetada por diferentes tratamentos de envelhecimento em sementes de soja, enquanto Kalpana e Madhava Rao (1997) observaram diminuição na atividade durante o envelhecimento de sementes de guandu.

Algumas enzimas pertencem ao grupo das oxidoredutases, como a peroxidase (PO) e a superóxido dismutase (SOD), as quais atuam como mecanismos antioxidantes, removedoras de produtos tóxicos (*scavenger*), protegendo as células contra a ação de diversas formas de oxigênios ativos, uma vez que são capazes de neutralizar a atuação

dos radicais livres na degradação de membranas (Marcos Filho, 2005). Sung e Jeng (1994) observaram que o envelhecimento acelerado estimulou a peroxidação de lipídios e reduziu a atividade de enzimas removedoras de peróxido, como a peroxidase e a superóxido dismutase em sementes de amendoim, concordando com as observações feitas por Basavarajappa et al. (1991) em sementes de milho. Para Spinola et al. (2000), as alterações das isoenzimas fosfatase ácida e peroxidase foram mais efetivas do que os testes de vigor para avaliar a qualidade das sementes de milho submetidas ao envelhecimento acelerado; já a malato desidrogenase manteve seus padrões inalterados com o avanço do processo deteriorativo.

O presente trabalho teve como objetivo avaliar alterações fisiológicas e enzimáticas em sementes de pimenta obtidas de frutos colhidos em diferentes estádios de maturação e submetidos ao armazenamento pós-colheita.

MATERIAL E MÉTODOS

O campo de produção de sementes foi instalado em área experimental denominada “Horta Nova” do Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa (UFV), no período de fevereiro a julho de 2007. O município de Viçosa localiza-se na Zona da Mata de Minas Gerais, a 689,7 m de altitude e coordenadas geográficas 20° 45’ de latitude Sul e 42° 51’ de longitude Oeste (IBGE, 1991). As análises laboratoriais foram feitas no Laboratório de Pesquisa em Sementes da UFV e no Laboratório de Análise de Sementes da Universidade Federal de Lavras (UFLA).

Foram utilizadas sementes de pimenta (*Capsicum annuum* L.), variedade Amarela Comprida. Após a semeadura e obtenção das mudas em viveiro, estas foram transplantadas, aos 40 dias de idade, para o local definitivo. No campo, as plantas foram dispostas em espaçamento de 1,2 x 0,8m. O cultivo das plantas seguiu as recomendações usuais para pimenta (Filgueira, 2005) com irrigação, por aspersão,

sempre que necessária. As plantas foram tutoradas com o auxílio de estacas. A adubação foi feita de acordo com recomendações de Ribeiro et al. (1999). Durante a fase de florescimento, as flores foram etiquetadas diariamente, no dia da antese, até se obter número suficiente de frutos. Foram colhidos frutos aos 40, 50, 60 e 70 dias após a antese (DAA). Os frutos obtidos em cada época de colheita foram armazenados sob condição de ambiente (25°C), em laboratório, por 0, 3, 6, 9, 12 e 15 dias. Em seguida, as sementes foram extraídas dos frutos manualmente e lavadas em água corrente. Após a lavagem, foram colocadas para secar em condição de ambiente por período de tempo suficiente (2 a 3 dias) para atingir grau de umidade compatível com o armazenamento (aproximadamente 10%). Após a secagem, as sementes foram tratadas com o produto comercial Captan 750 TS. 24 (3g produto/kg de sementes). Apenas as sementes destinadas à realização do teste de condutividade elétrica não foram tratadas com fungicida. Em seguida, foram armazenadas em geladeira (10°C) até a realização das análises em laboratório. As sementes foram submetidas aos seguintes testes e determinações: **Teste de germinação** – foram utilizadas quatro subamostras de 50 sementes distribuídas sobre duas folhas de papel toalha umedecidas com volume de solução de nitrato de potássio (KNO₃) 0,2% equivalente a 2,5 vezes o peso do papel seco, em caixas gerbox. As caixas foram mantidas em germinador a 25 °C. As avaliações foram feitas no décimo e décimo sétimo dias após a sementeira e os resultados expressos em percentagem de plântulas normais (Brasil, 1992). **Primeira contagem de germinação** - consistiu do registro da porcentagem de plântulas normais obtidas no décimo dia após a montagem do teste de germinação. **Condutividade elétrica** – adotou-se a metodologia estabelecida pela ISTA (1995), empregando-se quatro subamostras de 50 sementes, com massas conhecidas, imersas em 25mL de água destilada e mantidas em incubadora BOD, a 25°C, por 24 horas. Após esse período, a condutividade elétrica de cada solução foi determinada em condutivímetro, e os

resultados expressos em $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$ de sementes. **Deterioração controlada** - inicialmente, 350 sementes foram hidratadas, sobre papel toalha umedecido, pelo método da adição de água calculada (ISTA, 1995), até atingirem 24% de água. Em seguida, foram acondicionadas em sacos aluminizados, que foram hermeticamente fechados e mantidos por uma noite a 10 °C. Decorrido este período, as embalagens contendo as sementes foram colocadas em banho-maria, a 45 °C, por 24 horas. Após este período, foram submetidas ao teste de germinação, conforme já descrito, avaliando-se a porcentagem de plântulas normais, aos 14 dias após a sementeira. **Análise de isoenzimas** - Para as avaliações bioquímicas foram usadas apenas sementes extraídas de frutos colhidos aos 40, 50, 60 e 70 DAA e armazenados por 0, 6 e 12 dias. Duas amostras de sementes de cada tratamento foram maceradas em recipiente de porcelana contendo PVP (antioxidante) e nitrogênio líquido para evitar a desnaturação de proteínas pelo aquecimento. O pó obtido foi armazenado em freezer a -81°C. Retiraram-se subamostras de 100mg, nas quais foram adicionados o tampão de extração (Tris HCl 0,2 M pH 8) na quantidade de 2,5 vezes o peso de cada amostra e 0,1% de β -mercaptoetanol. O material foi colocado em geladeira overnight e, depois, centrifugado a 14.000 rpm, por 30 minutos, a 4°C. Foram aplicados 50 μL do sobrenadante no gel e promovida a corrida eletroforética, por seis horas, a 120 V. Os géis foram revelados para enzimas álcool desidrogenase (ADH), malato desidrogenase (MDH), peroxidase (PO) e superóxido dismutase (SOD), segundo Alfenas (2006). **Delineamento experimental e análise estatística** - utilizou-se delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições, em esquema fatorial 4 x 6, sendo 4 épocas de colheitas (40, 50, 60 e 70 DAA) e 6 períodos de armazenamento pós-colheita dos frutos (0, 3, 6, 9, 12 e 15 dias). As análises estatísticas foram processadas no Sistema SAS de Análise Estatística (SAS, 1989). Os valores obtidos para as variáveis foram submetidos a testes de normalidade e homogeneidade, que indicaram a não necessidade de transformação.

As estimativas dos parâmetros de regressão foram analisadas pelo teste “t” a 5% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A germinação das sementes provenientes de frutos colhidos aos 40 DAA não armazenados e armazenadas por três dias foi nula, sendo crescente a partir de seis dias de armazenamento pós-colheita dos frutos. No entanto, os valores obtidos foram relativamente baixos não ultrapassando 40% (Figura 1). A germinação das sementes oriundas de frutos colhidos aos 50 DAA foi crescente com o armazenamento destes por até 12 dias, decrescendo a partir daí. Por outro lado, o armazenamento pós-colheita de frutos com 60 e 70 dias de idade não promoveu aumento significativo na germinação das sementes, que se manteve praticamente estável até o final do período (15 dias). Também, para sementes de tomate, variedade Kadá, oriundas de frutos colhidos aos 40 DAA, a germinação foi nula nos frutos sem armazenamento e atingiu 97% com o armazenamento por 12 dias (Vidigal et al., 2006). Sanchez et al. (1993) observaram que houve aumento na germinação de sementes de pimentão obtidas de frutos colhidos aos 30 DAA e armazenados por 14 dias, ocorrendo máxima germinação quando os frutos foram colhidos aos 50 DAA e armazenados por sete dias.

Costa et al. (2006) registraram que mesmo o maior período de armazenamento (30 dias) não foi suficiente para que frutos de abóbora híbrida, com 20 ou 30 dias de idade, produzissem sementes de qualidade similar às sementes obtidas de frutos com 50 e 60 dias, não submetidos ao armazenamento.

O vigor das sementes, avaliado pela primeira contagem da germinação e deterioração controlada (Figura 1), aumentou durante o armazenamento pós-colheita dos frutos para todas as épocas de colheita estudadas. Contudo, aos 40 DAA, o nível de vigor das sementes ainda era reduzido, mesmo após o armazenamento dos frutos. Nota-

se, ainda, que o efeito do armazenamento pós-colheita dos frutos no vigor das sementes foi mais pronunciado para aqueles colhidos aos 50 DAA, uma vez que sementes obtidas de frutos colhidos nesta época e não armazenados tiveram baixo vigor, que aumentou, significativamente, até o 15º dia de armazenamento pós-colheita. No entanto, não atingiram nível de vigor semelhante aos obtidos aos 60 e 70 DAA. Em geral, maior vigor foi observado para sementes obtidas de frutos colhidos nestas duas épocas. É importante ressaltar que o armazenamento de frutos com 70 dias de idade por, no mínimo, 9 dias, foi suficiente para elevar a germinação na primeira contagem de 52% (frutos sem armazenamento) para 90%.

Houve redução nos valores de condutividade elétrica com o decorrer da maturação e do armazenamento pós-colheita dos frutos, indicando aumento no vigor das sementes (Figura 1). A condutividade elétrica de sementes obtidas de frutos com 40 dias de idade e não armazenados foi elevada, decrescendo gradativamente ao longo do armazenamento destes, porém apresentando valores sempre mais altos do que aqueles constatados para as sementes obtidas nas demais épocas de colheita. Assim, como constatado nos demais testes de vigor, menor condutividade, indicando maior vigor, foi obtida para sementes extraídas de frutos colhidos aos 60 e 70 DAA. Estes resultados indicam que, em sementes imaturas (40 DAA), a organização das membranas celulares ainda é deficiente; com a permanência das sementes no fruto as membranas foram organizadas de modo a reduzir a lixiviação de solutos. Já, sementes colhidas aos 60 e 70 DAA apresentavam, por ocasião da colheita, membranas bem estruturadas, de modo que o armazenamento pós-colheita do fruto não afetou o sistema de membranas e, conseqüentemente, a condutividade elétrica. Vidigal et al. (2006) observaram padrão similar de variação da condutividade elétrica em estudo sobre maturação de sementes de tomate.

Os perfis isoenzimáticos obtidos para sementes de pimenta em função da época de colheita e do armazenamento pós-colheita dos frutos (Figuras 2 a 5) revelaram, para a malato desidrogenase (MDH) (Figura 2), ausência de qualquer alteração no número e intensidade de bandas que pudesse ser associada ao estágio de maturação e à qualidade das sementes. A MDH desempenha papel significativo no ciclo de Krebs, uma vez que catalisa a conversão de malato a oxaloacetato, produzindo NADH, que é um produto fundamental na produção de ATP e de compostos intermediários essenciais ao funcionamento das células (Taiz e Zeiger, 2004). Portanto, esta enzima poderia se constituir em interessante marcador da respiração aeróbica das sementes durante a maturação. Embora não tenham ocorrido diferenças na atividade da MDH durante a maturação das sementes de pimenta, Taiz e Zeiger (2004) relatam que os órgãos de reserva em desenvolvimento necessitam de maior suprimento energético e com isso, a atividade respiratória nesses tecidos vegetais é mais intensa.

Por outro lado, para a enzima álcool desidrogenase - ADH (Figura 3) observa-se maior atividade nas sementes obtidas de frutos colhidos em estádios mais avançados de maturação (60 e 70 DAA – frutos vermelhos), independente do período de armazenamento pós-colheita. Esta enzima está relacionada à respiração anaeróbica, promovendo redução do acetaldeído a etanol (Buchanan et al., 2005). O acetaldeído acelera a deterioração das sementes (Zhang et al., 1994); portanto, com o aumento da atividade da ADH, as sementes ficam mais protegidas contra a ação deletérea deste composto. Esses resultados são coincidentes com as alterações na qualidade fisiológica das sementes de pimenta observadas nos testes de germinação, primeira contagem, deterioração controlada e condutividade elétrica (Figura 1), indicando que a partir dos 60 DAA, independente do período de armazenamento dos frutos, ocorre a máxima qualidade das sementes. Padrão semelhante para a atividade da ADH foi encontrado por Brandão Jr. et al. (2002) em sementes de café, onde frutos colhidos no estágio cereja

(maduro) tiveram intensidade de bandas maior do que quando os frutos foram colhidos em estágio verde (imaturo); com isso, eles concluíram que a via fermentativa é fundamental para a manutenção da viabilidade de sementes de café após secagem.

Pelo zimograma da enzima superóxido dismutase - SOD (Figura 4), observa-se um pequeno aumento na intensidade das bandas nas sementes obtidas de frutos colhidos a partir de 50 DAA e armazenados por 6 dias. A SOD é a primeira enzima do grupo a trabalhar, atuando na linha de defesa contra formas reativas de oxigênio, uma vez que esta enzima anula a ação dos superóxidos (O_2^-), catalisando reações de transferência de dois elétrons para produzir peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (McDonald, 1999). Silva (2006), trabalhando com o desenvolvimento de sementes de soja, observou que a atividade da SOD foi intensa durante todos os estágios de maturação avaliados.

Segundo Copeland e McDonald (2001), as avaliações bioquímicas ligadas à atividade de enzimas são as avaliações mais sensíveis para detectar o início da deterioração das sementes.

O zimograma da enzima peroxidase - PO (Figura 5) não permite estabelecer associação entre atividade desta enzima e estágio de maturação de sementes de pimenta. A peroxidase desempenha um papel crítico no metabolismo das sementes, por utilizar peróxidos como aceptor de hidrogênio, podendo contribuir para o aumento dos mecanismos de defesa e prevenção de perda na qualidade (Ushimaru et al., 2001). De acordo com Bewley e Black (1994), a redução da atividade dessa enzima proporciona maior exposição dos sistemas de membranas aos efeitos do O_2 . Com isso, em decorrência do nível de danos das membranas, o O_2 atua de forma mais intensa, promovendo oxidação dos compostos.

Em geral, sementes de melhor qualidade fisiológica foram obtidas de frutos colhidos a partir de 60 DAA, com maiores valores de germinação e vigor, menores

valores de condutividade elétrica e enzimas envolvidas na respiração e proteção contra radicais livres atuando nesse período.

CONCLUSÕES

Sementes de elevada qualidade são obtidas de frutos colhidos a partir de 60 DAA, não sendo necessário o armazenamento destes após a colheita.

Maior atividade das enzimas ADH e SOD foram constatadas em sementes obtidas de frutos colhidos aos 60 e 70 DAA, independente do período de armazenamento pós-colheita.

REFERÊNCIAS

- ALFENAS, A. C. **Eletroforese e marcadores bioquímicos em plantas e microrganismo**. 2 ed. Viçosa: UFV, 2006. 627p.
- BASAVARAJAPPA, B.S.; SHETTY, H.S.; PRAKASH, H.S. Membrane deterioration and other biochemical changes associated with accelerated ageing of maize seeds. **Seed Science and Technology**, Zürich, v.19, p.279-286, 1991.
- BEWLEY, J. D.; BLACK, M. **Seed: physiology of development and germination**. 2 ed. New York: Plenum Press, 1994. 445p.
- BOSLAND, P.W.; VOTAVA, E.J. **Peppers: vegetable and spice capsicums**. New Mexico State University, Las Cruces, 2000. 250p.
- BRANDÃO JR., D.S.; CARVALHO, M.L.M.; VIEIRA, M.G.G.C. Variações eletroforéticas de proteínas e isoenzimas relativas à deterioração de sementes de milho envelhecidas artificialmente. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.21, n.1, p.114-121, 1999.
- BRANDÃO JR, D.S.; VIEIRA, M.G.G.C.; HILHORST, H.W.M. Aquisição da tolerância à dessecação nos diferentes estádios de desenvolvimento de sementes de cafeeiro (*Coffea arabica* L.). **Ciência Agrotecnológica**, Lavras, v.26, n.4, p.673-681, 2002.
- BRASIL. Ministério da Agricultura. **Regras para análise de sementes**. Brasília: Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária, 1992. 365p.
- BUCHANAN, B.B.; GRUISSEM, W.; JONES, R.L. **Biochemistry & Molecular Biology of plants**. American Society of Plant Physiologists: Rockville, 2005, 1367p.

CAMARGO, R. **Armazenamento de sementes de milho doce**. 2003. 81f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2003.

CHAUHAN, K.P.S.; GOPINATHAN, M.C.; BABU, C.R. Electrophoretic variations of proteins and enzymes in relation to seed quality. **Seed Science and Technology**, Zürich, v.13, p.629-641, 1985.

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

COSTA, C.J.; CARMONA, R.; NASCIMENTO, W.M. Idade e tempo de armazenamento de frutos e qualidade fisiológica de sementes de abóbora híbrida. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v.28, n.1, p. 127-132, 2006.

DELL' AQUILLA, A. Wheat seed ageing and embryo protein degradation. **Seed Science Research**, Wallingford, v.4, n.3, p.293-298, 1994.

FERGUSON, J.M.; TEKRONY, D.M.; EGLI, D.M. Changes during early soybean seed and axes deterioration: II. Lipids. **Crop Science**, Madison, v.30, n.1, p.179-182. 1990.

FILGUEIRA, F.A. **Novo Manual de Olericultura: Agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças**. 2 ed. Viçosa : UFV, 2005. 412p.

HALMER, P.; BEWLEY, J.D. A physiology perspective on seed vigour testing. **Seed Science and Technology**, Zürich, v.12, p.561-575, 1984.

IBGE. Centro Demográfico. **Resultados do universo relativo às características da população e dos domicílios**. Rio de Janeiro, n.18, 1991.

ISTA – International seed testing association. **Handbook of vigour test methods**. 3 ed. Zürich, 1995. 117p.

KALPANA, R.; MADHAVA RAO, K.V. Nucleic acid metabolism of seeds of pigeonpea (*Cajanus cajan* (L.) Millsp.) cultivars during accelerated ageing. **Seed Science and Technology**, Zürich, v.25, n. 2, p.293-301, 1997.

LIN, S.S. Efeito do período de armazenamento na lixiviação eletrolítica dos solutos celulares e qualidade fisiológica de sementes de milho (*Zea mais* L) e feijão (*Phaseolus vulgaris* L. **Revista Brasileira de Sementes**, Viçosa, v.10, n.1, p.59-67, 1988.

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

MARCOS FILHO, J.; SILVA, W.R.; NOVEMBRE, A.D.C.; CHAMMA, H.M.C.P. Estudo comparativo de métodos para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de soja, com ênfase ao teste de condutividade elétrica. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.25, n.12, p.1805-1815, 1990.

McDONALD, M. B. Seed deterioration: physiology, repair and assessment. **Seed Science and Technology**, Zürich, v.22, n.3, p.531-539, 1999.

PRIESTLEY, D.A. **Seed Aging. Implications of seed storage and persistence un the soil**. Ithaca: Cornell University Press, 1986. 310p.

RIBEIRO, A.C.; GUIMARÃES, P.T.G.; ALVAREZ, V.H. **Recomendações para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais - 5ª aproximação**. Viçosa: CFSEMG, 1999. 359 p.

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

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

SAS Institute. **Statistical user's guide**, version 6, fourth edition, volume 2 Cary, NC: SAS Institute Inc, 1989. 846p.

SHATTERS, J.R.; ABDEL-GHANY, A.; ELBAGOURY, O.; WEST, S.H. Soybean seed deterioration and response to priming: Changes in specific enzyme activities in extracts from dry and germinating seeds. **Seed Science Research**, Wallingford, v.4, n.1, p.33-41, 1994.

SILVA, P.A. **Estudo da qualidade fisiológica, bioquímica e ultra-estrutural durante o desenvolvimento e a secagem de sementes de soja**. 2006. 55f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2006.

SPINOLA, M.C.M.; CÍCERO, S.M.; MELO, M. Alterações bioquímicas e fisiológicas em sementes de milho causadas pelo envelhecimento acelerado. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.57, p.263-270, 2000.

SUN, W.Q.; LEOPOLD, A.C. The glassy state and accelerated ageing of soybeans. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.89, n.4, p.767-774, 1993.

SUNG, J.M.; JENG, T.L. Lipid peroxidation and peroxide-scavenging enzymes associated with accelerated ageing of peanut seed. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.91, p. 51-55, 1994.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 3 ed. Califórnia: Cummings, 2004. 719p.

TEKRONY, D.M.; EGLY, D.B.; PHILLIPS, A.D. Effects of field weathering on the viability and on vigor of soybean seed. **Agronomy Journal**, Madison, v.72, n.5, p.749-753, 1980.

USHIMARU, T.; KANEMATSU, S.; KATAYAMA, M.; TSUJI, H. Antioxidative enzymes in seedling of *Nelumbo nucifera* germinated under water. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.112, n.1, p.39-46, 2001.

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

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

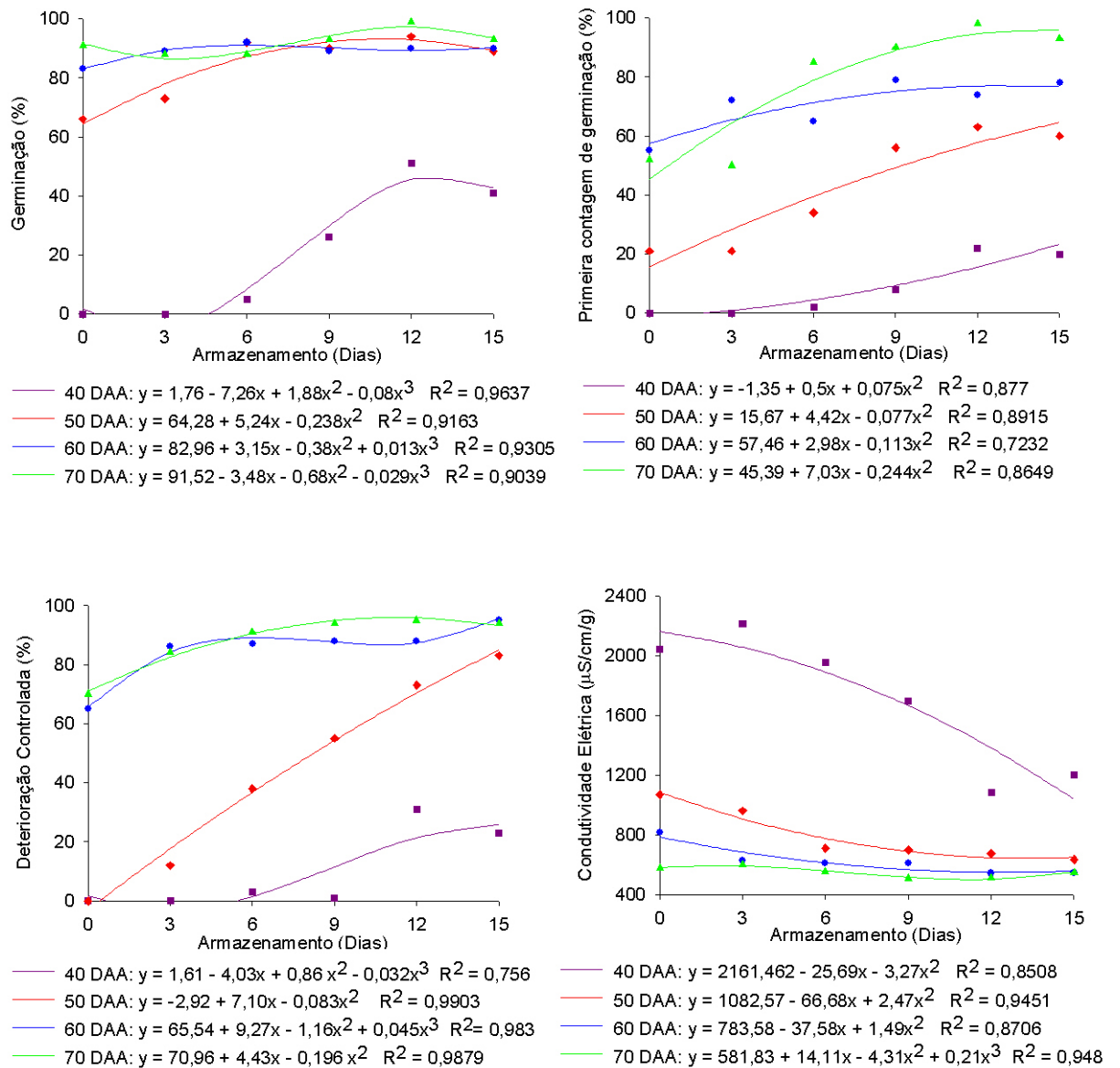


FIGURA 1. Plântulas normais (%) obtidas nos testes de germinação (TG), primeira contagem de germinação (PC) e deterioração controlada (DC) e condutividade elétrica (CE) de sementes de pimenta extraídas de frutos colhidos aos 40, 50, 60 e 70 DAA e armazenados por 0, 3, 6, 9, 12 e 15 dias.

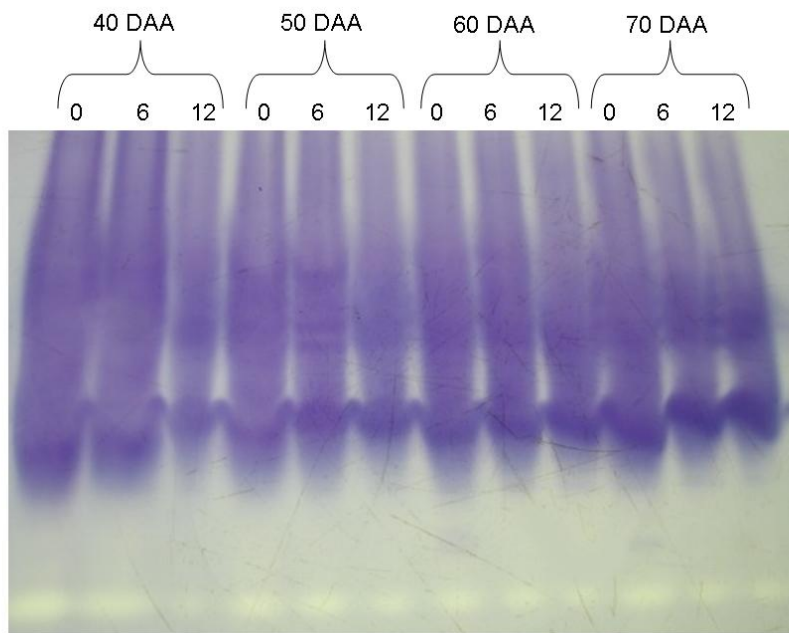


FIGURA 2. Padrões isoenzimáticos em sementes de pimenta extraídas de frutos colhidos aos 40, 50, 60 e 70 DAA e armazenados por 0, 6 e 12 dias, revelados para a enzima malato desidrogenase (MDH).

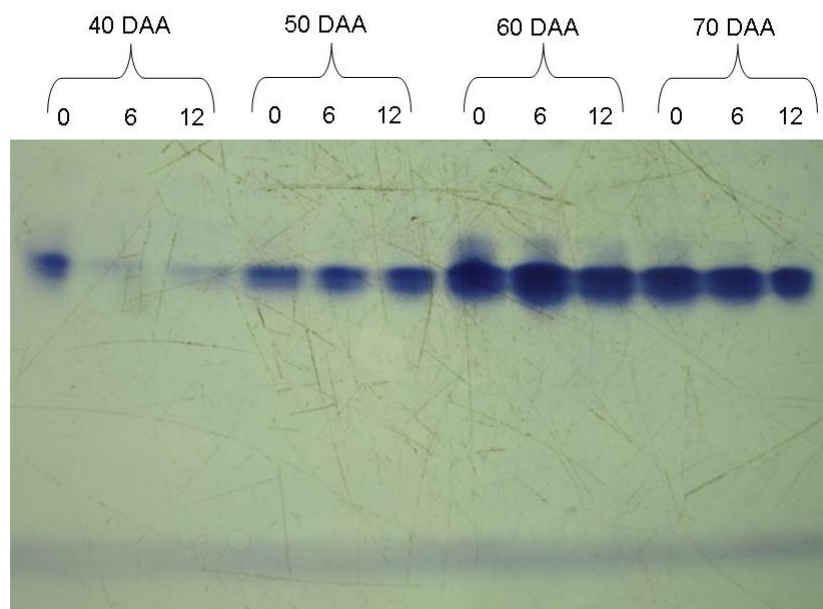


FIGURA 3. Padrões isoenzimáticos em sementes de pimenta extraídas de frutos colhidos aos 40, 50, 60 e 70 DAA e armazenados por 0, 6 e 12 dias, revelados para a enzima álcool desidrogenase (ADH).

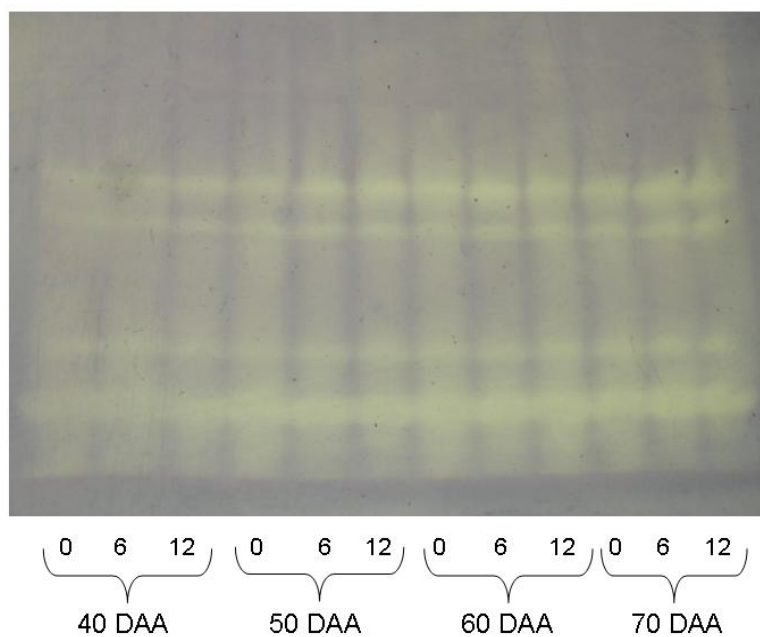


FIGURA 4. Padrões isoenzimáticos em sementes de pimenta extraídas de frutos colhidos aos 40, 50, 60 e 70 DAA e armazenados por 0, 6 e 12 dias, revelados para a enzima superóxido dismutase (SOD).

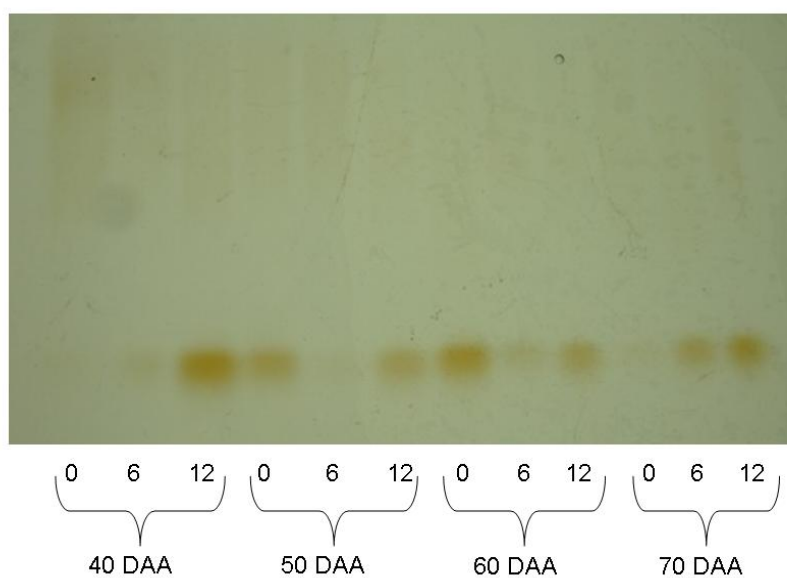


FIGURA 5. Padrões isoenzimáticos em sementes de pimenta extraídas de frutos colhidos aos 40, 50, 60 e 70 DAA e armazenados por 0, 6 e 12 dias, revelados para a enzima peroxidase (PO).

ANEXOS

TABELA 1a. Resumo da análise de variância dos dados obtidos das avaliações de sementes de pimenta em diferentes estádios de maturação. Peso do fruto (P), diâmetro do fruto (D), comprimento do fruto (C), grau de umidade (GU), matéria seca da semente (MSS), peso de mil sementes (PMS), teste de germinação (TG); primeira contagem de germinação (PC); comprimento de plântula (CP); envelhecimento acelerado (EA); índice de velocidade de emergência (IVE); condutividade elétrica (CE).

Fontes de Variações	Teste de F										
	G.L.	P	D	C	G.L.	GU	MSS	G.L.	PMS	G.L.	CE
Estádios de Maturação	11	35,20**	53,02**	12,89**	11	1811,55**	594,30**	11	2177,42**	11	571,48**
ERRO	348	-	-	-	24	-	-	84	-	36	-
CV %	-	20,20	10,21	9,41	-	1,14	3,56	-	2,48	-	6,04
Média Geral	-	40,66	35,37	38,18	-	62,46	0,0045	-	0,55	-	1874,35

**Teste F significativo a 1% de probabilidade

Fontes de Variações	G.L.	Teste de F				
		TG	PC	CP	EA	IVE
Estádios de Maturação	7	228,24**	105,81**	46,22**	124,69**	92,29**
ERRO	24	-	-	-	-	-
CV %	-	7,22	15,50	19,25	16,16	15,25
Média Geral	-	65,31	37,75	3,90	42,00	1,49

**Teste F significativo a 1% de probabilidade

TABELA 1b. Resumo da análise de variância dos dados obtidos das avaliações de sementes de pimenta em diferentes estádios de maturação, submetidas a diferentes períodos de armazenamento pós-colheita dos frutos, pelos testes de germinação (TG); primeira contagem (PC); comprimento de plântula (CP); envelhecimento acelerado (EA); índice de velocidade de emergência (IVE); condutividade elétrica (CE).

Fontes de Variações	G.L.	Teste de F					
		TG	PC	CP	EA	IVE	CE
Estádios de Maturação (EM)	3	1084,17**	740,63**	94,76**	2309,81**	423,04**	961,67**
Armazenamento (ARM)	5	52,08**	97,22**	8,64**	173,05**	40,20**	72,80**
EM X ARM	15	16,44**	10,10**	2,90*	68,42**	17,34**	24,57**
ERRO	72	-	-	-	-	-	-
CV %	-	7,12	11,39	19,70	6,72	12,71	9,15
Média Geral	-	71,08	49,60	4,57	60,25	1,97	916,16

* Teste F significativo a 5% de probabilidade

** Teste F significativo a 1% de probabilidade

TABELA 1c. Resumo da análise de variância dos dados obtidos das avaliações de sementes de pimenta em diferentes estádios de maturação, submetidas a diferentes períodos de armazenamento pós-colheita dos frutos, pelos testes de germinação (TG); primeira contagem (PC); deterioração controlada (DC); condutividade elétrica (CE).

Fontes de Variações	G.L.	Teste de F			
		TG	PC	DC	CE
Estádios de Maturação (EM)	3	1084,17**	740,63**	1209,48**	961,67**
Armazenamento (ARM)	5	52,08**	97,22**	138,40**	72,80**
EM X ARM	15	16,44**	10,10**	26,35**	24,57**
ERRO	72	-	-	-	-
CV (%)	-	7,12	11,39	9,28	9,15
Média Geral	-	71,08	49,60	56,33	916,16

**Teste F significativo a 1% de probabilidade