

MANUEL JESÚS ZAVALA LEÓN

CARACTERIZAÇÃO MORFO-FISIOLÓGICA DE SEMENTES DE *Capsicum chinense* Jacquin E ESTRATÉGIAS PARA AUMENTO DA QUALIDADE E SUPERAÇÃO DA DORMÊNCIA

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

Orientador: Laércio Junio da Silva

**VIÇOSA – MINAS GERAIS
2021**

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

T

Zavala León, Manuel Jesús, 1977-

Z39c
2021

Caracterização morfo-fisiológica de sementes de *Capsicum chinense* Jacq. e estratégias para aumento da qualidade e superação da dormência / Manuel Jesús Zavala León. – Viçosa, MG, 2021.

107 f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Inclui anexos.

Orientador: Laércio Junio da Silva.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa.

Inclui bibliografia.

1. Pimenta - Semente. 2. Semente - Fisiologia.
3. Germinação. 4. Dormência. 5. *Capsicum chinense*.
6. Viabilidade. I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento
de Fitotecnia. Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia.
II. Título.

CDD 633.8421

MANUEL JESÚS ZAVALA LEÓN

CARACTERIZAÇÃO MORFO-FISIOLÓGICA DE SEMENTES DE *Capsicum chinense* Jacq. E ESTRATÉGIAS PARA AUMENTO DA QUALIDADE E SUPERAÇÃO DA DORMÊNCIA

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

APROVADA: 02 de julho de 2021.

Assentimento:



Manuel Jesús Zavala León
Autor



Laércio Júnio da Silva
Orientador

Ao meu pai Manuel Joaquin Zavala Vargas (in memoriam)
por todo o amor e responsabilidade

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Ao Deus por me emprestar saúde durante esta caminhada.

À Universidade Federal de Viçosa, pela oportunidade de realizar a pós-graduação.

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

Ao meu país, México, pela concessão da bolsa de doutorado com o número 425187, outorgada pelo Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT).

Ao Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) por me permitir continuar com minha preparação acadêmica.

Ao professor Laércio Junio da Silva pela amizade, apoio e liberdade para desenvolver meu trabalho de pesquisa.

Aos meus coorientadores Denise Cunha Fernandes dos Santos Dias, Daniel Teixeira Pinheiro, Sebastião Martins Filho e Carlos Nick pela amizade e sugestões para a elaboração deste trabalho de pesquisa.

Aos meus amigos Carlos, Rita, Manuel Ix, André Dantas, Daniel Pinheiro, José da Silva, Johan Quadrado, Maycon Silva, Wander Pereira, pelo apoio nas diferentes etapas desta pesquisa.

Aos amigos e estagiários do Grupo de Estudos em Sementes (GSEM) pela ajuda e amizade durante estes anos cheios de aprendizagens, especialmente o Maycon, a Giúlia, o Wanderson e a Júlia pelo apoio.

À minha esposa Mariela Vázquez pela compreensão e apoio durante esta caminhada, ao meu filho Manuel Joaquin, pelo sorriso e alegria de sempre, e por ser o motor de minha vida e a Yuliana Vázquez pelo carinho e compreensão.

A minha mãe Martha Concepción León de Zavala, irmã Liliana Zavala e sobrinhas Frida Solis e Brisa Solis.

Aos meus sogros Artemio Vázquez e Évila Calderón pelas palavras de apoio em todo momento.

Obrigado!

“A experiência é o nome que damos aos nossos erros”.
(Oscar Wilde)

RESUMO GERAL

ZAVALA, Manuel Jesús León, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, julho de 2021. **Caracterização morfo-fisiológica de sementes de *Capsicum chinense* jacq. e estratégias para aumento da qualidade e superação da dormência.** Orientador: Laércio Junio da Silva.

O cultivo de pimenta *Capsicum chinense* Jacquin tem importância econômica e potencial para o agronegócio brasileiro. Porém, o atraso na germinação das sementes é um problema que pode ter impacto na produtividade em campo. De maneira que diferentes estratégias são adotadas para obtenção de sementes de alta qualidade e para uniformizar a germinação, como seleção de genótipos mais adequados, determinação do estágio de maturação mais apropriado para colheita dos frutos, determinação do período ideal de armazenamento pós-colheita dos frutos para uniformizar a maturação, tempo de armazenamento (*afterripening*) das sementes, assim como a combinação de algumas destas estratégias com o osmocondicionamento das sementes. Diante do exposto, os objetivos desta pesquisa foram: (i) caracterizar uma coleção de germoplasma de *Capsicum chinense* com base nas características morfo-fisiológicas das sementes; ii) Determinar a presença de dormência em sementes de pimenta *Capsicum chinense*; iii) Relacionar os atributos físicos e fisiológicos ligados à qualidade das sementes de pimenta *Capsicum chinense*; iv) Avaliar o efeito combinado do estágio de maturação dos frutos, período de armazenamento e condicionamento osmótico das sementes na sua qualidade física e fisiológica. Na primeira fase, foi explorada a diversidade genética de 57 genótipos de *C. chinense* por meio da avaliação de características físicas (circularidade, perímetro, área, densidade relativa e integrada) e fisiológicas (velocidade de germinação, germinação máxima e t_{50}) de sementes extraídas de frutos maduros. Foram obtidos seis grupos hierárquicos, dentre os quais, o grupo V, com 15 acessos, destacou por apresentar sementes com maior qualidade física e fisiológica, enquanto o grupo II, formado pelos acessos G3188 (Brasil-1) e G4507 (Estados Unidos), apresentou os genótipos com maior lentidão e irregularidade na germinação das sementes. Na segunda fase, foram utilizados os genótipos G3233 (Brasil-2), G3138 (Brasil), G4507 (Estados Unidos) e Mayapán (México). Para determinar a presença de dormência nas sementes foram avaliadas a germinação e a viabilidade das sementes por meio do teste de tetrazólio. Para isso, os frutos foram colhidos em três estádios de maturação (verde, verde-laranja e laranja), submetidos a três períodos de armazenamento antes da extração das sementes (1, 7 e 14 dias) e as sementes foram armazenadas a 10 °C durante um ano com avaliações trimestrais. Os resultados confirmaram que as sementes dos acessos G3188, G4507, Mayapán possuem maior nível de dormência em relação ao acesso G3233 (Brasil-2). A maior proporção

de sementes dormentes foi observada inicialmente e após três meses de armazenamento, porém aos seis e nove meses foi observado aumento no potencial de germinação, ou seja, a dormência foi superada durante o armazenamento das sementes. Aos 12 meses foi observado o início do processo de deterioração das sementes, com redução da qualidade fisiológica. Ainda, as sementes extraídas de frutos verde-laranja ou laranja armazenados por 7 e 14 dias e sementes armazenadas por seis e nove meses reduziram sua dormência. Na quarta fase, foi avaliada a relação entre a qualidade física e fisiológica das sementes dos genótipos G3188, G4507, Mayapán e G3233, cujos frutos foram colhidos em três estádios de maturação (verde, verde-laranja, laranja ou vermelho) e três períodos de armazenamento antes da extração das sementes (1, 7 e 14 dias). As características físicas e a qualidade fisiológica das sementes foram avaliadas por meio de análise de imagens radiográficas (densidade relativa, densidade integrada e perímetro) e posteriormente pelo teste de germinação (velocidade de germinação, coeficiente de germinação, tempo médio e sincronia de germinação e condutividade elétrica). Os resultados indicaram que as sementes extraídas de frutos laranjas armazenados por 14 dias apresentaram maior qualidade física e fisiológica. Já as sementes do genótipo Brasil, que não possuem dormência, apresentaram maior integridade tecidual, velocidade e sincronia na germinação. Na terceira fase foram utilizadas sementes do genótipo México (Mayapán), com maior nível de dormência. Os frutos foram colhidos em dois estádios de maturação (verde-laranja e laranja) e foram submetidos a três tempos de armazenamento do fruto antes da extração das sementes (1, 7 e 14 dias). Uma parte das sementes foram condicionadas com KNO_3 a -1,2 MPa por três dias, e outra parte não recebeu condicionamento. Com o condicionamento, houve aumento das porcentagens de germinação e emergência, sendo que as sementes extraídas de frutos verde-laranja e laranja armazenados por 14 dias e condicionadas com KNO_3 as que proporcionaram germinação e emergência superiores a 90%. Finalmente, conclui-se que existe variabilidade genética entre os genótipos de *Capsicum chinense* para características físicas e fisiológicas das sementes, bem como que as sementes apresentam dormência. Para a obtenção de sementes de alta qualidade física e fisiológica, recomenda-se a extração de sementes de frutos laranjas, o armazenamento dos frutos antes da extração das sementes por 14 dias, e o condicionamento osmótico das sementes com KNO_3 na concentração de -1,2 MPa

Palavras-chave: Habanero. Genótipos. Dormência de sementes. Condicionamento osmótico. Vigor de sementes

GENERAL ABSTRACT

ZAVALA, Manuel Jesús León, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, July, 2021. **Morpho-physiological characterization of seeds of *Capsicum chinense* jacq. and strategies to increase quality and overcome dormancy.** Adviser: Laércio Junio da Silva.

Habanero pepper is an economically important crop with high potential for Brazilian agribusiness. Various aspects of crop production limit the crop productivity in the field. For example, the delay in seed germination negatively affects the production of seedlings and in consequence the fruit yield in the field. The objective of this research was to evaluate the duration of the period of dormancy in Habanero pepper seeds and to evaluate strategies for breaking the seed dormancy. In the first phase of this study, the genetic variability of 57 genotypes of *C. chinense* was explored by means of the physical (circularity, perimeter, area, relative and integrated density) and physiological (germination speed, maximum germination and t_{50}) characteristics of mature seeds. The results were the formation of six hierarchical groups. Among them, group V with 15 accessions showed better physical and physiological characteristics. Particularly, the accession G3233 (Brazil-2) showed the highest germination speed and maximum germination. In contrast, group II, formed by two Habanero accessions, G3188 (Brazil-1) and G4507 (United States), showed lowest germination speed and irregular germination. In the second phase, the genotypes G3188, G4507, BRA-2, and Mayapán (Mexico) were used for assessment of seed dormancy and viability. For this study, the fruits were harvested at three stages of maturation (green, green-orange and orange), and submitted to three periods of storage (1, 7 and 14 days) before the seed extraction. The seeds were stored at 10 °C for one year and the evaluation of viability was carried out every three months. The results confirmed the three accessions of Habanero (G3188, G4507, Mayapán) with greater dormancy in relation to the BRA-2. The highest proportion of dormant seeds was observed initially and after three months of seed storage, but at six and nine months was observed increase in the chances of germination of the seeds, suggesting that dormancy was broken by seed storage. At 12 months of seed storage, the seed deterioration process started, with decrease in seed physiological quality. It is important to highlight that the seeds extracted from green-orange or orange fruits stored for 7 and 14 days and seeds stored for six and nine months, reduced their dormancy. Given this scenario, in a third phase of this study, the genotype with the highest dormancy evaluated for a year (Mayapán) was used. The seeds were extracted in three maturation stages (green, green-orange and orange) and three fruits storage periods (1, 7 and 14 days). These seeds were subjected to osmotic conditioning in KNO_3 solution at -1, 2

MPa for three days. The results showed increase in the germination percentages and emergence, using seeds extracted from green-orange and orange fruits, stored for 14 days and seed conditioned with KNO₃. In the fourth phase of this study, the relationship between the physical and physiological quality of the seeds was evaluated. For this experiment, germination speed coefficient, germination synchrony, electrical conductivity, average time for seed germination and germination synchrony was evaluated, in addition to X-ray images of the seeds (relative density, integrated density and perimeter) in the genotypes G3188, G4507, Mayapán and G3233 (control) at the three fruit maturation stages and three fruit storage periods as described before. The results indicated that the seeds extracted from orange fruits stored for 14 days showed higher quality, both physical and physiological, whereas the seeds of the control showed greater tissue integrity, germination speed and germination synchrony. It is concluded that to obtain seeds of high physical and physiological quality, it is recommended to extract seeds of orange fruits stored for 14 days. The seeds should be submitted to osmotic conditioning with KNO₃ at a concentration of -1,2 MPa to enhance tissue integrity, germination speed, germination synchrony and lower electrical conductivity.

Keywords: Habanero. Genotypes. Seed dormancy. Osmotic priming. Seed vigor

LISTA DE FIGURAS

Capítulo I.....	21
Figura 1. A) Dendrograma e B) imagens dos frutos dos 57 acessos de pimenta <i>Capsicum chinense</i> agrupados com base nos atributos morfológicos e fisiológicos obtidos pela técnica de agrupamento hierárquico, utilizando as distâncias euclidianas como medida de dissimilaridade entre acessos e o método de agrupamento de Ward como medida de variância intragrupo.....	31
Capítulo II	40
Figura 1. Aspecto de frutos de <i>Capsicum chinense</i> com diferentes origens e em diferentes estádios de maturação	44
Figura 2. Imagens ilustrativas de sementes e plântulas de <i>Capsicum chinense</i> . A) semente germinada - caso 1, protusão da radícula visível. B) semente não germinada - caso 0, radícula não visível. G, H, I) semente dormente - caso 1, sementes com tecidos embrionários vitais de coloração vermelho com leve descolorido nos cotilédones e extremidade da radícula. J, K, L) semente morta - caso 0, sementes totalmente descoloridas, com mais da metade da extensão do eixo embrionário descolorida. C, D, E, F, G, H, I) semente viável - caso 1, sementes que germinaram dando origem a plântulas normais e anormais e sementes viáveis pelo teste de tetrazólio. J, K, L) sementes não viáveis - caso 0, sementes mortas identificadas pelo teste tetrazólio	47
Figura 3. Razões de chance entre a variável dependente germinação e as variáveis independentes e suas interações	49
Figura 4. Razões de chance entre a variável dependente dormência e as variáveis independentes e suas interações	51
Figura 5. Razões de chance entre a variável viabilidade e as variáveis independentes e suas interações	53
Capítulo III	61
Figura 1. Gráfico de Hélio da análise de correlação canônica (CCA) entre as variáveis fisiológicas e físicas. A - variável canônica 1 e B - variável canônica 2. As barras pretas correspondem às correlações positivas e as barras brancas correspondem às correlações negativas	70
Figura 2. Análise discriminante canônica para genótipos (A), estágio de maturação do fruto (B) e período de armazenamento do fruto de pimenta (C). Em D, E, F e G aspecto visual dos frutos nos diferentes estádios de maturação e das radiografias das sementes de cada genótipo.....	71
Capítulo IV.....	81
Figura 1. Estratégia experimental para avaliar a qualidade fisiológica das sementes de pimenta Habanero Mayapán com e sem condicionamento. A) Frutos colhidos em estádios de maturação verde-laranja e laranja e armazenados por 1, 7 e 14 dias. B) Sementes condicionadas em solução de KNO ₃ a -1,2 MPa e sementes não condicionadas. C) Sementes organizadas sobre plástico adesivo previamente à análise de raios X. D) Sementes C e NC	

submetidas à análise de raios X. E) Teste de germinação sobre papel germitest. F) Teste de emergência em areia 86

Figura 2. Atributos físicos de sementes de pimenta habanero colhidas em dois estádios de maturação (VL: verde-laranja e L: Laranja), armazenadas no fruto por três períodos antes da extração (1, 7, 14 dias) e submetidas a condicionamento osmótico com solução de KNO_3 (C: condicionadas, NC: Não condicionadas 89

Figura 3. Ilustração de sementes de pimenta habanero Mayapán. **A-C)** sementes não condicionadas obtidas de frutos verde-laranja (VL) e laranja (L) com 14 dias de armazenamento. **B-D)** sementes condicionadas (C) de frutos verde-laranja e laranja com 14 dias de armazenamento. Setas azuis mostram sinais consumo do endosperma em sementes condicionadas de frutos VL e L 90

Figura 4. Qualidade fisiológica de sementes de pimenta Habanero colhidas em dois estádios de maturação (VL: verde-laranja e L: laranja), armazenadas no fruto por três períodos antes da extração (1, 7, 14 dias) e submetidas a condicionamento (C) e não condicionadas (NC), A: porcentagem de germinação, B: índice da velocidade de germinação (IVG), C: porcentagem de plântulas normais, D: comprimento da plântula. Letras maiúsculas comparam os estádios de maturação entre cada tempo de armazenamento e condicionamento. Letras minúsculas camparam os tempos de armazenamento dentro de cada estádio de maturação e condicionamento. */ns comparam o condicionamento dentro de cada estádio de maturação e tempo de armazenamento. As letras diferentes indicam diferenças significativas ao nível do 0,05 entre os tratamentos determinado pelo teste Tukey. NS/ns: indicam ausência de significância. As barras verticais representam o erro padrão da média de quatro repetições (n = 25)..... 91

Figura 5. Emergência de sementes de pimenta Habanero colhidas em dois estádios de maturação (VL: verde-laranja e L: laranja), armazenadas no fruto por três períodos antes da extração (1, 7 e 14 dias) e submetidas a condicionamento (C) e não condicionadas (NC). **A:** porcentagem de emergência, **B:** índice de velocidade de emergência (IVE), **C:** porcentagem de plântulas normais, **D:** comprimento de plântula. Letras maiúsculas comparam os estádios de maturação entre cada tempo de armazenamento e condicionamento. Letras minúsculas camparam os tempos de armazenamento dentro de cada estádio de maturação e condicionamento. */ns comparam o condicionamento dentro de cada estádio de maturação e tempo de armazenamento. As letras diferentes indicam diferenças significativas ao nível do 0,05 entre os tratamentos determinado pelo teste Tukey. NS/ns: indicam ausência de significância. As barras verticais representam o erro padrão da média de três repetições (n =10)..... 92

Figura 6. Diagrama de indivíduos e variáveis mostrando a relação entre as características físicas e fisiológicas das sementes de acordo com a maturação, armazenamento de frutos e condicionamento. PC1: componente principal 1; PC2: componente principal 2. ID: densidade integrada; RD: densidade relativa; SF: preenchimento da semente; AR: área da semente; PR: perímetro da semente; GP: porcentagem de germinação; GSL: comprimento de plântulas normais da germinação; GSI: índice de velocidade da germinação; GPNS: porcentagem de plântulas normais da germinação; EP: porcentagem de emergência; ESL: comprimento de plântula de emergência; ESI: índice de velocidade de emergência; EPNS: porcentagem de plântulas normais de emergência. C: sementes condicionadas; NC: sementes não condicionadas..... 94

LISTA DE TABELAS

Capítulo I	21
Tabela 1. Código de origem dos acessos de <i>Capsicum chinense</i> do Banco de Germoplasma de Hortaliças da UFV utilizados no estudo	25
Tabela 2. Médias (\pm desvio padrão) dos atributos morfológicos das sementes dos 57 acessos de <i>Capsicum chinense</i>	28
Tabela 3. Parâmetros estimados (SE entre parêntese e CI ao 95% entre colchetes) da germinação de sementes de pimenta <i>Capsicum chinense</i> mediante o modelo log-logístico com ajuste de tempo para o evento	30
Tabela 4. Médias (\pm desvio padrão) obtidas para os grupos formados por acessos de pimenta <i>Capsicum chinense</i> com base em atributos morfológicos e fisiológicos das sementes	32
Capítulo II	40
Tabela 1. Descrição dos tratamentos em avaliação.....	45
Tabela 2. Estatística descritiva entre as variáveis independentes em relação à variável germinação	48
Tabela 3. Estatística descritiva entre as variáveis independentes em relação à variável dormência	50
Tabela 4. Estatística descritiva entre as variáveis independentes em relação à variável viabilidade	52
Capítulo III	62
Tabela 1. Características físicas e fisiológicas de sementes de diferentes genótipos de <i>Capsicum chinense</i>	67
Tabela 2. Coeficiente de correlação linear de Pearson entre as características físicas e fisiológicas de sementes de <i>Capsicum chinense</i>	68
Tabela 3. Análise de correlação canônica entre características físicas e fisiológicas de sementes de pimenta <i>Capsicum chinense</i>	68
Tabela 4. Resultados do carregamento canônico e carregamento canônico cruzado obtidos a partir das variáveis físicas e fisiológicas de sementes de pimenta <i>Capsicum chinense</i>	69
Capítulo IV	81
Tabela 1. Descrição dos tratamentos de condicionamento osmótico em sementes de pimenta Habanero Mayapán	85

SUMÁRIO

Introdução Geral	15
Referências	17
Capítulo I.....	21
Caracterização morfo-fisiológica de sementes de acessos de <i>Capsicum chinense</i> Jacq.	21
Resumo.....	21
Abstract	22
Introdução	23
Material e Métodos	24
Resultados	27
Discussão	33
Conclusões	35
Referências	36
Capítulo II.....	40
Estudo da dormência em sementes de pimenta <i>Capsicum chinense</i> Jacquin	40
Resumo.....	40
Abstract	41
Introdução	42
Material e Métodos	43
Resultados	47
Discussão	54
Conclusões	57
Referências.....	57
Capítulo III	61
Relação entre características físicas e qualidade fisiológica de semente de pimenta <i>Capsicum chinense</i> Jacq.....	61
Resumo.....	61
Abstract	62

Material e Métodos	64
Resultados	67
Discussão	72
Conclusões	76
Referências	76
Capítulo IV.....	81
Efeito combinado da maturidade, armazenamento e condicionamento na qualidade de sementes de pimenta habanero	81
Resumo.....	81
Abstract	82
Introdução	83
Material e Métodos	84
Resultados	88
Discussão	94
Conclusões	99
Referências	100
Conclusão Geral	104
Anexo Capítulo I.....	105
Anexo Capítulo III.....	106

INTRODUÇÃO GERAL

A pimenta é uma hortaliça pertencente ao gênero *Capsicum*, o qual é formado por aproximadamente 30 espécies (Bosland and Votava, 2012; Pickersgill, 1997). Dentre elas, a *C. chinense* é considerada originária do Brasil, especificamente da Bacia Amazônica, região onde foi encontrada a maior diversidade genética (Moses et al. 2014). Entre os tipos mais cultivados dessa espécie destacam-se ‘De Cheiro’, ‘Bode’, ‘Cumari do Pará’, ‘Biquinho’ e ‘Habanero’ (Bianchi et al., 2020).

A pimenta Habanero está sobressaindo internacionalmente pelo crescente incremento na demanda de consumo, tanto *in natura* quanto processado (Soares et al., 2020). Esse maior destaque deve-se às características do fruto como aroma, tamanho, cor, formato e grau de pungência, além da possibilidade de diversos usos industriais dos compostos do fruto e da capsaicina, como anti-obesidade, cardioprotetoras, farmacológicas e neurológicas (Mendes and Gonçalves, 2020). Destaca-se que, em 2010, a denominação de origem da pimenta Habanero foi obtida pela Península de Yucatán, outorgada pelo Instituto Mexicano da Propriedade Intelectual, pois essa região do México possui as condições edafoclimáticas para produzir pimenta Habanero com as características de qualidade requeridas pelo mercado internacional (Fabela-Morón et al., 2020; Muñoz-Ramírez et al., 2020).

O método de propagação da pimenta é por semente, portanto, é preciso iniciar o processo produtivo com este insumo na maior qualidade possível, a fim de alcançar estabelecimento uniforme das plântulas no viveiro e alta produtividade no campo. No entanto, as sementes de alguns tipos de pimenta *Capsicum chinense* apresentam germinação irregular e lenta (Caixeta et al., 2014), a qual interfere na produtividade final.

O teste de germinação é utilizado pela indústria sementeira como base para comercializar sementes. Esse teste é usado como referência da qualidade fisiológica do lote de sementes, embora o seu resultado não represente o potencial do lote no campo. Assim, cada país adota seus próprios padrões internos de germinação. No Brasil, se requer um padrão mínimo de germinação de 70% para qualquer categoria de sementes de pimenta (BRASIL, 2009). Já no México, o padrão de germinação mínimo é de 85% em qualquer categoria (SNICS, 2014).

Alguns acessos de *C. chinense* apresentam porcentagens de germinação abaixo do padrão mínimo reportado no México e no Brasil. Portanto, é indispensável explorar a

variabilidade genética desses acessos por meio do estudo das características morfológicas (área, perímetro, preenchimento, densidade tecidual) e fisiológicas (velocidade e uniformidade de germinação) ligadas à qualidade de sementes, com a finalidade de identificar os genótipos com baixos níveis de dormência e iniciar um programa de melhoramento da espécie.

Dentre as espécies *C. chinense* Jacq, a Habanero representa uma das pimentas com germinação mais lenta e irregular, a qual parece ser devida à dormência (Medeiros et al., 2020). Há poucos estudos relacionados a esse tema. Os estudos com sementes de pimenta concluem que as sementes recém-colhidas apresentam maior dormência, e que esta começa a reduzir durante o armazenamento das sementes, podendo levar de 3 a 4 meses para atingir valores superiores ao mínimo requerido no padrão da norma brasileira. Esses estudos também apontam que as sementes dos frutos maduros armazenados por 10 e 14 dias mostram maior uniformidade na germinação e maior qualidade tecidual. Aliás, os frutos colhidos demasiado verdes ou maduros e submetidos a armazenamento pós-colheita resultam em sementes com sua qualidade fisiológica comprometida, os frutos em estágio verde por não terem atingido a tolerância à dessecação e os demasiados maduros por apresentarem sementes deterioradas devido às espécies reativas de oxigênio (Caixeta et al., 2014; Gonçalves et al., 2018; Santos et al., 2016; Pinheiro et al., 2020).

Entre as estratégias adotadas para enfrentar a irregularidade na germinação das sementes de pimenta *C. chinense* e outras espécies de pimenta destacam-se: a colheita de frutos em diferentes estádios de maturação, o armazenamento dos frutos antes da extração das sementes, e o condicionamento das sementes com soluções osmóticas. Com a primeira estratégia, Caixeta et al. (2014) reportaram porcentagens de germinação de 1% a 7% em frutos no início da maturação e de 25 a 58% em frutos maduros. Com a segunda estratégia, Medeiros et al. (2020) obtiveram as maiores porcentagens de germinação para as sementes armazenadas dentro dos frutos por 7 e 14 dias (68% e 76%, respectivamente). Já com a terceira estratégia, Garruña-Hernández et al. (2014) reportaram que sementes comerciais de Habanero condicionadas com KNO_3 a 3% mostraram elevadas porcentagens de germinação e emergência (> 90%). Portanto, cada uma das estratégias aplicadas individualmente contribui para aumentar a qualidade das sementes, porém o efeito combinado não tem sido avaliado.

Por outro lado, a qualidade da semente é a soma das características físicas, genéticas, sanitárias e fisiológicas. A utilização de sementes de alta qualidade física e fisiológica melhora o desempenho em campo, assim a avaliação desses atributos é de extrema importância. A qualidade física da sementes está ligada ao seu aspecto externo (presença de trincas, fungos,

etc.) e interno (densidade relativa, preenchimento, etc.), que pode ser avaliada mediante o uso de técnicas como raios X e imagem multiespectral (Bianchini et al., 2021). Já a qualidade fisiológica está ligada ao potencial de germinação da semente, sua emergência no campo e sua capacidade de armazenamento (Leprince et al., 2017; Rajjou et al., 2012; Ventura et al., 2012). Os atributos físicos estimados a partir das imagens radiográficas das sementes e os atributos fisiológicos estimados a partir dos testes laboratoriais têm sido importantes para identificar sementes com maior integridade tecidual e maior qualidade fisiológica, como tem sido confirmado em sementes de pimenta habanero (Medeiros et al., 2020) e de outras espécies, como pinhão manso (Pinheiro et al., 2020) e brócoli (Araújo et al., 2018).

Portanto, sementes de pimenta *Capsicum chinense* apresentam problemas de germinação lenta e irregular, o que pode afetar a produtividade da cultura no campo. Assim, na presente pesquisa foram conduzidos quatro experimentos. O primeiro teve como objetivo caracterizar uma coleção de germoplasma de *Capsicum chinense* com base em características morfo-fisiológicas das sementes. O segundo consistiu em determinar a presença de dormência em sementes de pimenta *Capsicum chinense*. O terceiro experimento visou relacionar os atributos de qualidade física e fisiológica das sementes de pimenta *Capsicum chinense*. E finalmente, o quarto experimento propôs avaliar o efeito combinado do estágio de maturação dos frutos, período de armazenamento e condicionamento osmótico das sementes na sua qualidade física e fisiológica.

REFERÊNCIAS

- ARAÚJO, R.F.; ABUD, H.F.; SILVA, L.J.D.; ARAÚJO, E.F.; PINTO, C.M.F.; SILVA, F.W.S., 2018. Alterações fisiológicas e atividade de enzimas antioxidantes em sementes de pimentas *Capsicum chinense* Jacq e *Capsicum frutescens* L. durante o processo de maturação. **Revista Ceres**, v. 65, p. 534–545. <https://doi.org/10.1590/0034-737X201865060009>.
- BIANCHI, P.A.; SILVA, L.R.A. DA; ALENCAR, A.A. DA S.; SANTOS, P.H.A.D.; PIMENTA, S.; SUDRÉ, C.P.; CORTE, L.E.-D.; GONÇALVES, L.S.A.; RODRIGUES, R., 2020. Biomorphological Characterization of Brazilian *Capsicum Chinense* Jacq. Germplasm. **Agronomy**, v. 10, p. 1–13. <https://doi.org/10.3390/agronomy10030447>.
- BIANCHINI, V. DE J.M.; MASCARIN, G.M.; SILVA, L.C.A.S.; ARTHUR, V.; CARSTENSEN, J.M.; BOELT, B.; BARBOZA DA SILVA, C., 2021. Multispectral and X-ray images for characterization of *Jatropha curcas* L. seed quality. **Plant Methods**, v. 17, p. 1–13.

<https://doi.org/10.1186/s13007-021-00709-6>.

BOSLAND, P.W.; VOTAVA, E.J., 2012. Introduction., Peppers: vegetable and spice capsicums. <https://doi.org/10.1079/9781845938253.0001>.

BRASIL, MINISTÉRIO DE AGRICULTURA E ABASTECIMENTO, 2009. **Regras para análise de sementes**. Brasília, DF:MAPA/ACS.

CAIXETA, F.; PINHO, É.V.D.R. VON; GUIMARÃES, R.M.; PEREIRA, P.H.A.R.; CATÃO, H.C.R.M., 2014. Physiological and biochemical alterations during germination and storage of habanero pepper seeds. **African Journal of Agricultural Research**, v. 9, p. 627–635. <https://doi.org/10.5897/AJAR2013.7133>.

FABELA-MORÓN, M.F.; CUEVAS-BERNARDINO, J.C.; AYORA-TALAVERA, T.; PACHECO, N., 2020. Trends in Capsaicinoids Extraction from Habanero Chili Pepper (*Capsicum Chinense* Jacq.): Recent Advanced Techniques. **Food Reviews International**, v. 36, p. 105–134. <https://doi.org/10.1080/87559129.2019.1630635>.

GARRUÑA-HERNÁNDEZ, R.; LATOURNERIE-MORENO, L.; AYALA-GARAY, O.; SANTAMARÍA, J.M.; PINZÓN-LÓPEZ, L., 2014. Pre-sowing treatments: An option to increase germination of habanero pepper seeds (*Capsicum chinense* Jacq.). **Agrociencia**, v. 48, p. 413–423.

GONÇALVES, L.S.; GOMES, G.P.; DAMASCENO JUNIOR, C.V.; QUEIROZ, R.A. DE; TAKAHASHI, L.S.; COSTA, D.S. DA; NUNES, M.P., 2018. Seed physiological potential of “dedo-de-moça” pepper in relation to maturation stages and rest periods of the fruits. **Horticultura Brasileira**, v. 36, p. 486–491. <https://doi.org/10.1590/s0102-053620180410>.

LEPRINCE, O.; PELLIZZARO, A.; BERRIRI, S.; BUTINK, J., 2017. Late seed maturation: Drying without dying. **Journal of Experimental Botany**, v. 68, p. 827–841. <https://doi.org/10.1093/jxb/erw363>.

MEDEIROS, A.D.; ZAVALA-LEÓN, M.J.; DA SILVA, L.J.; OLIVEIRA, A.M.S.; DIAS, D.C.F. DOS S., 2020. Relationship between internal morphology and physiological quality of pepper seeds during fruit maturation and storage. **Agronomy Journal**, v. 112, p. 25–35. <https://doi.org/10.1002/agj2.20071>.

MENDES, N. DE S.; GONÇALVES, É.C.B. DE A., 2020. The role of bioactive components found in peppers. **Trends in Food Science & Technology**, v. 99, p. 229–243. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.02.032>.

- MOSES, M.; UMAHARAN, P.; DAYANANDAN, S., 2014. Microsatellite based analysis of the genetic structure and diversity of *Capsicum chinense* in the Neotropics. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 61, p. 741–755. <https://doi.org/10.1007/s10722-013-0069-y>.
- MUÑOZ-RAMÍREZ, L.S.; PEÑA-YAM, L.P.; ÁLVAREZ-GIL, M.A.; IGLESIAS-ANDREU, L.G.; AVILÉS-VIÑAS, S.A.; CANTO-FLICK, A.; GUZMÁN-ANTONIO, A.; SANTANA-BUZZY, N., 2020. Selection of Habanero Pepper F1 Hybrids (*Capsicum chinense* Jacq.) at the Yucatan Peninsula, Mexico with a High Potential for Different Markets. **Agriculture**, v. 10, p. 478. <https://doi.org/10.3390/agriculture10100478>.
- PICKERSGILL, B., 1997. Genetic Resources and Breeding of Amaranthus. **Euphytica**, v. 96, p. 129–133.
- PINHEIRO, DANIEL T.; MEDEIROS, A.D.; ZAVALA-LEÓN, M.J.; DIAS, D.C.F.S.; DA SILVA, L.J., 2020. Physical and physiological quality of *Jatropha curcas* L. seeds at different maturity stages using image analysis. **Spanish Journal of Agricultural Research**, v. 18, p. e0206. <https://doi.org/10.5424/sjar/2020183-16028>.
- PINHEIRO, DANIEL TEIXEIRA; OLIVEIRA, R.M. DE; SILVEIRA, A. DE S.; LEÓN, M.J.Z.; BRUM, L.B.T.L.; DIAS, D.C.F. DOS S., 2020. Antioxidant enzyme activity and physiological potential of *Capsicum baccatum* var. *baccatum* seeds as a function of post-harvest storage of fruit. **Journal of Seed Science**, v. 42, p. 1–13. <https://doi.org/10.1590/2317-1545v42235315>.
- RAJJOU, L.; DUVAL, M.; GALLARDO, K.; CATUSSE, J.; BALLY, J.; JOB, C.; JOB, D., 2012. Seed germination and vigor. **Annual Review of Plant Biology**, v. 63, p. 507–533. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-042811-105550>.
- SANTOS, H.O. DOS; DUTRA, S.M.F.; PEREIRA, R.W.; PIRES, R.M.D.O.; PINHO, É.V.D.R. VON; ROSA, S.D.V.F. DA; CARVALHO, M.L.M. DE, 2016. Physiological quality of habanero pepper (*Capsicum chinense*) seeds based on development and drying process. **African Journal of Agricultural Research**, v. 11, p. 1102–1109. <https://doi.org/10.5897/AJAR2015.10462>.
- SOARES, R.S.; RIBEIRO, C.S. DA C.; RAGASSI, C.F.; DE CARVALHO, S.I.C.; MALDONADE, I.R.; FILHO, J.G. DA S.; BRAZ, L.T.; REIFSCHNEIDER, F.J.B., 2020. New Brazilian lines of Habanero pepper (*Capsicum chinense*): Morpho-agronomic and biochemical

characterization in different environments. **Scientia Horticulturae**, v. 261, p. 1–9.
<https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.108941>.

SNICS, Servicio Nacional de Certificación e Inspección de semillas. 2014. Regla para la calificación de semilla de chile (*Capsicum* spp.). **SAGARPA**, p. 14.
<https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/172407/Chile.pdf>.

VENTURA, L.; DONÀ, M.; MACOVEI, A.; CARBONERA, D.; BUTTAFAVA, A.; MONDONI, A.; ROSSI, G.; BALESTRAZZI, A., 2012. Understanding the molecular pathways associated with seed vigor. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 60, p. 196–206.
<https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2012.07.031>.

CAPÍTULO I

ZAVALA, Manuel Jesús León, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, julho de 2021.
Caracterização morfo-fisiológica de sementes de acessos de *Capsicum chinense* Jacq.
Orientador: Laércio Junio da Silva.

RESUMO

A germinação heterogênea, desuniforme, irregular e lenta é uma característica peculiar do gênero *Capsicum*, que impede a obtenção de estande uniforme de plântulas no viveiro e plantas no campo. O objetivo desta pesquisa foi caracterizar acessos de *Capsicum chinense* mediante os parâmetros estimados na curva de germinação com o modelo de regressão log-logístico. As sementes foram extraídas manualmente de frutos maduros recém colhidos de plantas de 57 acessos. Os resultados mostraram alta variabilidade entre os acessos de pimenta quanto aos parâmetros morfológicos e de germinação das sementes. Os acessos G3188 e G4507, ambos do tipo habanero, apresentaram menores velocidades de germinação e baixas proporções de sementes germinadas. Por fim, 15 acessos se destacaram com características morfológicas e fisiológicas desejáveis nas sementes.

Palavras-chave: Pimenta habanero. Qualidade de sementes. Análise de sobrevivência. Teste de raios-X. Germinação.

CHAPTER I

ZAVALA, Manuel Jesús León, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, July, 2021. **Morpho-physiological characterization of seeds in accessions of *Capsicum chinense* Jacq.** Adviser: Laércio Junio da Silva.

ABSTRACT

Heterogeneous, uneven, irregular, and slow germination is a peculiar characteristic of the genus *Capsicum*, which prevents the achievement of uniform seedling stands in the nursery and plants in the field. The objective of this research was to characterize accessions of *Capsicum chinense* using the parameters estimated in the germination curve with the log-logistic regression model. The seeds were manually extracted from freshly ripe fruits from plants of 57 accessions. The results showed high variability between the accessions of pepper on the seed morphological parameters and seed germination. The accessions G3188 and G4507, both of the habanero type, presented lower germination speeds and low proportions of germinated seeds. Finally, 15 accessions stood out with desirable seed morphological and physiological characteristics.

Keywords: Habanero pepper. Seed quality. Survival analysis. X-rays. Germination.

INTRODUÇÃO

A pimenta é uma hortaliça pertencente ao gênero *Capsicum*, composto por aproximadamente 30 espécies (Bosland and Votava, 2012; Pickersgill, 1997). Dentre essas espécies, a *C. chinense* é considerada originária do Brasil, especificamente da Bacia Amazônica, região onde foi encontrada a maior diversidade genética (Moses et al. 2014), sendo as mais conhecidas ‘De Cheiro’, ‘Bode’, ‘Cumari do Pará’, ‘Biquinho’ e ‘Habanero’ (Soares et al. 2020).

A semente é um componente essencial para a agricultura, portanto, precisa ser de alta qualidade para garantir estabelecimento homogêneo de plântulas. No entanto, as sementes de pimenta de algumas espécies, *C. chacoense*, *C. frutescens*, *C. annum*, *C. microcarpum* (Randle e Honma (1981) e mais recentemente *C. chinense* (Medeiros et al. 2020), manifestam germinação lenta, irregular e emergência desuniforme, características indesejáveis para agricultura intensiva que precisa de sementes com alta qualidade fisiológica, física, genética e sanitária, a fim de garantir elevadas produtividades.

A avaliação de características biométricas das sementes como área, perímetro, espessura, peso, entre outras, auxiliam na detecção de variabilidade genética dentro de populações da mesma espécie (Patrício e Trovão, 2020). Essa vantagem da biometria tradicional pode ser otimizada com a técnica de raios X, que utiliza imagens radiográficas de sementes e que permite a análise automatizada, por exemplo por meio do software ImageJ®, para estimar as características morfológicas como as já mencionadas e estimar também a densidade relativa e a densidade integrada, atributos físicos que têm sido importantes para identificar sementes com maior integridade tecidual e maior potencial de germinação como em sementes de pimenta Habanero (Medeiros et al. 2020), sementes de brócoli (Abud et al., 2018) e sementes de pinhão manso (Pinheiro et al., 2020).

A associação das características morfológicas das sementes com a germinação e o vigor da plântula tem sido um assunto amplamente discutido, com resultados variáveis dependendo da espécie (Ambika et al. 2014). Nesse sentido, três hipóteses têm sido propostas para explicar a relação entre o tamanho da semente e o desempenho da plântula: (i) *O efeito do tamanho da plântula* indica que sementes maiores produzem plântulas maiores, mais vigorosas e com maior probabilidade de sobreviver e de se estabelecer; (ii) *O efeito de reserva* sugere que sementes maiores são mais bem-sucedidas porque contêm mais reservas, que podem ser empregadas para o crescimento, manutenção e sobrevivência da plântula, particularmente em condições de

estresse; (iii) Por fim, o *efeito metabólico* aponta uma compensação entre o tamanho da semente e as taxas de crescimento relativo durante o desenvolvimento inicial da plântula, ou seja, sementes maiores produzem plântulas maiores, porém com taxa metabólica mais baixa devido ao relativamente mais lento consumo de nutrientes; em contraste, as plântulas de sementes menores poderiam compensar suas reservas aumentando sua taxa de crescimento relativo (Quero et al., 2007). Assim, o tamanho da semente tem impacto positivo sobre a germinação e sobrevivência da espécie sob condições de estresse (Mao et al. 2019). Em geral, sementes de maior tamanho germinam mais rápido, pois contêm maior quantidade de reserva quando comparadas com sementes menores (Kandasamy et al. 2020). Porém, o contrário também é possível, ou seja, sementes de menor tamanho podem germinar mais rápido que sementes maiores.

As sementes de *C. chinense* possuem tamanhos variáveis em decorrência de sua ampla diversidade genética (Soares et al. 2020), assim como diferentes tempos de germinação e uniformidade. Por exemplo, Cochram (1974) reportou que sementes de pimenta com diâmetro e pesos maiores germinaram dois dias antes que as sementes com diâmetros e pesos menores. No entanto, em sementes de tomate não foi observada essa premissa, pois não foi encontrada associação entre as características físicas da semente e a qualidade da plântula (Peñaloza e Durán, 2015).

Diante do exposto, o objetivo do estudo foi caracterizar uma coleção de germoplasma de acessos de *C. chinense* com base nas características morfológicas e fisiológicas das sementes, e identificar os acessos com maior qualidade de sementes.

MATERIAL E MÉTODOS

Material vegetal

O germoplasma utilizado neste estudo constou de 57 acessos de *C. chinense* Jacquin pertencentes ao Banco de Germoplasma de Hortaliças da Universidade Federal de Viçosa – BGH-UFV (Tabela 1).

Frutos maduros dos acessos foram coletados de plantas cultivadas na Unidade de Ensino, Pesquisa e Extensão – UEPE - Horta Nova, da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, em 2017. De cada acesso foram selecionados aproximadamente 30 frutos maduros, cujas sementes foram extraídas com auxílio de um estilete no dia seguinte à colheita. Em seguida, as sementes foram desinfestadas em hipoclorito de sódio 3% v/v por três minutos e depois foram

lavadas com água corrente. Posteriormente, as sementes foram secas dentro de sacolas feitas com tecido de organza a $25 \pm 3^\circ\text{C}$ durante sete dias. Uma vez secas, as sementes foram colocadas em embalagens plásticas herméticas e foram mantidas a 10°C e 40% de umidade relativa, até serem avaliadas quanto ao teor de água, características morfológicas e qualidade fisiológica.

Tabela 1. Código de origem dos acessos de *Capsicum chinense* do Banco de Germoplasma de Hortaliças da UFV utilizados no estudo.

Acessos	Código	Estado/País	Fonte	Acessos	Código	Estado/País	Fonte	Acessos	Código	Estado/País	Fonte
BGH 4285	G40	MT	Banco de semente	BGH 4731	G53	AM	Banco de semente	BGH 1723	G21	PA	Banco de semente
BGH 1716	G18	MA	Banco de semente	BGH 4733	G56	AM	Banco de	De Cheiro	G3234	DF	Coleta
BGH 6233	G84	DF	Banco de semente	BGH 1716	G14	MA	Banco de semente	BGH 6371	G94	AM	Banco de semente
BGH 6378	G98	AM	Banco de semente	BGH 6387	G100	BA	Banco de semente	BGH 6371	G93	AM	Banco de semente
BGH 6610	G102	?	Banco de semente	BGH 4750	G62	AM	Banco de semente	BGH 1714	G13	MA	Banco de semente
PI 152225	G2821	EU	Coleta	BGH 4201	G32	PA	Coleta	BGH 6515	G101	MG	Banco de semente
Biquinho	G4549	BR	Coleta	De Cheiro	G280	CE	Coleta	BGH 707	G4	MT	Banco de semente
BGH 1716	G15	MA	Banco de semente	De Cheiro	G2825	DF	Coleta	BGH 6239	G86	DF	Banco de semente
BGH 4201	G33	PA	Banco de semente	BGH 6228	G82	DF	Banco de semente	G3788	Pitanga	MG	Coleta
BGH 4289	G43	MT	Banco de semente	BGH 1694	G7	MT	Banco de semente	BGH 5012	G72	AL	Banco de semente
BGH 4199	G31	PA	Banco de semente	BGH 1723	G20	PA	Banco de semente	BGH 6610	G103	?	Banco de semente
Pião	G3748	MG	Banco de semente	Bode Vermelha	G3239	DF	Coleta	Cumari	G4607	?	Coleta
BGH 1747	G27	MG	Banco de semente	Gbig	Biquinho	?	Coleta	BGH 6233	G85	DF	Banco de semente
BGH 1714	G11	MA	Banco de semente	BGH 6233	G83	DF	Banco de semente	De Cheiro	G3395	GO	Coleta
Bod Amarela	G3238	DF	Banco de semente	BGH 1716	G16	MA	Banco de semente	BGH 4756	G68	AM	Banco de semente
Biquinho	Gamar	?	Coleta	BGH 4721	G48	AM	Banco de semente	Habanero	G4507	BR	Coleta
BGH 6006	G77	PA	Banco de semente	Murupi	G3233	DF	Coleta	Habanero	G3188	EU	Coleta
Cabacinha	G3772	GO	Coleta	Gverm	Bode	?	Coleta				
De Cheiro	G3651	GO	Coleta	BGH 4213	G36	AM	Banco de semente				
Habanero	Ghab	?	Coleta	BGH 6370	G92	AM	Banco de semente				

MT: Mato Grosso, MA: Maranhão, DF: Distrito Federal, AM: Amazonas, EU: Estados Unidos, BR: Brasília, PA: Pará, MG: Minas Gerais, DF: Distrito Federal, GO: Goiás, BA: Bahia, CE: Ceará, AL: Alagoas.

Morfologia da semente por meio de análise de raios X

Para obtenção das imagens radiográficas, 40 sementes de cada acesso foram coladas em folhas de papel adesivo, evitado o contato entre elas. Em seguida, as sementes foram expostas a radiação de 23 Kv por 10 segundos, à distância do raio de 20,7 cm e um contraste de 1131, usando o equipamento Faxitron, modelo MX-20 (Faxitron X-ray Corp. Wheeling, IL, U.S.A). As imagens radiográficas foram analisadas no software ImageJ[®], de acordo com metodologia

utilizada por Medeiros et al. (2020), para a obtenção de características físicas como: *área* (mm^2), definida como a superfície delimitada na seleção; *perímetro* (mm), definido como o comprimento do limite externo da seleção; *circularidade*, definida como o grau de arredondamento da área selecionada, determinada pela fórmula $C = 4\pi * \frac{\text{área}}{\text{perímetro}^2}$, sendo que valores de C próximos a 1 indicam sementes arredondadas, enquanto que valores próximos de 0 indicam sementes com formato alongado; *densidade relativa*, definida como a soma dos valores em cinza de todos os pixels na seleção dividida pelo número de pixels; *densidade integrada*, definida como a soma dos valores dos pixels na imagem ou seleção, equivalente ao produto da área e o valor médio de cinza.

Análise fisiológica da semente

Três repetições de 25 sementes de cada acesso foram colocadas em placas de Petri sobre duas camadas de papel *Germitest* umedecidos em 2,5 vezes seu peso seco. Em seguida, as placas foram depositadas em câmara BOD, sob temperatura alternada de 20-30 °C/8 h noite - 16 h dia. A avaliação do número de sementes germinadas foi realizada a cada 24 horas durante 14 dias (Brasil, 2009). As sementes foram consideradas germinadas quando a radícula alcançou comprimento maior 1 mm (Hernández-Verdugo et al., 2001).

Análise estatística

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado com três repetições. Os dados da caracterização morfológica das sementes foram verificados quanto aos pressupostos da ANOVA, normalidade com o teste Shapiro-Wilk e teste de Levene para homogeneidade de variância. Em seguida, os dados foram submetidos à análise de variância e as médias foram agrupadas por meio do procedimento de Scott-Knott, a 5% de probabilidade, utilizando-se o pacote *ExpDes.pt* do software R (Ferreira et al. 2018). Os dados do teste de germinação foram ajustados à função de distribuição cumulativa log-logística de tempo para o evento ou sobrevivência com o pacote *drc* do software R (Ritz et al. 2015), utilizando-se a fórmula: $f(x) = d/(1 + \exp(b(\log(x) - \log(e))))$. Por meio desse modelo foram estimados três parâmetros da curva de germinação: **b** - velocidade de germinação, medida pela inclinação da reta; **d** - germinação máxima, medida pelo ponto máximo da reta; **e** - velocidade de germinação, medida como o tempo para atingir 50% (t50) de germinação, baseado no parâmetro d.

Finalmente, foi realizada uma análise multivariada de cluster hierárquico divisivo para reconhecer os padrões de agrupamento dos genótipos com base nos atributos morfológicos e fisiológicos das sementes de pimenta *C. chinense*. A matriz de separação entre acessos foi calculada mediante distâncias euclidianas, enquanto que o método de Ward foi utilizado como medida de agrupamento hierárquico (Kassambara, 2015). A consistência do agrupamento foi calculada com o coeficiente de correlação cofenética e validada mediante o teste de Mantel (Rodrigo e Tadeu, 2013). As análises estatísticas foram realizados com o software R versão 3.6.0 (R Core Team, 2019).

RESULTADOS

O conteúdo de água das sementes dos acessos de *C. chinense* oscilou entre 11% e 13% (dados não apresentados), após a secagem e no momento da execução dos testes. Assim, este parâmetro não influenciou os resultados da caracterização morfológica e fisiológica das sementes.

Atributos físicos das sementes

Diferenças significativas ($p < 0,05$) foram observadas para os atributos morfológicos determinados a partir da análise das imagens radiográficas entre os acessos de pimenta *C. chinense*. Os acessos foram agrupados em seis grupos quanto às variáveis área e circularidade, cinco grupos considerando os parâmetros perímetro e densidade integrada e quatro grupos considerando a densidade relativa das sementes (Tabela 2).

A densidade integrada média das sementes dos 57 acessos de pimenta foi de 521,84 cinza $\text{mm}^2 \text{pixel}^{-1}$, oscilando de 343,69 a 698,88 cinza $\text{mm}^2 \text{pixel}^{-1}$. O maior grupo obtido incluiu 50% dos acessos, com média de densidade relativa de 512,57 cinza $\text{mm}^2 \text{pixel}^{-1}$, enquanto 5,17% formou o menor grupo, com média de densidade relativa de 343,69 cinza $\text{mm}^2 \text{pixel}^{-1}$. O maior valor de densidade integrada foi observado para o acesso G4607 com 730,14 cinza $\text{mm}^2 \text{pixel}^{-1}$ e o menor valor foi para o acesso G280 com 286,33 cinza $\text{mm}^2 \text{pixel}^{-1}$ (Tabela 2).

O valor médio observado para a circularidade de sementes de *C. chinense* foi de 0,37, variando de 0,21 a 0,54. O grupo com maior número de genótipos (42,10%) apresentou valor médio de circularidade das sementes de 0,32, enquanto o menor grupo obteve média de 0,21. O maior valor de circularidade foi observado nas sementes do acesso G16 com valor de 0,57, enquanto o menor valor foi observado para o acesso G280 com 0,19 (Tabela 2).

Tabela 2. Médias (\pm desvio padrão) dos atributos morfológicos das sementes dos 57 acessos de *Capsicum chinense*.

Acesso	Densidade integrada (cinza mm ² pixel ⁻¹)	Circularidade	Perímetro (mm)	Densidade relativa (cinza pixel ⁻¹)	Area (mm ²)	Acesso	Densidade integrada (cinza mm pixel ⁻¹)	Circularidade	Perímetro (mm)	Densidade relativa (cinza pixel ⁻¹)	Area (mm ²)	Acesso	Densidade integrada (cinza mm pixel ⁻¹)	Circularidade	Perímetro (mm)	Densidade relativa (cinza pixel ⁻¹)	Area (mm ²)
G40	344,38 \pm 35,03e	0,33 \pm 0,03d	12,63 \pm 0,61 e	86,25 \pm 2,46b	3,97 \pm 0,31e	G53	575,47 \pm 44,92c	0,32 \pm 0,02d	15,27 \pm 1,26c	104,31 \pm 7,26a	5,52 \pm 0,28c	G21	621,94 \pm 35,60b	0,27 \pm 0,02e	16,97 \pm 1,17b	112,94 \pm 6,71a	5,5 \pm 0,18c
G18	479,01 \pm 34,52c	0,38 \pm 0,06c	12,78 \pm 1,60e	117,86 \pm 8,15a	4,06 e	G56	509,68 \pm 42,98c	0,26 \pm 0,03e	15,47 \pm 1,26c	112,32 \pm 7,73a	4,53 \pm 0,08d	G3234	389,68 \pm 27,90d	0,33 \pm 0,05d	13,01 \pm 1,11d	96,17 \pm 6,62b	4,05 \pm 0,24e
G84	497,38 \pm 29,09c	0,32 \pm 0,04d	14,18 \pm 1,05d	111,11 \pm 7,78a	4,48 \pm 0,06d	G14	494,37 \pm 32,40c	0,31 \pm 0,03d	13,71 \pm 0,99d	111,62 \pm 5,12a	4,42 \pm 0,10d	G94	488,18 \pm 29,28c	0,39 \pm 0,01c	12,20 \pm 0,48e	112,10 \pm 10,33a	4,35 \pm 0,17d
G98	472,39 \pm 47,33c	0,27 \pm 0,03e	14,62 \pm 1,41d	116,58 \pm 11,42a	4,05 \pm 0,04e	G100	425,29 \pm 25,03d	0,35 \pm 0,01d	12,53 \pm 0,35e	105,73 \pm 8,42a	4,03 \pm 0,13e	G93	368,80 \pm 18,49e	0,39 \pm 0,07c	10,82 \pm 1,03e	112,42 \pm 4,48a	3,28 \pm 0,04f
G102	604,43 \pm 27,94b	0,47 \pm 0,05b	11,91 \pm 0,91e	117,83 \pm 6,17a	5,13 \pm 0,14c	G62	696,24 \pm 43,17a	0,21 \pm 0,01f	22,67 \pm 0,47a	90,32 \pm 4,35b	7,62 \pm 0,12a	G13	392,99 \pm 108,52d	0,26 \pm 0,02e	14,52 \pm 0,74d	92,03 \pm 22,63b	4,23 \pm 0,20d
G2821	442,61 \pm 39,53d	0,31 \pm 0,01d	15,29 \pm 0,75c	81,95 \pm 2,43b	5,39 \pm 0,41c	G32	517,25 \pm 34,38c	0,41 \pm 0,04c	12,40 \pm 0,68e	113,21 \pm 9,83a	4,58 \pm 0,17d	G101	406,97 \pm 51,82d	0,28 \pm 0,03e	14,12 \pm 0,57d	107,42 \pm 8,98a	3,80 \pm 0,18e
G4549	368,04 \pm 13,75e	0,33 \pm 0,04d	11,80 \pm 1,19e	116,79 \pm 6,35a	3,15 \pm 0,19f	G280	286,33 \pm 19,40e	0,19 \pm 0,04f	20,89 \pm 2,66a	52,61 \pm 3,90d	5,45 \pm 0,07c	G4	334,98 \pm 41,10e	0,33 \pm 0,06d	13,77 \pm 0,98d	78,01 \pm 8,08c	4,27 \pm 0,13d
G15	486,25 \pm 28,45c	0,25 \pm 0,02e	15,38 \pm 0,66c	110,8 \pm 5,03a	4,4 \pm 0,11d	G2825	363,13 \pm 27,86e	0,51 \pm 0,02a	10,53 \pm 0,52e	87,82 \pm 5,71b	4,13 \pm 0,05d	G86	670,25 \pm 27,88a	0,26 \pm 0,03e	16,61 \pm 0,87b	123,11 \pm 5,79a	5,44 \pm 0,05c
G33	529,75 \pm 64,50c	0,29 \pm 0,03d	15,09 \pm 0,85c	110,64 \pm 9,76a	4,78 \pm 0,30d	G82	300,15 \pm 117,32e	0,41 \pm 0,03c	11,70 \pm 0,89e	73,61 \pm 28,01c	4,06 \pm 0,08e	G3788	479,46 \pm 29,79c	0,45 \pm 0,02c	10,32 \pm 0,45e	131,99 \pm 8,80a	3,63 \pm 0,07f
G43	553,89 \pm 45,65c	0,23 \pm 0,03f	17,76 \pm 0,93b	103,22 \pm 7,63a	5,36 \pm 0,14c	G7	511,87 \pm 33,90c	0,35 \pm 0,04d	13,45 \pm 1,20d	116,70 \pm 8,77a	4,39 \pm 0,05d	G72	455,06 \pm 48,38d	0,29 \pm 0,05d	13,93 \pm 1,36d	114,77 \pm 10,68a	3,97 \pm 0,11e
G31	507,60 \pm 24,06c	0,30 \pm 0,05d	14,3 \pm 1,18d	114,8 \pm 5,78a	4,42 \pm 0,03d	G20	365,41 \pm 31,74e	0,35 \pm 0,03d	14,14 \pm 0,89d	69,92 \pm 5,11c	5,23 \pm 0,15c	G103	503,55 \pm 47,64c	0,20 \pm 0,02f	17,36 \pm 0,41b	113,87 \pm 8,06a	4,41 \pm 0,11d
G3748	450,93 \pm 63,06d	0,38 \pm 0,06c	13,51 \pm 1,37d	89,47 \pm 7,61b	5,04 \pm 0,38c	G3239	633,28 \pm 52,39b	0,38 \pm 0,04c	14,00 \pm 0,63d	114,45 \pm 10,43a	5,53 \pm 0,07c	G4607	730,14 \pm 45,25a	0,41 \pm 0,04c	14,76 \pm 1,37d	108,12 \pm 6,73a	6,76 \pm 0,26b
G27	478,02 \pm 44,14c	0,28 \pm 0,03e	14,71 \pm 0,85d	108,83 \pm 9,47a	4,39 \pm 0,10d	Gbig	569,09 \pm 72,66c	0,29 \pm 0,01d	15,12 \pm 0,35c	115,89 \pm 10,40a	4,89 \pm 0,24c	G85	482,03 \pm 34,63c	0,27 \pm 0,03e	14,56 \pm 1,01d	111,29 \pm 8,37a	4,33 \pm 0,06d
G11	526,84 \pm 32,51c	0,54 \pm 0,09a	11,17 \pm 1,37e	112,45 \pm 11,01a	4,7 \pm 0,21d	G83	482,85 \pm 40,67c	0,26 \pm 0,03e	16,77 \pm 0,74b	92,58 \pm 7,14b	5,21 \pm 0,20c	G3395	519,41 \pm 47,94c	0,31 \pm 0,03d	14,93 \pm 0,99d	99,34 \pm 9,06a	5,24 \pm 0,11c
G3238	547,00 \pm 50,67c	0,32 \pm 0,04d	14,02 \pm 1,23d	115,74 \pm 8,29a	4,73 \pm 0,12d	G16	557,11 \pm 46,50c	0,57 \pm 0,02a	11,00 \pm 0,07e	104,30 \pm 8,47a	5,35 \pm 0,22c	G68	361,98 \pm 54,97e	0,36 \pm 0,06d	11,75 \pm 1,29e	101,28 \pm 13,52a	3,54 \pm 0,10f
Gamar	407,81 \pm 44,74d	0,24 \pm 0,04e	16,98 \pm 1,67b	80,60 \pm 7,57b	5,05 \pm 0,10c	G48	430,81 \pm 22,21d	0,35 \pm 0,06d	11,99 \pm 1,34c	116,66 \pm 5,42a	3,69 \pm 0,12f	G4507	449,52 \pm 63,50d	0,30 \pm 0,03d	14,20 \pm 1,25d	100,23 \pm 7,35a	4,48 \pm 0,39d
G77	538,49 \pm 51,49c	0,23 \pm 0,02f	18,47 \pm 1,29b	95,61 \pm 6,43b	5,63 \pm 0,19c	G3233	446,79 \pm 39,19d	0,37 \pm 0,03c	11,45 \pm 0,64e	122,24 \pm 9,71a	3,65 \pm 0,04f	G3188	482,85 \pm 40,67c	0,26 \pm 0,03e	16,77 \pm 0,74b	92,58 \pm 7,14b	5,21 \pm 0,20c
G3772	434,87 \pm 50,44d	0,39 \pm 0,01c	11,41 \pm 1,29e	111,10 \pm 8,01a	3,9 \pm 0,19e	Gverm	520,17 \pm 52,18c	0,31 \pm 0,04d	16,01 \pm 1,62c	88,83 \pm 5,07b	5,87 \pm 0,26c						
G3651	645,55 \pm 43,43b	0,31 \pm 0,05d	15,78 \pm 2,01c	123,74 \pm 9,36a	5,35 \pm 0,17c	G36	486,12 \pm 59,67c	0,31 \pm 0,04d	13,96 \pm 0,86d	113,87 \pm 12,19a	4,26 \pm 0,15d						
GHab	529,81 \pm 39,88c	0,31 \pm 0,01d	13,94 \pm 0,56d	119,81 \pm 9,14a	4,42 \pm 0,20d	G92	538,57 \pm 40,47c	0,52 \pm 0,04a	11,21 \pm 0,79e	112,49 \pm 8,68a	4,78 \pm 0,11d						

Médias seguidas por letras diferentes indicam grupos diferentes pelo procedimento de Scott-Knott ($p < 0.05$).

As sementes dos acessos de pimenta habanero tiveram perímetro médio de 16,03 mm, oscilando de 11,64 a 21,78 mm. O grupo com maior número de acessos (36,84%) possui perímetro médio de 14,11 mm, enquanto as sementes do menor grupo (31,57% dos genótipos) atingiram perímetro médio de 11,64 mm. O maior valor de perímetro da semente foi observado para o acesso G62 (22,67 mm), enquanto o menor valor foi observado para as sementes do acesso G3788 (10,32 mm) (Tabela 2).

As sementes dos acessos de pimenta *C. chinense* tiveram densidade relativa média de 82,19 cinza pixel⁻¹, oscilando de 52,60 a 112,78 cinza pixel⁻¹. A maior parte dos genótipos (71,92%) tiveram maiores médias de densidade relativa de 112,78 cinza pixel⁻¹, enquanto 1,75% dos genótipos tiveram menores valores (52,60 cinza pixel⁻¹). A maior densidade relativa foi observada para o acesso Ghab (119,81 cinza pixel⁻¹) comparado com o acesso G280 que obteve a menor densidade relativa (52,61 cinza pixel⁻¹) (Tabela 2).

Por fim, a área média das sementes foi de 5,27 mm² para os acessos de pimenta, variando de 3,49 a 7,62 mm². A maioria dos genótipos (36,84%) mostrou valores médios de área de 4,45 mm², enquanto 1,72% dos genótipos obtiveram menor área de 10,52 mm². A maior área de semente foi observada para o acesso G62 com valor de 7,62 mm², enquanto a menor área foi registrada para o acesso G4549 de 3,15 mm² (Tabela 2).

Atributos fisiológicos das sementes

Os parâmetros da germinação das sementes dos acessos de *C. chinense* foram estimados mediante o modelo tempo para o evento (Tabela 3). Dos 57 acessos avaliados, 73,6% apresentaram proporção de sementes germinadas entre $0,85 \leq d \leq 1,0$, enquanto 28,8% dos acessos obtiveram proporções de sementes germinadas entre $0,10 \leq d \leq 0,84$. Destacaram os G3188 e G4506 como os acessos com as menores proporções de sementes germinadas, com valores de 0,10 e 0,21, respectivamente.

Dos acessos que exibiram a máxima proporção de sementes germinadas ($d = 1$), 50% desses (G18, G15, G4549, G2821, G33) apresentaram germinação mais rápida e demandaram menos dias para atingir o t_{50} (em média $e = 4,0$ dias). Enquanto para os 50% restantes (G40, G84, G98, G102, G43), as sementes germinaram mais lentamente e precisaram de mais dias para alcançar o t_{50} (5,38 dias). Entre os acessos com menor proporção de sementes germinadas, destacaram G3188 e G4507, ambos do tipo habanero, que foram classificados entre os genótipos que exibiram velocidades de germinação mais lenta (em média $b = 3,16$ dias), e pre-

Tabela 3. Parâmetros estimados (SE entre parêntese e CI ao 95% entre colchetes) da germinação de sementes de pimenta *Capsicum chinense* mediante o modelo log-logístico com ajuste de tempo para o evento.

Acessos	Parâmetros estimados			Acessos	Parâmetros estimados			Acessos	Parâmetros estimados			Acessos	Parâmetros estimados		
	b	d	e		b	d	e		b	d	e		b	d	e
G40	-6,01 (0,58) [-7,15;-4,87]	1,00 (0,11) [0,77,1,23]	5,67 (0,19) [5,28,6,06]	G53	-10,90 (1,29) [-13,45,-8,37]	0,97 (0,01) [0,94,1,01]	3,95 (0,07) [3,80,4,11]	G21	-1,94 (0,29) [-2,52,-1,36]	0,87 (0,06) [0,76,0,98]	3,48 (0,43) [2,63,4,33]	Gamar	-4,40 (0,49) [-5,36,-3,45]	0,97 (0,02) [0,93,1,02]	5,51 (0,27) [4,98,6,05]
G18	-12,54 (1,55) [-15,59,-9,49]	1,00 (0,11) [0,77,1,23]	4,07 (0,07) [3,94,4,22]	G56	-3,93 (0,52) [-4,96,-2,90]	0,97 (0,05) [0,87,1,09]	7,70 (0,49) [6,74,8,68]	G3234	-2,24 (0,30) [-2,84,-1,65]	0,85 (0,04) [0,77,0,94]	2,48 (0,25) [1,99,2,97]	G77	-11,48 (1,35) [-14,41,-8,82]	0,97 (0,01) [0,94,1,01]	4,14 (0,08) [3,98,4,30]
G84	-4,25 (0,54) [-5,32,-3,18]	1,00 (0,15) [0,70,1,30]	5,63 (0,35) [4,94,6,32]	G14	-5,02 (0,54) [-6,08,-3,96]	0,96 (0,02) [0,92,1,01]	4,35 (0,18) [4,00,4,71]	G94	-3,16 (0,69) [-4,52,-1,79]	0,84 (0,22) [0,41,1,28]	11,03 (2,17) [6,78,15,29]	G3772	-11,85 (1,31) [-14,43,-9,28]	0,97 (0,02) [0,94,1,01]	4,72 (0,08) [4,55,4,90]
G98	-5,51 (0,54) [-6,59,-4,44]	1,00 (0,11) [0,77,1,23]	5,02 (0,19) [4,66,5,39]	G100	-4,56 (0,49) [-5,54,-3,59]	0,96 (0,02) [0,92,1,02]	5,12 (0,24) [4,66,5,60]	G93	-4,64 (0,52) [-5,66,-3,63]	0,84 (0,04) [0,77,0,93]	5,68 (0,26) [5,16,6,21]	G3651	-4,66 (0,51) [-5,67,-3,67]	0,97 (0,02) [0,92,1,02]	5,41 (0,24) [4,93,5,90]
G102	-4,06 (0,43) [-4,90,-3,22]	1,00 (0,11) [0,77,1,23]	4,02 (0,19) [3,65,4,41]	G62	-8,77 (1,04) [-10,82,-6,72]	0,96 (0,02) [0,92,1,01]	4,67 (0,13) [4,41,4,92]	G13	-7,20 (0,86) [-8,89,-5,50]	0,84 (0,04) [0,76,0,92]	3,32 (0,10) [3,12,3,53]	Ghab	-3,85 (0,44) [-4,73,-2,98]	0,97 (0,01) [0,94,1,01]	3,39 (0,17) [3,05,3,74]
G2821	-9,69 (1,38) [-12,41,-6,97]	1,00 (0,12) [0,75,1,25]	2,98 (0,07) [2,84,3,13]	G32	-6,58 (0,71) [-7,98,-5,19]	0,96 (0,02) [0,92,1,01]	4,89 (0,15) [4,59,5,19]	G101	-6,81 (0,75) [-8,30,-5,33]	0,84 (0,04) [0,76,0,92]	4,98 (0,16) [4,66,5,31]	G48	-12,31 (1,46) [-15,19,-9,45]	0,92 (0,03) [0,86,0,99]	5,28 (0,10) [5,09,5,49]
G4549	-10,60 (1,20) [-12,96,-8,25]	1,00 (0,11) [0,77,1,23]	4,19 (0,08) [4,02,4,36]	G280	-6,76 (0,70) [-8,15,-5,39]	0,96 (0,02) [0,92,1,01]	4,80 (0,15) [4,51,5,11]	G4	-3,76 (0,49) [-4,74,-2,80]	0,84 (0,05) [0,74,0,95]	6,49 (0,43) [5,64,7,35]	G3233	-4,59 (0,55) [-5,69,-3,50]	0,91 (0,04) [0,83,0,99]	6,78 (0,34) [6,10,7,46]
G15	-11,03 (1,19) [-13,38,-8,70]	1,00 (0,11) [0,77,1,23]	4,53 (0,08) [4,37,4,71]	G2825	-3,07 (0,45) [-3,98,-2,18]	0,95 (0,08) [0,79,1,11]	7,60 (0,74) [6,15,9,06]	G86	-4,11 (0,52) [-5,12,-3,10]	0,81 (0,05) [0,71,0,91]	6,12 (0,35) [5,43,6,82]	Gverm	-3,92(0,52) [-4,94,-2,90]	0,90 (0,05) [0,80,1,00]	6,69 (0,41) [5,88,7,51]
G33	-9,15 (0,98) [-11,09,-7,21]	1,00 (0,11) [0,77,1,23]	4,24 (0,09) [4,05,4,44]	G82	-5,56 (0,66) [-6,86,-4,26]	0,94 (0,03) [0,88,1,01]	6,74 (0,28) [6,20,7,28]	G3788	-4,75 (0,57) [-5,86,-3,63]	0,80 (0,04) [0,71,0,90]	4,61 (0,22) [4,18,5,05]	G36	-7,09 (0,76) [-8,65,-5,59]	0,89 (0,04) [0,83,0,97]	5,85 (0,18) [5,50,6,21]
G43	-3,74 (0,44) [-4,62,-2,86]	1,00 (0,04) [0,92,1,08]	6,59 (0,40) [5,79,7,40]	G7	-9,82 (1,11) [-12,01,-7,65]	0,94 (0,03) [0,90,1,00]	4,19 (0,09) [4,01,4,37]	G72	-6,28 (0,73) [-7,73,-4,84]	0,80 (0,05) [0,71,0,89]	4,67 (0,16) [4,35,5,01]	G92	-6,26 (0,73) [-7,71,-4,81]	0,89 (0,03) [0,82,0,97]	4,54 (0,17) [4,21,4,87]
G31	-5,03 (0,53) [-6,08,-3,99]	0,98 (0,02) [0,94,1,02]	5,43 (0,22) [4,99,5,88]	G20	-4,20 (0,47) [-5,14,-3,28]	0,94 (0,03) [0,89,1,01]	5,17 (0,26) [4,65,5,70]	G103	-5,93 (0,70) [-7,31,-4,55]	0,78 (0,04) [0,70,0,88]	4,96 (0,18) [4,59,5,33]	G4507	-2,81 (0,85) [-4,48,-1,14]	0,21 (0,05) [0,11,0,32]	5,94 (1,27) [3,46,8,43]
G3748	-8,40 (0,87) [-10,12,-6,69]	0,98 (0,01) [0,96,1,01]	5,06 (0,13) [4,82,5,31]	G3239	-6,63 (0,71) [-8,03,-5,24]	0,93 (0,03) [0,88,0,99]	5,33 (0,17) [5,00,5,68]	G4607	-1,81 (0,27) [-2,36,-1,27]	0,77 (0,05) [0,67,0,88]	2,81 (0,35) [2,13,3,51]	G3188	-3,51 (1,75) [-6,95,-0,08]	0,10 (0,04) [0,02,0,19]	7,84 (2,37) [3,19,12,50]
G27	-7,57 (0,77) [-9,10,-6,04]	0,98 (0,01) [0,96,1,01]	4,66 (0,13) [4,41,4,92]	Gbig	-7,34 (0,77) [-8,85,-5,82]	0,93 (0,03) [0,88,0,99]	4,49 (0,13) [4,23,4,76]	G85	-10,55 (1,17) [-12,86,-8,25]	0,73 (0,04) [0,65,0,82]	4,22 (0,09) [4,05,4,39]				
G11	-6,04 (0,64) [-7,31,-4,77]	0,98 (0,01) [0,96,1,01]	3,82 (0,13) [3,57,4,09]	G83	-8,69 (0,99) [-10,65,-6,75]	0,92 (0,03) [0,86,0,98]	3,95 (0,09) [3,76,4,15]	G3395	-4,41 (0,59) [-5,58,-3,25]	0,68 (0,06) [0,57,0,79]	5,50 (0,32) [4,87,6,13]				
G3238	-8,64 (0,94) [-10,50,-6,79]	0,97 (0,02) [0,94,1,01]	4,15 (0,10) [3,96,4,36]	G16	-6,02 (0,65) [-7,31,-4,73]	0,92 (0,03) [0,86,0,98]	5,39 (0,19) [5,02,5,77]	G68	-3,76 (0,61) [-4,98,-2,55]	0,55 (0,06) [0,43,0,68]	6,13 (0,50) [5,14,7,12]				

b: é a inclinação da curva no tempo e indica a velocidade de germinação. d: é o limite máximo de germinação e indica a proporção de sementes germinadas durante o experimento. e: é o tempo t50 em dias para alcançar 50 % da germinação baseada no parâmetro d.

cisaram de maior número de dias para atingir o t_{50} (em média $e = 9,86$ dias). De fato, esses acessos apenas foram superados pelos genótipos G4607, G94, G3234 e G21, que germinaram mais lentamente, mas apresentaram maior proporção de sementes germinadas (Tabela 3).

Agrupamento hierárquico

Distâncias euclidianas de 0,05 a 8,73 foram observadas entre os acessos de *C. chinense* para os parâmetros morfológicos e fisiológicos das sementes (Tabela S1). A menor distância foi registrada entre os acessos G31 e G84. A maior distância foi observada entre os acessos G62 e G2825. Ao todo, seis grupos foram formados a partir da distância euclidiana. O grupo I agrupou 18 acessos, o grupo II, 2 acessos; o grupo III, 10 acessos; o grupo IV, 7 acessos; o grupo V, 15 acessos, e o grupo VI agrupou 5 acessos (Fig. 1).

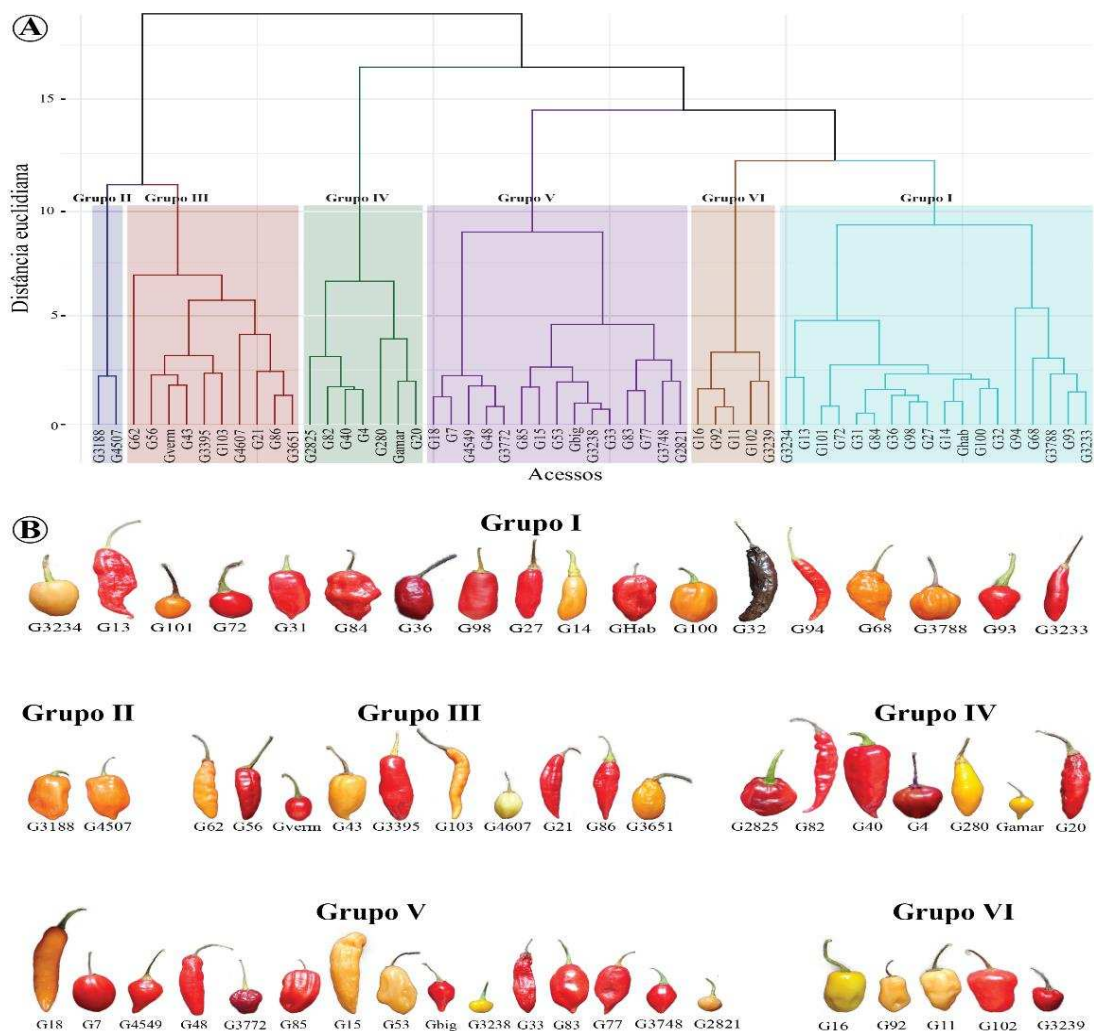


Figura 1. A) Dendrograma e **B)** imagens dos frutos dos 57 acessos de *Capsicum chinense* agrupados com base nos atributos morfológicos e fisiológicos obtidos pela a técnica de agrupamento hierárquico, utilizando as distâncias euclidianas como medida de dissimilaridade entre acessos e o método de agrupamento de Ward como medida de variância intragrupo.

Apesar da baixa correlação obtida pelo algoritmo do cluster de Ward baseado na distância euclidiana (0,49). Os valores das correlações foram significativos ($p < 0,0001$) pelo teste de Mantel, o que indicou a rejeição da hipótese nula (nula correlação).

Avaliando-se as médias dos parâmetros morfológicos e fisiológicos dos acessos de pimenta (Tabela 4), observou-se que o grupo V reuniu os acessos com as melhores características fisiológicas das sementes, com germinação mais rápida ($< b$), maior proporção de sementes germinadas ($> d$) e menor tempo para atingir o t_{50} ($< e$). Situação contrária foi observada no grupo II, que agrupou os acessos com baixa densidade relativa, apenas acima do grupo IV, maior perímetro, superado apenas pelo grupo III, e menor circularidade. No grupo II foram agrupados os acessos G3188 e G4507 (habanero), que apresentaram menor velocidade de germinação, menor proporção de sementes germinadas e que demandaram mais tempo para atingir o t_{50} . (Tabela 4, Fig. 1B).

Tabela 4. Médias (\pm desvio padrão) obtidas para os grupos formados por acessos de pimenta *Capsicum chinense* com base em atributos morfológicos e fisiológicos das sementes.

Grupo	Características morfológicas					Parâmetros da germinação		
	AR	DR	PR	CR	DI	b	d	e
I	4,09 \pm 0,38	111,45 \pm 9,20	13,14 \pm 1,38	0,34 \pm 0,05	455,46 \pm 52,32	-5,16 \pm 1,50	0,89 \pm 0,11	5,22 \pm 1,79
II	4,85 \pm 0,51	96,41 \pm 5,40	15,49 \pm 1,82	0,29 \pm 0,04	466,19 \pm 23,57	-3,16 \pm 0,49	0,16 \pm 0,08	6,89 \pm 1,34
III	5,62 \pm 0,96	107,59 \pm 12,16	16,84 \pm 2,28	0,29 \pm 0,06	597,09 \pm 85,67	-4,32 \pm 1,98	0,87 \pm 0,11	5,39 \pm 1,49
IV	4,60 \pm 0,63	75,55 \pm 11,96	14,38 \pm 3,53	0,34 \pm 0,11	343,17 \pm 41,27	-4,82 \pm 1,32	0,94 \pm 0,05	6,01 \pm 0,99
V	4,61 \pm 0,71	107,17 \pm 11,64	14,33 \pm 1,92	0,32 \pm 0,05	488,61 \pm 57,71	-10,20 \pm 1,54	0,95 \pm 0,07	4,28 \pm 0,53
VI	5,10 \pm 0,36	112,31 \pm 4,98	11,86 \pm 1,25	0,50 \pm 0,08	572,05 \pm 45,24	-5,80 \pm 1,01	0,94 \pm 0,05	4,62 \pm 0,73

AR: área. DR: densidade relativa. PR: perímetro. CR: circularidade. DI: densidade integrada. b: é a inclinação da curva no tempo e indica a velocidade de germinação. d: é o limite máximo de germinação e indica a proporção de sementes germinadas durante o experimento. e: é o tempo t_{50} em dias para alcançar 50 % da germinação baseada no parâmetro d.

Em resumo, a análise em separado (Tabela 2, Tabela 3) e em conjunto (Tabela 4) dos parâmetros morfológicos e fisiológicos das sementes detectou variabilidade entre os acessos de pimenta. Foi possível observar que os clusters I, III, IV, V e VI, apesar de apresentar diferenças nas variáveis físicas, obtiveram alta proporção de sementes germinadas, enquanto o grupo II agrupou os acessos com as piores características físicas e fisiológicas das sementes. Por outro lado, os acessos do grupo V apresentaram sementes com maior qualidade física e fisiológica.

DISCUSSÃO

A caracterização da diversidade genética existente em um banco de germoplasma é essencial para iniciar um programa de melhoramento genético. No caso particular da pimenta, procura-se, além do melhoramento de características agrônômicas e organolépticas do fruto (Bianchi et al., 2020), que suas sementes alcancem critérios específicos de tamanho, cor e textura para serem consideradas de alto valor (TU et al., 2018). No presente trabalho, 57 acessos de pimenta *C. chinense* foram caracterizados mediante a associação entre as características morfológicas e fisiológicas das sementes. Para isso, foi utilizado a análise de agrupamento de Scott-Knott para os atributos morfológicos e uma análise de tempo para o evento ou de sobrevivência para os atributos da germinação e, por fim, foi realizada uma análise de agrupamento hierárquico para integrar ambas as características das sementes (Fig. 1A).

O procedimento de agrupamento de Scott-Knott é amplamente utilizado quando se trabalha com múltiplos tratamentos, evita a sobreposição dos resultados do agrupamento (Jelihovschi et al., 2014), conforme foi constatado no estudo de caracterização biomorfológica de 55 acessos de pimenta *C. chinense* (Bianchi et al., 2020). Por outro lado, a análise de tempo para o evento é um método que permite estimar parâmetros sobre a curva de germinação de maneira mais precisa que os métodos não lineares (Onofri and Marcin, 2018), como foi reportado no estudo de germinação de sementes de hortaliças submetidas a diferentes concentrações de oxigênio, e cujos resultados comprovaram que é um modelo adequado para descrever as respostas de germinação (Yasin and Andreasen, 2016).

No presente estudo, foi observado que sementes maiores e mais densas apresentaram maior qualidade fisiológica (Tabela 4). Em geral, as sementes de maior tamanho apresentam maior quantidade de reservas, permitindo-lhes atingir maiores porcentagens de germinação, plântulas mais compridas e vigorosas, mesmo sob condições adversas (Mao et al. 2019), conforme relatado em diversas culturas (Ambika et al. 2014). Especificamente em pimenta Habanero, Medeiros et al. (2020) observaram que as sementes extraídas de frutos semimaduros (amarelos) e maduros (laranjas) apresentaram maior densidade relativa, integrada e circularidade, e atingiram as maiores porcentagens de germinação e os menores níveis de dormência. Nossos resultados suportam de certa forma a hipótese de que o maior tamanho das sementes tem efeito positivo sobre a qualidade das sementes (Kandasamy et al. 2020), conforme observado para os genótipos alocados no grupo V (Tabela 4, Fig. 1B).

Performance contrária foi observada para os acessos do grupo II (Tabela 4, Fig. 2), sobretudo para os parâmetros fisiológicos, pois esses genótipos obtiveram as menores proporções de sementes germinadas, além de que precisaram de mais dias para germinar (Tabela 4, Fig. 1A). Os acessos do tipo Habanero (Fig. 1B) têm mostrado problemas de germinação lenta e emergência heterogênea (Medeiros et al. 2020, Mavi 2018), características inerentes também a outras espécies de pimentas e atribuídas à dormência (Randle e Honma, 1981). Em nosso trabalho, a germinação atingida pelos acessos G3180 e G4506 ficou abaixo da germinação padrão mínima recomendada para a comercialização das sementes dessa espécie, que é de 85% (SNICS, 2014).

A dormência é uma problemática comum em diversas espécies de pimenta, Randle e Honma, (1981) reportaram que de 19 cultivares avaliados de quatro espécies, foi necessário 14 a 61 dias para alcançar 50% de germinação. Mais recentemente, Mavi (2018) ao avaliar cinco espécies de pimenta domesticadas, verificou que *C. chinense* e *C. pubescens* apresentaram as menores porcentagens de germinação, com valores de 52% e 16%, e porcentagens de emergência, com valores de 49% e 4%, respectivamente. De modo semelhante, Medeiros et al. (2020) mostraram que sementes de pimenta Habanero provenientes de frutos recém colhidos apresentaram maiores níveis de dormência, principalmente das sementes extraídas de frutos verdes, embora os frutos semimaduros ou maduros sem armazenamento pós-colheita tiveram baixa porcentagem de germinação quando comparada com os frutos com armazenamento pós-colheita. Nossos resultados encontraram que dos 57 genótipos avaliados, os acessos de habanero G3188 e G4506 apresentaram a menor proporção de sementes germinadas, com 10% e 21%, respectivamente.

O melhoramento genético da pimenta habanero para qualidade de sementes poderia ser considerado, a fim de obter sementes com menor nível de dormência e características físicas ligadas à maior qualidade fisiológica das sementes e plântulas. Este tipo de pimenta tem recebido maior interesse pela indústria alimentícia, farmacêutica e defesa pessoal pelos compostos extraídos, como a capsaicina (Fabela-Morón et al. 2020). Por outro lado, existe evidência de que a capsaicina, produzida por esta espécie, poderia afetar negativamente a uniformidade da germinação (Quintero et al. 2018). Em trabalhos futuros poderia ser investigada a relação entre as características físicas e fisiológicas das sementes de acessos com sementes apresentando diferentes concentrações de capsaicina.

A diversidade genética observada entre os acessos de pimenta *C. chinense*, quanto aos atributos morfológicos e fisiológicos das sementes (Tabela 4), é consequência da ampla diversidade genética da espécie, que apresenta grande variedade de cores, formatos, níveis de pungência e tamanhos de sementes (Soares et al., 2020). Essa diversidade observada nos acessos avaliados no nosso trabalho poderia ser utilizada para o melhoramento genético da espécie, visando melhorar, além da produtividade, as características morfológicas e fisiológicas das sementes mediante o cruzamento intraespecífico. Neste sentido, o grupo V incluiu os acessos com características desejáveis para as sementes (Kandasamy et al. 2020), como tamanho e porcentagem de germinação maiores, e velocidade de germinação mais rápida. Portanto, os acessos desse grupo podem ser recomendados para serem utilizados como potenciais genitores.

Em resumo, a variabilidade genética observada entre os acessos de pimenta *C. chinense* poderia ser considerada em programas de melhoramento genético, sobretudo daquelas espécies com interesse internacional (habanero), mas sem perder as características organolépticas do fruto (aroma, odor e sabor) e produtivas demandadas para a espécie (Fabela-Morón et al., 2019). Em nosso estudo, os acessos agrupados no grupo V apresentaram sementes com características físicas e fisiológicas (maior qualidade física, como alta densidade relativa e área maiores, além de mais alta proporção de sementes germinadas e com menor tempo de germinação) desejáveis em um programa de melhoramento genético. Por outro lado, o grupo II agrupou os acessos do tipo habanero, cujas sementes apresentaram menor integridade tecidual (densidade relativa), menor proporção de sementes germinadas e que requereram mais tempo para germinar.

CONCLUSÕES

Os 57 genótipos de pimenta *Capsicum chinense* avaliados apresentaram variabilidade quanto aos atributos físicos (densidade relativa, densidade integrada, área, perímetro e circularidade) e fisiológicos (germinação máxima, velocidade de germinação e tempo médio t_{50}) das sementes, e foram agrupados em seis grupos hierárquicos.

Os acessos G18, G7, G4549, G3772, G85, G15, Gbig, G3238, G33, G83, G77, G3748 e G2821 todos do Grupo V, se destacaram com características morfológicas e fisiológicas nas sementes.

REFERÊNCIAS

- ABUD, H.F.; CÍCERO, S.M.; GOMES JUNIOR, F.G., 2018. Radiographic images and relationship of the internal morphology and physiological potential of broccoli seeds. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 40, p. 1–9. <https://doi.org/10.4025/actasciagron.v40i1.34950>.
- AMBIKA, S.; MANONMANI, V.; SOMASUNDAR, G., 2014. Review on Effect of Seed Size on Seedling Vigour and Seed Yield. **Research Journal of Seed Science**, v. 7, p. 31–38. <https://doi.org/10.3923/rjss.2014.31.38>.
- BIANCHI, P.A.; SILVA, L.R.A. DA; ALENCAR, A.A. DA S.; SANTOS, P.H.A.D.; PIMENTA, S.; SUDRÉ, C.P.; CORTE, L.E.-D.; GONÇALVES, L.S.A.; RODRIGUES, R., 2020. Biomorphological Characterization of Brazilian *Capsicum chinense* Jacq. Germplasm. **Agronomy**, v. 10, p. 1–13. <https://doi.org/10.3390/agronomy10030447>.
- BOSLAND, P.W.; VOTAVA, E.J., 2012. Introduction., Peppers: vegetable and spice capsicums. <https://doi.org/10.1079/9781845938253.0001>.
- BRASIL, MINISTÉRIO DE AGRICULTURA E ABASTECIMENTO, 2009. **Regras para análise de sementes**. Brasília, DF:MAPA/ACS.
- COCHRAN, H.L., 1974. Effect of seed size on uniformity of pimiento transplants (*Capsicum annuum* L.) at harvest time. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 99, p. 234–235.
- FABELA-MORÓN, M.F.; CUEVAS-BERNARDINO, J.C.; AYORA-TALAVERA, T.; PACHECO, N., 2019. Trends in Capsaicinoids Extraction from Habanero Chili Pepper (*Capsicum chinense* Jacq.): Recent Advanced Techniques. **Food Reviews International**, v. 36, p. 105–134. <https://doi.org/10.1080/87559129.2019.1630635>.
- FERREIRA, E.B.; CAVALCANTI, P.P.; NOGUEIRA, D.A., 2018. ExpDes.pt: Pacote Experimental Designs. R package version 1.2.0.
- HERNÁNDEZ-VERDUGO, S.; OYAMA, K.; VÁZQUEZ-YANES, C., 2001. Differentiation in seed germination among populations of. **Plant Ecology**, v. 155, p. 245–257.
- JELIHOVSCHI, E.; FARIA, J.C.; ALLAMAN, I.B., 2014. ScottKnott: A Package for Performing the Scott-Knott Clustering Algorithm in R. **TEMA**, v. 15, p. 3–17.

<https://doi.org/10.5540/tema.2014.015.01.0003>.

- KANDASAMY, S.; WEERASURIYA, N.; GRITSIOUK, D.; PATTERSON, G.; SALDIAS, S.; ALI, S.; LAZAROVITS, G., 2020. Size Variability in Seed Lot Impact Seed Nutritional Balance, Seedling Vigor, Microbial Composition and Plant Performance of Common Corn Hybrids. **Agronomy**, v. 10, p. 1-17. <https://doi.org/10.3390/agronomy10020157>.
- KASSAMBARA, A., 2015. *Multivariate Analysis 1: Practical Guide To Cluster Analysis in R*, 1st ed. STDHA.
- MAO, P.; GUO, L.; GAO, Y.; QI, L.; CAO, B., 2019. Effects of Seed Size and Sand Burial on Germination and Early Growth of Seedlings for Coastal *Pinus thunbergii* Parl. in the Northern Shandong Peninsula, China. **Forests**, v. 10, p. 1-14. <https://doi.org/10.3390/f10030281>.
- MAVI, K., 2018. Evaluation of organic priming to improve the emergence performance of domesticated *Capsicum* species. **Seed Science and Technology**, v. 46, p. 131–137. <https://doi.org/10.15258/sst.2018.46.1.13>.
- MEDEIROS, A.D.; ZAVALA-LEÓN, M.J.; DA SILVA, L.J.; OLIVEIRA, A.M.S.; DIAS, D.C.F. DOS S., 2020. Relationship between internal morphology and physiological quality of pepper seeds during fruit maturation and storage. **Agronomy Journal**, v. 112, p. 25–35. <https://doi.org/10.1002/agj2.20071>.
- MOSES, M.; UMAHARAN, P.; DAYANANDAN, S., 2014. Microsatellite based analysis of the genetic structure and diversity of *Capsicum chinense* in the Neotropics. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 61, p. 741–755. <https://doi.org/10.1007/s10722-013-0069-y>.
- ONOFRI, A.; MARCIN, H.P., 2018. Analysing censored data in agricultural research : A review with examples and software tips. **Annals of Applied Biology**, p. 1–11. <https://doi.org/10.1111/aab.12477>.
- PATRÍCIO, M. DA C.; TROVÃO, D.M. DE B.M., 2020. Seed biometry: another functional trait in caatinga. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v. 42, p. 1–11. <https://doi.org/10.4025/actascibiolsci.v42i1.51183>.
- PEÑALOZA, P.; DURÁN, J.M., 2015. Association between biometric characteristics of tomato

- seeds and seedling growth and development. **Electronic Journal of Biotechnology**, v. 18, p. 267–272. <https://doi.org/10.1016/j.ejbt.2015.04.003>.
- PICKERSGILL, B., 1997. Genetic Resources and Breeding of Amaranthus. **Euphytica**, v. 96, p. 129–133.
- PINHEIRO, D.T.; MEDEIROS, A.D.; ZAVALA-LEÓN, M.J.; DIAS, D.C.F.S.; DA SILVA, L.J., 2020. Physical and physiological quality of *Jatropha curcas* L. seeds at different maturity stages using image analysis. **Spanish Journal of Agricultural Research**, v. 18, p. 1-11. <https://doi.org/10.5424/sjar/2020183-16028>.
- QUERO, J.L.; VILLAR, R.; MARANON, T.; ZAMORA, R.; POORTER, L., 2007. Seed-mass effects in four Mediterranean *Quercus* species (Fagaceae) growing in contrasting light environments. **American Journal of Botany**, v. 94, p. 1795–1803. <https://doi.org/10.3732/ajb.94.11.1795>.
- QUINTERO, M.F.; CASTILLO, O.G.; SÁNCHEZ, P.D.; MARÍN-SÁNCHEZ, J.; GUZMÁN, A.I.; SÁNCHEZ, A.; GUZMÁN, J.M., 2018. Relieving dormancy and improving germination of Piquín chili pepper (*Capsicum annuum* var. *glabriusculum*) by priming techniques. **Cogent Food & Agriculture**, v. 4, p. 1–14. <https://doi.org/10.1080/23311932.2018.1550275>.
- R CORE TEAM, 2019. R Development Core Team. **R: A Language and Environment for Statistical Computing**. <https://doi.org/http://www.R-project.org>.
- RANDLE, W.M.; HONMA, S., 1981. Dormancy in peppers. **Scientia Horticulturae**, v. 14, p. 19–25. [https://doi.org/10.1016/0304-4238\(81\)90074-1](https://doi.org/10.1016/0304-4238(81)90074-1).
- RITZ, C.; BATY, F.; STREIBIG, J.C.; GERHARD, D., 2015. Dose-Response Analysis Using R. **PLoS ONE**, v. 10, p. 1–13. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0146021>.
- RODRIGO, A.; TADEU, C., 2013. A cophenetic correlation coefficient for Tocher ' s method. **Pesq. agropec. bras.**, v. 48, p. 589–596. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2013000600003>.
- SNICS, Servicio Nacional de Certificación e Inspección de semillas. 2014. Regla para la calificación de semilla de chile (*Capsicum* spp.). **SAGARPA**, p. 14. <https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/172407/Chile.pdf>.

- SOARES, R.S.; RIBEIRO, C.S. DA C.; RAGASSI, C.F.; DE CARVALHO, S.I.C.; MALDONADE, I.R.; FILHO, J.G. DA S.; BRAZ, L.T.; REIFSCHNEIDER, F.J.B., 2020. New Brazilian lines of Habanero pepper (*Capsicum chinense*): Morpho-agronomic and biochemical characterization in different environments. **Scientia Horticulturae**, v. 261, p. 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.108941>.
- TU, K.; LI, L.; YANG, L.; WANG, J.; SUN, Q., 2018. Selection for high quality pepper seeds by machine vision and classifiers. **Journal of Integrative Agriculture**, v. 17, p. 1999–2006. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(18\)62031-3](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(18)62031-3).
- YASIN, M.; ANDREASEN, C., 2016. Effect of reduced oxygen concentration on the germination behavior of vegetable seeds. **Horticulture, Environment, and Biotechnology**, v. 57, p. 453–461. <https://doi.org/10.1007/s13580-016-0170-1>.

CAPÍTULO II

ZAVALA, Manuel Jesús León, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, julho de 2021. **Estudo da dormência em sementes de pimenta *Capsicum chinense* Jacquin**. Orientador: Laércio Junio da Silva.

RESUMO

A dormência induz germinação lenta e irregular das sementes. Neste estudo, a dormência em sementes de pimenta Habanero foi estudada em quatro genótipos, um do México (MX), um dos Estados Unidos (USA) e dois do Brasil (BRA e BRA-1), colhidos em três estádios de maturação e submetidas em três tempos de armazenamento dos frutos e cinco tempos de armazenamento das sementes. O genótipo BRA, que não apresenta dormência, foi utilizado como controle. As sementes foram armazenadas e a germinação, dormência e viabilidade, ajustados a respostas dicotômicas, foram avaliadas a intervalos de três meses durante um ano. Os dados dessas variáveis foram analisados mediante um modelo de regressão logística. Em geral, os genótipos de Habanero (MEX, BRA-1 e USA) apresentaram as menores porcentagens de germinação e maior dormência quando comparados com o genótipo controle BRA. A ocorrência de dormência foi confirmada durante o armazenamento da semente. Aos zero e três meses de armazenamento não houve diferença na porcentagem de germinação das sementes. Já aos seis e nove meses de armazenamento, houve aumento na porcentagem de germinação e redução nos níveis de dormência das sementes em relação à avaliação inicial (antes do armazenamento). Aos 12 meses foi observada diminuição da porcentagem de germinação e viabilidade das sementes em relação ao armazenamento inicial. O menor nível de dormência foi obtido para sementes extraídas de frutos colhidos nos estádios de maturação verde-laranja ou laranja, seguido do armazenamento dos frutos por sete e 14 dias, após seis e nove meses de armazenamento das sementes. Nossas descobertas apontam que as sementes de Habanero apresentaram dormência, que foi reduzida com as estratégias de superação de dormência investigadas.

Palavras chave: Germinação. Teste de tetrazólio. Viabilidade.

CHAPTER II

ZAVALA, Manuel Jesús León, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, July, 2021. **Study dormancy in pepper (*Capsicum chinense* Jacquin) seeds.** Adviser: Laércio Junio da Silva.

ABSTRACT

Dormancy induces slow and irregular seed germination. In this study, dormancy in Habanero pepper seeds was studied in four genotypes, one from Mexico (MX), one from the United States (USA) and two from Brazil (BRA and BRA-1), harvested at three stages of maturation and submitted in three times of storage of the fruits and five times of storage of the seeds. The BRA genotype, which has no dormancy, was used as a control. Seeds were stored and germination, dormancy and viability, adjusted to dichotomous responses, were evaluated at intervals of three months for one year. Data from these variables were analyzed using a logistic regression model. In general, the Habanero genotypes (MEX, BRA-1 and USA) had the lowest germination percentages and the highest dormancy when compared to the control BRA genotype. The occurrence of dormancy was confirmed during seed storage. At zero and three months of storage there was no difference in seed germination percentage. At six and nine months of storage, there was an increase in germination percentage and a reduction in seed dormancy levels in relation to the initial evaluation (before storage). At 12 months, a decrease in germination percentage and seed viability was observed in relation to the initial storage. The lowest dormancy level was obtained for seeds extracted from fruits harvested at the orange-green or orange ripening stages, followed by storage of fruits for seven and 14 days, after six and nine months of seed storage. Our findings indicate that Habanero seeds exhibited dormancy, which was reduced with the investigated dormancy breaking strategies.

Keywords: Germination. Viability. Tetrazolium test.

INTRODUÇÃO

A pimenta (*Capsicum chinense* Jacquin) possui ampla diversidade genética, sendo as mais conhecidas De Cheiro, Bode, Cumari do Pará, Biquinho e Habanero (Bianchi et al., 2020). Dentre elas, a Habanero destaca-se em países como México, Coreia, Tailândia e Coreia do Norte por seu valor cultural, culinário e econômico (Soares et al., 2020). Contudo, suas sementes, principal meio de propagação, possuem problemas de germinação irregular atribuído à dormência (Heloisa et al., 2016).

A dormência, adquirida durante o processo de maturação da semente, consiste no bloqueio da germinação de uma semente viável e intacta, embora existam condições necessárias (luz, oxigênio, temperatura e nitrato) para germinar. Este bloqueio da germinação é determinado geneticamente, embora o ambiente também exerça efeito na planta mãe que reflete no grau de dormência da semente. A dormência é considerada uma característica que beneficia a sobrevivência das espécies na natureza, porém é considerada indesejável nas culturas agrícolas, pois atrasa a germinação e, portanto, a emergência das plântulas (Yan and Chen, 2020, Soltani et al., 2021, Penfield and MacGregor, 2016).

Com base no anterior, a dormência pode ser do tipo primária e/ou secundária. Sendo o primeiro tipo comum na semente madura recém-colhida, devido ao acúmulo de ácido abscísico (ABA) durante sua maturação na planta mãe. Já o segundo tipo (secundária) é induzido após a dispersão da semente e quando as condições necessárias para a germinação não estiverem presentes (Penfield, 2017, Baskin and Baskin, 2004).

Os mecanismos que determinam a dormência envolvem os componentes da semente tais como embrião, endosperma e tegumento. Nesse sentido, a dormência pode ser classificada em fisiológica (relacionada aos processos fisiológicos que bloqueiam o crescimento do embrião), morfológica (relacionada à imaturidade do embrião), morfofisiológica (relacionada com a imaturidade do embrião mais bloqueio dos processos fisiológicos), física (relacionada com a impermeabilidade dos tegumentos) e combinatória (relacionada com impermeabilidade do tegumento mais um embrião dormente) (Finch-Savage and Leubner-Metzger, 2006, Baskin and Baskin, 2004).

Sementes maduras e recém-colhidas de *Solanaceae* tais como tomate e tabaco possuem dormência fisiológica não profunda, ou seja, que é superada após alguns dias ou meses. Especificamente, as sementes do gênero *Capsicum* possuem irregularidade na germinação

(dormência), a qual parece estar relacionada à resistência imposta pelo endosperma micropilar durante a germinação, além de baixos níveis do fitohormônio giberelina (GA) e altos níveis de ABA na semente no momento da colheita (Finch-Savage and Leubner-Metzger, 2006).

Germinação, dormência e viabilidade são características fisiológicas corriqueiramente avaliadas na área de sementes, cujas respostas são do tipo dicotômicas, ou seja, que podem ser de dois tipos, como por exemplo a semente pode germinar ou não germinar, estar dormente ou não dormente, e ser viável ou não viável, respectivamente. Os dados desse tipo de respostas dicotômicas não cumprem o pressuposto de normalidade dos modelos lineares como o utilizado na análise de variância, sendo os modelos lineares generalizados (GLM) como os mais adequados para este tipo de respostas (Gianinetti, 2020).

O modelo de regressão logística, pertencente aos GLMs, constitui uma opção estatística adequada para a análise de dados dicotômicos, cujos resultados são expressos como razões de chances (OR), a qual pode ser definida como a relação entre um evento ocorrer dividida pela não ocorrência do mesmo evento. O evento de interesse é colocado no numerador e a referência no denominador (Costa e Silva et al., 2020). Por exemplo, caso tenhamos 100 sementes de frutos maduros (grupo de interesse) e 100 sementes de frutos semimaduros (grupo de referência), e suponhamos que dos frutos maduros germinam 80 sementes e 20 não germinam, e das sementes dos frutos semimaduros germinam 30 sementes e 70 não germinam, o resultado da razão de chance ou OR será $(80/20)/(30/70) = 9,3$, o que significa que as sementes dos frutos maduros têm 9,3 vezes mais chance de germinar em relação às sementes dos frutos semimaduros.

A manifestação de dormência em sementes de *C. chinense* tem sido estudada em algum grau (Caixeta et al., 2014; Medeiros et al., 2020). Entretanto, não têm sido conduzidos estudos avaliando genótipos de origens diferentes em combinação com estratégias para superar a dormência. Diante disso, o objetivo do estudo foi determinar a presença de dormência em sementes de pimenta *C. chinense* mediante a avaliação dos efeitos do genótipo, estádios de maturação, períodos de armazenamento pós-colheita dos frutos e armazenamento das sementes.

MATERIAL E MÉTODOS

Origem das sementes

No estudo foram utilizados quatro genótipos de pimenta *Capsicum chinense* Jacquin com origens diferentes: Brasil (BRA), Brasil-1 (BRA-1), Estados Unidos (USA) e México

(MX), os quais foram colhidos nos estádios de maturação verde, verde-laranja, e vermelho ou laranja (Fig. 1). Os materiais genéticos foram obtidos do Banco de Germoplasma de Hortaliças da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, Brasil, com exceção do genótipo México, que foi cedido pelo *Instituto Nacional de Investigaciones, Forestales Agrícolas e Pecuarias* (INIFAP, México).

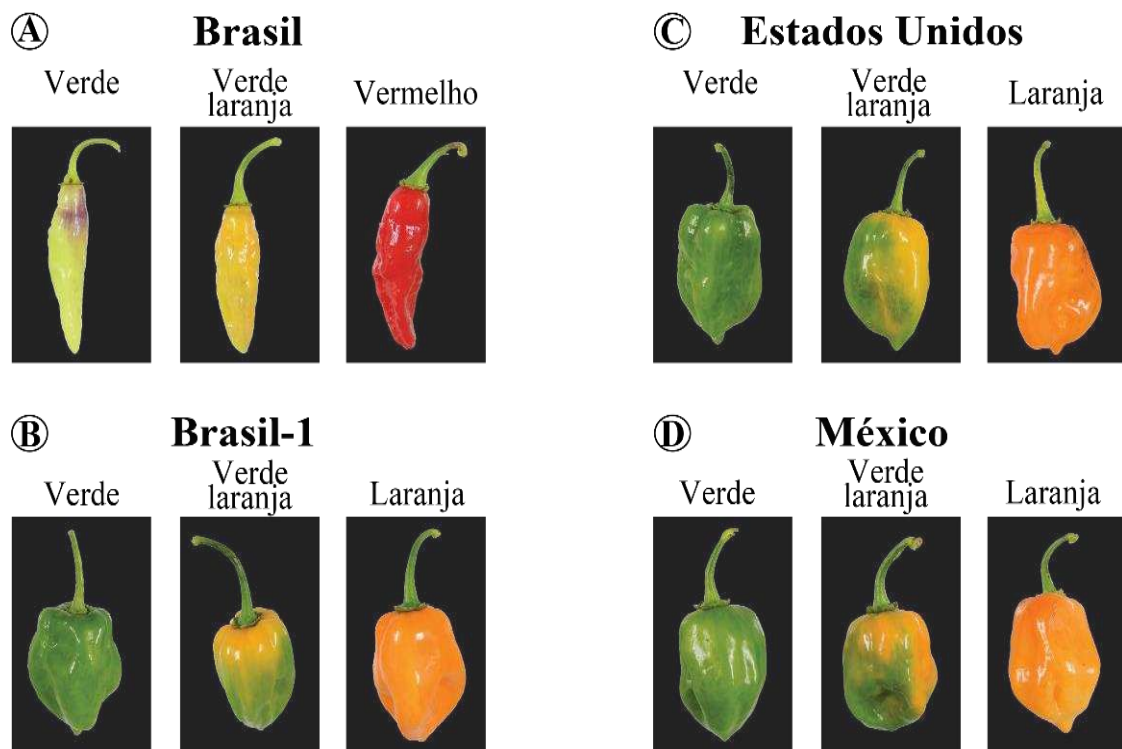


Figura 1. Aspecto de frutos de *Capsicum chinense* com diferentes origens e em diferentes estádios de maturação.

Local do experimento e estabelecimento da cultura

O experimento foi estabelecido na Unidade de Ensino, Pesquisa e Extensão-UEPE “Horta Nova” da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, Brasil, durante novembro de 2018 a maio de 2019. As plântulas de pimenta foram transplantadas a 1 m entre fileiras e 0,60 m entre plantas. A fertilização aplicada foi 180 kg N, 120 kg P₂O₅, 180 kg K₂O por hectare, dividida em 20 aplicações e usando fita de gotejamento como meio de irrigação e adubação. A parcela experimental foi de 15 m x 20 m.

Descrição dos tratamentos

Os frutos de pimenta foram colhidos em estádios de maturação verde, verde-laranja, laranja ou vermelho (Fig. 1), sendo cada estágio de maturação dividido em três grupos e

armazenados em sala climatizada (T - 25°C e UR - 76%) por 1, 7 e 14 dias antes da extração das sementes. As sementes foram desinfestadas com hipoclorito de sódio a 2% v/v por 3 min, lavadas com água corrente e deixadas secar na sombra até atingir teor de água de 10±3%. Em seguida, as sementes foram armazenadas em embalagens herméticas e mantidas a 10°C. Testes de germinação e de tetrazólio foram realizados a intervalos de três meses durante um ano. Ao todo, 180 tratamentos resultaram da combinação dos fatores em estudo (Tabela 1).

Tabela 1. Descrição dos tratamentos em avaliação.

Genótipo (G)	Estádio de maturação (EM)	Armaz. do fruto (AF)	Armaz. da semente (AS)	Total sementes
		(dia)	(mês)	
Brasil (BRA-2) Brasil-1 (BRA) Estados Unidos (USA) México (MEX)	Verde (V) Verde-laranja (VL) Laranja (L)	1	0	6000
			3	
			6	
			9	
Brasil (BRA-2) Brasil-1 (BRA) Estados Unidos (USA) México (MEX)	Verde (V) Verde-laranja (VL) Laranja (L)	7	12	6000
			0	
			3	
			6	
Brasil (BRA-2) Brasil-1 (BRA) Estados Unidos (USA) México (MEX)	Verde (V) Verde-laranja (VL) Laranja (L)	14	9	6000
			12	
			6	
			9	
Total (N)			18000	

Teste de germinação

A metodologia adotada no teste de germinação foi baseada nas Regras para Análise de Sementes com algumas modificações (Brasil, 2009). Para isso, 100 sementes por tratamento, ou seja, quatro repetições de 25 foram distribuídas em placas de Petri de 10 x 90 mm, em cujo interior foram colocados dois círculos de papel *Germitest* umedecidos com água na proporção de 2,5 vezes seu peso seco. Em seguida, o conjunto foi mantido em BOD com fotoperíodo de 8h noite/16h dia e temperatura de 20/30°C, respectivamente. As contagens do número de sementes germinadas foram realizadas a cada 48h durante 20 dias. Desta forma, a semente foi classificada como germinada (Fig. 2A - Caso 1) e não germinada (Fig. 2B - Caso 0).

Teste de tetrazólio

As sementes não germinadas ao final do teste de germinação foram submetidas ao teste de tetrazólio, seguindo a metodologia de Gagliardi e Marcos Filho (2011) com modificações. As sementes, previamente umedecidas, foram divididas pela metade com um estilete de precisão, evitando sua separação. Em seguida, essas sementes foram colocadas em solução de tetrazólio a 0,075% e mantidas em BOD a 40°C durante 2 h no escuro. Após esse tempo, as sementes foram lavadas com água destilada e classificadas em dormentes (Fig. 2G, H, I - Caso 1) e mortas (Fig. 2J, K, L - Caso 0).

Viabilidade

As sementes que deram origem a plântulas normais ou anormais no teste de germinação, mais as sementes viáveis (dormentes) no teste de tetrazólio (Fig. 2C, D, E, F, G, H, I - Caso 1) foram classificadas como viáveis. Já as sementes mortas, avaliadas por meio do teste de tetrazólio (Fig. 2J, K, L - Caso 0), foram consideradas como não viáveis.

Análise estatística

O experimento de laboratório foi estabelecido em delineamento inteiramente casualizado com arranjo fatorial de 4 x 3 x 3 x 5, sendo avaliados genótipos (4), estádios de maturação do fruto (3), períodos de armazenamento pós-colheita dos frutos (3), períodos de armazenamento das sementes (5) com quatro repetições (Tabela 1).

Devido à natureza dicotômica das variáveis germinação, dormência e viabilidade avaliadas em nosso estudo, os dados foram analisados por meio de um modelo de regressão logística com função de ligação *logit*, pertencente ao modelo linear generalizado (Gianinetti, 2020). A escolha do modelo foi com base nas combinações dos fatores em estudo e suas interações (genótipo, estádio de maturação, armazenamento do fruto, armazenamento da semente), selecionando aquele modelo que apresentasse o menor Critério de Informação de Akaike (AIC) e a maior Área Sob a Curva (estatística C) (Harrison and Riinu, 2020).

Para isso, cada semente foi designada com um valor de *um* caso a semente germinasse e *zero* caso a semente não germinasse. Do mesmo modo foram avaliadas a dormência e a viabilidade, sendo *um* caso a semente estivesse dormente ou viável, e *zero* caso a semente estivesse morta ou não viável, respectivamente (Fig. 2).

A análise estatística dos dados foi realizada com o auxílio do software R versão 4.0.2 (R Core Team, 2020), e os pacotes tidyverse (Wickham et al., 2019), finalfit (Harrison et al., 2020), sjPlot (Lüdecke, 2020).

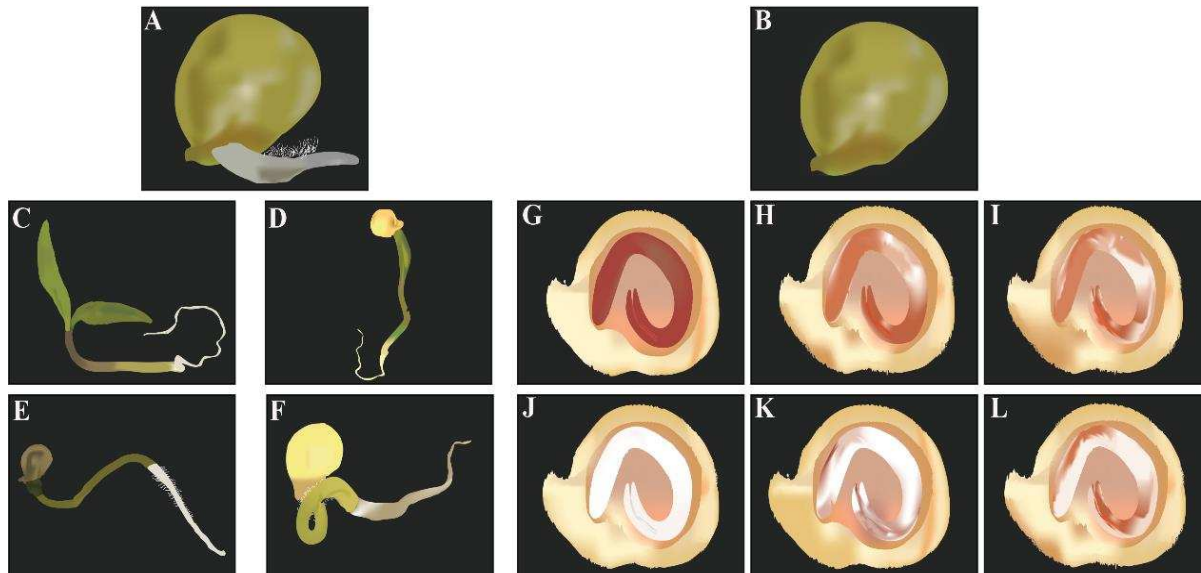


Figura 2. Imagens ilustrativas de sementes e plântulas de *Capsicum chinense*. **A)** semente germinada - caso 1, protusão da radícula visível. **B)** semente não germinada - caso 0, radícula não visível. **G, H, I)** semente dormente - caso 1, sementes com tecidos embrionários vitais de coloração vermelho com leve descolorido nos cotilédones e extremidade da radícula. **J, K, L)** semente morta - caso 0, sementes totalmente descoloridas, com mais da metade da extensão do eixo embrionário descolorida. **C, D, E, F, G, H, I)** semente viável - caso 1, sementes que germinaram dando origem a plântulas normais e anormais e sementes viáveis pelo teste de tetrazólio. **J, K, L)** sementes não viáveis - caso 0, sementes mortas identificadas pelo teste de tetrazólio.

RESULTADOS

A amostra total de sementes utilizada no estudo foi de 18 mil sementes (Tabela 1). Deste total, não germinaram 40,7% (Caso 0) e germinaram 59,3% (Caso 1) (Tabela 2). Com relação ao genótipo (G), BRAS (referência) foi o genótipo com mais sementes germinadas durante todo o período de avaliação, ou seja um ano, superando os genótipos MEX, BRA-1 e EUA. Com relação ao estágio de maturação do fruto (EM), as sementes extraídas dos frutos maduros com coloração laranja ou vermelha, obtiveram maior porcentagem de sementes germinadas, quando comparadas com as sementes obtidas dos frutos em coloração verde-laranja e verde, respectivamente. Já no armazenamento do fruto (AF), as sementes extraídas dos frutos armazenados por 14 dias apresentaram maior porcentagem de germinação, seguido pelas sementes de frutos armazenados por 7 e 1 dias. No armazenamento da semente (AS), as sementes armazenadas por 0 e 3 meses não diferiram quanto a porcentagem de germinação,

embora aos 6 e 9 meses foi observado incremento gradual da germinação, e aos 12 meses foi observada redução da porcentagem de germinação das sementes.

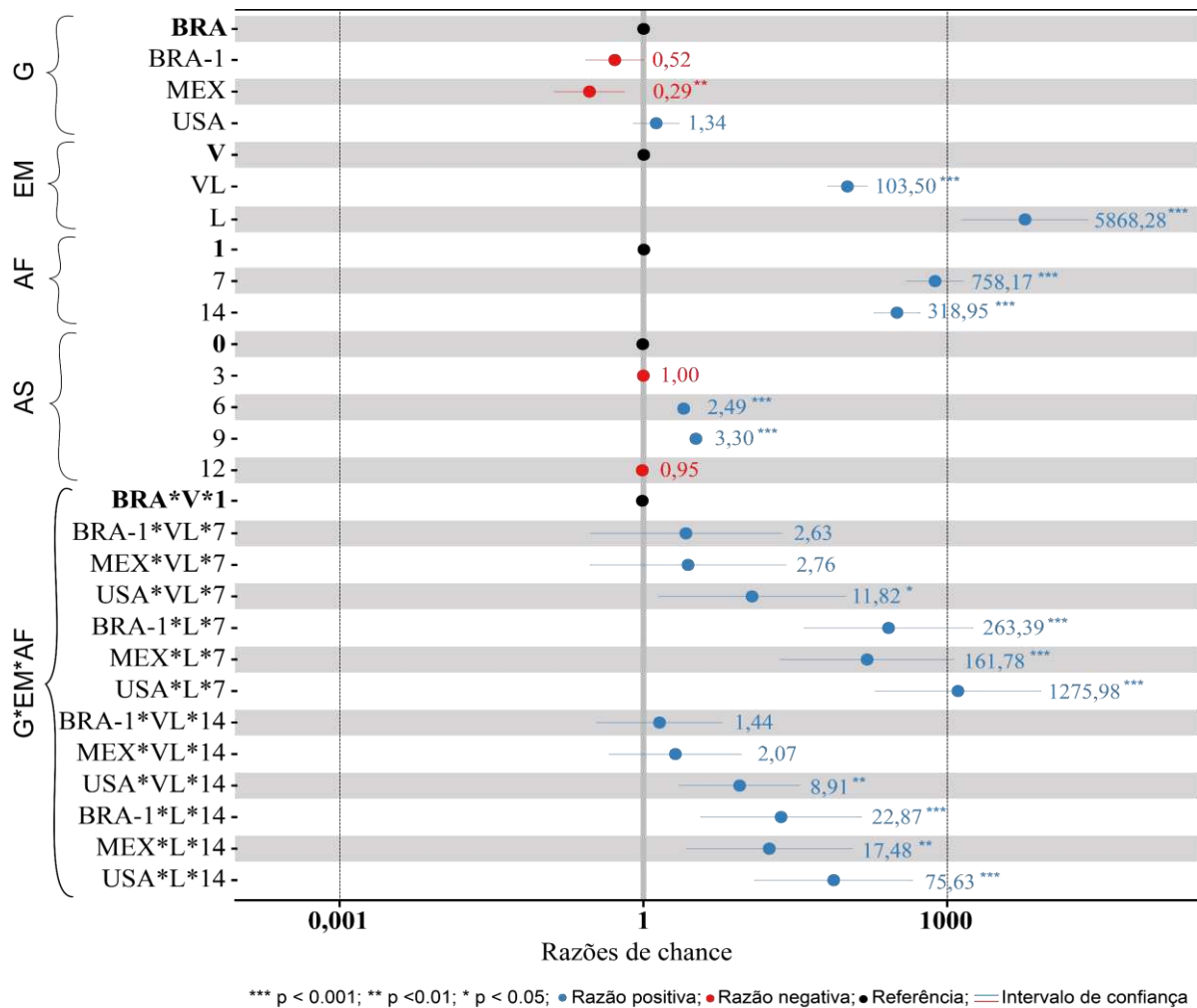
Tabela 2. Estatística descritiva entre as variáveis independentes em relação à variável germinação.

<i>Variável independente</i>	<i>Nível</i>	<i>Variável dependente</i>		
		Germinação		Total
		Caso 0 (%)	Caso 1 (%)	
<i>Genótipo (G)</i>	Brasil (R)	628 (14,0)	3872 (86,0)	4500
	Brasil 1	2200 (48,9)	2300 (51,1)	4500
	México	2689 (59,8)	1811 (40,2)	4500
	Estados Unidos	1825 (40,6)	2675 (59,4)	4500
<i>Estádio de maturação (EM)</i>	Verde (R)	3543 (59,0)	2457 (41,0)	6000
	Verde-laranja	2366 (39,4)	3634 (60,6)	6000
	Laranja	1433 (23,8)	4567 (76,1)	6000
<i>Armazenamento do fruto (AF)</i>	1 (R)	3970 (66,2)	2030 (33,8)	6000
	7	1966 (32,8)	4034 (67,2)	6000
	14	1406 (23,4)	4594 (76,6)	6000
<i>Armazenamento da semente (AS)</i>	0 (R)	1666 (46,3)	1934 (53,7)	3600
	3	1667 (46,3)	1933 (53,7)	3600
	6	1219 (33,9)	2381 (66,1)	3600
	9	1096 (30,4)	2504 (69,6)	3600
	12	1694 (47,1)	1906 (52,9)	3600
<i>Total de semente</i>		7,342	10,658	18000

Caso 0 - semente não germinada; Caso 1 - semente germinada; (R) - referência dentro do nível de cada variável independente.

A análise de regressão logística mostrou que o modelo AS+G*EM*AF descreveu melhor os dados para a variável germinação (Fig. 3), para o qual se obteve valor do Critério de Informação de Akaike (AIC) de 10135 e Área Sob a Curva (estatística C) de 0,85. As razões de chance foram significativas ($p < 0,05^*$; $0,01^{**}$; $0,001^{***}$).

No fator AS, o mês zero foi considerado como referência, ou seja, serviu de comparação para os outros meses. Sendo que aos três meses de armazenamento foi observada a mesma razão de chance que no tempo 0, ficando seu valor sobre a linha vertical chamada de não efeito (OR = 1). Já aos seis meses foi observado aumento das razões de chances de germinar em 2,49 vezes em relação à referência, seguido de incremento de 3,30 vezes mais aos nove meses de armazenamento da semente. Por fim, aos 12 meses de armazenamento, a OR foi menor que a linha de não efeito (OR=1), ou seja, ficando no lado esquerdo dessa linha (Fig. 3), o que indica que a razão de chance das sementes germinarem aos 12 meses foi menor do que no início do armazenamento.



BRA, BRA-1, MEX, USA - Genótipos de Brasil (2), México e Estados Unidos
V, VL e L - coloração do fruto na colheita, verde, verde-laranja e laranja

1, 7, 14 - dias de armazenamento do fruto antes da extração das sementes
0, 3, 6, 9, 12 - meses de armazenamento da semente

Figura 3. Razões de chance entre a variável dependente germinação e as variáveis independentes e suas interações.

Para a interação G*EM*AF foi observada aumento das razões de chance de germinar com relação à referência BRA*V*1, embora nem todas as interações tenham sido significativas (Fig. 3). As interações de cada genótipo no estágio de maturação laranja e armazenamento por 7 dias (BRA-1*L*7, MEX*L*7, USA*L*7) apresentaram as maiores razões de chance de germinar, seguido pelos frutos armazenados por 14 dias (BRA-1*L*14, MEX*L*14 e USA*L*14). As menores razões de chance de germinar foram observadas nas interações dos genótipos em estágio de maturação verde-laranja armazenados por 7 e 14 dias (BRA-1*VL*7, MEX*VL*7, USA*VL*7, BRA-1*VL*14, MEX*VL*14, USA*VL*14).

A dormência da semente foi estimada a partir das 7342 sementes não germinadas durante o teste de germinação (Tabela 3). Deste total, 70,1% foram classificadas como mortas (Caso 0) e 29,9%, como vivas (Caso 1). A referência BRA (Brasil) foi o genótipo com o menor

número de sementes dormentes ou vivas (Caso 1) dos genótipos avaliados (Tabela 3). Em contraste, o genótipo MEX apresentou o maior número de sementes dormentes, seguido pelos genótipos BRA-1 e USA. Em relação ao estágio de maturação do fruto (EM), as sementes extraídas dos frutos laranjas obtiveram maiores porcentagens de sementes vivas ou dormentes, seguido pelos frutos em coloração verde-laranja e verde, respectivamente. Na variável armazenamento do fruto (AF), as sementes armazenadas no fruto por 14 dias mostraram maior quantidade de sementes vivas, seguido pelas sementes armazenadas por 7 e 1 dia, respectivamente. Por fim, o armazenamento da semente (AS) indicou que as sementes sem armazenamento (0 mês) obtiveram a maior porcentagem de sementes vivas, o qual foi diminuindo durante o tempo de armazenamento (Tabela 3).

Tabela 3. Estatística descritiva das variáveis independentes em relação à variável dormência.

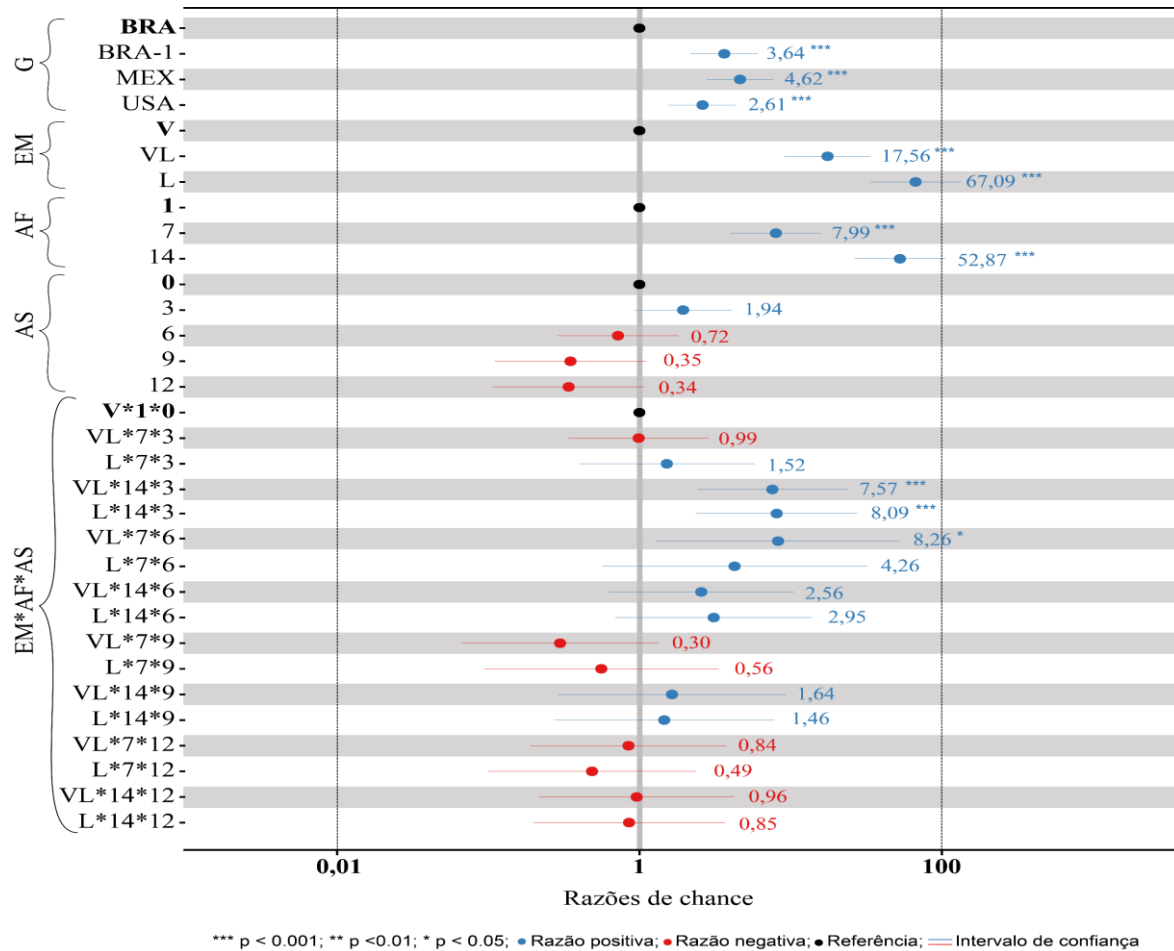
<i>Variável independente</i>	<i>Nível</i>	<i>Variável dependente</i>		<i>Total</i>
		Dormência		
		<i>Caso 0 (%)</i>	<i>Caso 1 (%)</i>	
<i>Genótipo (G)</i>	Brasil	609 (97,0)	19 (3,0)	628
	Brasil 1	1512 (68,7)	688 (31,3)	2200
	México	1611 (59,9)	1078 (40,1)	2689
	Estados Unidos	1414 (77,5)	411 (22,5)	1825
<i>Estádio de maturação (EM)</i>	Verde	3111 (87,8)	432 (12,2)	3543
	Verde-laranja	1545 (65,3)	821 (34,7)	2366
	Laranja	490 (34,2)	943 (65,8)	1433
<i>Armazenamento do fruto (AF)</i>	1	3230 (81,4)	740 (18,6)	3970
	7	1311 (66,7)	655 (33,3)	1966
	14	605 (43,0)	801 (57,0)	1406
<i>Armazenamento da semente (AS)</i>	0	866 (52,0)	800 (48,0)	1666
	3	1100 (66,0)	567 (34,0)	1667
	6	923 (75,7)	296 (24,3)	1219
	9	899 (82,0)	197 (18,0)	1096
	12	1358 (80,2)	336 (19,8)	1694
<i>Total de semente</i>		5,146	2,196	7,342

Caso 0 - semente morta; Caso 1 - semente viva; R - referência dentro do nível de cada variável independente.

A análise de regressão logística para a variável dormência mostrou que o modelo $G+EM*AF*AS$ ajustou melhor os dados dessa variável, apresentando AIC de 13452 e estatística C de 0,80 (Fig. 4). As razões de chance entre as variáveis foram significativas ($p < 0,05$; 0,001) para o G e algumas interações.

O genótipo MEX obteve razão de chance de ser dormente de 4,62 vezes maior em relação à referência BRA, seguido de BRA-1 com valor de 3,64 e USA com valor de 2,61. A

interação EM*AF*AS indicou aumento das razões de chance em relação à referência V*1*0. As interações VL*14*3, L*14*3 e VL*7*6 apresentaram as maiores razões de chance ($p < 0,05$; $p < 0,001$). Enquanto as interações restantes obtiveram razões de chance com intervalos de confiança acima da linha de não efeito e, por tanto, foram consideradas não significativas. Finalmente, as interações VL*7*12, L*7*12, VL*14*12 e L*14*12 apresentaram razões de chance negativas.



BRA, BRA-1, MEX, USA - Genótipos de Brasil (2), México e Estados Unidos
V, VL e L - coloração do fruto na colheita, verde, verde-laranja e laranja

1, 7, 14 - dias de armazenamento do fruto antes da extração das sementes
0, 3, 6, 9, 12 - meses de armazenamento da semente

Figura 4. Razões de chance entre a variável dependente dormência e as variáveis independentes e suas interações.

A viabilidade foi estimada a partir das 18 mil sementes, sendo consideradas viáveis as sementes dormentes e mortas do teste de tetrazólio. Já as sementes não viáveis foram as consideradas mortas no teste de tetrazólio. Deste total, 28,6% foram consideradas como não viáveis (Caso 0) e 71,4% foram consideradas viáveis (Caso 1) (Tabela 4). Com relação ao genótipo (G) BRA obteve mais sementes viáveis (86,5%), quando comparado com os genótipos BRA-1, MEX, USA, que alcançaram viabilidade similar ($> 60\%$). O estágio de maturação

laranja atingiu o maior número de sementes viáveis, superando aos estádios de maturação verde-laranja e verde. Em relação ao armazenamento do fruto (AF), as sementes extraídas dos frutos armazenados por 14 dias obtiveram a maior porcentagem de sementes viáveis, seguido pelo armazenamento por 7 e 1 dia. Já o armazenamento das sementes (AS) indicou que as sementes não armazenadas (0 mês) tiveram maior porcentagem de sementes viáveis, que diminuiu aos 3 meses, seguido de aumento aos 6 e 9 meses. A menor razão de chance para as sementes viáveis foi observada aos 12 meses de armazenamento.

Tabela 4. Estatística descritiva entre as variáveis independentes em relação à variável viabilidade.

<i>Variável independente</i>	<i>Nível</i>	<i>Variável dependente</i>		<i>Total</i>
		Viabilidade		
		<i>Caso 0 (%)</i>	<i>Caso 1 (%)</i>	
<i>Genótipo (G)</i>	Brasil	609 (13,5)	3891 (86,5)	4500
	Brasil 1	1512 (33,6)	2988 (66,4)	4500
	México	1611 (35,8)	2889 (64,2)	4500
	Estados Unidos	1414 (31,4)	3086 (68,6)	4500
<i>Estádio de maturação (EM)</i>	Verde	3111 (51,9)	2889 (48,1)	6000
	Verde-laranja	1545 (25,8)	4455 (74,2)	6000
	Laranja	490 (8,2)	5510 (91,8)	6000
<i>Armazenamento do fruto (AF)</i>	1	3230 (53,8)	2770 (46,2)	6000
	7	1311 (21,9)	4689 (78,2)	6000
	14	605 (10,1)	5395 (89,9)	6000
<i>Armazenamento da semente (AS)</i>	0	866 (24,1)	2734 (75,9)	3600
	3	1100 (30,6)	2500 (69,4)	3600
	6	923 (25,6)	2677 (74,4)	3600
	9	899 (25,0)	2701 (75,0)	3600
	12	1358 (37,7)	2242 (62,3)	3600
<i>Total de semente</i>		5,146	12,854	18,000

Case 0 - não viável; Case 1 - viável; R - referência dentro do nível de cada variável independente.

A análise de regressão logística da viabilidade indicou que o modelo AS+G*EM*AF foi o que melhor explicou a tendência dos dados para essa variável, cujas razões de chance foram significativas ($p < 0,05$; 0,01; 0,001). Esse modelo obteve AIC de 12980 e estatística C de 0,78 (Fig. 5).

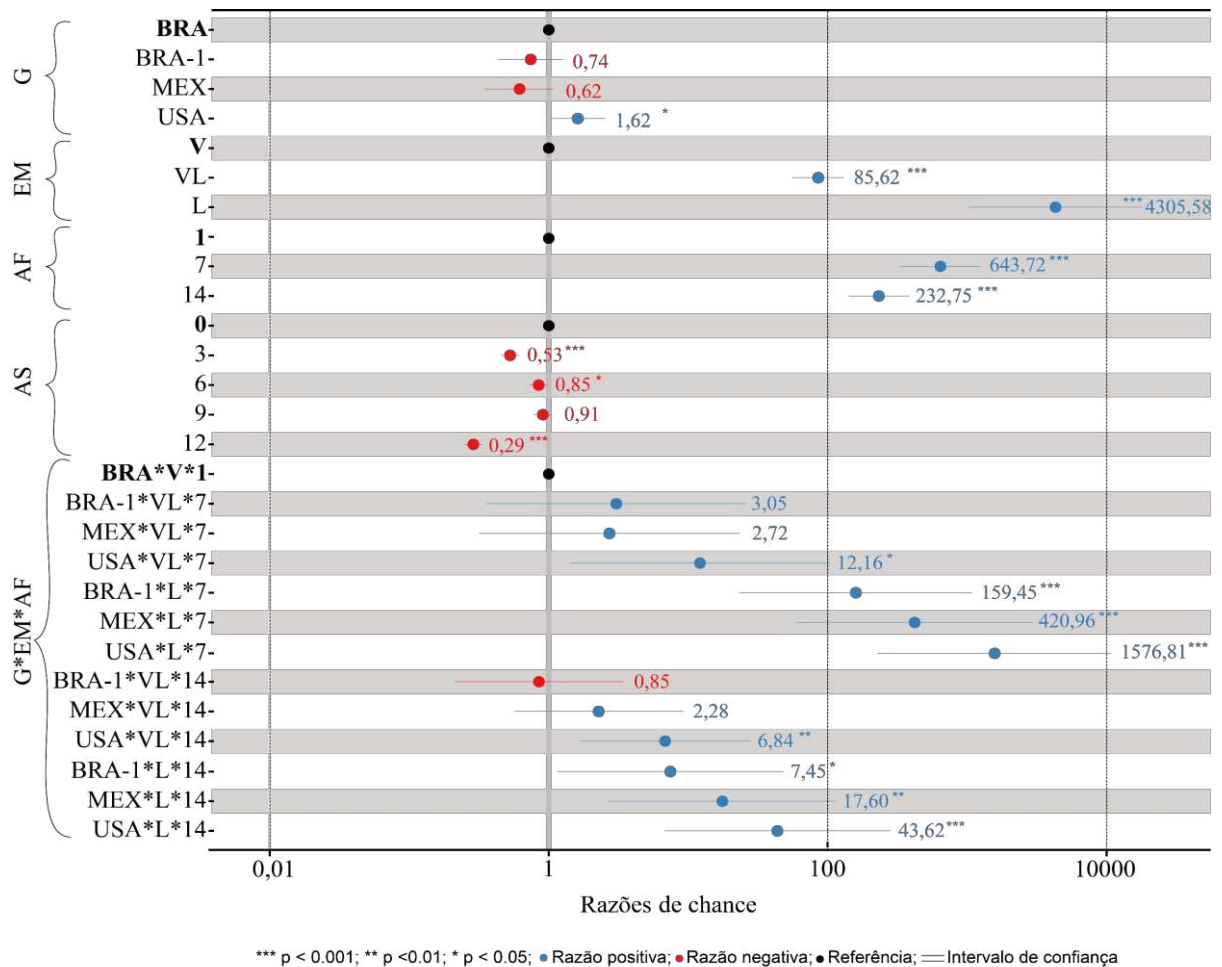


Figura 5. Razões de chance entre a variável viabilidade e as variáveis independentes e suas interações.

O fator AS mostrou razões de chance negativas e significativas ($p < 0,05$; $0,001$) para todos os períodos de armazenamento, com exceção do armazenamento das sementes por 9 meses, que não diferiu da referência. Nos períodos de armazenamento de seis e nove meses foram observadas as razões de chance, mais próximas à linha de não efeito ($OR = 1$).

A interação $G*EM*AF$ apresentou aumento das razões de chance quando comparado com a referência $BRA*V*1$. Todos os genótipos cujas sementes foram extraídas de frutos em maturação laranja e armazenados por 7 e 14 dias ($BRA-1*L*7$, $BRA-1*L*14$, $MEX*L*7$, $MEX*L*14$, $USA*L*7$, $USA*L*14$) obtiveram as maiores razões de chance de sementes viáveis em comparação à referência $BR*V*1$. A combinação $USA*VL*7$ e $USA*VL*14$ também apresentaram razões de chance significativas em relação à referência BRA .

DISCUSSÃO

A germinação é um processo fisiológico que culmina com a protusão da radícula através das estruturas de proteção das sementes (Bewley et al., 2013). Em geral, os genótipos BRA-1, USA e MEX (Fig. 1B, C, D) obtiveram menores razões de chances de germinar com relação à referência BRA (Fig. 1A). A baixa capacidade de germinação, observada entre 0 e 3 meses de armazenamento da semente (Tabela 2, Fig. 3), sugere a possibilidade de que as sementes recém-colhidas possuem dormência, fato previamente reportado em sementes de pimenta Habanero (Caixeta et al., 2014; Medeiros et al., 2020). Já a superação da dormência, observada aos 6 e 9 meses de armazenamento pelas maiores razões de chance (Fig. 3), pode ser consequência do armazenamento à seco da semente (afterripening), cujo efeito mais importante é a diminuição dos níveis de ácido abscísico (ABA) e aumento da concentração de GA, fitohormônios relacionados com a manutenção e superação de dormência, respectivamente (Matilla et al., 2015). Já a redução da razão de chance de germinar das sementes aos 12 meses de armazenamento (Fig. 3) poderia ser um indício do começo do processo de deterioração da semente (Ratajczak et al., 2019), já que foram observados menores chances de sementes viáveis nesse período de armazenamento.

A interpretação dos fatores simples (G, EM, AF, AS) sem considerar as interações entre eles pode levar a conclusões equivocadas sobre o modelo (Hosmer et al., 2013). Nesse sentido, as interações BRA-1*L*7, MEX*L*7, USA*L*7 e BRA-1*L*14, MEX*L*14, USA*L*14 apresentaram as maiores chances de germinar (Fig. 3), mas as razões de chance dessas interações diminuíram drasticamente quando mudou para maturação verde-laranja (Fig. 3). As variações observadas nas interações entre os genótipos, estádios de maturação e tempos de armazenamento podem estar relacionados aos fatores genéticos, ambientais e às interações entre eles (Penfield and MacGregor, 2016), já que de acordo a origem de cada genótipo, as condições edafoclimáticas do local de adaptação poderiam ter afetado seu desempenho, como no caso do MEX que apresentou a menor porcentagem de sementes germinadas (Tabela 2) e baixas razões de chances de germinar (Fig. 3).

A dormência é uma adaptação evolutiva das sementes que impede a germinação, apesar de existir as condições ambientais adequadas para que germinem (Bewley et al., 2013). Desta forma, as populações de sementes que não germinam totalmente em condições que favorecem a germinação podem ser classificadas como tendo certo nível de dormência. Em nosso estudo, o modelo G+EM*AF*AS resultou o mais apropriado para avaliar a dormência. A maior

dormência, expressado pelo genótipo MEX, poderia ser consequência do ambiente de adaptação deste genótipo e suas interações. As sementes de MEX foram trazidas de Yucatán, México, cujas condições edafoclimáticas divergem da região de Viçosa, MG, Brasil, onde foram plantadas para a produção de sementes. Enquanto Viçosa apresenta temperatura média de 20,6°C, em Yucatán a temperatura média é de 26,5°C. Um estudo feito por Springthorpe e Penfield (2015) apontou que a temperatura é o fator ambiental que mais influi sobre as espécies, e concluiu que a variação em 1°C pode ser suficiente para modificar tanto o ambiente da planta mãe bem como do zigoto e, portanto, alterar o nível de dormência da progênie.

Por outro lado, a menor dormência, observada nos genótipos USA e BRA-1, provavelmente se deve à adaptação desses materiais genéticos às condições edafoclimáticas da região, pois são plantados regularmente como parte do processo de incremento da semente para sua conservação no Banco de Germoplasma de Hortaliças da UFV. Situação similar aconteceu com os primeiros cultivares de Habanero, Juruti e Nandia, desenvolvidos no Brasil a partir de 31 acessos de Habanero de regiões brasileiras e dos Estados Unidos (Soares et al., 2020).

No caso da interação EM*AF*AS para a dormência, as sementes armazenadas por três e seis meses apresentaram razões de maior número de sementes dormentes ou vivas (Fig. 4). A partir desses tempos foi observada diminuição progressiva das razões de chance, sendo o ponto crítico aos 12 meses de armazenamento (VL*7*12, L*7*12, VL*14*12 e L*14*12). Essa redução das razões de chance poderia estar relacionada com a deterioração das sementes, já que nesse mesmo período de armazenamento foi observada redução de germinação. Nesse sentido, a deterioração das sementes tem como principal mecanismo a geração e acúmulo de espécies reativas de oxigênio, que causam diminuição da germinação, perda de vigor e viabilidade das sementes, isto em decorrência de danos aos lipídios, DNA e proteínas da semente (Kijowska-Oberc et al., 2021; Ratajczak et al., 2019).

A viabilidade é um teste que inclui tanto as sementes capazes de gerar plântula bem como as sementes dormentes, mas vivas (Soares et al., 2016). Em nosso estudo, o modelo AS+G*EM*AF foi o mais adequado para avaliar a viabilidade (Fig. 5). Assim, as razões de chance foram negativas para todos os tempos de armazenamento da semente (AS), isso como resultado da maior porcentagem de sementes viáveis aos 0 meses, que foi o tempo de armazenamento usado como referência para comparar cada período de armazenamento (Tabela 4, Fig. 5). Além disso, as razões de chance observadas nas sementes armazenadas por seis e nove meses ficaram perto da linha de não efeito (OR = 1), coincidindo com a quebra da

dormência, ou seja, o ponto em que as sementes atingiram as maiores porcentagens de germinação (Tabela 2). Resultados similares foram reportados por Caixeta et al. (2014) em sementes de Habanero extraídas de frutos com coloração laranja sem e com armazenamento pós-colheita (E2 e E3, respectivamente). Após quatro meses depois da primeira avaliação, essas sementes (E2 e E3) tiveram aumento da germinação (de 25% a 41% em E2, e de 32 a 50% em E3) e das plântulas emergidas (de 65% a 85% em E2, e de 75% a 86% em E3).

Na interação EM*AF*AS, as sementes dos frutos BRA-1, USA e MEX colhidos em maturação laranja e armazenados por 7 e 14 dias (BRA*L*7, MEX*L*7, USA*L*7, BRA*L*14, MEX*L*14, USA*L*14) apresentaram as maiores razões de chance de sementes viáveis (Fig. 5). Esse resultado poderia se dever a que as sementes extraídas de frutos laranjas já teriam atingido a maturidade fisiológica, pois, nesse estágio de maturação, as sementes atingiram a maior porcentagem de germinação (Tabela 2), além de maior peso seco (dados não apresentados). Já o armazenamento dos frutos por 7 e 14 dias poderia ter influenciado na superação da dormência dessas sementes.

O armazenamento dos frutos como estratégia de uniformização da maturação em plantas com floração e frutificação continua tem sido reportada em culturas como berinjela (Passam et al., 2010), tomate (Vidigal et al., 2006) e pimenta (Gonçalves et al., 2018), cujas sementes extraídas de frutos armazenados tiveram aumento de suas taxas de germinação e vigor quando comparadas com as sementes de frutos não armazenados. Em estudo com sementes de Habanero variedade Mayapán, extraídas de frutos laranjas armazenados por 7 e 14 dias, Medeiros et al. (2020) reportaram que as maiores porcentagens de germinação, maior integridade tecidual e preenchimento das sementes, e menor nível de dormência foram observados em sementes colhidas em estágio de maturação laranja e armazenados por 7 e 14 dias.

Em síntese, as sementes de *C. chinense* dos genótipos BRA-1, USA e MEX manifestaram diferentes níveis de dormência, conforme observado pelas baixas razões de chances de germinação aos zero e três meses de armazenamento, que foi superada aos seis e nove meses como resultado do armazenamento à seco da semente, em combinação com o estágio de maturação e o armazenamento do fruto. As variações nos níveis de dormência entre esses genótipos foram provavelmente atribuídas ao efeito do ambiente durante o período de produção das sementes e às interações genótipo-ambiente. Já a redução da viabilidade da semente, aos 12 meses de armazenamento, coincidiu com a diminuição da germinação,

provavelmente causada pelo processo de deterioração das sementes ou porque as sementes entraram a um ciclo de dormência. Finalmente, as interações dos fatores em estudo (G, EM, AF, AS) tiveram um efeito positivo na germinação e viabilidade, reduzindo o nível de dormência.

CONCLUSÕES

As sementes de pimenta *C. chinense* apresentam dormência pós-colheita que foi mantida até os três meses de armazenamento, porém foi superada aos seis e nove meses de armazenamento das sementes, períodos em que foram obtidas as maiores porcentagens de sementes germinadas.

As sementes do genótipo Brasil (BRA) não manifestaram dormência e tiveram a maior porcentagem de germinação. Os genótipos MEX, BRA-1 e USA obtiveram maior dormência.

A dormência foi reduzida quando os frutos foram colhidos em estágio de maturação verde-laranja e laranja e armazenados por 7 e 14 dias antes da extração das sementes, seguido do armazenamento das sementes secas por seis e nove meses.

A viabilidade das sementes dos genótipos MEX, BRAS-1 e USA aumentou quando os frutos foram colhidos em maturação laranja e foram armazenados por 7 e 14 dias antes da extração das sementes.

REFERÊNCIAS

- BEWLEY, J.D.; BRADFORD, K.J.; HILHORST, H.V.M.; NONOGAKI, H., 2013. Seeds physiology of development germination and dormancy, 3rd ed. Springer New York Heidelberg.
- BIANCHI, P.A.; SILVA, L.R.A. DA; ALENCAR, A.A. DA S.; SANTOS, P.H.A.D.; PIMENTA, S.; SUDRÉ, C.P.; CORTE, L.E.-D.; GONÇALVES, L.S.A.; RODRIGUES, R., 2020. Biomorphological Characterization of Brazilian Capsicum Chinense Jacq. Germplasm. *Agronomy*, v. 10, p. 1-13. <https://doi.org/10.3390/agronomy10030447>.
- BRASIL, MINISTÉRIO DE AGRICULTURA E ABASTECIMENTO, 2009. **Regras para análise de sementes**. Brasília, DF:MAPA/ACS.
- CAIXETA, F.; PINHO, É.V.D.R. VON; GUIMARÃES, R.M.; PEREIRA, P.H.A.R.; CATÃO, H.C.R.M., 2014. Physiological and biochemical alterations during germination and storage of habanero pepper seeds. *African Journal of Agricultural Research*, v. 9, p. 627–635.

- <https://doi.org/10.5897/AJAR2013.7133>.
- COSTA E SILVA, E.; LOPES, I.C.; CORREIA, A.; FARIA, S., 2020. A logistic regression model for consumer default risk. **Journal of Applied Statistics**, v. 47, p. 2879–2894. <https://doi.org/10.1080/02664763.2020.1759030>.
- GAGLIARDI, B.; MARCOS FILHO, J., 2011. Assessment of the physiological potential of bell pepper seeds and relationship with seedling emergence. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 33, p. 162–170. <https://doi.org/10.1590/S0101-31222011000100018>.
- GIANINETTI, A., 2020. Basic Features of the Analysis of Germination Data with Generalized Linear Mixed Models. **Data**, v. 5, p. 1-42. <https://doi.org/10.3390/data5010006>.
- GONÇALVES, L.S.; GOMES, G.P.; DAMASCENO JUNIOR, C.V.; QUEIROZ, R.A. DE; TAKAHASHI, L.S.; COSTA, D.S. DA; NUNES, M.P., 2018. Seed physiological potential of “dedo-de-moça” pepper in relation to maturation stages and rest periods of the fruits. **Horticultura Brasileira**, v. 36, p. 486–491. <https://doi.org/10.1590/s0102-053620180410>.
- HARRISON, E.; DRAKE, T.; OTS, R., 2020. Finalfit: quickly create elegant regression results tables and plots when modelling. **R package version 1.0.2**. <https://CRAN.R-project.org/package=finalfit>.
- HARRISON, E.; RIINU, P., 2020. R for Health Data Science. Chapman and Hall/CRC. <https://doi.org/10.1201/9780367855420>.
- HELOISA, O. DOS S.; SOPHIA, M.F.D.; RUCYAN, W.P.; RAQUEL, M.D.O.P.; EACUTE DILA, V.D.R.V.P.; STELA, D.V.F.D.R.; MARIA, L.M.D.C., 2016. Physiological quality of habanero pepper (*Capisicum chinense*) seeds based on development and drying process. **African Journal of Agricultural Research**, v. 11, p. 1102–1109. <https://doi.org/10.5897/AJAR2015.10462>.
- HOSMER, D.W.; LEMESHOW, S.; STURDIVANT, R.X., 2013. Applied Logistic Regression., Third. ed, John Wiley & Sons. Wiley.
- KIJOWSKA-OBERC, J.; STASZAK, A.M.; RATAJCZAK, E., 2021. Climate change affects seed aging? Initiation mechanism and consequences of loss of forest tree seed viability. **Trees**, p. 1-10. <https://doi.org/10.1007/s00468-020-02072-w>.
- LÜDECKE, D., 2020. sjPlot: Data Visualization for Statistics in Social Science. **R package**

version 2.8.4. <https://CRAN.R-project.org/package=sjPlot>.

- MARTÍNEZ-MUÑOZ, M.; AYALA-GARAY, Ó.J.; AGUILAR-RINCÓN, V.H.; CONDE-MARTÍNEZ, V.; CORONA-TORRES, T., 2019. Seed quality and LEA-protein expression in relation to fruit maturation and post-harvest storage of two chilies types. **Horticulture Journal**, v. 88, p. 245–252. <https://doi.org/10.2503/hortj.UTD-044>.
- MATILLA, A.J.; CARRILLO-BARRAL, N.; RODRÍGUEZ-GACIO, M. DEL C., 2015. An Update on the Role of NCED and CYP707A ABA Metabolism Genes in Seed Dormancy Induction and the Response to After-Ripening and Nitrate. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 34, p. 274–293. <https://doi.org/10.1007/s00344-014-9464-7>.
- MEDEIROS, A.D.; ZAVALA-LEÓN, M.J.; DA SILVA, L.J.; OLIVEIRA, A.M.S.; DIAS, D.C.F. DOS S., 2020. Relationship between internal morphology and physiological quality of pepper seeds during fruit maturation and storage. **Agronomy Journal**, v. 112, p. 25–35. <https://doi.org/10.1002/agj2.20071>.
- PASSAM, H.C.; THEODOROPOULOU, S.; KARANISSA, T.; KARAPANOS, I.C., 2010. Influence of harvest time and after-ripening on the seed quality of eggplant. **Scientia Horticulturae**, v. 125, p. 518–520. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2010.04.007>.
- PENFIELD, S., 2017. Seed dormancy and germination. **Current Biology**, v. 27, p. R874–R878. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2017.05.050>.
- PENFIELD, S.; MACGREGOR, D.R., 2016. Effects of environmental variation during seed production on seed dormancy and germination. **Journal of Experimental Botany**, v. 68, p. 1-7. <https://doi.org/10.1093/jxb/erw436>.
- RATAJCZAK, E.; MAŁECKA, A.; CIERESZKO, I.; STASZAK, A., 2019. Mitochondria Are Important Determinants of the Aging of Seeds. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, p. 1-12. <https://doi.org/10.3390/ijms20071568>.
- SOARES, R.S.; RIBEIRO, C.S. DA C.; RAGASSI, C.F.; DE CARVALHO, S.I.C.; MALDONADE, I.R.; FILHO, J.G. DA S.; BRAZ, L.T.; REIFSCHNEIDER, F.J.B., 2020a. New Brazilian lines of Habanero pepper (*Capsicum chinense*): Morpho-agronomic and biochemical characterization in different environments. **Scientia Horticulturae**, v. 261, p. 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.108941>.

- SOARES, V.N.; ELIAS, S.G.; GADOTTI, G.I.; GARAY, A.E.; VILLELA, F.A., 2016. Can the Tetrazolium Test be Used as an Alternative to the Germination Test in Determining Seed Viability of Grass Species? **Crop Science**, v. 56, p. 707–715. <https://doi.org/10.2135/cropsci2015.06.0399>.
- SOLTANI, A.; WALTER, K.A.; WIERSMA, A.T.; SANTIAGO, J.P.; QUIQLEY, M.; CHITWOOD, D.; PORCH, T.G.; MIKLAS, P.; MCCLEAN, P.E.; OSORNO, J.M.; LOWRY, D.B., 2021. The genetics and physiology of seed dormancy, a crucial trait in common bean domestication. **BMC Plant Biology**, v. 21, p. 1-17. <https://doi.org/10.1186/s12870-021-02837-6>.
- SPRINGTHORPE, V.; PENFIELD, S., 2015. Flowering time and seed dormancy control use external coincidence to generate life history strategy. **eLife**, v. 4, p. 1–17. <https://doi.org/10.7554/eLife.05557>.
- R CORE TEAM, 2020. R Development Core Team. **R: A language and environment for statistical computing**. <https://www.R-project.org/>.
- VIDIGAL, D.D.S.; DIAS, D.C.F.D.S.; NAVEIRA, D.D.S.P.C.; ROCHA, F.B.; BHERING, M.C., 2006. Qualidade fisiológica de sementes de tomate em função da idade e do armazenamento pós-colheita dos frutos. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 28, p. 87–93. <https://doi.org/10.1590/S0101-31222006000300013>.
- WICKHAM, H.; AVERICK, M.; BRYAN, J.; CHANG, W.; MCGOWAN, L.; FRANÇOIS, R.; GROLEMUND, G.; HAYES, A.; HENRY, L.; HESTER, J.; KUHN, M.; PEDERSEN, T.; MILLER, E.; BACHE, S.; MÜLLER, K.; OOMS, J.; ROBINSON, D.; SEIDEL, D.; SPINU, V.; TAKAHASHI, K.; VAUGHAN, D.; WILKE, C.; WOO, K.; YUTANI, H., 2019. Welcome to the Tidyverse. **Journal of Open Source Software**, v. 4, p. 1-6. <https://doi.org/10.21105/joss.01686>.

CAPÍTULO III

ZAVALA, Manuel Jesús León, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, julho de 2021. **Relação entre características físicas e qualidade fisiológica de semente de pimenta *Capsicum chinense* Jacq.** Orientador: Laércio Junio da Silva.

RESUMO

A análise de atributos físicos e de vigor de sementes é fundamental para a identificação de lotes de sementes de alta qualidade. O presente estudo teve como objetivo relacionar os atributos físicos e fisiológicos representativos da qualidade de sementes de *Capsicum chinense* Jacq. em diferentes genótipos, estádios de maturação e tempo de armazenamento do fruto. Foram avaliados quatro genótipos, sendo dois originários de Brasil (Brasil-2, Brasil), um dos Estados Unidos e um do México. Os frutos foram colhidos em três estádios de maturação (verde, verde-laranja, laranja ou vermelho) e submetidos a três tempos de armazenamento antes da extração das sementes (1, 7 e 14 dias). As características físicas das sementes como densidade relativa, densidade integrada e preenchimento foram avaliadas por meio de análise de imagens radiográficas. Essas mesmas sementes foram submetidas ao teste de germinação, a partir das quais foram estimadas a sincronia de germinação, coeficiente de velocidade de germinação, tempo médio de germinação e ao teste de condutividade elétrica. Os dados obtidos foram submetidos à análise de correlação de Pearson, CCA e CDA. Em geral, o valor máximo de correlação de Pearson foi de 0,81, enquanto o valor máximo da CCA e CDA foi de 0,89. Foram obtidas duas variáveis canônicas significativas. As sementes do genótipo Brasil-2 extraídas dos frutos verde-laranja e laranja armazenados por sete e 14 dias tiveram maiores características físicas e fisiológicas. Já as sementes dos genótipos Brasil, Estados Unidos e México obtiveram maiores valores para as características físicas e de vigor das sementes quanto estas foram extraídas frutos laranja armazenados por 14 dias, seguida pelos frutos verde-laranja armazenados por sete dias. As sementes extraídas dos frutos verdes armazenados por um dia apresentaram os mais baixos atributos de vigor (maior condutividade elétrica) e físicos (menor preenchimento). Sementes obtidas de frutos laranjas, seguido do armazenamento por 14 dias é a mais recomendada para a obtenção de sementes com maiores atributos fisiológicos e físicos.

Palavras-chave: Correlação canônica. Germinação. Atributos físicos. Atributos fisiológicos.

CHAPTER III

ZAVALA, Manuel Jesús León, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, July, 2021. **Relationship between physical characteristics and physiological quality of pepper seed *Capsicum chinense* Jacq.** Adviser: Laércio Junio da Silva.

ABSTRACT

The analysis of seed physical and physiological attributes is essential for the evaluation of high quality seeds. This study aimed to relate the physical and physiological attributes representative of the quality of *C. chinense* seeds for each genotype, maturity stage and fruit storage time. Four genotypes (Brazil-2, Brazil, United States and Mexico) were evaluated, whose fruits were harvested at three stages of maturation (green, orange-green, orange or red) and subjected to three storage times before seed extraction (1, 7 and 14 days). Physical characteristics of seeds such as relative density, integrated and filling were evaluated through image analysis. These same seeds were submitted to the germination test from which germination synchrony, germination speed coefficient, average germination time and electrical conductivity were estimated. The data obtained were submitted to Pearson, CCA and CDA correlation analysis. In general, the maximum value of Pearson's correlation was 0.81, while the maximum value of CCA and CDA was 0.89. Two significant canonical variates were obtained. The seeds of the Brasil-2 genotype extracted from orange and orange fruits stored for seven and 14 days had the highest physical and physiological characteristics. The seeds of the genotypes Brazil, United States and Mexico had the highest physical and physiological characteristics of the orange fruits stored for 14 days, followed by the green-orange fruits stored for seven days. In general, seeds extracted from green fruits stored for one day had the lowest vigor (electrical conductivity) and physical (filling) attributes. Seeds of the Brazil, United States and Mexico genotypes extracted from orange fruits and stored for 14 days may be the most recommended for obtaining seeds with greater physiological and physical attributes.

Keywords: Canonical correlation. Germination. Physical attributes. Physiological attributes.

INTRODUÇÃO

A pimenta habanero, pertencente à espécie *Capsicum chinense* Jacquin, apresenta alta demanda para seu consumo tanto *in natura* quanto processado (Soares et al., 2020). Seu destaque, deve-se às características do fruto como aroma, tamanho, cor, formato e grau de pungência. Além disso, os capsaicinoides presentes nas pimentas têm propriedades analgésicas, termogênicas, cardioprotetoras, farmacológicas e neurológicas que ressaltam sua importância (Mendes and Gonçalves, 2020). Destaca-se que em 2010, a Península de Yucatán obteve a denominação de origem do Habanero, outorgada pelo Instituto Mexicano da Propriedade Intelectual (Fabela-Morón et al., 2019; Muñoz-Ramírez et al., 2020), devido à grande diversidade de pimenta Habanero e condições edafoclimáticas da região que favorecem as características do fruto acima mencionadas.

No entanto, as pimentas, dentre elas *C. chinense*, exibem floração e frutificação contínua, e sementes em diferentes estádios de maturação, níveis de qualidade física e fisiológica são obtidas no momento da colheita, o que pode levar a um estande irregular das plântulas no viveiro. De maneira que para o setor sementeiro é fundamental conhecer a qualidade das sementes, mediante a avaliação de seus atributos físicos e fisiológicos a fim de oferecer sementes de alta qualidade.

Os atributos físicos estão relacionados aos aspectos externos (presença de trincas, tamanho, forma, etc.) e internos (densidade tecidual, preenchimento, etc.), que podem ser avaliados mediante o uso de técnicas como raios-X e imagem multiespectral (Bianchini et al., 2021). Por outro lado, os atributos fisiológicos relacionam-se ao potencial de germinação da semente, da emergência no campo e sua capacidade de armazenamento. (Leprince et al., 2017; Rajjou et al., 2012; Ventura et al., 2012).

Estratégias como seleção do genótipo mais adequado para uma região, colheita dos frutos no estádio de maturação adequado e armazenamento dos frutos antes da extração das sementes auxiliam na obtenção de sementes de pimenta de alta qualidade (Pinheiro et al., 2020, Gonçalves et al., 2018). Neste sentido, a colheita de frutos com coloração amarela e laranja, seguido do armazenamento do fruto por sete ou 14 dias, permitiram melhorar os atributos físicos (maior preenchimento e densidade integrada) e fisiológicos (maior porcentagem de germinação, menor nível de dormência) das sementes de pimenta Habanero (Medeiros et al. 2020).

A análise dos dados das características físicas e fisiológicas das sementes pode ser realizada por técnicas multivariadas, como a análise de correlação canônica (CCA) e análise discriminante canônica (CDA), que permitem encontrar a relação entre dois grupos de variáveis (X, Y), podendo cada grupo ter duas ou mais variáveis. Com a aplicação desses métodos estatísticos, pode-se identificar padrões com maior clareza, pois esses maximizam as associações existentes entre os grupos de variáveis mediante suas combinações lineares ortogonais (Androniceanu et al., 2020). Além disso, essas técnicas exploratórias são mais eficientes que a análise de correlação de Pearson, que apenas faz comparações individuais entre cada variável. Neste sentido, em estudos com sementes de pinhão manso (Bianchini et al., 2021) e soja (Pereira et al., 2017) foram encontradas associações entre os grupos de variáveis ligadas à qualidade das sementes utilizando CDA e CCA.

Diante do exposto, o objetivo do trabalho foi relacionar os atributos físicos e fisiológicos representativos da qualidade de sementes de *C. chinense* para diferentes genótipos, estádios de maturação dos frutos e tempo de armazenamento dos frutos antes da extração das sementes.

MATERIAL E MÉTODOS

Material vegetal

A pesquisa foi realizada na Unidade de Ensino, Pesquisa e Extensão Horta Nova, pertencente à Universidade Federal de Viçosa, Brasil, de novembro de 2018 a abril de 2019. Quatro genótipos de pimenta *C. chinense* (Brasil, Brasil-2, Estados Unidos e México) foram utilizados no experimento. O manejo agrônomico adotado foi de acordo com as recomendações para pimenta (EPAMIG, 2006).

Frutos de cada genótipo foram colhidos em três estádios de maturação (verde, verde-laranja e laranja ou vermelho, Fig. 2). Após a colheita, os frutos foram armazenados em caixas plásticas dentro de sala climatizada a 25°C por diferentes períodos antes da extração das sementes (um, sete e 14 dias). Da combinação dos fatores em estudo, genótipo (4), estádio de maturação (3) e período de armazenamento do fruto (3), resultaram ao todo 36 tratamentos.

Extração, processamento e armazenamento da semente

Colhidos os frutos de cada genótipo, nos diferentes estádios de maturação e após os períodos de armazenamento descritos acima, procedeu-se à extração de suas placentas com auxílio de um descascador de maçã. Em seguida, as sementes foram desprendidas da placenta

utilizando-se liquidificador com água seguido do acionamento de pulsos de ligado e desligado. Para evitar danos mecânicos nas sementes, as lâminas foram revestidas com fita adesiva. As sementes bem formadas foram separadas das sementes vazias mediante a imersão em água, ou seja, as sementes flutuantes foram descartadas. As sementes foram então lavadas com água corrente para eliminar os resíduos do fruto. Em seguida, foram desinfestadas com hipoclorito de sódio a 2% v/v por 3 minutos. Finalmente, as sementes foram deixadas para secar na sombra dentro de uma sacola de organza durante uma semana, que foi o tempo requerido para atingir umidade de $10\pm 3\%$. Por fim, as sementes foram colocadas dentro de embalagens plásticas e guardadas em geladeira a 10 °C, até os posteriores testes para avaliação das características físicas e fisiológicas.

Avaliação das características físicas

As características físicas foram obtidas por meio de imagens de raios-X. Para isso as sementes foram coladas sobre plástico adesivo, com quatro repetições de 25 sementes, e evitando o contato entre elas. Em seguida, o plástico adesivo com as sementes foi colocado dentro do equipamento de raios-X modelo MX-20 (Faxitron X-ray Corp. Wheeling, IL, USA) a uma distância do feixe de luz de 20,9 cm, com voltagem ajustada a 23 kV, tempo de exposição de 10 segundos e contraste de 2721. As imagens geradas foram salvas no formato TIFF (Formato de arquivo de imagem marcada) e analisadas com a macro IJCropSeed (Medeiros et al., 2020). Resumidamente, a análise consistiu em primeiro fazer um teste para verificar qual método de limiar é mais adequado para segmentar as imagens de raios-X das sementes de pimenta, sendo definido o método mean. Em seguida, as imagens foram processadas, sendo obtidas as variáveis: *densidade relativa*, que foi estimada como o valor médio de cinza dos pixels correspondentes às sementes na imagem de raios-X; *densidade integrada*, que foi avaliada como a soma dos valores de cinza dos pixels correspondentes às sementes; e *preenchimento*, que foi determinado mediante a relação entre espaços vazios e preenchidos da seleção após a binarização da imagem.

Avaliação do potencial fisiológico

As mesmas sementes utilizadas para avaliação das características físicas foram avaliadas quanto a qualidade fisiológica por meio dos testes de germinação e condutividade elétrica.

Para o teste de germinação foram utilizadas quatro repetições de 25 sementes. As sementes foram depositadas em placas de Petri, sobre duas camadas de papel *germitest*. A contagem do número de sementes germinadas foi realizada a cada 48 horas durante 20 dias. A partir dos dados de germinação foram determinadas as variáveis e fórmulas a seguir (Ranal and Santana, 2006):

$$SINC = \sum n_i (\sum n_i - 1) / 2$$

Em que, *SINC* é a Sincronia de germinação (*SINC*), que é a combinação das sementes germinadas no tempo *i*, duas a duas; n_i é o número de sementes germinadas no tempo *i*.

$$CVG = \left(\sum_{i=1}^n f_i / \sum_{i=1}^n f_i x_i \right) 100$$

Em que, *CVG* é o Coeficiente de Velocidade de Germinação; f_i e número de sementes recém germinadas no dia *i*, dividido pelo número de dias a partir da sementeira x_i .

$$MGT = \sum_{i=1}^k n_i t_i / \sum_{i=1}^k n_i$$

Em que, *MGT* é o Tempo Médio de Germinação; n_i é o número de sementes germinadas por dia n_i (não o número acumulado, mas o número correspondente à *i*-ésima observação) e dividido pelo tempo desde o início do teste de germinação t_i até a *i*-ésima observação.

A condutividade elétrica (CE) foi determinada em quatro repetições de 50 sementes (Vidigal et al., 2008). As sementes de cada repetição primeiramente foram pesadas, e depois foram colocadas dentro de um copo com 25 mL de água destilada. Em seguida, os copos foram colocados dentro do germinador a 25 °C por 24 h. Após esse tempo, o valor da condutividade elétrica da solução foi aferido com auxílio de condutivímetro.

Análise estatística

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições. Os dados foram submetidos à análise de variância. Foram obtidas as correlações lineares de Pearson entre os dados das características físicas e fisiológicas das sementes, por meio do pacote *GGally* (Schloerke et al., 2020). Também, os dados foram submetidos às análises multivariadas de correlação canônica (CCA) por meio do pacote *Yacca* (Butts, 2108),

e análise discriminante canônica (CDA) por meio do pacote Candisc (Friendly and Fox, 2020) utilizando-se o software R (R Core Team, 2019).

Análise de correlação canônica

A análise de correlação canônica permite estimar a associação entre dois conjuntos de variáveis (X, Y), que por sua vez gera novas variáveis para X e Y (U, V). O número máximo de correlações canônicas corresponde ao número de variáveis físicas no conjunto menor (Que et al., 2020). Em nosso estudo, foi composto pela densidade relativa, densidade integrada e preenchimento. Já o grupo de variáveis fisiológicas, ou grupo X, foi formado pelo potencial de germinação, sincronia da germinação, coeficiente de velocidade de germinação, tempo médio da germinação e condutividade elétrica (Tabela 1). Os dados foram padronizados para não haver influências das diferentes escalas das variáveis e multicolinearidade foi avaliada (Androniceanu et al., 2020). Para visualizar a localização dos níveis dos fatores genótipo, estágio de maturação e período de armazenamento do fruto no espaço canônico foi realizado uma CDA.

Tabela 1. Características físicas e fisiológicas de sementes de diferentes genótipos de *Capsicum chinense*.

Tipo	Nome	Unidade	Referência
Características físicas	Y ₁ --Densidade relativa	cinza pixel ⁻¹	Medeiros et al. (2020)
	Y ₂ --Densidade integrada	cinza mm ² pixel ⁻¹	Medeiros et al. (2020)
	Y ₃ --Preenchimento	%	Medeiros et al. (2020)
Características fisiológicas	X ₁ --Condutividade elétrica	μS cm ⁻¹ g ⁻¹	Matthews e Powell (2006)
	X ₂ --Sincronia de germinação	NA	Ranal e Santana (2006)
	X ₃ --Coeficiente de velocidade de germinação	% dia ⁻¹	Ranal e Santana (2006)
	X ₄ --Tempo médio de germinação	time	Ranal e Santana (2006)

RESULTADOS

Análise de correlação de Pearson

Em relação à correlação entre as variáveis físicas e fisiológicas, se destacou a correlação entre a condutividade elétrica (X₁) e o preenchimento das sementes (Y₃), com $r = -0,81$, ($p < 0,001$), ou seja, as sementes com maior preenchimento apresentaram menores valores de condutividade elétrica (Tabela 2). Ainda, entre a variável sincronia de germinação (X₂) e o coeficiente de velocidade de germinação (X₃), com $r = 0,81$ ($p < 0,001$). Como os valores de

correlação apresentados refletem somente as associações individuais entre as variáveis e não de grupo de variáveis foi explorada as análises CCA e CDA entre os grupos de variáveis físicas e fisiológicas (Tabela 1).

Tabela 2. Coeficiente de correlação linear de Pearson entre as características físicas e fisiológicas de sementes de *Capsicum chinense*.

	X ₁	X ₂	X ₃	X ₄	Y ₁	Y ₂	Y ₃
X ₁	1	-0,33 ***	-0,36 ***	-0,01 ns	-0,01 ns	-0,12 ns	-0,81 ***
X ₂		1	0,79 ***	-0,44 ***	-0,26 **	0,54 ***	0,39 ***
X ₃			1	-0,61 ***	-0,30 ***	0,57 ***	0,46 ***
X ₄				1	0,35 ***	-0,49 ***	-0,16 ns
Y ₁					1	0,34 ***	-0,02 ns
Y ₂						1	0,24 **
Y ₃							1

X₁: condutividade elétrica, X₂: sincronia de germinação, X₃: coeficiente de velocidade de germinação, X₄: tempo médio de germinação, Y₁: densidade relativa, Y₂: densidade integrada, Y₃: preenchimento, ns: não significativo, *** p<0.001, ** p<0.01

Análise de correlação canônica

Na CCA, três pares de variáveis de correlação canônica (U₁V₁, U₂V₂, U₃V₃) foram obtidas a partir dos grupos de variáveis (X, Y) (Tabela 3). O coeficiente de correlação canônica do primeiro par de variáveis canônicas (U₁V₁) foi 0,89 (p < 0,05). O coeficiente de correlação canônica do segundo par de variáveis canônicas (U₂V₂) foi 0,80 (p < 0,05). Já para o terceiro par de variáveis canônicas (U₃V₃), esse valor foi 0,07 (p > 0,05). Assim, somente o primeiro e o segundo par de variáveis canônicas foram utilizados nas análises subsequentes.

Tabela 3. Análise de correlação canônica entre características físicas e fisiológicas de sementes de pimenta *Capsicum chinense*.

Variável canônica	Correlação	Valor próprio	Lambda	F	DF	p-valor
U1V1	0,89	3,61	0,07	49,43	12	0***
U2V2	0,80	1,79	0,35	31,15	6	0***
U3V3	0,07	0,09	0,99	-	2	0,69 ^{ns}

*** p<0.001, ^{ns} não significativo.

Análise de estrutura canônica

A análise de estrutura canônica foi utilizada para medir a correlação e direção das variáveis originais (X e Y) e as variáveis canônicas (U_1 e V_1 , U_2 e V_2), utilizando o carregamento canônico (*canonical loading*) e o carregamento canônico cruzado (*cross loading*) (Tabela 4).

Tabela 4. Resultados do carregamento canônico e carregamento canônico cruzado obtidos a partir das variáveis físicas e fisiológicas de sementes de pimenta *Capsicum chinense*.

Variável	Carregamento canônico		Carregamento canônico cruzado	
	U_1	U_2	V_1	V_2
X_1	0,48	-0,86	0,43	-0,69
X_2	-0,84	-0,12	-0,74	-0,10
X_3	-0,92	-0,08	-0,82	-0,07
X_4	0,73	0,40	0,65	0,32
	Carregamento Canônico		Carregamento canônico cruzado	
Y_1	0,32	0,18	0,36	0,22
Y_2	-0,58	-0,20	-0,66	-0,25
Y_3	-0,55	0,62	-0,62	0,77

X_1 : condutividade elétrica, X_2 : sincronia de germinação, X_3 : coeficiente de velocidade de germinação, X_4 : tempo médio de germinação, Y_1 : densidade relativa, Y_2 : densidade integrada, Y_3 : preenchimento.

O carregamento canônico da velocidade de germinação (X_3) e a variável canônica U_1 apresentou o maior valor, -0,92, sendo que esta variável (X_3) é a que mais representou o vigor das sementes (Tabela 4). Além disso, o carregamento canônico cruzado da velocidade de germinação (X_3) e a variável canônica (V_1) foi de -0,82, o que indica que as características físicas das sementes afetam o coeficiente de velocidade de germinação (X_3).

Já para o carregamento canônico da condutividade elétrica (X_1) e a variável canônica (U_2) foi obtido o maior valor, -0,86, sendo a variável (X_1) que melhor representou o vigor das sementes nesta segunda variável canônica. Aliás, o carregamento canônico cruzado da condutividade elétrica (X_1) e variável canônica (V_2) foi de -0,69, o que mostra que a característica física da semente tem efeito sobre a condutividade elétrica (X_1) da semente.

Na Figura 1 apresenta-se a estrutura de correlação entre as variáveis físicas e fisiológicas da primeira e segunda variável canônica. Por meio da primeira variável canônica (Fig. 1A), observa-se que os baixos valores de preenchimento (Y_3) e densidade integrada (Y_2) das sementes predisseram os baixos valores de sincronia de germinação (X_2) e de coeficiente de velocidade de germinação (X_3), além do aumento do tempo médio de germinação (X_4). Por meio da segunda variável canônica (Fig. 1B), observa-se que o preenchimento das sementes (Y_3) apresentou relação inversa com a condutividade elétrica (X_1).

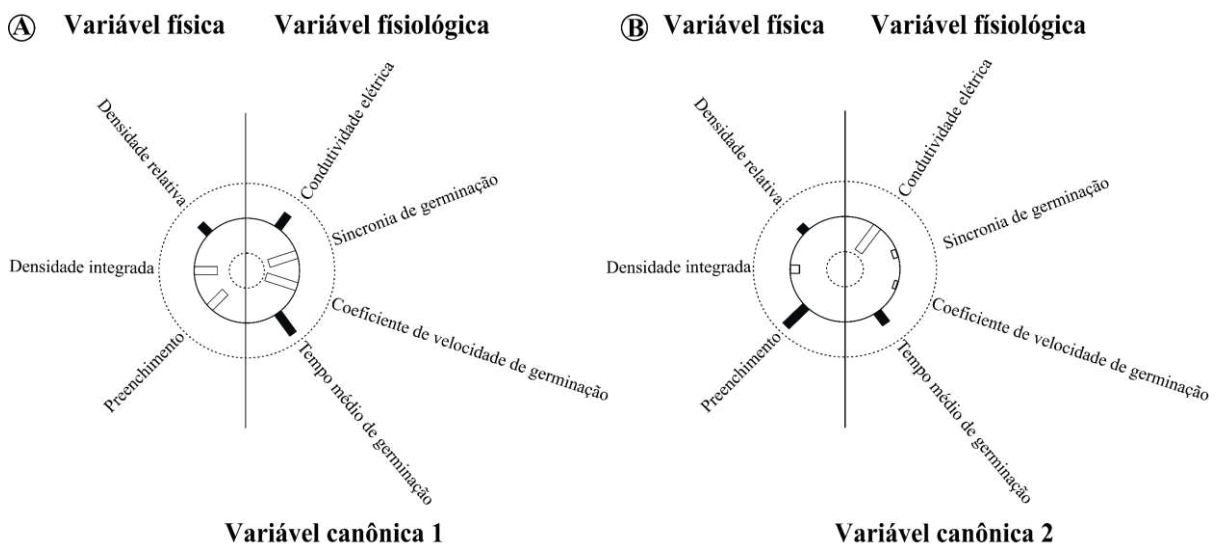


Figura 1. Gráfico de Hélio da análise de correlação canônica (CCA) entre as variáveis físicas e fisiológicas. A - variável canônica 1 e B - variável canônica 2. As barras pretas correspondem às correlações positivas e as barras brancas correspondem às correlações negativas.

Análise canônica discriminante

Em relação aos genótipos (Fig. 2A), Brasil-2 foi correlacionado positivamente com os vetores coeficiente de velocidade de germinação (X_3), sincronia de germinação (X_2) e densidade integrada (Y_2), ou seja, as sementes desse genótipo apresentaram maior número de características favoráveis de germinação. Os genótipos Brasil e Estados Unidos foram correlacionados com o vetor de tempo médio de germinação (X_4), isto é, as sementes destes genótipos demoraram mais tempo para germinar. Por fim, o genótipo do México foi correlacionado com o vetor de densidade relativa (Y_1).

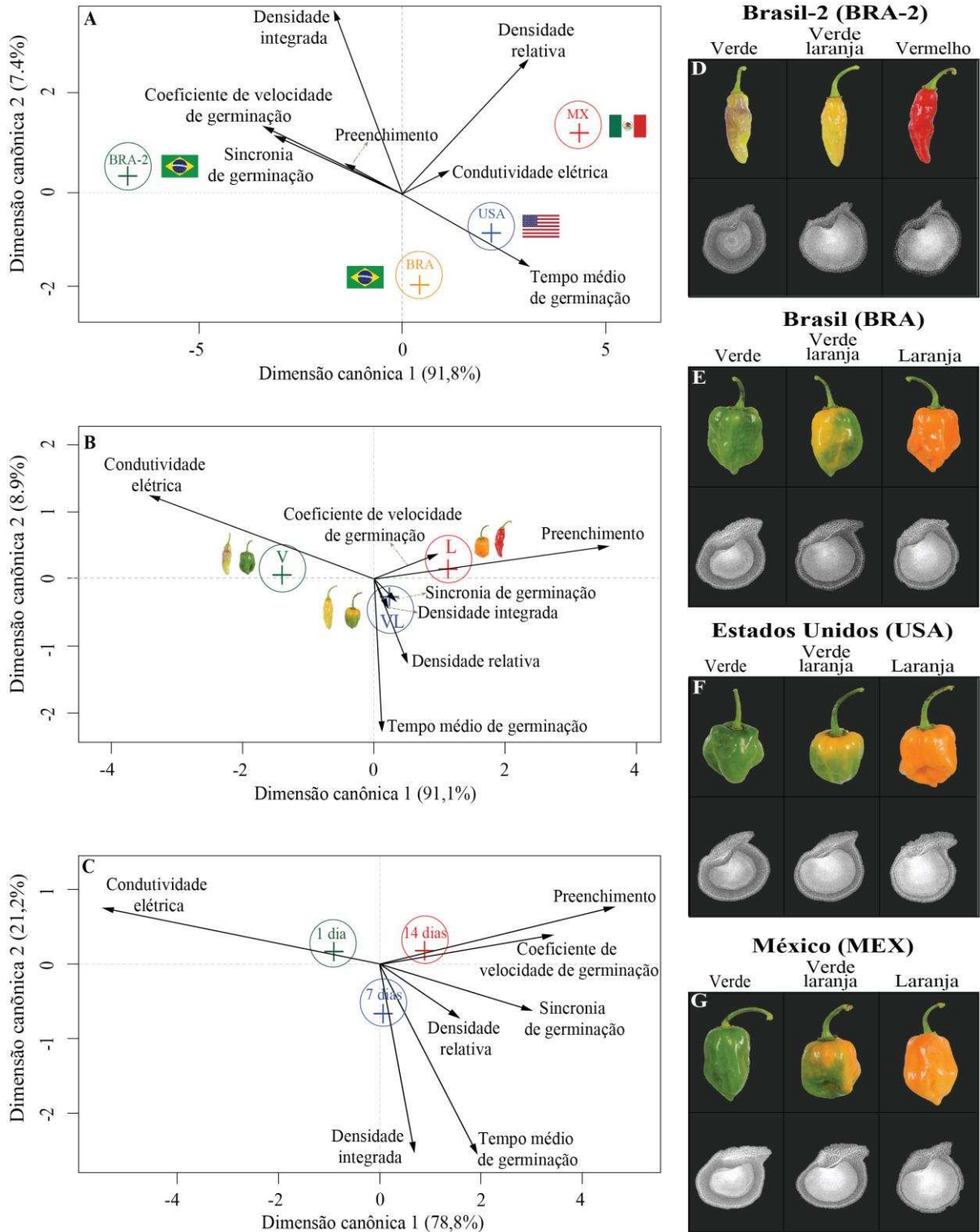


Figura 2. Análise discriminante canônica para genótipos (A), estágio de maturação do fruto (B) e período de armazenamento do fruto de pimenta (C). Em D, E, F e G, aspecto visual dos frutos nos diferentes estádios de maturação e das radiografias das sementes de cada genótipo.

Em relação aos estádios de maturação (Figura 2B), os frutos laranja e vermelho foram associados ao preenchimento da semente (Y_3), ou seja, as sementes extraídas de frutos nesses

estádios estavam mais bem formadas. Os frutos verde-laranja foram relacionados aos vetores tempo médio de germinação (X_4) e densidade relativa (Y_1). Os frutos verdes ficaram associados ao vetor de condutividade elétrica (X_1), isto é, suas sementes apresentaram maiores valores de condutividade elétrica bem como menor grau de preenchimento (Fig. 2D, E, F, G).

Com referência ao fator tempo de armazenamento (Figura 2C), os frutos armazenados por 14 dias foram relacionados com os vetores preenchimento da semente (Y_3) e coeficiente de velocidade de germinação (X_3), ou seja, as sementes extraídas dos frutos após esse tempo de armazenamento tiveram maior preenchimento e maior velocidade de germinação. Os frutos armazenados por sete dias estiveram mais associados ao tempo médio de germinação (X_4) e densidade relativa (Y_1), ou seja, suas sementes demoraram mais para germinar e apresentaram maior densidade tecidual. Já, os frutos verdes foram mais associados à condutividade elétrica (X_1), ou seja, suas sementes apresentaram menor vigor, com maiores valores de condutividade elétrica.

DISCUSSÃO

A análise da qualidade da semente representa um requisito importante para a indústria sementeira, pois com sua determinação se garante ao produtor sementes com germinação e emergência de plântulas homogêneas no campo. No presente estudo, foram realizadas análises de CCA e CDA com a finalidade de determinar as relações existentes entre os atributos físicos e fisiológicos de sementes de pimenta e identificar aqueles atributos que mais contribuem com sua qualidade.

No geral, a CCA explicou em maior proporção a associação entre os atributos físicos e fisiológicos das sementes comparada à correlação de Pearson. (Tabela 2, Tabela 3). Essa diferença pode ser devido ao fato que a CCA estima correlações entre dois grupos de variáveis (X e Y), mediante a maximização das relações lineares de suas variáveis (Que et al., 2020), e não de variáveis individuais como acontece com a correlação de Pearson, que considera a correlação entre duas variáveis individuais por vez.

A CCA é uma técnica multivariada de redução de dimensionalidade que visa encontrar as maiores associações entre dois conjuntos de dados (Cama-Moncunill et al., 2021). No presente estudo, a CCA foi explicada por duas variáveis canônicas significativas ($p < 0.001$, Tabela 3). A primeira apontou que os menores valores de densidade integrada e preenchimento

da semente causam a diminuição da sincronia da germinação e do coeficiente de velocidade de germinação. A segunda variável canônica indicou que sementes bem formadas com maior preenchimento obtiveram menores valores de condutividade elétrica (Tabela 4, Fig. 1). Esses resultados sugerem que as sementes de maior qualidade são aquelas que apresentam maior densidade tecidual, maior preenchimento e menores valores de condutividade elétrica (Tabela S1). Menores valores de condutividade elétrica foram observados em sementes com maior qualidade fisiológica, devido à maior estruturação das membranas, sobretudo das sementes de frutos maduros. Resultados similares foram reportados em sementes de habanero extraídas de frutos laranja e verde-laranja armazenados por 14 dias, cujas sementes apresentaram maior densidade tecidual (densidade relativa, integrada, preenchimento) e maior porcentagem de germinação (Medeiros et al., 2020).

Por outro lado, a CDA permitiu a localização dos fatores em estudo e seus níveis no espaço canônico. Em relação aos genótipos, BRA-2 esteve associado aos vetores de integridade tecidual (densidade integrada), coeficiente de velocidade de germinação e sincronia da germinação. Já os demais genótipos foram correlacionados com o vetor densidade relativa (MX) e tempo médio de germinação (USA, BRA). Esses resultados sugerem que as sementes do genótipo BRA-2 apresentaram características fisiológicas e físicas mais favoráveis quando comparadas com as sementes dos genótipos tipo habanero (Fig. 2A). Os baixos coeficientes de velocidade de germinação e sincronia de germinação das sementes dos genótipos (BRA, MEX e USA) poderiam ser explicados pela presença de dormência (Heloisa et al., 2016), que atrasa a germinação, principalmente, das sementes extraídas de frutos verdes e verde-laranja, quando comparadas com os frutos maduros. De fato, esses genótipos apresentaram maiores valores para a característica tempo médio de germinação (Tabela S1), o que aponta que suas sementes, extraídas de frutos nos estádios verde-laranja e laranja, não apresentaram germinação rápida e uniforme, quando comparado ao genótipo BRA-2 em estágio verde-laranja e vermelho, possivelmente devido à dormência de suas sementes.

A determinação do estágio adequado de colheita representa uma fase importante para a obtenção de sementes de alta qualidade física e fisiológica (Kameswara Rao et al., 2017). Em nosso estudo, as sementes dos frutos verdes foram associadas ao vetor de condutividade elétrica (Fig. 2B), cujos maiores valores foram observados nos frutos armazenados por um dia (Tabela S1). Além disso, essas sementes apresentaram menor porcentagem de preenchimento (2D, 2E, 2F, 2G) e menor vigor (Tabela S1). Esses resultados, sugerem que os mecanismos que garantem

a tolerância à dessecação nessas sementes (incluindo proteção às membranas) ainda não tinham sido estabelecidos quando as sementes foram colhidas, o que levou ao maior vazamento de solutos e, portanto, aumento da condutividade elétrica (Tabela S1) e menor vigor (Matthews and Powell, 2006). Resultados similares foram observados em sementes extraídas de frutos verdes de pimenta habanero, provavelmente por essas sementes não terem atingido a maturidade fisiológica e, por isso, geraram sementes malformadas e subdesenvolvidas, e com baixa densidade tecidual (Medeiros et al., 2020). Em pimenta dedo de moça, Gonçalves et al. (2018) apontou que as sementes extraídas de frutos verdes apresentaram baixa qualidade, a qual foi associada menor integridade das membranas e que induziu maior fluxo de íons e, portanto, maior condutividade elétrica. Por sua parte, Martínez-Muñoz et al. (2019) reportou que as sementes obtidas de frutos verdes de pimenta guajillo e ancho não tinham atingido o nível morfológico e fisiológico adequado para a germinação, já que se encontravam na fase de histodiferenciação e, por isso, foram obtidos os maiores valores da condutividade elétrica.

Já as sementes extraídas de frutos verde-laranja foram correlacionadas com o vetor tempo médio de germinação (Fig. 2B). Além disso, essas sementes apresentaram maior porcentagem de preenchimento quando comparadas com as sementes dos frutos verdes (Fig. 2D, 2E, 2F, 2G). Uma possível explicação da melhoria dos atributos físicos e fisiológicos dessas sementes são consequência do maior preenchimento (sementes maduras) e que está relacionado à menor condutividade elétrica e maior vigor dessas sementes.

Por fim, as sementes dos frutos laranjas foram associadas ao vetor preenchimento da semente (Fig. 2B). Os frutos de todos os genótipos nesse estágio de maturação apresentaram sementes bem preenchidas (Fig. 2D, 2E, 2F, 2G). Nossos resultados sugerem que as sementes extraídas dos frutos maduros haviam atingido a maturidade fisiológica, ou seja, já haviam adquirido a tolerância à dessecação, que ocorre no final do processo de maturação das sementes. Nesse momento, os carboidratos depositados nas sementes, especialmente dissacarídeos e oligossacarídeos, interatuam com as proteínas LEA para estabilizar as membranas e organelas, e conferir o estado vítreo requerido para tolerância à dessecação (Bewley et al., 2013; Smolikova et al., 2020).

O armazenamento de frutos antes da extração das sementes é uma estratégia que permite que o desenvolvimento destas continue e melhore sua qualidade fisiológica (Kameswara Rao et al., 2017; Singkaew et al., 2017). Em nosso estudo, as sementes extraídas de frutos armazenados por um dia foram correlacionadas com o vetor de condutividade elétrica,

independentemente do estágio de maturação, embora os maiores valores de condutividade corresponderam às sementes extraídas de frutos verdes. Esses resultados, para os frutos verdes, podem ser devidos a que essas sementes não teriam atingido a tolerância à dessecação, de maneira que suas membranas perderam a integridade com a secagem. No entanto, conforme as sementes colhidas de frutos verdes permaneceram mais tempo armazenadas dentro dos frutos (sete e 14 dias), houve redução da condutividade elétrica e maior vigor (Tabela S1). Isso indica que essas sementes continuaram recebendo reservas dos frutos armazenados, mantiveram sua atividade metabólica e melhoraram a sua qualidade física e fisiológica, assim como já foi reportado em pimenta habanero (Medeiros et al., 2020) e tomate (Singkaew et al., 2017; Vidigal et al., 2006).

Já as sementes extraídas dos frutos armazenados por sete dias foram associadas aos vetores densidade integrada e tempo médio de germinação (Figura 2B). Nossos resultados indicam que essas sementes apresentaram maior integridade tecidual e maior potencial de germinação, devido ao maior preenchimento (2D, 2E, 2F, 2G) quando comparadas com as sementes de frutos verdes. Essa maior integridade tecidual levou à menor condutividade elétrica (Tabela S1, S2), associado ao maior vigor da semente.

Por fim, as sementes dos frutos armazenados por 14 dias estiveram mais associadas com os vetores sincronia da germinação, coeficiente de velocidade de germinação e preenchimento da semente (Fig. 2C). Esses resultados indicam que as sementes podem melhorar sua qualidade física e fisiológica se os frutos passam por um período de armazenamento prévio à extração das sementes. Durante esse período, as sementes continuam seu desenvolvimento e preenchimento, assim como foi previamente reportado em pimenta (Gonçalves et al., 2018; Martínez-Muñoz et al., 2019), berinjela (Passam et al., 2010) e tomate (Vidigal et al., 2006). Outra razão para a melhoria da qualidade fisiológica dessas sementes, parece ter derivado do condicionamento natural no interior do fruto como foi reportado em abóbora-d'água, em cujo interior do fruto há da pressão osmótica, o que evita a germinação das sementes (Murugesam and Vanangamudi, 2005). Nesse caso, a permanência das sementes de pimenta dentro dos frutos por 14 dias poderia agir como um condicionamento osmótico natural.

Em síntese, a CCA e CDA permitiram inferir sobre a qualidade das sementes de pimenta, baseado em seus atributos físicos e fisiológicos. Desta forma, as sementes do genótipo BRA-2, extraídas de frutos verde-laranja e laranja, armazenadas por sete e 14 dias, apresentaram características físicas e fisiológicas relacionadas à maior qualidade. Já as

sementes dos demais genótipos, a maior qualidade física e fisiológica foi obtida nas sementes extraídas dos frutos laranja armazenados por 14 dias, seguida pelos frutos verde-laranja armazenados por sete dias. Em geral, as sementes extraídas dos frutos verdes armazenados por um dia apresentaram sementes com menor qualidade física e fisiológica, sendo que houve incremento da qualidade durante o armazenamento no fruto, mas não o suficiente para a obtenção do mesmo nível de qualidade que as sementes de frutos verde-laranja e laranja. Sementes obtidas de frutos maduros armazenados por 14 dias tiveram melhoria significativa da qualidade física e fisiológica, sendo esse tratamento recomendado para a obtenção de sementes de alta qualidade.

CONCLUSÕES

A CCA e a CDA auxiliaram na identificação das associações existentes entre as características físicas e fisiológicas das sementes de pimenta *Capsicum chinense*.

O genótipo Brasil-2 apresentou sementes com maior qualidade física e fisiológica, comparada aos demais genótipos.

As sementes dos genótipos Brasil, Estados Unidos e México extraídas de frutos verde-laranja e laranja armazenados por sete e 14 dias apresentaram características físicas (densidade tecidual e preenchimento) e fisiológicas (sincronia de germinação e velocidade de germinação) relacionados à maior qualidade de sementes.

REFERÊNCIAS

- ANDRONICEANU, A.M.; GEORGESCU, I.; TVARONAVIČIENE, M.; ANDRONICEANU, A., 2020. Canonical correlation analysis and a new composite index on digitalization and labor force in the context of the industrial revolution 4.0. **Sustainability**, v. 12, p. 1–20. <https://doi.org/10.3390/SU12176812>.
- BEWLEY, J.D.; BRADFORD, K.F.; HILHORST, H.W.M.; NONOGAKI, H., 2013. Seeds physiology of development germination and dormancy, Tercera. ed. Springer, New York. <https://doi.org/10.1007/978-1-4614-4693-4>.
- BIANCHINI, V. DE J.M.; MASCARIN, G.M.; SILVA, L.C.A.S.; ARTHUR, V.; CARSTENSEN, J.M.; BOELT, B.; BARBOZA DA SILVA, C., 2021. Multispectral and X-ray images for characterization of *Jatropha curcas* L. seed quality. **Plant Methods**, v. 17, p. 1–13. <https://doi.org/10.1186/s13007-021-00709-6>.

- BUTTS, C.T., 2108. Yacca: Yet another canonical correlation analysis package. **R package version 1.1.1**. <https://cran.r-project.org/package=yacca>.
- CAMA-MONCUNILL, R.; MOLONEY, A.P.; RÖHRLE, F.T.; LUCIANO, G.; MONAHAN, F.J., 2021. Canonical discriminant analysis of the fatty acid profile of muscle to authenticate beef from grass-fed and other beef production systems: Model development and validation. **Food Control**, v. 122, p. 0–10. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107820>.
- MEDEIROS, A.D. DE; SILVA, L.J. DA; SILVA, J.M. DA; DIAS, D.C.F. DOS S.; PEREIRA, M.D., 2020. IJCropSeed: An open-access tool for high-throughput analysis of crop seed radiographs. **Computers and Electronics in Agriculture**, v. 175, p. 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.compag.2020.105555>.
- EPAMIG, 2006. Produção de sementes de pimentas. **Informe Agropecuário**, v. 27, p. 1–108. <https://doi.org/ISSN 0100-3364>.
- FABELA-MORÓN, M.F.; CUEVAS-BERNARDINO, J.C.; AYORA-TALAVERA, T.; PACHECO, N., 2019. Trends in Capsaicinoids Extraction from Habanero Chili Pepper (Capsicum Chinense Jacq.): Recent Advanced Techniques. **Food Reviews International**, v. 36, p. 105–134. <https://doi.org/10.1080/87559129.2019.1630635>.
- FRIENDLY, M.; FOX, J., 2020. candisc: Visualizing generalized canonical discriminant and canonical correlation analysis. **R package version 0.8-3**. <https://CRAN.R-project.org/package=candisc>.
- GONÇALVES, L.S.; GOMES, G.P.; DAMASCENO JUNIOR, C.V.; QUEIROZ, R.A. DE; TAKAHASHI, L.S.; COSTA, D.S. DA; NUNES, M.P., 2018. Seed physiological potential of “dedo-de-moça” pepper in relation to maturation stages and rest periods of the fruits. **Horticultura Brasileira**, v. 36, p. 486–491. <https://doi.org/10.1590/s0102-053620180410>.
- HELOISA, O. DOS S.; SOPHIA, M.F.D.; RUCYAN, W.P.; RAQUEL, M.D.O.P.; EACUTE DILA, V.D.R.V.P.; STELA, D.V.F.D.R.; MARIA, L.M.D.C., 2016. Physiological quality of habanero pepper (Capsicum chinense) seeds based on development and drying process. **African Journal of Agricultural Research**, v. 11, p. 1102–1109. <https://doi.org/10.5897/AJAR2015.10462>.
- KAMESWARA RAO, N.; DULLOO, M.E.; ENGELS, J.M.M., 2017. A review of factors that influence the production of quality seed for long-term conservation in genebanks. **Genetic**

- Resources and Crop Evolution**, v. 64, p. 1061–1074. <https://doi.org/10.1007/s10722-016-0425-9>.
- LEPRINCE, O.; PELLIZZARO, A.; BERRIRI, S.; BUTINK, J., 2017. Late seed maturation: Drying without dying. **Journal of Experimental Botany**, v. 68, p. 827–841. <https://doi.org/10.1093/jxb/erw363>.
- MARTÍNEZ-MUÑOZ, M.; AYALA-GARAY, Ó.J.; AGUILAR-RINCÓN, V.H.; CONDE-MARTÍNEZ, V.; CORONA-TORRES, T., 2019. Seed quality and LEA-protein expression in relation to fruit maturation and post-harvest storage of two chilies types. **Horticulture Journal**, v. 88, p. 245–252. <https://doi.org/10.2503/hortj.UTD-044>.
- MATTHEWS, S.; POWELL, A., 2006. Electrical conductivity vigour test: physiological basis and use. **Seed Testing International**, v. 131, p. 32–35.
- MEDEIROS, A.D.; ZAVALA-LEÓN, M.J.; DA SILVA, L.J.; OLIVEIRA, A.M.S.; DIAS, D.C.F. DOS S., 2020. Relationship between internal morphology and physiological quality of pepper seeds during fruit maturation and storage. **Agronomy Journal**, v. 112, p. 25–35. <https://doi.org/10.1002/agj2.20071>.
- MENDES, N. DE S.; GONÇALVES, É.C.B. DE A., 2020. The role of bioactive components found in peppers. **Trends in Food Science & Technology**, v. 99, p. 229–243. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.02.032>.
- MUÑOZ-RAMÍREZ, L.S.; PEÑA-YAM, L.P.; ÁLVAREZ-GIL, M.A.; IGLESIAS-ANDREU, L.G.; AVILÉS-VIÑAS, S.A.; CANTO-FLICK, A.; GUZMÁN-ANTONIO, A.; SANTANA-BUZZY, N., 2020. Selection of Habanero Pepper F1 Hybrids (*Capsicum chinense* Jacq.) at the Yucatan Peninsula, Mexico with a High Potential for Different Markets. **Agriculture**, v. 10, p. 478. <https://doi.org/10.3390/agriculture10100478>.
- MURUGESAM, P.; VANANGAMUDI, K., 2005. Effect of post harvest fruit storage on seed quality in Ash Gourd (*Benincasa hispida* (Thunb.) Cogn.). **Seed Research**, v. 33, p. 160–164.
- PASSAM, H.C.; THEODOROPOULOU, S.; KARANISSA, T.; KARAPANOS, I.C., 2010. Influence of harvest time and after-ripening on the seed quality of eggplant. **Scientia Horticulturae**, v. 125, p. 518–520. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2010.04.007>.
- PEREIRA, E.M.; SILVA, F.M.; VAL, B.H.P.; PIZOLATO NETO, A.; MAURO, A.O.; MARTINS, C.C.;

- UNÊDA-TREVISOLI, S.H., 2017. Canonical correlations between agronomic traits and seed physiological quality in segregating soybean populations. **Genetics and Molecular Research**, v. 16, p. 1–20. <https://doi.org/10.4238/gmr16029547>.
- PINHEIRO, D.T.; OLIVEIRA, R.M. DE; SILVEIRA, A. DE S.; LEÓN, M.J.Z.; BRUM, L.B.T.L.; DIAS, D.C.F. DOS S., 2020. Antioxidant enzyme activity and physiological potential of *Capsicum baccatum* var. *baccatum* seeds as a function of post-harvest storage of fruit. **Journal of Seed Science**, v. 42, p. 1–13. <https://doi.org/10.1590/2317-1545v42235315>.
- QUE, S.; LUO, H.; WANG, L.; ZHOU, W.; YUAN, S., 2020. Canonical Correlation Study on the Relationship between Shipping Development and Water Environment of the Yangtze River. **Sustainability**, v. 12, p. 1–11. <https://doi.org/10.3390/su12083279>.
- RAJOU, L.; DUVAL, M.; GALLARDO, K.; CATUSSE, J.; BALLY, J.; JOB, C.; JOB, D., 2012. Seed germination and vigor. **Annual Review of Plant Biology**, v. 63, p. 507–533. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-042811-105550>.
- RANAL, M.A.; SANTANA, D.G. DE, 2006. How and why to measure the germination process? **Revista Brasileira de Botânica**, v. 29, p. 1–11. <https://doi.org/10.1590/S0100-84042006000100002>.
- R CORE TEAM, 2019. R Development Core Team. **R: A Language and Environment for Statistical Computing**, v. 55, p. 275–286. <https://doi.org/http://www.R-project.org>.
- SCHLOERKE, B.; CROWLEY, J.; COOK, D.; BRIATTE, F.; MARBACH, M.; THOEN, E.; ELBERG, A.; LARMARANGE, J., 2020. GGally: Extension to ggplot2. R package version 2.0.0. <https://CRAN.R-project.org/package=GGally>.
- SINGKAEW, J.; MIYAGAWA, S.; WONGS-AREE, C.; VICHITSOONTHONKUL, T.; SOKAOKHA, S.; PHOTCHANACHAI, S., 2017. Season , Fruit Maturity , and Storage Affect on the Physiological Quality of F 1 Hybrid ‘ VTM580 ’ Tomato Seeds and Seedlings. **The Horticulture Journal**, v. 86, p. 121–131. <https://doi.org/10.2503/hortj.MI-087>.
- SMOLIKOVA, G.; LEONOVA, T.; VASHURINA, N.; FROLOV, A.; MEDVEDEV, S., 2020. Desiccation Tolerance as the Basis of Long-Term Seed Viability. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, p. 1-24. <https://doi.org/10.3390/ijms22010101>.
- SOARES, R.S.; RIBEIRO, C.S. DA C.; RAGASSI, C.F.; DE CARVALHO, S.I.C.; MALDONADE, I.R.;

- FILHO, J.G. DA S.; BRAZ, L.T.; REIFSCHNEIDER, F.J.B., 2020. New Brazilian lines of Habanero pepper (*Capsicum chinense*): Morpho-agronomic and biochemical characterization in different environments. **Scientia Horticulturae**, v. 261, p. 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.108941>.
- VENTURA, L.; DONÀ, M.; MACOVEI, A.; CARBONERA, D.; BUTTAFAVA, A.; MONDONI, A.; ROSSI, G.; BALESTRAZZI, A., 2012. Understanding the molecular pathways associated with seed vigor. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 60, p. 196–206. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2012.07.031>.
- VIDIGAL, D.D.S.; DIAS, D.C.F.D.S.; NAVEIRA, D.D.S.P.C.; ROCHA, F.B.; BHERING, M.C., 2006. Qualidade fisiológica de sementes de tomate em função da idade e do armazenamento pós-colheita dos frutos. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 28, p. 87–93. <https://doi.org/10.1590/S0101-31222006000300013>.
- VIDIGAL, D.D.S.; LIMA, J.D.S.; BHERING, M.C.; SANTOS DIAS, D.C.F., 2008. Teste de condutividade elétrica para semente de pimenta. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 30, p. 168–174. <https://doi.org/10.1590/s0101-31222008000100021>.

CAPÍTULO IV

ZAVALA, Manuel Jesús León, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, julho de 2021. **Efeito combinado da maturidade, armazenamento e condicionamento na qualidade de sementes de pimenta Habanero.** Orientador: Laércio Junio da Silva.

RESUMO

A germinação lenta e a emergência desuniforme são problemas peculiares nas sementes de pimenta habanero e que impactam no estabelecimento bem-sucedido das plântulas e, portanto, no rendimento final da cultura. Diante disso, o objetivo de nosso trabalho foi avaliar o efeito combinado do estágio de maturação e armazenamento dos frutos, e do condicionamento osmótico das sementes na sua qualidade fisiológica. Para isso, frutos de pimenta habanero foram colhidos em estádios de maturação verde-laranja e laranja e, em seguida, foram armazenados durante 1, 7 e 14 dias antes da extração das sementes. Metade das sementes de cada combinação de estágio de maturação e tempo de armazenamento foi submetida a condicionamento osmótico com KNO_3 a -1,2 MPa durante três dias. As sementes de cada tratamento foram submetidas inicialmente à análise de raios X e em seguida avaliadas quanto a germinação e o vigor. As sementes dos frutos verde-laranjas e laranjas, armazenados por 14 dias, apresentaram elevadas porcentagens de germinação, 94% e 100%, e emergência, 87% e 75%, respectivamente. Ainda, essas sementes apresentaram maiores valores de densidade relativa e integrada, as quais estão relacionadas à maior integridade tecidual das sementes. Assim, a colheita dos frutos no estágio verde-laranja ou laranja, associada à extração das sementes após 14 dias de armazenamento e ao condicionamento osmótico potencializaram a qualidade fisiológica das sementes de pimenta tipo habanero, com germinação de sementes recém-colhidas acima de 85%.

Palavras-chave: Armazenamento pós-colheita. Germinação. Emergência. Raios-X.

CHAPTER IV

ZAVALA, Manuel Jesús León, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, July, 2021. **Combined effect of maturity, storage and conditioning on the quality of habanero pepper seeds.** Orientador: Laércio Junio da Silva.

ABSTRACT

The slow seed germination and the uneven seedling emergence are peculiar problems in the habanero pepper seeds and that impact on the successful establishment of the seedlings and, therefore, on the final yield. Therefore, the objective of our work was to evaluate the combined effect of the stage of fruit maturation, storage of the fruits, and of the osmotic conditioning of the seeds on their physiological quality. For this, habanero pepper fruits were harvested in green-orange and orange ripening stages and, then, were stored for 1, 7 and 14 days before seed extraction. Half of the seeds of each combination of maturation stage and storage time were submitted to osmotic conditioning with KNO_3 at -1.2 MPa for three days. The seeds of each treatment were initially submitted to X-ray analysis and then evaluated for germination and vigor. The seeds of green- orange and orange fruits, stored for 14 days, showed high percentages of germination, 94% and 100%, and emergence, 87% and 75%, respectively. Still, these seeds showed higher values of relative and integrated density, which are related to greater tissue integrity. Thus, the harvesting of fruits in the green-orange or orange stage, associated with the extraction of seeds after 14 days of storage and osmotic conditioning potentiated the physiological quality of habanero pepper seeds, with the germination of freshly harvested seeds above 85%.

Keywords: Fruit storage. Germination. Emergence. X-ray.

INTRODUÇÃO

A pimenta Habanero, *Capsicum chinense* Jacquin, vem ganhando maior aceitação para o seu consumo em estado fresco, processado e desidratado (Fabela-Morón et al., 2019). No entanto, suas sementes, principal meio de propagação, mostram irregularidade na germinação e desuniformidade na emergência, condições que causam atraso do estande nos viveiros e no campo (Arin and Arabaci, 2019; Medeiros et al., 2020).

Entre as estratégias utilizadas para uniformizar a germinação em sementes de pimenta destacam-se: 1) *a determinação do estágio de colheita de frutos*, que consiste em determinar o estágio de maturação do fruto em que as sementes possuem alta qualidade fisiológica (Queiroz et al., 2011, Vidigal et al., 2011). 2) *O armazenamento das sementes dentro dos frutos antes da extração das sementes*, cuja aplicação permite uniformizar a maturação dos frutos e a umidade das sementes, já que por ser uma planta com floração e frutificação continua os frutos apresentam diferentes níveis de maturação no momento da colheita (Medeiros et al., 2020). 3) *O osmocondicionamento das sementes*, que permite a uniformização da velocidade de germinação das sementes ao induzir o reparo do DNA, aumento da síntese de mRNA e proteínas, e maior atividade respiratória, que resultam na germinação mais rápida e estande mais uniforme de plântulas em campo (Farooq et al., 2019).

Em Habanero, com a primeira estratégia, Caixeta et al. (2014) reportaram baixos percentagens de germinação em sementes obtidas de frutos no início da maturação (1% a 7%), com aumento em sementes obtidas de frutos maduros (25-58%). Com a segunda estratégia, Medeiros et al. (2020) obtiveram maiores percentagens de germinação nas sementes de Habanero colhidas de frutos maduros, extraídas logo após a colheita, ou armazenadas dentro dos frutos por 7 e 14 dias (45%, 76% e 68%, respectivamente). Por fim, com a terceira estratégia, Garruña-Hernández et al. (2014) reportaram que sementes comerciais (Seminis®) de Habanero condicionadas com KNO₃ a 3% obtiveram aumento da germinação e emergência (> 80%). Deste modo, cada uma das estratégias aplicadas individualmente contribui para melhorar o desempenho das sementes, porém o efeito combinado ainda não foi avaliado.

O monitoramento das características físicas das sementes é chave para separar as sementes quanto à sua integridade. Nesse sentido, a técnica de raios X, método não destrutivo, permite monitorar as mudanças físicas nas sementes mediante a análise das imagens radiográficas com auxílio do software ImageJ® (Ferreira and Rasband, 2012). Os parâmetros

físicos como a densidade relativa e integrada, determinados para as sementes a partir das imagens radiográficas, têm sido importantes para identificar sementes com maior integridade tecidual. Nesse contexto, Medeiros et al. (2020) reportaram que com da técnica de raios X e a análise de imagens com a utilização do software ImageJ® foi possível separar sementes de habanero imaturas (baixa integridade tecidual) de maduras (com alta integridade tecidual), sendo estas últimas sementes as que apresentaram maiores porcentagens de germinação e menor nível de dormência.

Diante do exposto, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito combinado do estágio de maturação dos frutos, período de armazenamento dos frutos antes da extração das sementes e condicionamento osmótico das sementes na sua qualidade física e fisiológica.

MATERIAL E MÉTODOS

Material vegetal e manejo cultural

Sementes de pimenta tipo habanero da variedade Mayapán foram produzidas na Unidade de Ensino, Pesquisa e Extensão Horta Nova (20° 45' 14" S, 42° 52' 55" W), da Universidade Federal de Viçosa, entre novembro de 2018 a maio de 2019. O manejo agrônomo adotado foi baseado nas recomendações para a cultura de pimenta (EPAMIG, 2006).

Tratamentos

Aproximadamente 300 frutos foram colhidos em dois estádios de maturação com base na sua coloração externa: verde-laranja (40 dias após a antese) e laranja (52 dias após a antese). Após a colheita, os frutos foram divididos em três grupos e armazenados em ambiente de laboratório (23°C e UR 72%) por 1, 7 e 14 dias antes da extração das sementes. Uma parte das sementes extraídas dos frutos de cada estágio de maturação e período de armazenamento recebeu tratamento de condicionamento osmótico (condicionadas) e a outra não condicionada (sem condicionamento) foi utilizada como controle. Dessa forma, foram estabelecidos 12 tratamentos a partir da combinação dos estádios de maturação dos frutos, períodos de armazenamento e condicionamento osmótico das sementes (Tabela 1).

Tabela 1. Descrição dos tratamentos de condicionamento osmótico em sementes de pimenta Habanero Mayapán.

Número de tratamento	Tratamento	Estádio de maturação	Período de armazenamento do fruto (dias)	Condicionamento
1	VL1NC	Verde-laranja (VL)	1	Não condicionada (NC)
2	VL7NC		7	
3	VL14NC		14	
4	VL1C		1	Condicionada (C)
5	VL7C		7	
6	VL14C		14	
7	L1NC	Laranja (L)	1	Não condicionada (NC)
8	L7UC		7	
9	L14UC		14	
10	L1C		1	Condicionada (C)
11	L7C		7	
12	L14C		14	

Condicionamento osmótico

Inicialmente, as sementes foram desinfestadas com hipoclorito de sódio a 2% (v/v) e, em seguida, foram lavadas com água destilada. Após esse processo, as sementes foram imersas em solução de KNO_3 grau reagente, a -1,2 MPa ($24,58 \text{ g KNO}_3 \text{ L}^{-1} \text{ H}_2\text{O}$), durante três dias a 25 °C (Quintero et al., 2018). A pressão osmótica da solução de KNO_3 foi obtida com a equação de Van't Hoff (Hillel, 1971). Durante todo o período de condicionamento, a solução foi aerada por meio de uma bomba de aquário (Fig. 1). O tratamento controle foi constituído por sementes não condicionadas (sementes secas). Após do período de condicionamento, as sementes foram ajustadas ao conteúdo de água inicial ($10 \pm 2\%$).

As sementes dos diferentes tratamentos, descritos na Tabela 1, foram submetidas primeiro à análise de raios-X e, após, à avaliação da qualidade fisiológica (Fig. 1).

Análise de raios X

Para a análise de raios-X, 100 sementes de cada tratamento, divididas em quatro grupos de 25, foram organizadas sobre plástico adesivo transparente (Fig. 1C), evitando o contato entre elas. Em seguida, as sementes, mantidas à distância de 20,7 cm, foram expostas à radiação de 23 Kv por 10 segundos com auxílio do equipamento Faxitron, modelo MX-20 (Faxitron X-ray Corp. Wheeling, IL, U.S.A) (Fig. 1D). As imagens radiográficas, com contraste 1131, foram

salvas em arquivos digitais no formato TIFF e analisadas no software ImageJ[®] (Ferreira and Rasband, 2012), conforme à metodologia descrita por Medeiros et al. (2020).

Por meio da análise das imagens foram obtidos os parâmetros: *Área*: definida como a superfície delimitada em unidades quadradas; *Perímetro*: definida como o comprimento do limite externo da unidade selecionada; *Densidade relativa*: definida como a soma dos valores de cinza dos pixels que compunham a imagem das sementes, dividido pelo número de pixels; *Densidade integrada*: calculada mediante a soma dos valores dos pixels que compunham a imagem das sementes multiplicada pela área; *Preenchimento da semente*: determinada mediante a divisão da área efetivamente preenchida com tecido de alta densidade pela área total de cada semente; *Circularidade*: definida pela razão área por perímetro ao quadrado e multiplicada por 4π , e indica o grau de arredondamento da semente.

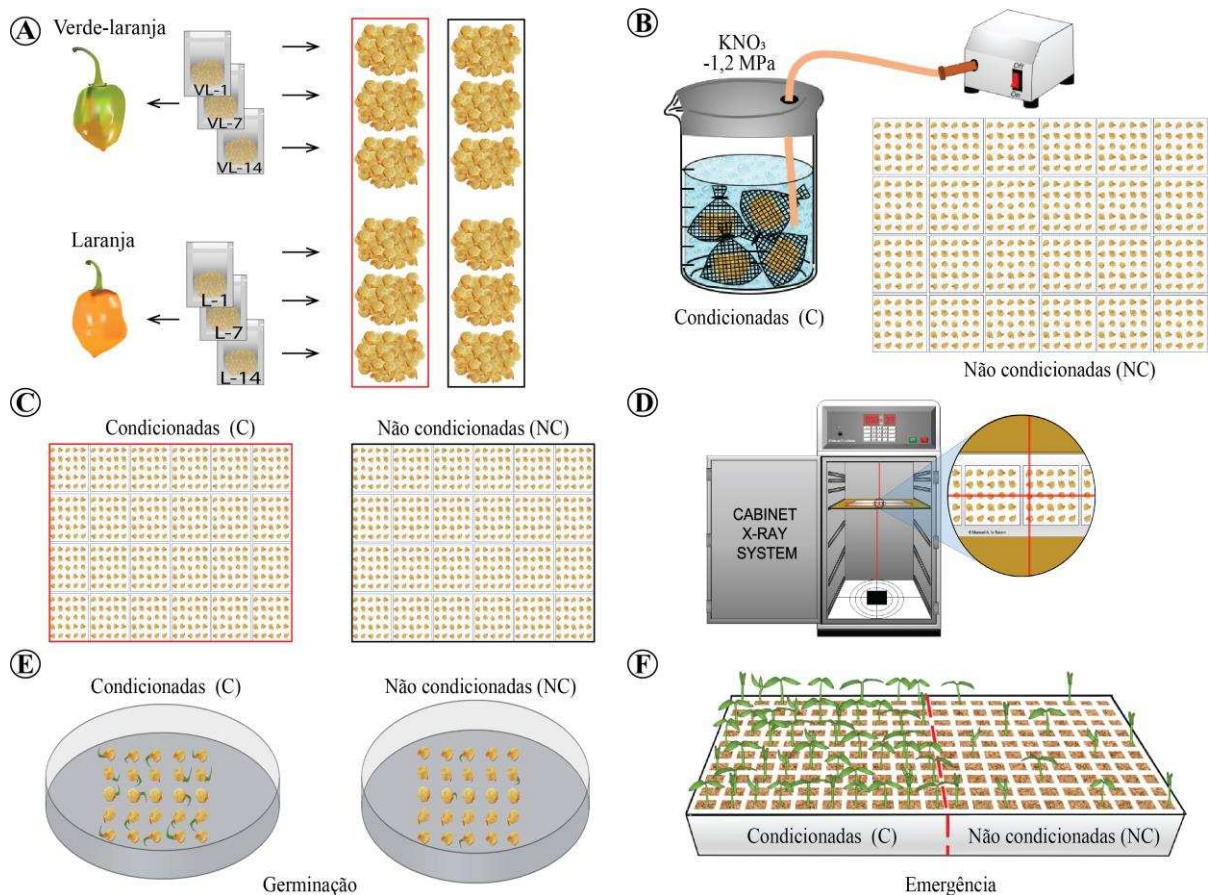


Figura 1. Estratégia experimental para avaliar a qualidade fisiológica das sementes de pimenta Habanero Mayapán com e sem condicionamento. A) Frutos colhidos em estádios de maturação verde-laranja e laranja e armazenados por 1, 7 e 14 dias. B) Sementes condicionadas em solução de KNO_3 a $-1,2$ MPa e sementes não condicionadas. C) Sementes organizadas sobre plástico adesivo previamente à análise de raios X. D) Sementes C e NC submetidas à análise de raios X. E) Teste de germinação sobre papel germitest. F) Teste de emergência em areia.

Teste de germinação e emergência

Para o teste de germinação foram utilizadas quatro repetições de 25 sementes. Para isso, as sementes foram colocadas em placa de Petri cobertas com duas folhas de papel Germitest umedecidas com água na proporção de 2,5 vezes o peso seco do papel (Fig. 1E). O número de sementes germinadas foi contabilizado diariamente. O critério estabelecido para sementes germinadas consistiu na visualização da protusão da radícula.

A partir dos dados diários de germinação foram calculadas a *porcentagem final de germinação*, por meio da fórmula $G = (n/N) \times 100$, em que, n é igual ao número de sementes germinadas, e N é o número total de sementes; o *índice de velocidade de germinação* (GSI), obtido com a fórmula $\sum_{i=1}^k (n_i/t_i)$, em que, n é o número de sementes germinadas diariamente desde a última contagem, e t é o número de dias após o início da primeira contagem. Ambas as variáveis foram obtidas com auxílio do pacote SeedCalc do R (Silva et al., 2019). Também foi calculada a *porcentagem de plântulas normais* ao final do teste de germinação, aos 14 dias. O critério utilizado para considerar uma plântula normal foi a presença de todas as estruturas essenciais bem desenvolvidas (hipocótilo, cotilédones e radícula). O *comprimento de plântulas* foi aferido por meio de análise de imagens obtidas ao final do teste com uma câmera digital. Essas imagens foram processadas no software imageJ[®], sendo determinado o comprimento de cada plântula desde o ápice até a ponta da radícula.

Para o teste de emergência de plântulas foram utilizadas 10 sementes por repetição, as quais foram semeadas em bandejas de poliestireno de 200 células usando areia como substrato (Fig. 1F). Inicialmente, a areia foi umedecida em 60% da capacidade máxima de retenção de água e posteriormente sempre que necessário. As bandejas foram mantidas em câmara de crescimento, com temperatura de 25 °C, umidade relativa de 70 %, sob luz branca obtida com lâmpadas fluorescentes de 50 W, em regime constante. O número de plântulas emergidas foi registrada diariamente. As plântulas foram contabilizadas como emergidas quando apareceu a alça cotiledonar acima da superfície do substrato.

Com os dados diários de emergência foram obtidas a *porcentagem final de emergência* com a fórmula $E = (n/N) \times 100$, em que, n é igual ao número de plântulas emergidas, e N é o número total de sementes; o *índice de velocidade de emergência* (ESI), com a fórmula $\sum_{i=1}^k (n_i/t_i)$, em que n é o número de plântulas emergidas diariamente desde a última contagem, e t é o número de dias após do início da primeira contagem. Ambas as variáveis foram

calculadas com auxílio do pacote SeedCalc do R (Silva et al., 2019). Também foram obtidas a *porcentagem de plântulas normais* no final do teste, aos 14 dias, e o *comprimento de plântulas*, seguindo os mesmos critérios descritos para o teste de germinação.

Análise estatística

O experimento foi estabelecido sob delineamento inteiramente casualizado com arranjo fatorial completo de 2 x 3 x 2, sendo avaliados dois estádios de maturação dos frutos, três tempos de armazenamento dos frutos antes da extração das sementes e dois tratamentos de condicionamento (Tabela 1), com quatro repetições para o teste de germinação e três para o teste de emergência. Antes de realizar a ANOVA foram avaliadas as pressuposições de normalidade dos erros e homocedasticidade por meio dos testes Shapiro-Wilk e Levene, respectivamente. As variáveis em porcentagem foram transformadas com a função arco seno $\sqrt{x/100}$. As médias dos dados não transformados foram apresentadas com a comparação de médias dos dados transformados.

A análise estatística e o teste de comparação de médias de Tukey ($p < 0.05$) foram realizadas com o pacote ExpDes.pt (Ferreira et al., 2014) do software R. Também foi realizada a análise de componentes principais (PCA) com o pacote FactoExtra (Kassambara and Mundt, 2020). Todas as análises estatísticas foram realizadas com o software R versão 3.6.0 (R Core Team, 2019).

RESULTADOS

A área e o perímetro das sementes extraídas de frutos laranjas (L) foram maiores quando comparadas com as sementes extraídas dos verde-laranja (VL) (Fig. 2A, 2B, barras pretas). Por outro lado, as sementes não condicionadas (NC) apresentaram maior área e perímetro quando comparadas com as sementes osmocodicionadas (C) (Fig. 2A, 2B, barras cinzas).

As variáveis densidade relativa e densidade integrada das sementes tiveram a mesma tendência que as variáveis acima descritas, sendo as sementes dos frutos laranjas (L) as que apresentaram maior densidade relativa e densidade integrada (Fig. 2C, 2D, barras pretas). Já as sementes armazenadas dentro dos frutos por 14 dias antes de sua extração apresentaram maior densidade relativa e integrada (Fig. 2C, 2D, barras cinzas).

O preenchimento da semente apresentou interação dupla significativa, de maneira que quando foram avaliados os estádios de maturação dentro dos tempos de armazenamento, foi

observado que as sementes mais preenchidas foram obtidas dos frutos laranjas armazenados durante 1 e 7 dias (Fig. 2E). Por outro lado, quando foram avaliados os tempos de armazenamento dentro dos estádios de maturação, as sementes extraídas dos frutos verde-laranja (VL) e armazenados por 14 dias dentro do fruto tiveram maior preenchimento, enquanto as sementes dos frutos laranjas (L) não apresentaram variação no grau de preenchimento nos diferentes tempos de armazenamento (Fig. 2F).

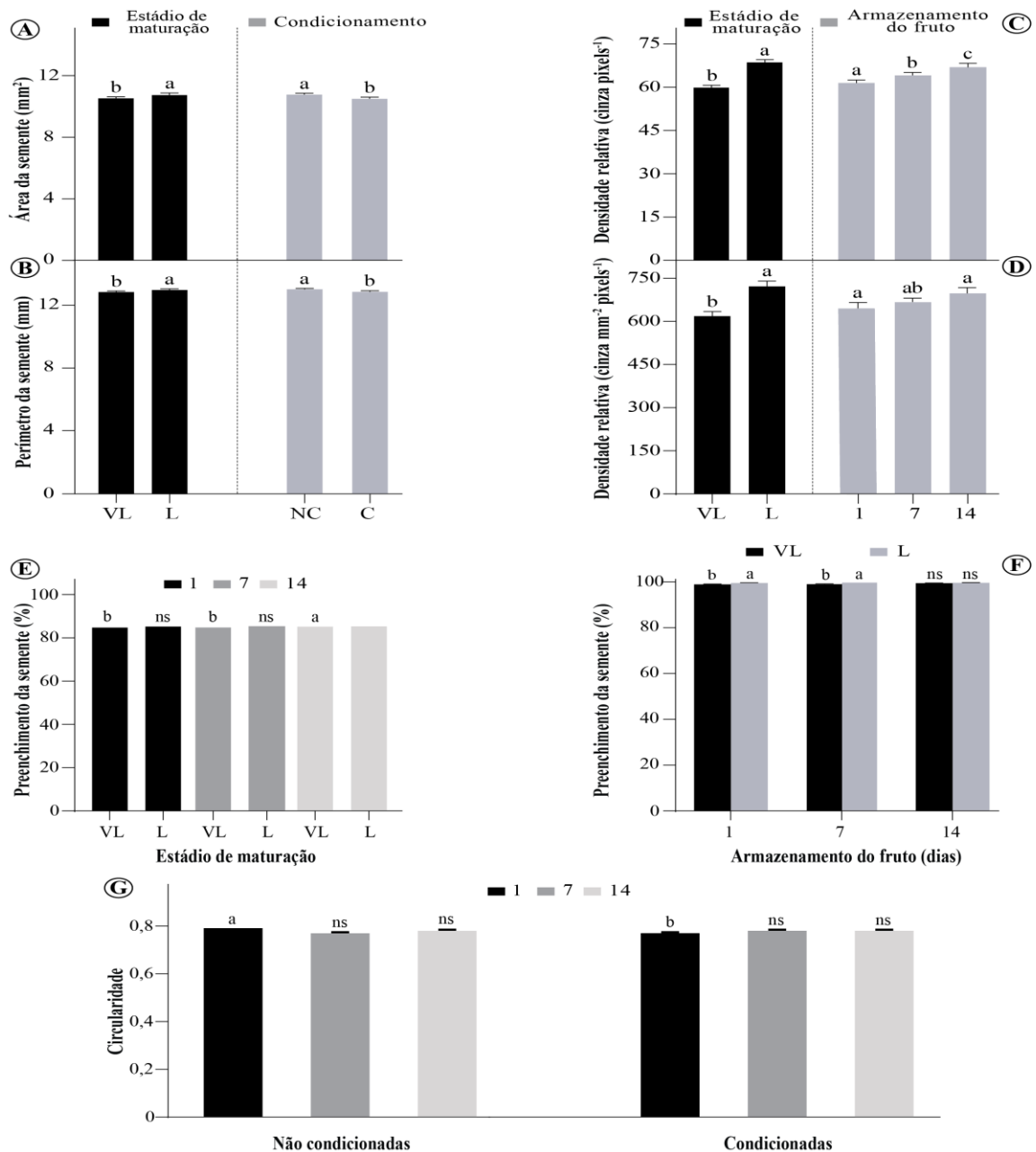


Figura 2. Atributos físicos de sementes de pimenta habanero colhidas em dois estádios de maturação (VL: verde-laranja e L: Laranja), armazenadas no fruto por três períodos antes da extração (1, 7 e 14 dias) e submetidas ao condicionamento osmótico com solução de KNO₃ (C: condicionadas, NC: Não condicionadas).

Para a circularidade da semente foi obtida interação dupla significativa entre o condicionamento osmótico com os tempos de armazenamento do fruto. Desta forma, as sementes não condicionadas e armazenadas por apenas um dia antes de serem extraídas dos frutos foram as que tiveram formato mais arredondo. Por outro lado, o condicionamento osmótico parece não ter causado modificações na circularidade das sementes armazenadas durante 7 e 14 dias (Fig. G).

Na Figura 3 é possível notar visualmente as diferenças entre as sementes extraídas dos frutos maduros (laranja) e armazenadas por 1 e 14 dias, submetidas e não submetidas ao condicionamento osmótico. As sementes não condicionadas apresentam maior densidade, não sendo possível a visualização do eixo embrionário na radiografia. Por outro lado, as sementes condicionadas apresentaram maior degradação do endosperma, e assim, essas sementes apresentaram menor densidade tecidual.

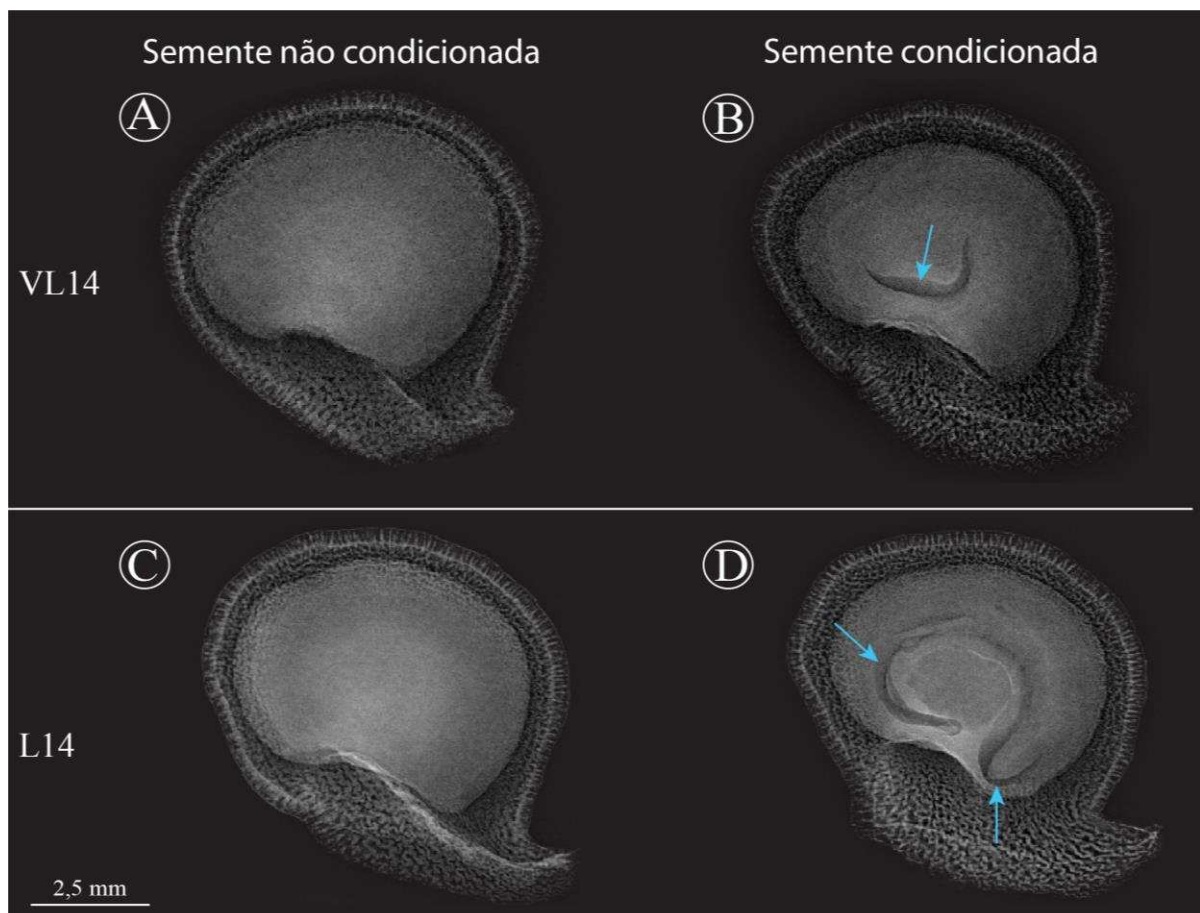


Figura 3. Ilustração de sementes de pimenta habanero Mayapán. **A-C)** Sementes não condicionadas obtidas de frutos verde-laranja (VL) e laranja (L) com 14 dias de armazenamento. **B-D)** Sementes condicionadas de frutos verde-laranja (VL) e laranja (L) com 14 dias de armazenamento. Setas azuis mostram sinais consumo do endosperma em sementes condicionadas de frutos VL e L.

A colheita dos frutos no estágio laranja contribuiu para a obtenção de sementes com maior qualidade fisiológica (Fig. 4). Assim, as sementes extraídas desses frutos apresentaram maiores porcentagens de germinação e de plântulas normais, velocidade de germinação e comprimento de plântulas, independentemente se condicionada ou não e do período de armazenamento das sementes nos frutos.

Em geral, o armazenamento das sementes dentro dos frutos contribuiu para o aumento da qualidade das sementes (Fig. 4). Os maiores valores de germinação, velocidade de germinação, porcentagem de plântulas normais e comprimento de plântulas foram obtidos para as sementes que ficaram armazenadas nos frutos por 14 dias.

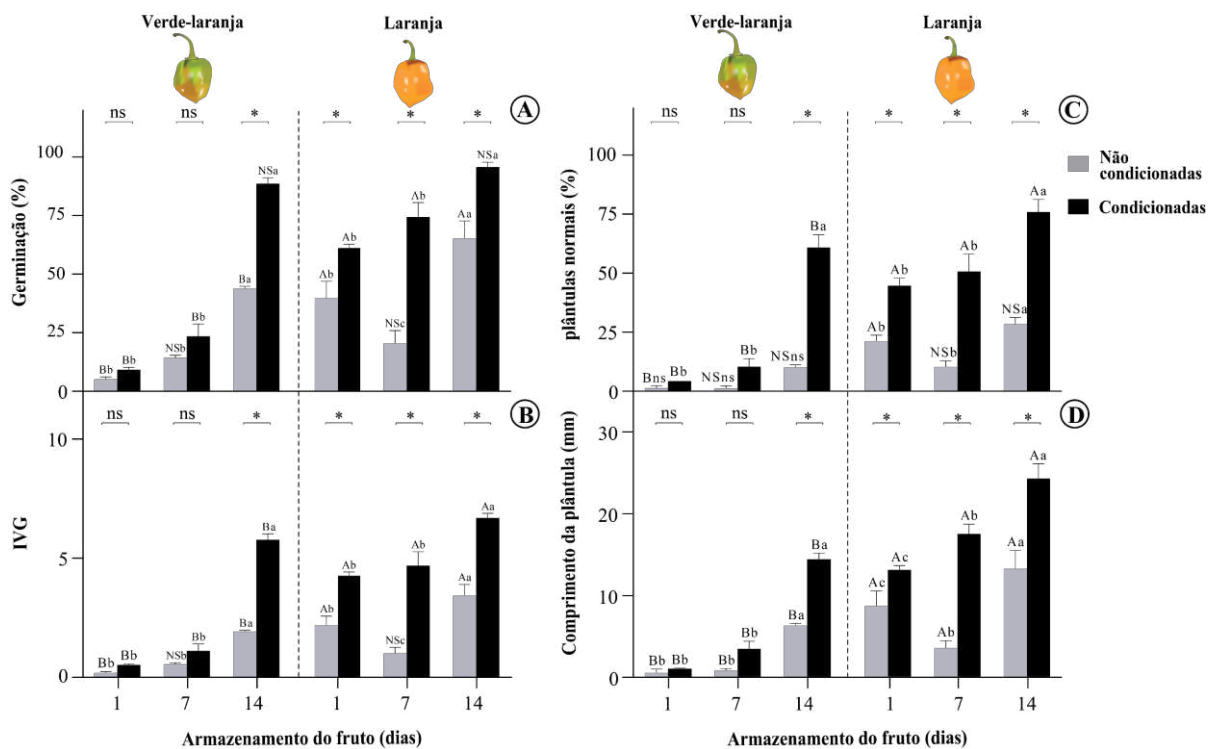


Figura 4. Qualidade fisiológica de sementes de pimenta Habanero colhidas em dois estádios de maturação (VL: verde-laranja e L: laranja), armazenadas no fruto por três períodos antes da extração (1, 7, 14 dias) e submetidas a condicionamento (C) e não condicionadas (NC), A: porcentagem de germinação, B: índice da velocidade de germinação (IVG), C: porcentagem de plântulas normais, D: comprimento da plântula. Letras maiúsculas comparam os estádios de maturação entre cada tempo de armazenamento e condicionamento. Letras minúsculas camparam os tempos de armazenamento dentro de cada estágio de maturação e condicionamento. */ns comparam o condicionamento dentro de cada estágio de maturação e tempo de armazenamento. As letras diferentes indicam diferenças significativas ao nível do 0,05 entre os tratamentos determinado pelo teste Tukey. NS/ns: indicam ausência de significância. As barras verticais representam o erro padrão da média de quatro repetições (n = 25).

Por fim, o condicionamento das sementes com KNO_3 foi benéfico para a qualidade das sementes (Fig. 4). Em geral, foram obtidos incrementos em todas as variáveis de germinação comparando-se as sementes condicionadas e não condicionadas, independente do período de armazenamento dos frutos. Exceção foi observada apenas para as sementes extraídas de frutos verde-laranjas, sendo que o condicionamento não contribuiu para o aumento da qualidade fisiológica dessas sementes.

Resultados semelhantes aos de germinação foram obtidos para as variáveis de emergência de plântulas (Fig. 5). Os maiores valores de porcentagem de emergência, de plântulas normais no teste de emergência e velocidade de emergência foram observadas para as sementes extraídas de frutos laranjas.

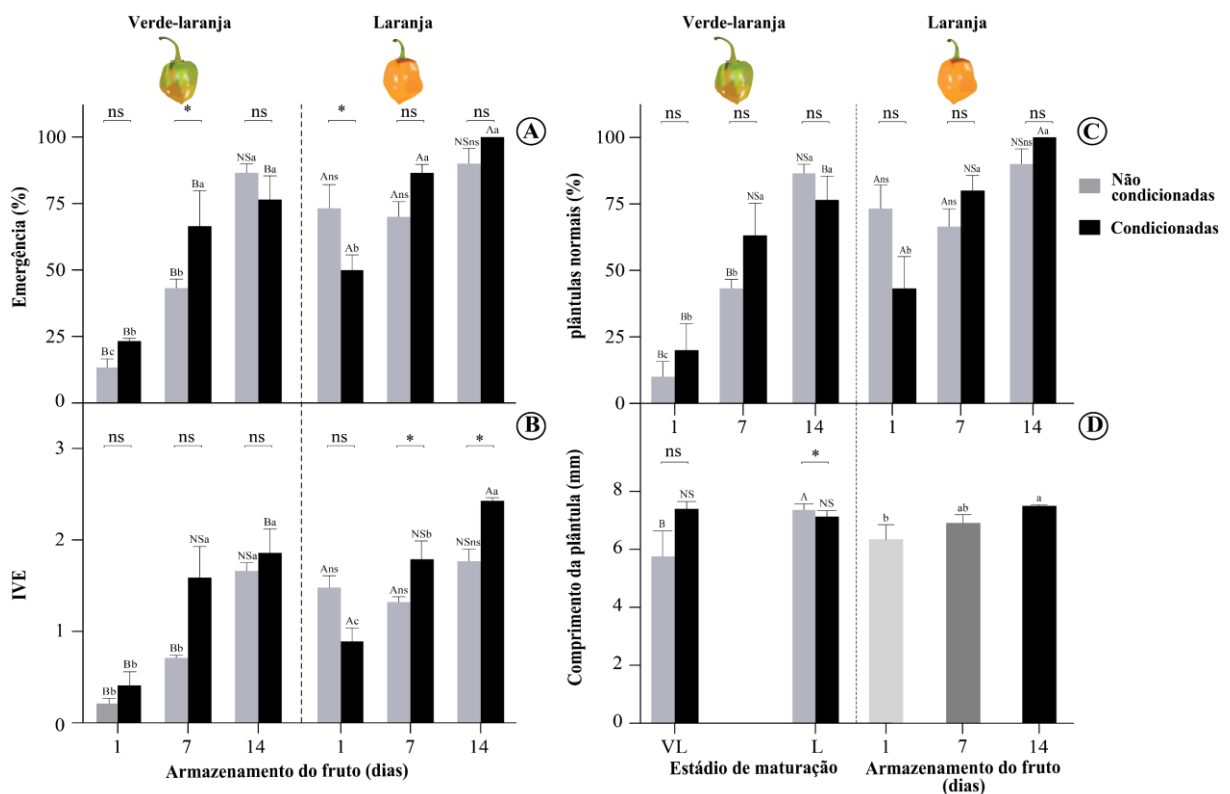


Figura 5. Emergência de sementes de pimenta Habanero colhidas em dois estádios de maturação (VL: verde-laranja e L: laranja), armazenadas no fruto por três períodos antes da extração (1, 7 e 14 dias) e submetidas a condicionamento (C) e não condicionadas (NC). **A:** porcentagem de emergência, **B:** índice de velocidade de emergência (IVE), **C:** porcentagem de plântulas normais, **D:** comprimento de plântula. Letras maiúsculas comparam os estádios de maturação entre cada tempo de armazenamento e condicionamento. Letras minúsculas camparam os tempos de armazenamento dentro de cada estádio de maturação e condicionamento. */ns comparam o condicionamento dentro de cada estádio de maturação e tempo de armazenamento. As letras diferentes indicam diferenças significativas ao nível do 0,05 entre os tratamentos determinado pelo teste Tukey. NS/ns: indicam ausência de significância. As barras verticais representam o erro padrão da média de três repetições (n = 10).

Em geral, não houve influência do condicionamento das sementes nas variáveis de emergência, com exceção apenas para a porcentagem de emergência das sementes extraídas de frutos verde-laranjas e armazenadas por sete dias dentro dos frutos e das sementes extraídas de frutos laranjas e armazenadas por apenas um dia (Fig. 3A). Nestas condições, o condicionamento das sementes contribuiu para melhorar o desempenho das sementes. Além disso, houve aumento da velocidade de emergência de plântulas após o condicionamento das sementes extraídas de frutos laranjas e armazenadas nos frutos por sete e 14 dias (Fig. 3B).

Para o comprimento de plântulas houve interação significativa apenas entre os estádios de maturação e o condicionamento das sementes (Fig. 3D). Para esta característica, os maiores valores foram obtidos para as sementes dos frutos laranja não condicionadas, sendo que com o condicionamento das sementes, esta diferença não foi observada. Quanto aos períodos de armazenamento, o armazenamento das sementes dentro dos frutos por 14 dias contribuiu para o aumento do vigor das plântulas.

A fim de resumir o efeito dos tratamentos sobre a qualidade física e fisiológica das sementes foi aplicada a análise de componentes principais. Os dois primeiros componentes explicaram 83% da variabilidade total dos dados, correspondendo 65,8% ao PC1, e 17,4% ao componente PC2. Os atributos físicos, com exceção da área (AR) e perímetro (PR), e fisiológicos foram os que mais contribuíram para o componente PC1, destacando-se o comprimento da plântula (GSL), enquanto os atributos área e perímetro contribuíram mais para o componente PC2, salientando-se a área (Fig. 6).

Também foi notório que o tratamento L14C destacou dos demais. Para este tratamento foi obtida correlação positiva com todos os atributos de germinação, além de atributos físicos como densidade integrada (ID), área (AR) e perímetro (PR). Em contraste, os tratamentos VL1NC e VL1C apresentaram correlação negativa com os atributos de emergência, densidade relativa (RD) e preenchimento da semente (SF), confirmando-os como os tratamentos com sementes de menor qualidade (Fig. 4, 5). Além disso, os vetores de qualidade fisiológica (germinação e emergência), bem como os vetores de atributos físicos, como integridade relativa, integrada e preenchimento da semente tiveram correlação positiva e apontaram na mesma direção, o que evidencia a maior qualidade das sementes localizadas próxima à esse vetores. Assim, a colheita de frutos no estádio laranja (L) ou verde-laranja (VL) e o armazenamento por 14 dias antes da extração das sementes, seguido do condicionamento

osmótico com solução de KNO_3 contribuíram para a obtenção de sementes de maior qualidade física e fisiológica (Fig. 2, 4, 5).

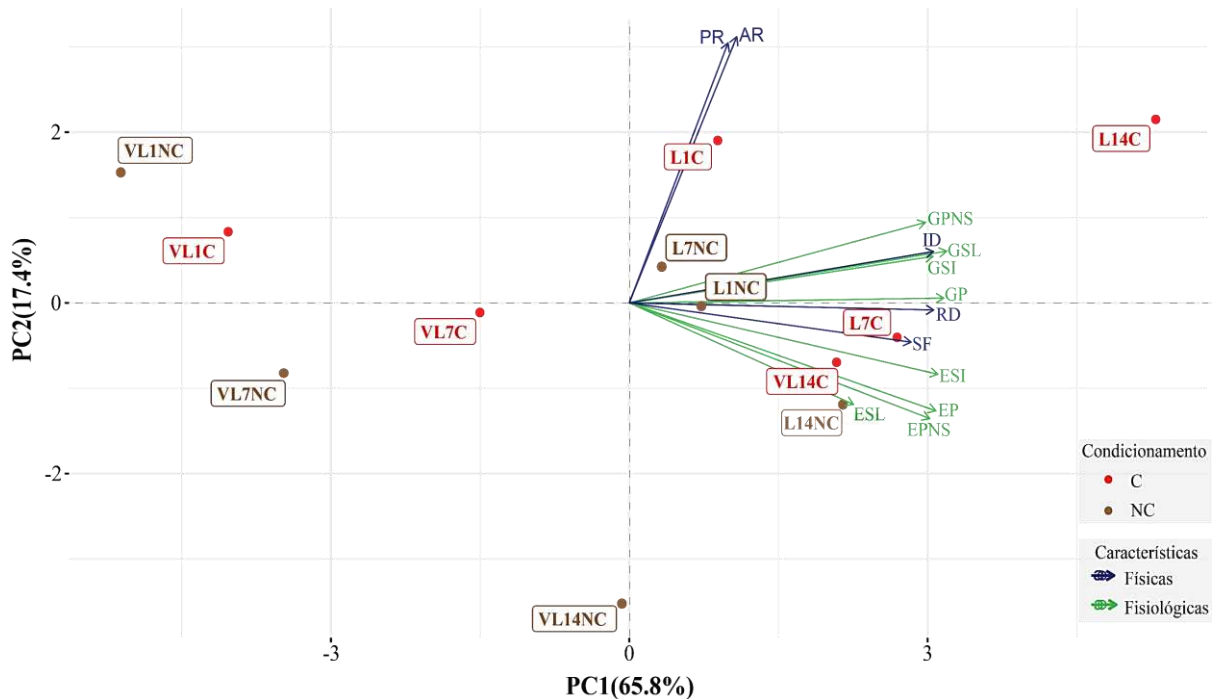


Figura 6. Diagrama de indivíduos e variáveis mostrando a relação entre as características físicas e fisiológicas das sementes de acordo com o estágio de maturação, período de armazenamento dos frutos e condicionamento das sementes. PC1: componente principal 1; PC2: componente principal 2. ID: densidade integrada; RD: densidade relativa; SF: preenchimento da semente; AR: área da semente; PR: perímetro da semente; GP: porcentagem de germinação; GSL: comprimento de plântulas normais da germinação; GSI: índice de velocidade da germinação; GPNS: porcentagem de plântulas normais da germinação; EP: porcentagem de emergência; ESL: comprimento de plântula de emergência; ESI: índice de velocidade de emergência; EPNS: porcentagem de plântulas normais de emergência. C: sementes condicionadas; NC: sementes não condicionadas.

Em resumo, as sementes de pimenta Habanero armazenadas por 14 dias dentro dos frutos e condicionadas com KNO_3 a $-1,2$ MPa por três dias, mostraram aumento considerável na qualidade física e fisiológica. Em geral, os tratamentos L14C e VL14C apresentaram maiores valores nos atributos físicos, de germinação e de emergência, embora o efeito mais evidente tenha sido observado nos atributos da germinação. Além disso, foi evidente que esses tratamentos (sobretudo o tratamento L14C) apresentaram os maiores valores de área, perímetro, densidade relativa, integrada e preenchimento da semente.

DISCUSSÃO

No presente estudo, o problema da germinação lenta e a emergência desuniforme constatada em sementes recém-colhidas de pimenta Habanero foi enfrentado com estratégias

combinadas como *colheita de frutos em diferentes estádios de maturação*, cuja finalidade é identificar a fase de colheita mais apropriada para obter sementes com maior qualidade (Ayala-Villegas et al., 2014); *armazenamento de frutos antes da extração das sementes*, a qual permite que as sementes continuem seu desenvolvimento e maturação dentro do fruto colhido e reduzam o seu nível de dormência (Medeiros et al., 2020); e *condicionamento osmótico das sementes*, técnica que uniformiza a germinação ao induzir o reparo do DNA, aumento da síntese de mRNA e proteínas, e maior atividade respiratória, que resultam na germinação mais rápida e estande mais uniforme de plântulas em campo (Farooq et al., 2019).

O presente trabalho demonstrou que as sementes extraídas de frutos laranjas (L) apresentaram maior área, perímetro, densidade relativa, densidade integrada e preenchimento (Fig. 2). O maior tamanho e qualidade tecidual dessas sementes pode estar relacionado com o maior grau de maturação e deposição de reservas quando comparadas com as sementes dos frutos verde-laranja (VL) (Bewley et al., 2013; Vicente-Carbajosa and Carbonero, 2005), como foi evidenciado nas imagens de raios X, em que as sementes maduras apresentaram maior preenchimento (Fig. 3). Por outro lado, a menor área e perímetro das sementes condicionadas (C) quando comparadas com as não condicionadas (NC), pode ser devido ao consumo inicial das reservas e translocação para o eixo embrionário durante o condicionamento (Fig. 3) (Farooq et al., 2019).

Também foi observado que as sementes armazenadas por mais tempo dentro do fruto, antes da extração, apresentaram maior qualidade tecidual, ou seja, maior densidade relativa, densidade integrada e preenchimento (Fig. 2C, 2D, 2E, 2F). Estas observações confirmam a hipótese de que enquanto as sementes permanecem dentro dos frutos mesmo após colhidos, continua havendo translocação de reservas às sementes, o que permite que alcancem sua maturação (Murugesam and Vanangamudi, 2005), como foi reportado em sementes de pimenta guajillo e ancho (Martínez-Muñoz et al., 2019) e pimenta habanero (Medeiros et al., 2020).

A maior circularidade foi observada nas sementes não condicionadas (NC) e armazenadas dentro do fruto por um dia. Esse resultado pode estar relacionado com o maior conteúdo de água das sementes recém colhidas que ficam mais túrgidas. Mas, conforme essas sementes ficam mais tempo armazenadas dentro dos frutos, o teor de água é reduzido e há maior acúmulo de reservas, resultando na redução do tamanho, como foi também observado em pimenta guajillo e ancho (Martínez-Muñoz et al., 2019).

O presente trabalho demonstrou o efeito positivo da combinação das estratégias antes mencionadas para a melhoria da qualidade fisiológica das sementes de pimenta habanero. A maior qualidade das sementes foi obtida quando essas foram armazenadas por 14 dias dentro dos frutos verde-laranjas e laranjas, e condicionadas com KNO_3 (VL14C e L14C) (Fig. 4, 5). Além disso, as sementes desses tratamentos foram caracterizadas por sua maior qualidade tecidual (maior densidade relativa, integrada e preenchimento).

A germinação da semente e a emergência da plântula são fases essenciais no ciclo de vida de uma planta para assegurar a sobrevivência da espécie (Rajjou et al., 2012). Nas sementes de pimenta, ambos atributos são irregulares e estão associados à dormência (Randle and Honma, 1981). Especificamente em pimenta habanero, Medeiros et al. (2020) reportaram que sementes extraídas de frutos laranja (maduros) com sete e 14 dias de armazenamento obtiveram porcentagem de germinação de 65% e 73%, respectivamente. Já Mavi (2018) observou que as sementes de habanero tratadas com extrato de *Tagetes patula* L. tiveram aumento na emergência de plântulas ao passar de 49% a 71% após o condicionamento orgânico, enquanto a germinação foi de 52%. Em nossa pesquisa, o tratamento L14C permitiu a obtenção das maiores porcentagens de germinação e emergência, com valores de 94% e 100%, respectivamente (Fig. 4A, 5A). Esses valores estão acima do padrão mínimo de germinação de 85% requerido para a comercialização de sementes desta espécie (SNICS, 2014). Também foram observados elevados valores de germinação e emergência para as sementes extraídas de frutos verde-laranja (VL14C), que atingiram valores de 87% e 76%, respectivamente.

Em geral, as menores porcentagens de germinação e emergência observados nas sementes não condicionadas dos frutos verde-laranja e laranja (Fig. 4A, 5A) sugerem a presença de certo grau de dormência nessas sementes (Goro and Sinha, 2020) quando comparadas com as sementes condicionadas. O fato da porcentagem de emergência ter sido maior, indica que as condições de umidade e temperatura eram mais favoráveis para as sementes, se comparada às utilizadas no teste de germinação, por conta do maior contato das sementes com o substrato no teste de emergência em areia (Manohar and Heydecker, 1964).

Conforme é possível observar na Fig. 3, as sementes condicionadas tiveram maior consumo do endosperma. Em sementes de pimenta, a presença de uma barreira física ao crescimento do embrião, o endosperma micropilar, contribui para menor germinação dessas sementes (Finch-Savage and Leubner-Metzger, 2006). Portanto, com o condicionamento, a

degradação desse tecido contribui para a maior porcentagem de germinação das sementes, conforme foi observado no presente estudo.

Em geral, foi observada melhor performance das sementes dos frutos laranjas em relação aos frutos verde-laranjas. Em estádios mais avançados de maturação, ocorre maior expressão de enzimas ligadas à germinação nas sementes, como a endo- β -mananase, responsável pelo amolecimento do endosperma que envolve o embrião de sementes de pimenta habanero (Queiroz et al., 2011). Por isso, quanto mais maduro é o fruto, menor é o grau de dormência, permitindo maior porcentagem, uniformidade e velocidade de germinação (Medeiros et al., 2020). Além disso, foi observado aumento na germinação e no vigor das sementes com o condicionamento utilizando-se KNO_3 . O NO_3^- é um sinalizador na superação de dormência de sementes, e parece desencadear a diminuição do hormônio ácido abscísico (ABA) pela ativação do gene CYP707A2 (Duermeyer et al., 2018; Matilla et al., 2015), o que traz como consequência o incremento da giberelina (GA), fito-hormônio relacionado com a germinação das sementes (Bewley et al., 2013). Esse mecanismo pode estar ligado à superação da dormência das sementes de pimenta habanero no presente trabalho.

O índice de velocidade de germinação das sementes (IVG) e o índice de velocidade de emergência de plântulas (IVE) são características avaliadas para determinar o vigor das sementes (Ranal and Santana, 2006). Em nosso estudo, as sementes do tratamento L14C apresentaram maiores GSI e ESI (Figuras 4B e 5B). Trabalhos anteriores demonstram os efeitos do grau de maturação dos frutos e do armazenamento das sementes no aumento do vigor. Nesse sentido, Martínez-Muñoz et al. (2019), em estudo com sementes de pimenta ancho e guajillo (*Capsicum annum* L.), obtiveram sementes com maior qualidade fisiológica quando colhidas aos 80 dias após antese e armazenados por 14 dias. Por outro lado, Alcalá-Rico et al. (2019) reportaram que as sementes de frutos maduros de *Capsicum annum* var. *glabriusculum* apresentaram melhor desempenho na germinação após o condicionamento com ácido giberélico a 5000 ppm por 24 h. Desta forma, tem-se obtido efeitos benéficos do condicionamento sobre algumas características das sementes, conforme observado no nosso trabalho. O condicionamento osmótico consiste na hidratação controlada da semente, e resulta no incremento da velocidade e uniformidade da germinação e emergência ao induzir a síntese de *novo* e reparo do DNA, aumentar a síntese de mRNA, proteínas e a atividade respiratória (Farooq et al., 2019; Paparella et al., 2015). Além disso, Quintero et al. (2018) observaram que o condicionamento osmótico diminuiu o nível de capsaicina, metabólito secundário que tem

sido sugerido como inibidor da germinação de pimenta (Barchenger e Bosland, 2016; Kato-Noguchi e Tanaka, 2004).

Uma plântula normal (NS) é aquela que apresenta todas as estruturas essenciais que são necessárias para produzir uma planta bem desenvolvida sob condições favoráveis (Elias et al., 2012). Em nosso estudo, o tratamento L14C mostrou a maior porcentagem de plântula normal (%NS), tanto no teste de germinação (75%), quanto no teste de emergência (100%) (Fig. 4C, 5C). Resultados similares foram reportados por Quintero et al. (2018) ao obter 90% de plântulas normais em pimenta piquin (*Capsicum annuum* var. *glabriusculum*), a partir de sementes condicionadas com solução de KNO_3 a 3%. O fato de não ter sido observado diferenças na %NS entre sementes não condicionadas e condicionadas no atributo de emergência (Fig. 5C), indica que a imersão das sementes na solução osmótica de KNO_3 não foi deletério, ou seja, não originou efeitos tóxicos na célula que impediram o desenvolvimento de plântulas normais (Çavuşoğlu et al., 2017; Goro and Sinha, 2020).

O comprimento de plântula (SL) é um atributo quantitativo do vigor da semente baseado no crescimento da plântula (Ranal and Santana, 2006). O efeito combinado do estágio de maturação, armazenamento no fruto e condicionamento das sementes contribuiu para a germinação mais rápida e maior crescimento de plântula. Nesse sentido, o KNO_3 atua como sinalizador para o consumo mais rápido do endosperma de pimenta pela ação da enzima endo- β -mannase (Quintero et al., 2018). Além disso, sua presença ativa as enzimas nitrato redutase e nitrito redutase, encarregadas de catabolizar o nitrato até amônia e sintetizar aminoácidos e proteínas, que serão utilizadas para iniciar e sustentar o crescimento embrionário durante o processo de germinação, como foi reportado em sementes de *Arabidopsis* (Duermeyer et al., 2018).

Em nossa pesquisa, no tratamento L14C obteve-se o maior comprimento de plântulas e foi observada relação direta com o maior índice de velocidade de germinação (Fig. 4B), já que ao germinar mais rápido seu comprimento foi maior na avaliação final (14 dias) (Fig. 4D). Além disso, foi evidente que o comprimento da plântula foi incrementando com o armazenamento prologando dos frutos verde-laranja e laranja, aliado ao condicionamento das sementes (Fig. 4D). Na emergência, o efeito do condicionamento foi observado apenas para as sementes de frutos verde-laranjas (Fig. 5D).

A análise de componentes principais (PCA) dos atributos físicos e fisiológicos das sementes confirmou que as sementes dos tratamentos VL14C e L14C mostraram maior integridade tecidual e maior qualidade fisiológica (Fig. 6). Nesse sentido, Medeiros et al. (2020) reportaram que as sementes de pimenta Habanero armazenadas dentro dos frutos por 7 e 14 dias tiveram maior densidade relativa, densidade integrada e preenchimento. Esses resultados indicam que as sementes obtidas dos frutos laranja e verde-laranja, durante o armazenamento dos frutos poderiam completar o processo de maturação. Nesse sentido, é sabido que os frutos carnosos, como a pimenta, continuam a translocação de reservas dos frutos para as sementes até atingirem a maturidade fisiológica (Murugesam and Vanangamudi, 2005). Por isso, as sementes armazenadas dentro dos frutos apresentaram aumento na densidade relativa, integrada e no preenchimento (Fig. 2C, 2D, 2F), aliado ao aumento na qualidade fisiológica (Fig. 4, 5). Esse incremento na qualidade das sementes de pimenta habanero após o armazenamento dentro dos frutos por períodos de 14 dias antes da sua extração (Medeiros et al., 2020) ou condicionadas com KNO_3 (Garruña-Hernández et al., 2014) já foram previamente reportados, e podem estar associados à superação da dormência das sementes sob essas condições (Mavi, 2018).

Este estudo oferece um antecedente para futuras pesquisas em sementes de espécies de pimenta com irregularidades na germinação, onde a adoção de cada uma das estratégias (maturação ideal para a colheita dos frutos, armazenamento dos frutos antes da extração das sementes e condicionamento osmótico das sementes) individualmente não fornece resultados satisfatórios para atingir o padrão de germinação recomendado para a comercialização das sementes.

CONCLUSÕES

O presente estudo confirmou a hipótese de que a combinação de estádios de maturação mais avançados, armazenamento das sementes dentro dos frutos por períodos de 14 dias e o condicionamento das sementes com KNO_3 potencializam a qualidade física e fisiológica das sementes de pimenta habanero.

Recomenda-se a colheita dos frutos com coloração verde-laranja ou laranja, seguido do armazenamento por 14 dias e o condicionamento das sementes em solução -1.2 MPa de KNO_3 por três dias em solução aerada.

REFERÊNCIAS

- ALCALÁ-RICO, J.S.G.J.; LÓPEZ-BENÍTEZ, A.; VÁZQUEZ-BADILLO, M.E.; SÁNCHEZ-ASPEYTIA, D.; RODRÍGUEZ-HERRERA, S.A.; PÉREZ-RODRÍGUEZ, M.Á.; RAMÍREZ-GODINA, F., 2019. Seed physiological potential of capsicum annum var. glabriusculum genotypes and their answers to pre-germination treatments. **Agronomy**, v. 9, p. 1-12. <https://doi.org/10.3390/agronomy9060325>.
- AYALA-VILLEGAS, M.J.; AYALA-GARAY, Ó.J.; AGUILAR-RINCÓN, V.H.; CORONA-TORRES, T., 2014. EVOLUCIÓN DE LA CALIDAD DE SEMILLA DE *Capsicum annum* L. DURANTE SU DESARROLLO EN EL FRUTO. **Revista Fitotecnia Mexicana**, v. 37, p. 79. <https://doi.org/10.35196/rfm.2014.1.79>.
- BARCHENGER, D.W.; BOSLAND, P.W., 2016. Exogenous applications of capsaicin inhibits seed germination of *Capsicum annum*. **Scientia Horticulturae**, v. 203, p. 29–31. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2016.03.009>.
- BEWLEY, J.D.; BRADFORD, K.J.; HILHORST, H.V.M.; NONOGAKI, H., 2013. Seeds physiology of development germination and dormancy, 3rd ed. Springer New York Heidelberg.
- CAIXETA, F.; PINHO, É.V.D.R. VON; GUIMARÃES, R.M.; PEREIRA, P.H.A.R.; CATÃO, H.C.R.M., 2014. Physiological and biochemical alterations during germination and storage of habanero pepper seeds. **African Journal of Agricultural Research**, v. 9, p. 627–635. <https://doi.org/10.5897/AJAR2013.7133>.
- ÇAVUŞOĞLU, K.; CADIL, S.; ÇAVUŞOĞLU, D., 2017. Role of Potassium Nitrate (KNO₃) in Alleviation of Detrimental Effects of Salt Stress on Some Physiological and Cytogenetical Parameters in *Allium cepa* L. **Cytologia**, v. 82, p. 279–286. <https://doi.org/10.1508/cytologia.82.279>.
- DUERMEYER, L.; KHODAPANAH, E.; YAN, D.; KRAPP, A.; ROTHSTEIN, S.J.; NAMBARA, E., 2018. Regulation of seed dormancy and germination by nitrate. **Seed Science Research**, v. 28, p. 150–157. <https://doi.org/10.1017/S096025851800020X>.
- ELIAS, S.G.; COPELAND, L.O.; McDONALD, M.B.; BAALBAKI, R.Z., 2012. Seed Testing: Principles and Practices, Crop Science. Michigan. <https://doi.org/10.2135/cropsci2012.12.0003br>.

- EPAMIG, 2006. Produção de sementes de pimentas. **Informe Agropecuário**, v. 27, p. 1–108. <https://doi.org/ISSN 0100-3364>.
- FABELA-MORÓN, M.F.; CUEVAS-BERNARDINO, J.C.; AYORA-TALAVERA, T.; PACHECO, N., 2019. Trends in Capsaicinoids Extraction from Habanero Chili Pepper (*Capsicum Chinense* Jacq.): Recent Advanced Techniques. **Food Reviews International**, v. 36, p. 105–134. <https://doi.org/10.1080/87559129.2019.1630635>.
- FAROOQ, M.; USMAN, M.; NADEEM, F.; REHMAN, H.U.; WAHID, A.; BASRA, S.M.A.; SIDDIQUE, K.H.M., 2019. Seed priming in field crops: potential benefits, adoption and challenges. **Crop and Pasture Science**, v. 70, p. 731-771. <https://doi.org/10.1071/CP18604>.
- FERREIRA, E.B.; CAVALCANTI, P.P.; NOGUEIRA, D.A., 2014. ExpDes: An R Package for ANOVA and Experimental Designs. **Applied Mathematics**, v. 05, p. 2952–2958. <https://doi.org/10.4236/am.2014.519280>.
- FERREIRA, T.; RASBAND, W., 2012. ImageJ User Guide. **Image J user Guide**, v. 1.46r. <https://doi.org/10.1038/nmeth.2019>.
- FINCH-SAVAGE, W.E.; LEUBNER-METZGER, G., 2006. Seed dormancy and the control of germination. **New Phytologist**, v. 171, p. 501–523. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2006.01787.x>.
- GARRUÑA-HERNÁNDEZ, R.; LATOURNERIE-MORENO, L.; AYALA-GARAY, O.; SANTAMARÍA, J.M.; PINZÓN-LÓPEZ, L., 2014. Pre-sowing treatments: An option to increase germination of habanero pepper seeds (*Capsicum chinense* Jacq.). **Agrociencia**, v. 48, p. 413–423.
- GORO, M.G.; SINHA, V.B., 2020. Seed germination responses for varying KNO₃ and NaNO₃ stress in *Trifolium alexandrinum*. L cultivars. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 25, p. 1-5. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101618>.
- HILLEL, D., 1971. *Soil and Water: Physical Principles and Processes*, Soil and Water Physical Principles and Process. New York: Academic Press.
- KATO-NOGUCHI, H.; TANAKA, Y., 2004. Effects of Capsaicin on Plant Growth. **Biologia Plantarum**, v. 47, p. 157–159. <https://doi.org/10.1023/A:1027317906839>.
- MANOHAR, M.; HEYDECKER, W., 1964. Effects of Water Potential on Germination of Pea Seeds. **Nature**, v. 202, p. 22–24. <https://doi.org/10.1038/202022a0>.

- MARTÍNEZ-MUÑOZ, M.; AYALA-GARAY, Ó.J.; AGUILAR-RINCÓN, V.H.; CONDE-MARTÍNEZ, V.; CORONA-TORRES, T., 2019. Seed quality and LEA-protein expression in relation to fruit maturation and post-harvest storage of two chilies types. **Horticulture Journal**, v. 88, p. 245–252. <https://doi.org/10.2503/hortj.UTD-044>.
- MATILLA, A.J.; CARRILLO-BARRAL, N.; RODRÍGUEZ-GACIO, M. DEL C., 2015. An Update on the Role of NCED and CYP707A ABA Metabolism Genes in Seed Dormancy Induction and the Response to After-Ripening and Nitrate. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 34, p. 274–293. <https://doi.org/10.1007/s00344-014-9464-7>.
- MAVI, K., 2018. Evaluation of organic priming to improve the emergence performance of domesticated Capsicum species. **Seed Science and Technology**, v. 46, p. 131–137. <https://doi.org/10.15258/sst.2018.46.1.13>.
- MEDEIROS, A.D.; ZAVALA-LEÓN, M.J.; DA SILVA, L.J.; OLIVEIRA, A.M.S.; DIAS, D.C.F. DOS S., 2020. Relationship between internal morphology and physiological quality of pepper seeds during fruit maturation and storage. **Agronomy Journal**, v. 112, p. 25–35. <https://doi.org/10.1002/agj2.20071>.
- MURUGESAM, P.; VANANGAMUDI, K., 2005. Effect of post harvest fruit storage on seed quality in Ash Gourd (*Benincasa hispida* (Thunb.) Cogn.). **Seed Research**, v. 33, p. 160–164.
- PAPARELLA, S.; ARAÚJO, S.S.; ROSSI, G.; WIJAYASINGHE, M.; CARBONERA, D.; BALESTRAZZI, A., 2015. Seed priming: state of the art and new perspectives. **Plant Cell Reports**, v. 34, p. 1281–1293. <https://doi.org/10.1007/s00299-015-1784-y>.
- QUEIROZ, L. APARECIDA F.; PINHO, É.V. DE R. VON; OLIVEIRA, J.A.; FERREIRA, V. DE F.; CARVALHO, B.O.; BUENO, A.C.R., 2011. Época de colheita e secagem na qualidade de sementes de pimenta Habanero Yellow. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 33, p. 472–481. <https://doi.org/10.1590/S0101-31222011000300010>.
- QUINTERO, M.F.; CASTILLO, O.G.; SÁNCHEZ, P.D.; MARÍN-SÁNCHEZ, J.; GUZMÁN, A.I.; SÁNCHEZ, A.; GUZMÁN, J.M., 2018. Relieving dormancy and improving germination of Piquín chili pepper (*Capsicum annum* var. *glabriusculum*) by priming techniques. **Cogent Food & Agriculture**, v. 4, p. 1–14. <https://doi.org/10.1080/23311932.2018.1550275>.
- R CORE TEAM, 2019. R Development Core Team. **R: A Language and Environment for**

Statistical Computing. <https://doi.org/http://www.R-project.org>.

- RAJOU, L.; DUVAL, M.; GALLARDO, K.; CATUSSE, J.; BALLY, J.; JOB, C.; JOB, D., 2012. Seed germination and vigor. **Annual Review of Plant Biology**, v. 63, p. 507–533. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-042811-105550>.
- RANAL, M.A.; SANTANA, D.G. DE, 2006. How and why to measure the germination process? **Revista Brasileira de Botânica**, v. 29, p. 1–11. <https://doi.org/10.1590/S0100-84042006000100002>.
- RANDLE, W.M.; HONMA, S., 1981. Dormancy in peppers. **Scientia Horticulturae**, v. 14, p. 19–25. [https://doi.org/10.1016/0304-4238\(81\)90074-1](https://doi.org/10.1016/0304-4238(81)90074-1).
- SILVA, L.J. DA; MEDEIROS, A.D. DE; OLIVEIRA, A.M.S., 2019. SeedCalc, a new automated R software tool for germination and seedling length data processing. **Journal of Seed Science**, v. 41, p. 250–257. <https://doi.org/10.1590/2317-1545v42n2217267>.
- SNICS, Servicio Nacional de Certificación e Inspección de semillas. 2014. Regla para la calificación de semilla de chile (*Capsicum* spp.). **SAGARPA**, p. 14. <https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/172407/Chile.pdf>.
- VIDIGAL, D. DE S.; DIAS, D.C.F. DOS S.; DIAS, L.A. DOS S.; FINGER, F.L., 2011. Changes in seed quality during fruit maturation of sweet pepper. **Scientia Agricola**, v. 68, p. 535–539. <https://doi.org/10.1590/S0103-90162011000500004>.
- VICENTE-CARBAJOSA, J.; CARBONERO, P., 2005. Seed maturation: developing an intrusive phase to accomplish a quiescent state. **The International Journal of Developmental Biology**, v. 49, p. 645–651. <https://doi.org/10.1387/ijdb.052046jc>.

CONCLUSÃO GERAL

Foi observada variabilidade entre as características físicas e fisiológicas das sementes dos 57 genótipos de pimenta *C. chinense*. Do total de genótipos avaliados, 15 apresentaram sementes com características físicas e fisiológicas favoráveis e podem ser utilizados em programas de melhoramento genético da espécie visando aumento da qualidade das sementes e com menores níveis de dormência.

Os genótipos tipo Habanero 3188 (BRA), 4507 (USA) e Mayapán (MX) tiveram a dormência superada aos seis meses de armazenamento em seco das sementes.

A colheita de frutos em cor verde-laranja ou laranja, seguido do armazenamento por 14 dias antes da extração das sementes, reduziram o nível de dormência nas sementes de Habanero.

As sementes de Habanero Mayapán (MX) extraídas de frutos verde-laranja ou laranja e armazenados por 14 dias em combinação com o condicionamento das sementes em solução de KNO_3 a -1,2 MPa durante três dias tiveram a dormência superada.

A CCA e CDA permitiram identificar as associações existentes entre as características físicas e fisiológicas das sementes de pimenta *Capsicum chinense* Jacq, sendo as sementes de Habanero extraídas dos frutos verde-laranja e laranja armazenados por sete e 14 dias as que apresentaram maiores características tanto físicas (densidade tecidual e preenchimento) como fisiológicas (sincronia de germinação e velocidade de germinação). O controle BRA-2 apresentou maior velocidade e sincronia de germinação e maior densidade tecidual.

ANEXO CAPÍTULO I

Tabela S1. Medidas da distância euclidiana entre pares dos acessos de pimenta *Capsicum chinense* Jacquin com baseada nos parâmetros físicos e de germinação das sementes.

G31	G3188	G3234	G3395	G40	G83	G3238	G16	G94	G3788	G3748	G14	G100	G86	G18	G84	G85	G62	G98	Gverm	G92	G93	Gmmar	G102	G103	G13	G77	G4507	G27	G82	G2821	G4607	G4549	G48	G3239	G11	G3772	G32	G3651	G7	Ghab	Ghig	G3233	G15	G21	G33	G280	G68	G53	G43	G2825	G101	G20	G4	G56	G36	G72
0	5.9	3.1	2.3	2.8	2.7	1.7	3.8	4.3	3.1	2.5	0.9	1.5	2.7	3.1	0.5	2.7	6.1	0.9	2.8	3.1	2.8	2.9	2.8	2.2	2.8	3.7	4.8	1.2	4	3.5	4.7	3.2	3.1	2.2	3.4	3.1	1.6	2	2	1.6	1.4	2.1	2.4	2.9	1.8	5.8	3.6	2.9	2.4	4.2	1.8	3.5	3.3	1.8	1	1.5
0	6.4	4	6.3	5.9	6.5	7	5.8	6.7	6.2	6.1	6.1	5.2	7.4	5.9	5.5	7.4	6.2	5	6.8	6.2	5.6	7.1	5	5.9	6.6	2.2	6.1	6.4	6.8	6.7	7.5	6.9	6.1	7.5	7.2	6.4	6.2	6.6	6.5	6	6.2	6.6	5.9	6.5	6.9	4.6	6.6	5.6	6.7	5.5	5.9	5.2	5.4	5.6	5.4	
0	3.3	2.9	3.5	3.5	4.7	6.3	3.6	3.3	2.4	2.3	5	4.3	3	3.7	7.5	3	4.2	3.9	3	3.4	3.8	3.6	2.2	5	4.6	3	3.9	3.6	5.2	3.8	4.4	4.3	3.8	4.1	3.2	4.5	3.6	2.5	3.6	3.8	4.1	3.8	3.6	5.6	3.3	4.4	4.5	4.5	2.6	3.1	3.2	4.4	3.4	2.6		
0	3.4	2.6	2.8	3.9	4.5	4	2.7	2.3	2.7	2.6	4.2	2.3	2.8	5.5	2.8	1.9	3.5	3.7	2.7	3.4	2.4	2.9	3.7	3.1	2.6	4.1	3.5	3.9	4.6	4.2	2.5	4	4.1	2.7	2.7	3.1	2.9	2.3	3.4	3.5	2.7	2.9	5.3	3.2	3.2	2.6	4.4	2.6	3	3	2.7	2.3	2.4			
0	3.3	3.4	4.3	4.7	4	2.1	2.6	1.7	5.1	3.6	2.6	3.5	7.4	2.7	3.5	3.9	2.4	2.7	4.3	3.8	2.4	4.6	5.1	2.6	1.7	3.3	6.4	3	3.2	4.2	4	3	2.9	4.6	3.3	3.6	3.6	2.9	3.4	4.9	3.3	4.9	3.1	4.1	4	2.9	2.1	2.2	1.6	3.3	2.6	2.7				
0	2.2	4.9	6.1	5	2.2	2.5	3.2	3.7	3.4	2.9	2.3	4.5	2.7	2.9	4.4	4.6	2.2	4.2	2.4	2	1.5	5.2	1.9	4.5	1.6	4.8	4	3.7	3.2	4.6	3.6	3.2	3.3	2.6	3	2.1	4.5	2	3.2	1.7	4	4.7	1.9	2.8	5.5	2.7	3.1	3.7	3.6	2.7	2.7					
0	3.8	5.5	3.4	2.3	1.5	2.4	3.1	2	2	1.9	5.7	1.8	3.5	3	3.6	3.6	2.7	2.6	2.7	2.9	5.3	1.2	4.7	2.8	4.5	3	2.5	2	3.2	2.4	1.6	2.3	0.8	1.9	0.8	3.2	1.6	3.1	0.7	6.1	4.4	1.6	3.3	5	2.3	4	4.2	3.2	1.7	2						
0	5	3.5	3.2	3.7	3.6	4.8	4.1	3.6	4.7	7.4	4.5	4.1	1.3	4.1	5.2	2.2	5.4	5	5.7	5.8	4.3	4.3	4.6	4.3	5	4.3	2.8	1.6	3.9	2.5	4.1	3.7	4.1	4	3.8	5	5	4.1	7.6	4.6	4	5.1	3.4	4.5	4.3	4.7	4.7	3.8	4.4							
0	5	5	4.9	4.4	4.9	6	4.1	5.8	8.4	4.8	4.3	5.1	4.3	5.3	5.4	5.4	6.2	6.9	5.4	5.1	4.6	6.8	7.1	6	5.3	4.8	5.6	5.5	4.6	4.9	5.5	5.6	5.3	3.3	5.9	6.2	5.6	7.8	4.3	6.2	4.6	3.7	4.8	5.4	4.4	3.2	4.1	4.9								
0	4	2.8	2.6	4.7	3.5	3.1	3.8	8.6	3.3	5.1	2.4	2.1	5.4	2.9	4.4	4.3	6.1	5	3.6	4.7	5.3	5.5	3.3	3.3	3.7	2.6	3.2	2.3	4.1	3	3	3.6	2.1	4.4	4.8	3.9	8.1	3.2	4.7	5.3	4.1	3.2	5.1	4.6	4.2	2.9	2.8									
0	2.3	2.2	4.2	2.8	2.3	2.8	5.9	2.8	2.7	2.9	3.4	2.7	3.3	3.5	2.5	3.3	5.2	2	2.9	2	5	3.4	2.9	2.7	3.1	2.5	2	3.6	2.2	3.2	2.5	3.4	2.6	4.1	2.1	4.9	3.9	2.3	3.5	3.6	2.5	2.2	2.8	3.4	2.2	2.7	1.6	1.6								
0	1.3	3.1	2.9	1	2.5	6.2	1.1	3.1	2.9	2.7	3	2.5	2.3	2.3	3.7	4.8	1.2	4	3.1	4.5	3	3	1.1	2.4	4.5	4.7	1.8	2.9	3.5	5.3	2.7	2.9	3.1	3	2.7	1.7	3.4	2.4	2.1	2.6	1.8	3	3.8	2.6	5.8	2.8	3.6	3.5	3.2	1.5	2.9	2.5	2.7	1.6	1.6	
0	4	3.1	1.3	3	7.2	1.6	3.3	2.9	1.7	3	3	3.1	2.4	4.5	4.7	1.8	2.9	3.5	5.3	2.7	2.9	3.1	3	2.7	1.7	3.4	2.4	2.1	2.6	1.8	3	3.8	2.6	5.8	2.8	3.6	3.5	3.2	3.1	2.4	3.8	2.9	4.2	1.7	3.3	3.3	2.6	1.4	1.4							
0	4.9	2.9	3.8	4.8	3.2	3	4.5	5.1	4.1	3.7	2.6	4.6	4	4.8	3.3	6.1	4.9	3.7	5.6	5	2.3	4.9	5.1	3.5	1.3	3.7	3.1	2.3	4.1	3.9	2.2	3.2	6.7	5.1	3.5	3.1	2.4	3.8	2.8	2.9	4.2	1.7	3.3	3.3	2.6	1.4	1.4									
0	3.3	2.3	7.1	3	4.9	3.2	3.6	4.8	3.7	3.9	3.3	3.9	6.2	2.4	4.7	3.4	6	1.9	1.3	3.4	3.3	1	2.4	4.1	1.3	3.3	2.7	3.6	2.1	5	2.1	6.8	4.7	2.6	4.9	5.2	2.8	4.8	4.8	4.4	2.6	2.8	3.4	2.6	2.8	1.8										
0	6.1	2.5	4	3.9	3.6	3.8	4.1	2.3	2.2	3	4.4	1.9	4.7	3.1	5.4	2.8	2.3	3.3	4.2	3.2	1.6	2.2	2.3	1.8	1.8	2.1	2.8	3	2.1	5.7	3.5	3.1	2.4	3.8	3.1	2.4	3.8	2.4	4	5.4	1.9	4.3	4.1	3.7	2	1.7										
0	6.4	4.7	7.4	8.6	5.3	6.8	5.4	6.4	3.6	7.8	5.8	8.2	5.2	5.3	8.2	7.6	5.3	7.6	7.6	6.6	5	6.3	6.4	5.2	8	5.7	4.7	5.3	5.8	8.5	4.6	4.5	8.8	6.9	6.4	7.3	6.1	6.3	6.7	3.2	2.7	4.6	1.5	3.8	3.4	2.2	1.3	1.3								
0	3.4	3.7	2.8	3	3.4	2	2.5	3.7	5	1	4.2	3.6	5.3	2.8	3	3	3.9	3	2.1	2.6	2.1	1.6	1.7	2.4	2.1	3.2	1.9	5.7	3.7	3.2	3.3	3.2	4.3	4.5	3.4	7.5	4	3.6	4.9	3.6	3.7	4.2	4.5	4.3	3.1	3.4										
0	4.2	4.6	2.1	3.9	3.3	3.7	3.6	4.7	3.1	4.1	3.6	4.3	5.4	4.9	2.8	4.6	4.8	3.3	2.9	3.9	3.7	3	4.1	3.9	3.2	3.3	4.6	4.4	3.4	1.8	4.3	3.6	2.6	3	2.5	3	3.6																			
0	3.3	4.9	1.6	4.7	4.2	5.3	5.4	3.5	4.3	4.2	4.3	4	3.5	2.5	0.8	3.1	1.6	3.6	2.8	3.2	3.3	3.8	1.5	4.1	5.1	3.9	6.9	2	4.9	4.9	3	2.2	4	3	3.6	2.5	2.4																			
0	4.4	3.9	4.1	3.4	5.8	4.6	3.1	3	4.8	6.4	2.7	3	4.3	3.5	3	2.6	4.6	3.2	3.3	3.8	1.5	4.1	5.1	3.9	6.9	2	4.9	4.9	3	2.2	4	3	3.6	2.5	2.4																					
0	4.8	2.9	2.6	3.3	5	2.7	3.6	2.9	5.5	4.7	4.7	4	5.2	4.6	3.8	3.9	3.9	3.6	3.3	4.3	3.4	3.6	3.2	3.1	4.3	3.7	2.4	4.7	2.9	2	2.3	3	3.1	3.3																						
0	4.4	4.4	5	5.8	3.4	5	4.3	3.3	4.5	4.2	2	1.6	3.8	1.8	2.7	2.9	2.5	2.8	3.4	4.2	3.4	3.2	7.5	4.7	3.4	4.2	4.4	3.9	4.4	4.8	4	3.2	3.5																							
0	2.6	3.1	4.2	2	5.1	3.8	5.1	4.1	3.9	3.4	5	4.2	3.3	2.8	2.9	2.6	2	3.7	2.5	2.7	2.4	5.2	4	3.3	2.4	5.7	2.2	4.2	3.9	2.6	2.2	1.9																								
0	3.4	4.6	1.9	3.8	2.3	5.6	3	3.3	4	4.4	3.2	3.1	4.2	2.7	2.8	2.8	3.9	2.5	3.8	2.5	4.4	3.6	3.2	3.9	4.9	1.7	2.9	2.9	3.9	2.6	2																									
0	6.2	2.9	5.7	2.4	5.3	4.9	4.4	3.7	5.5	4.4	4.2	3.7	3.3	4.1	2.8	5.5	2.3	3.8	2.3	4.4	6	1.9	3.3	6.7	3.9	4.4	5	4.3	3.6	3.9																										
0	5	5.4	5.9	5.9	6.1	5.7	5.3	6	5.9	5.1	5.4	5.3	5.1	5	4.8	5.7	5.1	5.5	6.8	2.8	5.9	5.3	5.6	4.2	5	4.3	4.9	4.4	4																											
0	4	2.7	5.1	2.7	2.6	2.7	3.7	2.5	2	2.7	1.5	1.9	1.3	2.9	1.3	3.2	1	5.2	3.9	2.3	2.8	4.7	1.4	3.4	3.3	2.6	1.2	1.4																												
0	4.3	7	4.2	4.2	5	4.4	3.9	3.8	5.7	4.5	4.9	4.9	3.7	4.8	6	4.6	5.4	3.2	5.2	5	2	3.4	2.4	1.7	4.3	3.7	4																													
0	5.1	4.1	3.9	3.7	4.3	3.5	3.4	4.3	3	3.6	3	5	2.7	4.1	2.4	4.1	5.2	2.2	4	5.4	3.3	2.8	3.9	4.6	3.5	3.5																														
0	7.1	6.6	3.3	4.5	6.3	4.4	3.5	5	4.2	4.1	6	5.8	2.9	4.7	7.6	6.4	4.3	4.7	6.7	5.8	5.5	6.3	5.5	5.1	5.2																															
0	1.5	4.5	4	1.6	3	4.9	2.3	3.5	3.6	3.1	2.7	5.6	3.1	6.7	6.1	4	5.3	4.9	2.3	4.8	4.3	4.4	2.8	2.6																																
0	3.8	3.8	0.8	2.6	4.4	1.8	3.7	3.1	3	2.4	5.4	2.7	6.8	4	3.4	5	4.7	2.4	4.7	4.3	4.1	2.3	2.6																																	
0	2.9	3.7	1.9	1.5	2.4	2.7	1.7	3.5	3.2	2.9	2.3	6.6	4.7	2.2	3	4.8	3.5	4.2	4.5	3.1	2.4	3.1																																		
0	3.2	1.9	3.9	3	3.3	3.5	3.5	4.4	4.6	3.6	7.6	4.5	3.8	5.2	3.8	4	4.4	4.8	4.8	3.5	3.7																																			
0	2.3	4.4	1.7	3.6	3.1	3.1	2.5	5.3	2.6	6.7	4.1	3.1	5	4.4	2.6	4.4	4.2	4.3	2.5	2.7																																				
0	2.6	1.5	2	1.9	2.2	2.8	3.6	2	6.5	3.6	2.7	3.6	3.6	3.6	3.6	3	1.6	2.1																																						
0	1.7	3	2.9	2.3	2.2	6.3	4.1	3.1	3.3	5	2.4	4.1	4.2	3.2	2.2	1.9																																								
0	3.3	1.9	2.4	1	5.8	4.4																																																		

ANEXO CAPÍTULO III

Tabela S1. Média (\bar{X}) e desvio padrão (DP) dos atributos fisiológicos das sementes de pimenta *C. chinense*.

VFIL	G	EM	AF		1		7		14	
			\bar{X}	DP	\bar{X}	DP	\bar{X}	DP		
Conductividade elétrica	BRA-2	V	1340.18	5.94	477.53	3.42	450.78	8.01		
		VL	514.90	3.68	418.21	3.72	422.68	3.14		
		VR	348.79	5.47	466.26	3.03	415.96	1.39		
	BRA	V	1141.59	8.75	634.15	2.93	457.13	4.92		
		VL	619.35	3.94	419.67	6.71	367.21	5.58		
		L	341.35	4.59	389.02	10.12	335.26	2.60		
	USA	V	1843.53	14.23	1235.50	12.81	723.06	4.44		
		VL	934.07	9.68	655.85	9.21	354.92	2.24		
		L	520.38	3.63	518.88	5.08	433.90	6.77		
MEX	V	1291.36	8.94	1065.95	9.68	762.08	6.80			
	VL	769.82	7.53	576.53	12.71	427.08	6.75			
	L	532.48	8.39	440.00	6.76	457.10	12.15			
Sincronia de germinação	BRA-2	V	0.96	0.08	0.81	0.09	0.68	0.17		
		VL	0.00	0.0	0.73	0.19	0.98	0.04		
		VR	0.28	0.03	0.56	0.05	0.94	0.07		
	BRA	V	0.25	0.50	0.24	0.09	0.16	0.05		
		VL	0.21	0.17	0.21	0.03	0.22	0.05		
		L	0.13	0.03	0.13	0.03	0.11	0.00		
	USA	V	0.13	0.16	0.22	0.12	0.22	0.08		
		VL	0.08	0.07	0.17	0.02	0.19	0.06		
		L	0.13	0.03	0.18	0.04	0.13	0.02		
MEX	V	0.00	0.00	0.13	0.09	0.30	0.14			
	VL	0.00	0.00	0.25	0.50	0.35	0.17			
	L	0.08	0.10	0.10	0.08	0.18	0.03			
Coeficiente de velocidade de germinação	BRA-2	V	2.50	5.00	23.80	0.80	41.37	5.10		
		VL	16.39	0.80	27.43	1.96	49.52	0.96		
		VR	24.76	0.48	38.23	1.77	48.60	1.78		
	BRA	V	4.06	4.93	6.38	0.40	7.83	0.66		
		VL	6.35	0.57	7.34	0.45	7.39	0.42		
		L	8.52	1.44	8.61	1.04	8.44	0.54		
	USA	V	6.60	0.20	7.58	0.69	6.96	0.48		
		VL	4.88	3.26	6.30	0.16	7.05	0.24		
		L	9.69	0.58	9.24	0.80	9.23	1.35		
MEX	V	0.00	0.00	6.96	0.80	6.72	0.61			
	VL	9.64	3.30	6.36	0.69	6.82	1.59			
	L	9.71	2.02	6.87	1.09	7.29	0.53			
Tempo médio de germinação	BRA-2	V	2.25	4.50	3.10	0.07	1.27	0.18		
		VL	4.75	0.61	2.77	0.19	1.01	0.02		
		VR	3.02	0.05	1.46	0.12	1.03	0.04		
	BRA	V	4.29	4.96	15.18	0.72	12.28	0.90		
		VL	15.71	2.45	12.47	0.71	13.02	0.78		
		L	11.21	2.77	10.13	2.48	11.42	1.07		
	USA	V	13.71	0.67	11.42	0.97	13.19	1.48		
		VL	10.79	7.22	15.34	0.79	13.28	0.46		
		L	9.15	1.13	9.77	1.17	9.66	1.92		
MEX	V	0.00	0.00	14.00	2.13	13.59	2.17			
	VL	9.38	2.56	15.00	1.83	15.32	3.06			
	L	9.42	2.36	14.00	2.27	12.52	1.36			

VFIL: Variável fisiológica; G: Genótipo; EM: Estádio de maturação; AF: Armazenamento do fruto; \bar{X} : Média; DP: Desvio padrão; BRA-2: Brasil 2; BRA: Brasil; USA: Estados Unidos; MEX: México; V: Fruto verde; VL: Fruto verde-laranja; VR: Fruto vermelho; L: Fruto laranja.

Tabela S2. Média (\bar{x}) e desvio padrão (DP) dos atributos físicos das sementes de pimenta *C. chinense*.

VFIS	G	EM	AF	1		7		14	
				\bar{X}	DP	\bar{X}	DP	\bar{X}	DP
Densidade relativa	BRA-2	V		2.25	4.50	3.10	0.07	1.27	0.18
		VL		4.75	0.61	2.77	0.19	1.01	0.02
		VR		3.02	0.05	1.46	0.12	1.03	0.04
	BRA	V		4.29	4.96	15.18	0.72	12.28	0.90
		VL		15.71	2.45	12.47	0.71	13.02	0.78
		L		11.21	2.77	10.13	2.48	11.42	1.07
	USA	V		13.71	0.67	11.42	0.97	13.19	1.48
		VL		10.79	7.22	15.34	0.79	13.28	0.46
		L		9.15	1.13	9.77	1.17	9.66	1.92
	MEX	V		0.00	0.00	14.00	2.13	13.59	2.17
		VL		9.38	2.56	15.00	1.83	15.32	3.06
		L		9.42	2.36	14.00	2.27	12.52	1.36
Densidade integrada	BRA-2	V		1508.37	35.12	1826.23	67.98	1749.10	106.18
		VL		1910.16	17.98	1955.57	64.93	1922.08	110.18
		VR		1917.33	13.25	2013.12	79.51	1904.32	56.74
	BRA	V		1577.84	7.47	1497.45	56.17	1571.04	52.71
		VL		1608.73	64.58	1579.10	24.47	1601.62	45.46
		L		1514.65	29.39	1550.29	64.13	1533.22	30.65
	USA	V		1578.20	76.01	1641.38	42.37	1597.43	74.10
		VL		1522.77	55.07	1607.24	68.61	1590.97	15.36
		L		1531.79	46.58	1667.14	32.93	1597.24	33.55
	MEX	V		1904.21	60.55	1895.77	46.39	1880.94	75.11
		VL		1724.70	43.38	1758.18	52.45	1691.08	71.80
		L		1772.29	20.91	1724.98	38.28	1655.79	34.47
Preenchimento	BRA-2	V		75.03	2.55	95.02	2.08	95.05	3.68
		VL		94.48	0.41	96.50	1.97	95.81	2.96
		VR		92.53	1.44	95.77	1.59	98.18	0.68
	BRA	V		77.31	1.52	70.79	2.57	75.32	0.38
		VL		86.00	1.35	86.58	5.63	95.24	2.12
		L		95.96	0.91	94.53	6.27	96.52	1.66
	USA	V		65.52	5.61	69.83	1.04	86.38	4.50
		VL		69.09	1.27	84.63	2.06	91.02	4.18
		L		89.91	4.40	93.81	0.96	94.90	1.55
	MEX	V		66.43	1.43	71.86	1.42	85.91	2.61
		VL		76.25	1.13	87.98	1.20	94.58	3.63
		L		97.45	1.26	95.18	1.90	96.66	1.34

VFIS: Variável física; G: Genótipo; EM: Estádio de maturação; AF: Armazenamento do fruto; BRA-2: Brasil 2; BRA: Brasil; USA: Estados Unidos; MEX: México; V: Fruto verde; VL: Fruto verde-laranja; VR: Fruto vermelho; L: Fruto laranja.