

MARISTELA APARECIDA DIAS

**ÉPOCA DE COLHEITA, ESTÁDIO DE MATURAÇÃO DE FRUTOS E
COMPOSTOS FENÓLICOS INFLUENCIANDO A QUALIDADE
FISIOLÓGICA DE SEMENTES DE MAMÃO**

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

VIÇOSA
MINAS GERAIS - BRASIL
2011

MARISTELA APARECIDA DIAS

**ÉPOCA DE COLHEITA, ESTÁDIO DE MATURAÇÃO DE FRUTOS E
COMPOSTOS FENÓLICOS INFLUENCIANDO A QUALIDADE
FISIOLÓGICA DE SEMENTES DE MAMÃO**

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

APROVADA: 09 de agosto de 2011.

Prof^ª. Beatriz Gonçalves Brasileiro

Prof^ª. Marcela Carlota Nery

Prof. Eduardo Euclides de Lima e Borges
(Co-orientador)

Prof. Luiz Antonio dos Santos Dias
(Co-orientador)

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

"Assim como a semente traça a forma e o destino da árvore, os teus próprios desejos é que te configuram a vida." (Emmanuel Kant)

Aos meus pais, Cecília e Ildfonso,
minha referência de amor, dedicação, simplicidade, força, renúncia e fé.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

À Deus, por ter me permitido alcançar muito mais do que eu poderia pedir.

À minha família: **meus pais** - Cecília e Ildefonso - pelo abraço sempre aberto em minha chegada, pelo esforço sem medidas, pela confiança em mim depositada, pelo amor de todas as horas, pelo exemplo e ensinamentos; **irmãos** - José Lúcio, Rosa, Rosária (*sempre presente*), João, Ana, Joel, Jair, Fonsinho, Dete e PC - por me ajudarem, ainda que sem notar, a arte da compreensão para com os meus limites e os dos outros; **sobrinhos** - Patricia, Diego, Jamila, Fabrício, Zeca (filho pelo coração), Luana, Jovane, Bruna, Kamila, João Victor, Matheus, João Pedro e Lucas - pelo sorriso carinhoso, renovador e motivante; **Cunhados**: João Batista (Colega), Alice, Daiane, Aninha e Ana, pela alegre presença. Obrigada a todos por me darem razões para seguir em frente.

À Universidade Federal de Viçosa, por me abrir as portas e permitir-me realizar este curso.

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

À Sávio Cazeli Torezani pela amizade e pelo fornecimento dos frutos para as análises.

À Profa. Denise Cunha Fernandes dos Santos Dias, pela orientação, pelo exemplo de competência e seriedade e pela confiança em mim depositada.

Aos Professores Eduardo Euclides de Lima Borges e Luiz Antonio Dias, pelos aconselhamentos, apoio e incentivo na realização das análises.

Aos professores Francisco Gomes Júnior e Silvio Moure Cícero da ESALQ/USP pela realização dos testes de raios X.

Ao programa de pós-graduação em Fitotecnia, em especial a Tatiane e Prof. Cláudio Bruckner pela prontidão, atenção e amizade.

Aos amigos do Laboratório de Pesquisa de Sementes: Carminha, Beatriz, Elaine, Deborah, Camilla, João Batista, Elizabeth, Prof. Eduardo e José Eduardo, pela boa convivência.

À equipe do Laboratório de Sementes Florestais: Mauro, Eleacir e Andressa pelo apoio na execução do trabalho.

Aos amigos de dentro e fora da UFV: Ana Estela, Camilla, Nani, Márcio e Patrícia pelo companheirismo de sempre, desde a colheita dos frutos até a análise dos dados. Obrigada pelas boas risadas e aprendizado de vida.

Aos amigos de república que se fizeram amigos de vida: Ângela, Dani, Fábio, Nani, Silmara, Rodrigo e Gabriela.

Ao Rodrigo, pela boa companhia, amor e carinho que me permitiram viver esse tempo com mais alegria no coração e, a sua mãe, dona Celia, pelo carinho e incentivo.

À todos os amigos da minha querida “Comunidade Nossa Senhora da Conceição” de Piaçu, pelo constante interesse, orações e suporte espiritual.

Aos meus queridos ex-professores da Escola “Arquimimo Mattos”, especialmente à Eliotério Quinelato, pelo estímulo e ensinamentos.

Às amigas Regina e Sandra, pelo companheirismo e por um dia terem sonhado comigo que seria possível essa realização.

Aos amigos: Mhercya, Eduardo, Jaqueline, Sueli, Mônica, Irinete, Anailda, Pe. Genivaldo, Pe. José Carlos, Pe. Pedro, Lelena, Kátia, Gheysi, Prof. José Carlos, Marilda, Nathale, Yhasmin, Victor, Danilo, Gustavo, Camila Carrareto, Caju, Nani P e Danielle por terem se feito presentes nas mais diversas horas.

Enfim, a todos que de alguma forma, contribuíram para a conclusão desta etapa e tornaram a jornada mais tranquila: Muito Obrigada!

BIOGRAFIA

MARISTELA APARECIDA DIAS, filha de Ildefonso Dias e Cecília Carlete Dias, nasceu na zona rural do distrito de Piaçu, município de Muniz Freire (ES) no dia 17 de abril de 1977.

Cursou as séries iniciais do ensino básico na “Escola Unidocente Fazenda Conceição” entre 1984 e 1987. Entre os anos de 1994 a 1995 cursou o supletivo do ensino fundamental na EEEFM “Arquimimo Mattos”, onde em 1996 ingressou no ensino médio, concluindo-o em 1998.

Iniciou o curso de Agronomia em junho de 2002, concluindo-o em 11 de agosto de 2006, pela Universidade Federal do Espírito Santo. Durante a graduação, exerceu a função de monitoria da disciplina Ecologia, participou por dois anos do Programa Institucional Voluntariado de Iniciação Científica (PIVIC/UFES) e por um ano do Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica (PIBIC/CNPq) na linha de pesquisa Produção e Tecnologia de Sementes.

Em outubro de 2006 ingressou no mestrado no programa de Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa, na linha de Pesquisa Produção e Tecnologia de Sementes, sob a orientação da professora D.Sc. Denise C. F. S. Dias. Em maio de 2008, conforme normas do programa de pós-graduação em Fitotecnia, foi aprovada para mudança de nível do mestrado para o doutorado direto, sem defesa de dissertação de mestrado. Foi aprovada no exame de qualificação no dia 26 de fevereiro de 2010 e submeteu-se a defesa da tese de doutorado no dia 09 de agosto de 2011.

SUMÁRIO

1. RESUMO.....	Vii
2. ABSTRACT.....	Ix
3. INTRODUÇÃO GERAL.....	1
4. ARTIGOS	
4.1. Artigo I - Qualidade fisiológica e compostos inibidores em sementes de mamão com e sem sarcotesta em função da época de colheita e estágio de maturação do fruto.....	7
4.2. Artigo II - Compostos fenólicos inibidores da germinação em sementes de mamão em função da época de colheita e estágio de maturação do fruto.....	40
4.3. Artigo III - Alterações morfológicas e qualidade fisiológica de sementes de mamão em função da posição da semente no fruto e diferentes estádios de maturação.....	67
5. CONCLUSÕES GERAIS.....	96
6. ANEXOS.....	97

RESUMO

DIAS, Maristela Aparecida. D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, agosto de 2011. **Época de colheita, estágio de maturação de frutos e compostos fenólicos influenciando a qualidade fisiológica de sementes de mamão.** Orientadora: Denise Cunha Fernandes dos Santos Dias. Co-orientadores: Luiz Antônio dos Santos Dias e Eduardo Euclides de Lima e Borges.

O mamoeiro destaca-se entre as principais frutíferas cultivadas no país. Em sementes de mamão é constatada a presença de dormência, que pode ser atribuída à presença da sarcotesta. Esta estrutura contém compostos fenólicos inibidores que interferem no processo de germinação das sementes e emergência das plântulas. Foram objetivos da pesquisa: 1) avaliar o efeito da época de colheita e do estágio de maturação dos frutos sobre a qualidade fisiológica de sementes com e sem sarcotesta e a ocorrência de compostos inibidores em sementes de mamão; 2) detectar e quantificar compostos fenólicos em sementes de mamão em diferentes estádios de maturação e épocas de colheita e avaliar o efeito desses compostos sobre a germinação de sementes de mamão e alface e 3) avaliar o potencial fisiológico de sementes de mamão obtidas de diferentes estádios de maturação e regiões do fruto utilizando o teste de raios X. Frutos de mamão do grupo Formosa, híbrido ‘Tainung 1’, foram colhidos nos meses de abril e outubro de 2010, no estágio 1 de maturação (até 15% da superfície da casca amarela) e armazenados em condição de laboratório até atingirem os estádios 3, 5 e final de maturação, correspondendo a 50%, 75% e 100% da superfície externa da casca amarela, respectivamente. Em um primeiro ensaio, sementes com e sem sarcotesta nos diferentes estádios de maturação e épocas de colheita foram avaliadas pelos testes de germinação, primeira contagem de germinação, emergência de plântulas e envelhecimento acelerado. Utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado (DIC), em esquema fatorial (2x4x2), com quatro repetições. No segundo ensaio, foram determinados os teores de compostos fenólicos totais, ácido caféico, ácido ferúlico e ácido cumárico na sarcotesta, esclerotesta e parte interna das sementes de mamão. Foram conduzidos ainda testes de germinação com sementes de mamão e alface utilizando-se papel toalha umedecido com soluções contendo 10ppm de cada um dos compostos, com uma mistura destas soluções e com o solvente puro (testemunha). Para a determinação de fenóis, o experimento foi conduzido em DIC em esquema fatorial (duas épocas de colheita x quatro estádios de maturação x três estruturas das sementes (sarcotesta, esclerotesta e parte interna) com três repetições analisadas em duplicata. Para o bioensaio, utilizou-se o DIC com cinco

tratamentos e quatro repetições. No terceiro ensaio, os frutos de cada estágio de maturação foram seccionados transversalmente, sendo extraídas separadamente as sementes da parte central e as das extremidades. As sementes tiveram a sarcotesta removida e, após secagem, foram submetidas aos testes de germinação, vigor (emergência de plântulas e envelhecimento acelerado) e de raios X. Foi determinado ainda o comprimento individual de plântulas através do programa computadorizado *Seed Vigor Imaging System*[®]. As análises foram conduzidas em DIC, em esquema fatorial (4 estágios de maturação x 2 posições das sementes no fruto) com quatro repetições. De modo geral, houve efeito benéfico do armazenamento pós-colheita dos frutos sobre a qualidade fisiológica das sementes, com melhoria da germinação e do vigor e redução da dormência em sementes extraídas dos frutos nos estágios 5 e final. Maiores concentrações de compostos fenólicos e menor germinação foram verificadas em sementes extraídas de frutos colhidos em outubro/2010. A sarcotesta foi a estrutura das sementes que apresentou maior concentração de compostos fenólicos totais, ácido p-cumárico e ácido ferúlico. Verificou-se, em geral, melhor desempenho de sementes extraídas da região central dos frutos nos estágios 5 e final de maturação. O teste de raios X permitiu diferenciar sementes vazias de sementes com o embrião desenvolvido, sendo que maior proporção de sementes vazias e dormentes foram observadas em frutos do estágio 1 de maturação.

ABSTRACT

DIAS, Maristela Aparecida. D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, August, 2011. **Harvest time and maturity stage of fruits influence the physiological quality, presence of phenolic compounds and dormancy in papaya seeds.** Adviser: Denise Cunha Fernandes dos Santos Dias. Co-advisers: Luiz Antônio dos Santos Dias, and Eduardo Euclides de Lima e Borges.

The papaya tree occupies a prominent place among the major fruit crops in the Brazil. In papaya seeds are detected the presence of dormancy, which can be attributed to the presence of sarcotesta. This structure contains phenolic inhibitors that interfere with the process of seed germination and seedling emergence. Research objectives were: 1) evaluate the effect of the harvest time and fruit maturation stage on the physiological quality of seeds with and without sarcotesta compounds and the occurrence of inhibitors in papaya seeds, 2) detect and quantify phenolic compounds in seeds papaya at various stages of maturation and harvest time and to assess the effect of these compounds on the germination of papaya seeds and lettuce seeds and 3) evaluate the physiological potential of the papaya seeds obtained from different stages of ripeness of the fruit and regions using the test X-rays. Papaya fruits of the Formosa group, hybrid 'Tainung 1', were collected in April and October 2010, at the maturity stage 1 (up to 15% of the peel surface yellow) and stored in laboratory conditions until they reach the 3 stage, 5 and final maturation, corresponding to 50%, 75% and 100% of the outer surface of the yellow peel, respectively. In a first experiment, seeds with and without sarcotesta at various stages of maturation and harvest time were evaluated by standard germination, first count germination, seedling emergence and accelerated aging. We used a completely randomized design in factorial (2x4x2), with four replications. In the second experiment, we determined the content of total phenolics, caffeic acid, ferulic acid and coumaric acid in sarcotesta, esclerotesta and internal part of the papaya seeds. We also conducted germination test with seeds of papaya and lettuce using a paper germination moistened with solutions containing 10 ppm of each compound, a mixture of these solutions and the pure solvent (control). For the determination of phenols, the experiment was conducted in DIC in a factorial (two harvest times x four maturation stages x three seed structures (sarcotesta, esclerotesta and internal part) with three repetitions in duplicate. For the bioassay, we used the DIC with five treatments and four replications. In the third experiment, the fruits of each maturity stage were cut transversely, the seeds are extracted separately and the central

part of the extremities. The seeds had the sarcotesta removed and after drying, were subjected to germination, vigor (seedling emergence and accelerated aging) and X-ray. It was also determined the length of individual seedlings using the computer program *Seed Vigor Imaging System*[®]. Analyses were conducted in randomized design in factorial (four maturity stages x 2 positions in the fruit seeds) with four replications. Overall, there was beneficial effect of post-harvest storage of fruits on the physiological quality of seeds with improved germination and vigor and reduction of dormancy in seeds extracted from fruits in the fifth and final stage. Analyses were conducted in randomized design in factorial (4 maturity stages x 2 positions in the fruit seeds) with four replications. In general, there was beneficial effect of post-harvest storage of fruits on the physiological quality of seeds with improved germination and vigor and reduction of dormancy in seeds extracted from fruits in the fifth and final stage. Largest concentrations of phenolic compounds and lower germination were observed in seeds extracted from fruits harvested in October/2010. The sarcotesta was the structure seeds with the highest concentration of total phenolic compounds, p-coumaric acid and ferulic acid. There was, in general, better performance of seeds extracted from fruits in the central region of the 5 stages and final maturation. The test permitted differentiation of X-rays empty seeds and seeds with the embryo developed, and a higher proportion of empty seeds and dormant, were observed in the fruit maturity stage 1.

INTRODUÇÃO GERAL

A cultura do mamoeiro (*Carica papaya* L.) destaca-se entre as frutíferas cultivadas no Brasil (IBRAF, 2009). Conforme dados da FAO (2011), a produção mundial de mamão representa 10% da produção de frutas tropicais. Destacam-se como maiores produtores da fruta a Índia, Brasil, Nigéria e Indonésia. Em 2008, o Brasil produziu 1,9 milhões de toneladas, em 36,5 mil hectares, com valor de produção estimado em R\$ 1 bilhão (FAO, 2011). A produção de mamão está concentrada principalmente nos estados da Bahia (902 mil toneladas) e Espírito Santo (630 mil toneladas) (Agriannual, 2010).

O mamão é um fruto climatérico, no qual as alterações decorrentes do processo de amadurecimento ocorrem rapidamente após a colheita dos frutos na maturidade fisiológica. Com o início do processo de amadurecimento nesses frutos, inicia-se uma série de modificações metabólicas, como o aumento da produção de etileno e da taxa respiratória, com conseqüentes alterações no processo de desenvolvimento. Em frutos de mamão, o processo de amadurecimento se caracteriza pela mudança na coloração da casca, que se relaciona à degradação da clorofila e à biossíntese de pigmentos como os carotenóides e antocianinas, além do amaciamento e aumento do Brix (Chitarra e Chitarra, 2005).

A propagação do mamoeiro é feita principalmente por sementes que, geralmente, apresentam germinação lenta e irregular (Yahiro, 1979, Tokuhisa et al., 2007a), se estendendo por períodos que podem durar de quatro a oito semanas. Essa desuniformidade na germinação tem sido atribuída à presença da sarcotesta, que constitui um envelope mucilaginoso que envolve externamente a semente e que pode conter compostos inibidores (Gherardi e Valio, 1976; Reyes et al., 1980; Chow e Lin, 1991; Schmildt et al., 1993, Tokuhisa et al., 2007b). Para Tokuhisa et al. (2007b), a presença da sarcotesta nas sementes de mamão contribuiu para a redução da velocidade e porcentagem de germinação. Verificaram ainda que, sementes de mamão dormentes contêm compostos fenólicos, com maior concentração na esclerotesta, seguida da sarcotesta, sendo praticamente nula a presença destes compostos no embrião e no endosperma da semente. Gherardi e Valio (1976) verificaram que extratos feitos à base da sarcotesta inibiram a germinação de sementes de alface, tomate e cenoura, devendo a sarcotesta ser retirada, como garantia de obtenção da máxima germinação e, em

consequência, emergência rápida e eficiente das plântulas. No entanto, Viggiano et al. (2000) constataram dormência em sementes de mamão mesmo após a remoção da sarcotesta.

A intensidade de dormência em sementes de mamão pode estar relacionada ao estágio de maturação do fruto e à época do ano em que ocorre a colheita. Tokuhisa et al. (2007a) observaram maior proporção de sementes dormentes em frutos colhidos no período do inverno. Sementes de mamão extraídas de frutos recém-colhidos geralmente possuem baixo poder germinativo (Yahiro e Oryoji, 1980 e Tokuhisa et al., 2007a). Assim, o armazenamento pós-colheita dos frutos pode ser uma estratégia interessante para reduzir a ocorrência de sementes dormentes em um lote. Além disso, permite colheitas precoces, diminuindo o tempo de permanência do fruto no campo, evitando um maior desgaste das plantas e diminuindo os riscos de perdas com possíveis condições desfavoráveis (Barbedo et al., 1994). Aroucha et al. (2005), trabalhando com sementes de mamão dos grupos Solo e Formosa colhidos em diferentes estádios de maturação, verificaram baixa germinação logo após a colheita, independente do estágio de maturação do fruto. O armazenamento pós-colheita dos frutos durante 12 dias, a 25°C, propiciou aumento do percentual germinativo e no vigor das sementes (Aroucha et al., 2004). Resultado semelhante foi observado por Balbinot et al. (2004), que armazenaram os frutos à temperatura de 10°C, verificando efeito significativo do período de armazenamento dos frutos na germinação e no vigor.

A permanência das sementes no interior do fruto durante a fase de amadurecimento melhorou a germinação, o que possivelmente estaria associado a uma alteração entre promotores e inibidores da germinação (Martins et al., 2006). Efeitos positivos do armazenamento pós-colheita dos frutos sobre a qualidade das sementes também têm sido observados para outras espécies como tomate (Dias et al., 2006; Vidigal et al., 2006) e pimenta (Vidigal et al., 2009).

A localização da semente no interior do fruto pode influenciar na sua morfologia interna afetando a qualidade física e fisiológica. Balbinot et al. (2003) verificaram que sementes extraídas da região central de frutos de mamão do grupo Solo apresentaram melhor qualidade que sementes retiradas das extremidades. Contudo, informações relacionando dormência de sementes de mamão com a sua localização dentro do fruto são escassas.

Um dos requisitos básicos para a identificação de problemas associados com o potencial fisiológico de sementes é a avaliação da morfologia interna. Com esta finalidade, a análise de raios X tem fornecido informações importantes, identificando sementes vazias e mal formadas. O teste propicia maior rapidez e eficiência na avaliação das partes constituintes da semente de várias espécies. As informações a cerca da morfologia interna de sementes fornecidas pelas análises de raios X pode gerar informações importantes com relação ao beneficiamento de sementes e classificação de lotes, com a eliminação de sementes vazias e mal formadas (Gomes Júnior, 2010). Para o mamoeiro a técnica de raios X pode ser utilizada para determinar a porcentagem de sementes vazias ou defeituosas, a fim de identificar o potencial fisiológico dos lotes.

Diante disto, o presente trabalho foi desenvolvido com o objetivo de avaliar a qualidade fisiológica, a ocorrência de dormência e o conteúdo de compostos fenólicos em sementes de mamão extraídas de frutos colhidos em diferentes épocas do ano, e submetidos ao armazenamento pós-colheita até atingirem diferentes estádios de maturação.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGRIANUAL: **Anuário da agricultura brasileira**. São Paulo: FNP Consultoria e Agroinformativos, 2010, 520p.

AROUCHA, E.M.M.; SILVA, R.F.; VIEIRA, R.F.; VIANA, A.P.; FREITAS, S.P. Influência do estágio de maturação dos frutos e período de armazenamento das sementes no vigor das sementes de mamão dos grupos Solo e Formosa. In: REUNIÃO DE PESQUISA DO FRUTIMAMÃO, 2., Campos dos Goytacazes. **Anais...** Campos de Goytacazes: UENF, 2004. p.71-75.

AROUCHA, E. M. M.; SILVA, R. F.; VIEIRA, H. D.; FREITAS, S. J.; VIANA, A. P. Germinação e vigor de sementes de mamão avaliados em diferentes estádios de maturação e períodos de armazenamento. **Revista Brasileira de Armazenamento**, v.30, n.1, p. 39-43, 2005.

BALBINOT, E; COELHO, E.A.; MENDONÇA, A.R.; SOUZA, N.A.; SILVA, R.F. Qualidade fisiológica de sementes de mamão (*Carica papaya* L.) em função da posição no fruto. **Papaya Brasil**. p. 336-338, 2003.

BALBINOT, E.; SILVA, R.F.; BERBERT, P.A. Secagem de sementes e manejo dos frutos de mamão (*Carica papaya* L.). In: REUNIÃO DE PESQUISA DO FRUTIMAMÃO, 2., Campos dos Goytacazes, **Anais...** Campos dos Goytacazes: UENF, 2004. 379p.

BARBEDO, C.J.; NAKAGAWA, J.; BARBEDO, A.S.C.; ZANIN, A.C.W. Influência da idade e do período de repouso pós-colheita dos frutos de pepino cv. Rubi na qualidade fisiológica de sementes. **Horticultura Brasileira**, v.12, n.2, p.118-124, 1994.

CHITARRA, M.L.F; CHITARRA, A.B. **Pós-Colheita de frutas e hortaliças: Fisiologia e manuseio**. Lavras: UFLA. 2005, 785p.

CHOW, Y.J.; LIN, C.H. p-Hydroxybenzoic acid the major phenolic germination inhibitor of papaya seed. **Seed Science and Technology**, v.19, n.1, p167-174, 1991.

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

FAO: Food and Agriculture Organization. Disponível em: <http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>. Acesso em março de 2011.

GHERARDI, E.; VALIO, I.F.M. Occurrence of promoting and inhibitory substances in the seed arils of *Carica papaya* L. **Journal of Horticultural Science**, v.51, p.1-14, 1976.

GOMES JUNIOR, F.G. Análise de Imagens: aplicação da análise de imagens para avaliação da morfologia interna de sementes. **Informativo Abrates**, v.20, n.3, p. 33-51, 2010.

IBRAF – Instituto Brasileiro de Frutas (2009). Estatísticas. Disponível em: <<http://www.ibraf.org.br/>>. Acesso em: março de 2011.

MARTINS, G. N.; SILVA, R. F.; PEREIRA, M. G.; ARAÚJO, E. F.; POSSE, S. C. P. Influencia do repouso pós-colheita de frutos na qualidade fisiológica de sementes de mamão. **Revista Brasileira de Sementes**, v.28, n.2, p.142-146, 2006

REYES, M.N.; PÉREZ, A.; CUEVAS, J. Detecting endogenous growth regulators on the sarcotesta, esclerotesta, endosperm and embryo by paper chromatography on fresh and old seeds of two Papaya's varieties. **Journal Agriculture University of Puerto Rico**, v.64, n.2, p.167-172, 1980.

SCHMILDT, E.R.; FRONZA, V.; DIAZ, J.L.S.; UNÊDA, S.H.; ALVARENGA, E.M. Comparação de métodos físicos de remoção da sarcotesta e de métodos de secagem de sementes de mamoeiro (*Carica papaya* L.). **Revista Brasileira de Sementes**, v.15, n.2, p.147-151, 1993.

TOKUHISA, D; DIAS, D. C. F. S.; ALVARENGA, E. M.; DIAS, L. S. A.; MARIN, S. L.D. Tratamentos para superação da dormência em sementes de mamão. **Revista Brasileira de Sementes**, v.29, n.1, p.131-139, 2007(a).

TOKUHISA, D.; DIAS, D. C. F. S.; ALVARENGA, E. M.; DIAS, HILST, P. C.; DEMUNER, A. J. Compostos fenólicos inibidores da germinação em sementes de mamão (*Carica papaya* L.). **Revista Brasileira de Sementes**, v.29, n.3, p.161-168, 2007(b).

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

VIDIGAL, D.S.; DIAS, D.C.F.S.; VON PINHO, E.R.V.; DIAS, L.A.S. Sweet pepper seed quality and lea-protein activity in relation to fruit maturation and post-harvest storage. **Seed Science and Technology**, v.37, p.192-201, 2009.

VIGGIANO, J.R.; SILVA, R.F.; VIEIRA, H.D. Ocorrência de dormência em sementes de mamão (*Carica papaya* L.). **Sementes Online**, v.1, n.1, p.6-10, 2000.

YAHIRO, M. Effects of pre-treatments on the promotion of germination in papaya, *Carica papaya* L. **Memoirs of the Faculty of Agriculture, Kogoshima University**, Kagoshima, v.15, n.1, p.49-54, 1979.

YAHIRO, M.; ORYOJI, Y. Effects of gibberellin and cytokinin treatments on the promotion of germination in papaya, *Carica papaya* L. seeds. **Memorial Faculty Agriculture Kogoshima University**, v.16, n.1, p.45-51, 1980.

ARTIGO I

QUALIDADE FISIOLÓGICA E COMPOSTOS INIBIDORES EM SEMENTES DE MAMÃO COM E SEM SARCOTESTA EM FUNÇÃO DA ÉPOCA DE COLHEITA E ESTÁDIO DE MATURAÇÃO DO FRUTO

RESUMO

O mamoeiro destaca-se entre as principais frutíferas cultivadas no país. O mamão é um fruto climatérico, no qual as alterações decorrentes do processo de amadurecimento são caracterizadas pela mudança na coloração da casca, que ocorrem rapidamente após a colheita do fruto na maturidade fisiológica. A germinação das sementes de mamão é lenta e irregular. A presença da sarcotesta nas sementes pode reduzir a germinação, representando um obstáculo ao seu desempenho e promovendo redução significativa da emergência das plântulas, o que pode estar relacionado à presença de compostos inibidores nas diferentes estruturas. O objetivo do trabalho foi avaliar a qualidade fisiológica e a ocorrência de compostos inibidores em sementes de mamão com e sem sarcotesta em função da época de colheita e estágio de maturação do fruto. Frutos de mamão do grupo Formosa foram colhidos nos meses de abril e outubro de 2010, no estágio 1 de maturação (até 15% da superfície da casca amarela) e armazenados em condição de laboratório até atingirem os estádios 3, 5 e final de maturação, correspondendo a 50%, 75% e 100% da superfície externa da casca amarela, respectivamente. Após serem extraídas dos frutos, as sementes foram avaliadas quanto à germinação e vigor. Determinou-se ainda, o conteúdo de compostos fenólicos nas estruturas das sementes (sarcotesta, esclerotesta, endosperma+embrião). O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado com quatro repetições para as análises de qualidade e três repetições, em duplicata, para as análises de compostos fenólicos. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Nos estádios 5 e final da maturação dos frutos foram obtidas sementes com maior germinação e vigor. A presença da sarcotesta reduz a germinação e o vigor de forma mais efetiva nas sementes colhidas em outubro/2010. A sarcotesta contém maior concentração de compostos fenólicos em relação às demais estruturas da semente, sendo que a maior concentração ocorre nas

sementes provenientes de frutos desenvolvidos sob temperaturas mais amenas e colhidos em outubro/2010. O armazenamento pós-colheita até atingirem os estádios 5 e final da maturação dos frutos foi benéfico à qualidade das sementes.

Palavras-chave: germinação, dormência, *Carica papaya* L.

PHYSIOLOGICAL QUALITY AND INHIBITORS COMPOUNDS IN PAPAYA SEEDS WITH AND WITHOUT SARCOTESTA IN RELATION TO FRUIT HARVEST TIME AND MATURATION STAGE

ABSTRACT

The papaya tree prominent position between the major fruit crops in the Brazil. Papaya is a climacteric fruit, in which the changes arising from the maturation process is characterized by change in coloration of the peel that occur quickly after harvest at physiological maturity of the fruit. The presence of sarcotesta seeds can reduce germination, representing an obstacle to their performance and promoting a significant reduction in seedling emergence, which could be related to the presence of inhibitory compounds in the different structures. The objective of this study was to evaluate the physiological quality and the occurrence of inhibitory compounds in papaya seeds with and without sarcotesta in relation to fruit harvest time and maturation stage. Papaya fruits of Formosa group were collected in April and October 2010, at the maturity stage 1 (up to 15% of the peel surface yellow) and stored in laboratory conditions until they reach the 3, 5 stage, and final maturation stage, corresponding to 50%, 75% and 100% of the outer surface of the yellow peel, respectively. After extraction from the fruit, the seeds were evaluated for germination and vigor. It has been determined yet, the content of phenolic compounds in the structures of seeds (sarcotesta, esclerotesta, endosperm + embryo). The experimental design was completely randomized with four replications for the analysis of quality and three replications in duplicate for phenolic compounds analysis. The data were subjected to analysis of variance and means compared by Tukey's test at 5% probability. In the 5 and final stage of fruit maturation were obtained seeds with higher germination and vigor. The presence of sarcotesta reduces the germination and vigor more effectively in the seeds harvested in October/2010. The sarcotesta contains a higher concentration of phenolic compounds in relation to other structures of the seed, with the highest concentration is in the seeds from fruits developed at lower temperatures and harvested in October/2010. The post-harvest storage of fruits until five and final maturation stage was beneficial to seed quality.

Key-words: germination, dormancy, *Carica papaya* L.

INTRODUÇÃO

A cultura do mamoeiro (*Carica papaya* L.) destaca-se entre as frutíferas cultivadas no Brasil (IBRAF, 2009). Conforme dados da FAO (2011), a produção de mamão representa 10% da produção mundial de frutas tropicais. Destacam-se como maiores produtores da fruta a Índia, Brasil, Nigéria e Indonésia. Em 2008, o Brasil produziu 1,9 milhões de toneladas, em 36,5 mil hectares, com valor de produção estimado em R\$ 1 bilhão (FAO, 2011). A produção de mamão está concentrada principalmente nos estados da Bahia (902 mil toneladas) e Espírito Santo (630 mil toneladas), sendo que o mamão exportado apenas pelo estado do Espírito Santo corresponde a 50% do total exportado pelo País (Agriannual, 2010).

O mamão é um fruto climatérico, no qual as alterações decorrentes do processo de amadurecimento ocorrem rapidamente após a colheita na maturidade fisiológica. Com o início do processo de amadurecimento do fruto, desencadeia-se uma série de modificações metabólicas, como o aumento da produção de etileno e da taxa respiratória, que levam ao desenvolvimento de alterações fisiológicas, bioquímicas e morfológicas nas células vegetais. Em frutos de mamão, o processo de amadurecimento se caracteriza pela mudança na coloração da casca, que está relacionada à degradação da clorofila e à biossíntese de pigmentos como os carotenóides e antocianinas, além do amaciamento e aumento do brix (Chitarra e Chitarra, 2005).

O mamoeiro cultivado inicia a frutificação precocemente, apresentando ciclo de vida curto quando comparado a outras espécies frutíferas. A intensa ocorrência de viroses que causam o definhamento das plantas faz com que seja necessária, a cada dois ou três anos, a renovação dos pomares. Além disso, o uso da sexagem para obtenção de pomares com maior número de plantas hermafroditas e a ocorrência de dormência nas sementes são também fatores que contribuem para uma elevada demanda por sementes (Almeida, 2007). Nesse aspecto, a qualidade fisiológica das sementes reveste-se de grande importância, uma vez que está diretamente relacionada à obtenção de pomares constituídos por plantas uniformes e bem desenvolvidas. No entanto, há necessidade de mais estudos referentes à qualidade fisiológica das sementes de mamão, uma vez que germinação é lenta e desuniforme (Dias et al., 2010; Viggiano et al., 2000; Martins et al., 2005; Tokuhisa et al., 2007a). A presença da sarcotesta nas sementes pode representar um obstáculo ao seu desempenho em campo, promovendo redução significativa do

poder germinativo e, conseqüentemente, elevando os custos de produção da cultura (Viggiano et al., 2000, Tokuhisa et al., 2007a). Esta redução estaria relacionada à presença de compostos inibidores na sarcotesta que interfeririam no processo germinativo (Gherardi e Valio, 1976), ocasionado dormência logo após a colheita. Vários trabalhos têm demonstrado o efeito de compostos fenólicos na inibição da germinação de sementes de mamão (Gherardi e Valio, 1976; Reyes et al., 1980; Chow e Lin, 1991, Tokuhisa et al., 2007a).

Estudos têm mostrado que o armazenamento pós-colheita dos frutos de mamão pode ser benéfico à germinação, contribuindo para a superação da dormência (Aroucha et al., 2005; Martins et al. 2006; Aroucha et al., 2004). Além disso, pode permitir colheitas precoces, reduzindo o tempo de permanência dos frutos nas plantas, evitando o maior desgaste das mesmas e reduzindo os riscos de perdas com possíveis condições climáticas desfavoráveis por ocasião da colheita. Aroucha et al. (2005), além de verificar que o armazenamento pós-colheita dos frutos melhora a qualidade das sementes, constataram efeito da época de colheita dos frutos na qualidade fisiológica das sementes. De acordo com os autores, frutos colhidos em janeiro necessitaram de menor período de armazenamento para se obter a máxima germinação das sementes quando comparados aos frutos colhidos em setembro. A época de colheita dos frutos também interfere na proporção de sementes dormentes de um lote. Ao relacionar a época de colheita e o estágio de maturação dos frutos com a ocorrência de dormência em sementes de mamão, Tokuhisa et al. (2008) observaram que a intensidade de dormência das sementes varia com a época de colheita dos frutos, sendo mais acentuada nas sementes extraídas de frutos colhidos no inverno (Julho/2004 e Maio/2005).

O trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da época de colheita e do estágio de maturação dos frutos sobre a qualidade fisiológica e ocorrência compostos inibidores em sementes de mamão.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados frutos de mamão hermafroditas do grupo Formosa ‘Tainung 01’, colhidos aleatoriamente em uma população de plantas em plena produção da

empresa Nortefrut Packing, nos meses de abril e outubro de 2010 no município de Pinheiros-ES. Este município está localizado ao Norte do estado do Espírito Santo, latitude 18,379 Sul (S), longitude 40,236 Oeste (W) a uma Altitude de 122m. O clima na região é tropical de altitude. A temperatura média registrada na região durante o desenvolvimento dos frutos colhidos em abril (dezembro de 2009 a março de 2010) foi de 27 °C, atingindo máxima de 35 °C e mínima de 20,5 °C. A precipitação média do período foi de 147,53mm. Para os frutos colhidos em outubro (formados entre junho a setembro de 2010) apresentou temperatura média de 21 °C, máxima de 29 °C e mínima de 15 °C e precipitação média de 43,13mm (INCAPER, 2011).

Os frutos foram colhidos no estágio 1 de maturação (até 15% da superfície da casca amarela), e transportados para o Laboratório de Sementes do Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa, em Viçosa – MG. Foi realizada então a extração das sementes dos frutos no estágio 1 de maturação, enquanto os demais frutos ficaram armazenados sob temperatura ambiente de laboratório até atingirem os estádios de maturação 3 e 5 correspondendo, respectivamente, a até 50% e 75% da superfície externa amarela (Aroucha et al., 2004) e, ainda, um estágio final do amadurecimento, quando os frutos apresentavam 100% da superfície externa amarela (Figura 1). Tais estádios foram atingidos pelos frutos, nas condições do experimento, aos cinco, 10 e 13 dias após a colheita.

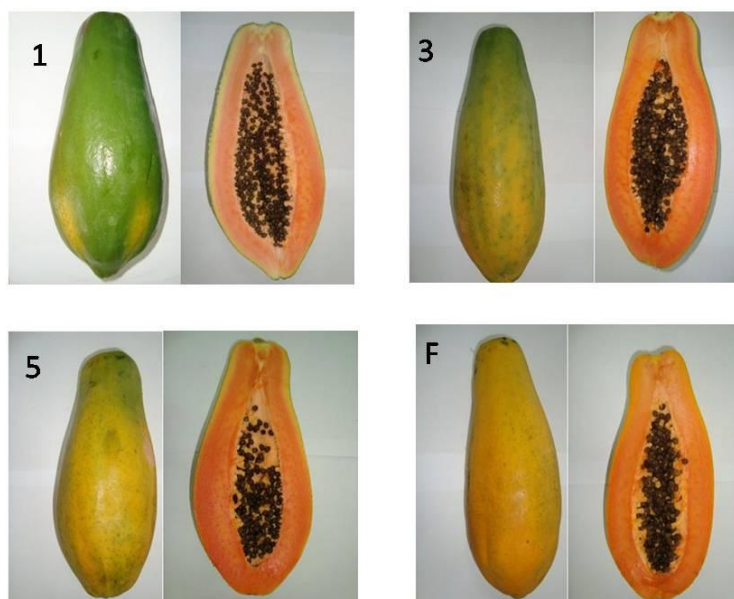


Figura 1. Padrões de coloração de frutos de mamão nos estádios de maturação 1 (até 15% da superfície da casca amarela); 3 (cerca de 50% da superfície da casca amarela); 5 (cerca de 75% da superfície da casca amarela) e Final – F (100% da casca amarela).

Para a extração das sementes dos frutos de cada um dos estádios de maturação, estes foram seccionados longitudinalmente ao meio, as sementes extraídas e, em seguida lavadas em água corrente para retirada dos restos placentários, pedaços de polpa e sementes chochas. Parte das sementes foi mantida com sarcotesta, compondo a amostra de sementes com sarcotesta. Estas sementes, depois de lavadas, foram dispostas para secagem em camada única, sobre papel em ambiente de laboratório, temperatura média de 25°C, até atingirem teor de água de 10%, sendo o teor de água controlado através de determinações diárias em estufa a 105°C por 24h. A outra porção das sementes foi friccionada manualmente sobre peneira até a completa remoção da sarcotesta. Após esse procedimento, foram lavadas em água corrente e dispostas para secar conforme descrito para as sementes com sarcotesta.

Nas duas épocas de colheita em cada estágio de maturação, as sementes com e sem sarcotesta foram então submetidas aos seguintes testes e determinações:

Germinação: as sementes foram tratadas com o fungicida Captan[®] 0,2% e, em seguida, quatro repetições de 50 sementes foram dispostas entre folhas de papel germitest umedecidas com água destilada em volume equivalente a 2,5 vezes o peso do papel

seco. Foram confeccionados rolos que foram mantidos em câmaras de germinação do tipo B.O.D. sob temperatura alternada 20°C-30°C (16/8h) e fotoperíodo de oito horas conforme Brasil (2009). Foram feitas contagens diárias para cálculo do índice de velocidade de germinação (IVG) de acordo Maguire (1962). Aos 30 dias após a semeadura, foram determinadas a porcentagem de germinação, representada pela porcentagem de plântulas normais. As sementes que não germinaram foram submetidas ao teste com tetrazólio para avaliação da sua viabilidade, de modo a permitir identificar se estariam dormentes ou mortas. Para realização de teste, a cobertura externa (sarcotesta e esclerotesta) das sementes (que já se encontravam embebidas) foi cuidadosamente retirada, obtendo-se assim, as estruturas internas (endosperma com o embrião). Com auxílio de estilete e lupa, o endosperma foi cuidadosamente seccionado longitudinalmente para exposição do embrião à solução de tetrazólio. Os endospermas seccionados foram, em seguida, colocados em solução de 0,05% de concentração do sal de tetrazólio por 12 horas, em temperatura de 35 °C, no escuro, conforme testes preliminares adaptados de Althoff e Carmola (1999). Após a coloração, a solução foi drenada e as sementes lavadas em água corrente, para observação em lupa. As sementes que apresentaram embriões com coloração róseo brilhante e consistência firme foram consideradas viáveis estando, portanto, dormentes. À partir da soma do número de sementes dormentes e de sementes germinadas obteve-se a porcentagem de sementes viáveis. Aquelas sementes que não apresentavam as estruturas internas, ou seja, embrião e endosperma (chochas), ou ainda aquelas que não desenvolveram coloração (tecido branco leitoso) e/ou apresentaram tecidos flácidos ou amolecidos (mortas) foram classificadas como inviáveis. Foram registradas, portanto, as porcentagens de sementes dormentes, viáveis e inviáveis.

Emergência de plântulas em areia: em casa de vegetação, quatro repetições de 50 sementes de cada tratamento, foram semeadas em areia esterilizada umedecida até 60% da sua capacidade de retenção, em caixas plásticas com dimensões de 41 x 27 x 5 cm. A semeadura foi realizada em sulcos de 1 cm de profundidade e as sementes recobertas com areia. As regas foram diárias e as contagens realizadas diariamente durante 30 dias. Foram consideradas como emergidas as plântulas cujos cotilédones afloraram na superfície do substrato. Determinaram-se a porcentagem de plântulas emergidas aos 30 dias e o índice de velocidade de emergência (IVE) conforme Maguire (1962).

Emergência de plântulas em areia: em casa de vegetação, quatro repetições de 50 sementes de cada tratamento, foram semeadas em areia esterilizada umedecida até 60% da sua capacidade de retenção, em caixas plásticas com dimensões de 41 x 27 x 5 cm. A semeadura foi realizada em sulcos de 1 cm de profundidade e as sementes recobertas com areia. As regas foram diárias e as contagens realizadas diariamente durante 30 dias. Foram consideradas como emergidas as plântulas cujos cotilédones afloraram na superfície do substrato. Determinaram-se a porcentagem de plântulas emergidas aos 30 dias e o índice de velocidade de emergência (IVE) conforme Maguire (1962).

Primeira contagem de germinação: foi realizada simultaneamente ao teste de germinação, avaliando-se o percentual de plântulas normais aos 15 dias após a semeadura.

Envelhecimento acelerado: as sementes foram distribuídas em camada única sobre bandeja de tela acoplada em caixa gerbox contendo, ao fundo, 40 mL de água. As caixas foram fechadas para garantir cerca de 100% de umidade relativa em seu interior e mantidas em câmara B.O.D., a 41°C por 48 horas. Após esse período, foi realizado o teste de germinação (Brasil, 2009), avaliando-se a porcentagem de germinação (plântulas normais) aos 30 dias após a semeadura.

Determinação de fenóis totais nas estruturas das sementes: em cada estágio de maturação foram separadas a estrutura externa (sarcotesta), a esclerotesta e a parte interna (endosperma+embrião) das sementes. (Figura 2). As amostras de cada estrutura foram secas, a 35 °C, em estufa de circulação de ar por 24 h. Em seguida, foram trituradas e três gramas do material seco foram depositadas em balão de fundo chato, adicionando-se 30 mL de etanol 80%. Os balões contendo as amostras foram colocados em extrator para extração a quente com condensador, por um período de 90 minutos. O extrato obtido foi filtrado à vácuo utilizando-se funil de Buchner e filtro de papel. Procedeu-se a evaporação do etanol a 40 °C, em rotaevaporador. As amostras foram centrifugadas a 4°C durante 10 minutos a uma velocidade de 10.000 rpm, e o sobrenadante transferidos para os frascos de armazenamento, nos quais foi injetado gás nitrogênio; em seguida foram vedados e mantidos congelados a -30 °C (Swaint e Hillis, 1959). Construiu-se a curva padrão dos compostos utilizando-se ácido fenílico ($y(\text{Totais}) = 0,001x + 0,127$). A determinação dos fenóis totais foi realizada com 25 µL da amostra. Com água destilada completou-se o volume para 3,5 mL. Adicionou-se 0,25

mL do reagente Folin-Ciocalteu, seguida pela agitação dos tubos. A seguir foi adicionado 0,5 mL da solução de carbonato de sódio agitando-se novamente os tubos e a mistura elevada para 5mL com água destilada. Após 1h no escuro, leu-se a absorbância a 730nm em espectrofotômetro UV-Visível modelo C618-0437. As determinações foram realizadas em três repetições em duplicata. Os resultados expressos em μg de fenol.g MS^{-1} do material vegetal.



Figura 2. Estruturas de sementes de mamão – 1) sarcotesta: envelope mucilaginoso que envolve externamente a semente; 2) esclerotesta: camada enrugada localizada imediatamente abaixo da sarcotesta; 3) parte interna: composta pelo endosperma e embrião.

Delineamento estatístico: o experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado. Os dados foram submetidos à análise de variância, com os tratamentos dispostos em esquema fatorial 2 (épocas de colheita) x 4 (estádios de maturação) x 2 (sementes com e sem sarcotesta), com quatro repetições, sendo cada parcela constituída por 50 sementes. Nas determinações dos compostos fenólicos foram utilizadas três repetições analisadas em duplicata e os tratamentos dispostos em esquema fatorial 2 (épocas de colheita) x 4 (estádios de maturação) x 3 (sarcotesta, esclerotesta e endosperma+embrião da semente). Na análise de variância, os efeitos dos fatores foram testados pelo teste F ($P \leq 0,05$ e $\leq 0,01$) e, quando significativos, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$). Os valores percentuais das contagens foram previamente submetidos à transformação angular, para melhor aproximação à distribuição normal e homogeneização das variâncias (Dias e Barros, 2009). O processamento dos dados foi realizado com o software SAS (Delwiche e Slaughter, 2003).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise de variância dos dados indicaram efeito significativo da época de colheita, estádios de maturação e presença de sarcotesta nas sementes, bem como da interação entre estes fatores, para a maioria das variáveis analisadas. Apenas para a variável envelhecimento acelerado não houve efeito da presença/ausência da sarcotesta nas sementes.

Pela Figura 3, pode-se verificar que a presença da sarcotesta reduz a formação de plântulas normais no teste de germinação, interferindo tanto na primeira contagem de germinação como na germinação final, na porcentagem de emergência de plântulas e nas características de vigor avaliadas (Figura 3A) e nos índices de velocidade de germinação e emergência (Figura 3B). A porcentagem de sementes viáveis, no entanto, foi maior em sementes com sarcotesta. Em geral, sementes sem sarcotesta originaram maior porcentagem de plântulas normais, além de terem germinado mais rápido do que as com sarcotesta. O efeito da sarcotesta sobre a qualidade fisiológica das sementes de mamão está relacionado à presença de compostos inibidores da germinação nessa estrutura, conforme concluíram Reyes et al. (1980), Chow e Lin (1991), Schmildt et al. (1993). Tokuhisa et al. (2007b) concluíram que a dormência nas sementes pode ser atribuída à presença de compostos fenólicos não somente na sarcotesta, mas, em maior concentração, na esclerotesta da semente. Com relação ao efeito exercido pelos compostos fenólicos sobre a germinação, Marcos Filho (2005) afirma que estes compostos presentes nas estruturas das sementes atuam retendo o oxigênio, limitando dessa forma, seu suprimento ao embrião durante a germinação.

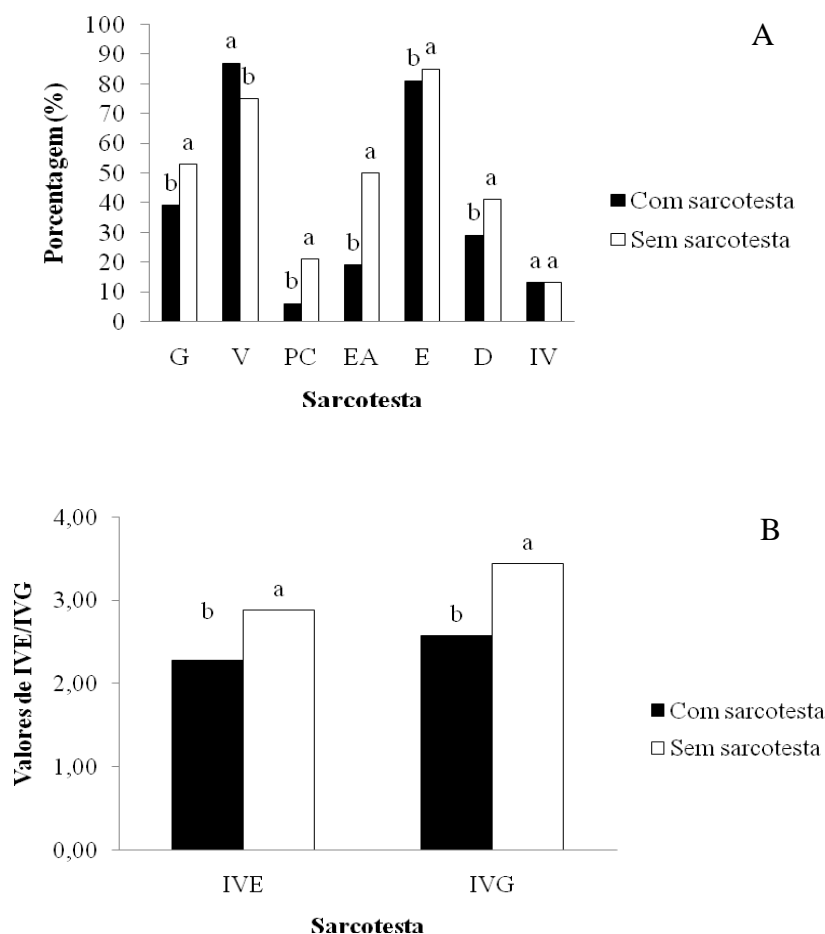


Figura 3. **A)** porcentagem germinação aos 30 dias (G), primeira contagem de germinação aos 15 dias (PC), sementes dormentes (D), sementes viáveis (V), sementes inviáveis (IV), germinação no envelhecimento acelerado (EA), emergência (E); **B)** índice de velocidade de emergência (IVE) e índice de velocidade de germinação (IVG) em sementes de mamão com e sem sarcotesta. *Para cada teste, médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre sementes com e sem sarcotesta pelo teste F a 5% de probabilidade.

A Figura 4 ilustra a protrusão da raiz primária durante o processo de germinação em sementes de mamão com sarcotesta (Figura 4A) e sem sarcotesta (Figura 4B). Conforme observado, o efeito da sarcotesta, além de reter os compostos inibidores de germinação, pode atuar também, dificultando a emissão da raiz primária no início do processo de germinação. Este efeito exercido pela sarcotesta pode ser um dos fatores responsáveis pela redução da porcentagem de emergência e formação de plântulas normais no teste de germinação das sementes com sarcotesta (Figura 5A).

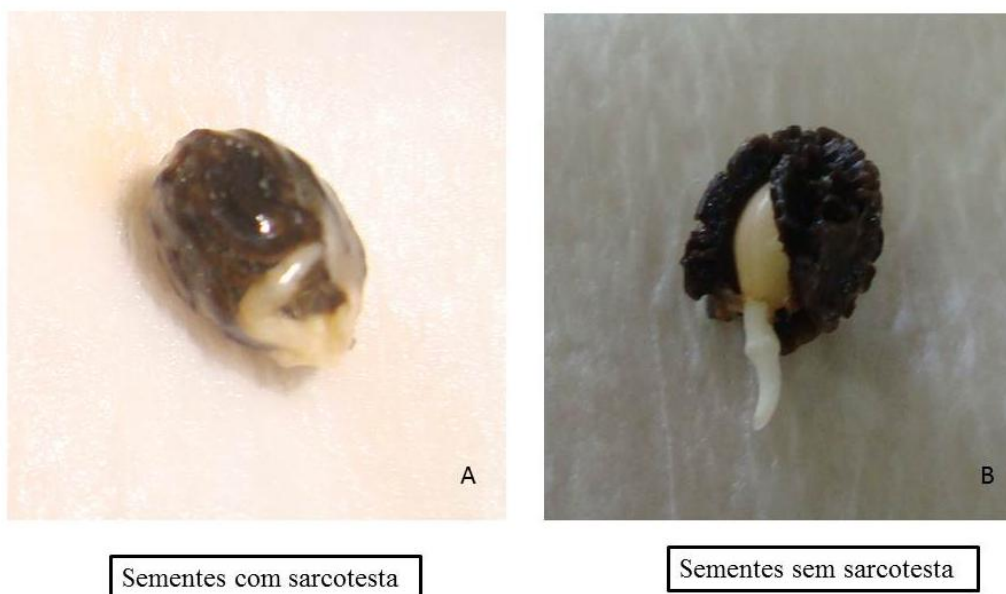


Figura 4. Protrusão da raiz primária em semente de mamão com (A) e sem sarcotesta (B) registrada aos 10 dias após a instalação do teste de germinação.

Sementes de mamão são comercializadas sem a sarcotesta com o objetivo de diminuir a incidência de fungos e favorecer a individualização das sementes. Os resultados obtidos neste trabalho indicam, de modo geral, que a remoção da sarcotesta favorece ainda, a velocidade e porcentagem de germinação, facilitando a emissão da raiz primária no início da germinação, elevando, de forma significativa, o percentual de plântulas emergidas.

Ao se avaliar isoladamente a influência do estágio de maturação dos frutos na qualidade das sementes (Figura 5A), verifica-se que ocorre redução da dormência e aumento da germinação e vigor das sementes à medida que os frutos amadurecem, não sendo verificada diferença entre os estádios de maturação 5 e final, que diferiram dos estádios 1 e 3. A porcentagem de germinação (Figura 5A) e o IVG (Figura 5B) foram menores para as sementes dos frutos dos estádios 1 e 3 em comparação às dos estádios 5 e final, que não diferiram entre si. Os valores de primeira contagem, também foram menores para as sementes extraídas de frutos nos estádios 1 e 3, que não diferiram entre si, e maiores valores para as sementes dos estádios 5 e final, as quais também não diferiram entre si (Figura 5A). Por outro lado, a porcentagem de sementes dormentes foi maior nos estádios iniciais de maturação do fruto (1 e 3), diminuindo significativamente nos estádios 5 e final, cujos resultados foram semelhantes, indicando menores valores

de germinação foram relacionados a maior ocorrência de dormência nas sementes (Figura 5A). Esse comportamento reflete o efeito benéfico do armazenamento pós-colheita do fruto no incremento da germinação (Dias et al., 2006 e Vidigal et al., 2009) e na superação da dormência pós-colheita (Balbinot et al., 2004; Aroucha et al., 2005; Martins, et al., 2006). Maior número de sementes inviáveis foi obtido no estágio 5 da maturação do fruto.

Em geral, sementes com menor germinação, emergência e vigor, avaliados pela primeira contagem, envelhecimento acelerado, IVG e IVE, foram obtidas de frutos do estágio 1 de maturação. Com relação às sementes de maior vigor, observou-se, em geral, melhor desempenho para as sementes dos estágios 3, 5 e final, ocorrendo algumas variações em função do teste aplicado. Comparando a qualidade fisiológica das sementes obtidas de frutos destes três estágios verifica-se valores superiores de emergência para as sementes do estágio 5 e final, que não diferiram entre si. No teste de envelhecimento acelerado, as sementes do estágio 5, que não diferiram das do estágio final, foram superiores às dos estágios 1 e 3. Quando se avaliou o IVG, maiores valores foram obtidos para as sementes dos estágios 5 e final, enquanto pelo IVE não houve diferença entre as sementes dos três últimos estágios de maturação (Figura 5B).

Verifica-se, portanto, que o armazenamento pós-colheita dos frutos de mamão, após serem colhidos no estágio 1 de maturação, beneficia a germinação e o vigor, reduzindo a ocorrência de sementes dormentes. Contudo, não interfere na proporção de sementes inviáveis. Estes resultados reforçam os de Martins et al. (2006), para frutos de mamão Solo e Formosa armazenados a 25°C durante 10 dias, onde o potencial fisiológico das sementes foi favorecido pelo repouso pós-colheita dos frutos. Outros autores também constataram efeito benéfico do armazenamento dos frutos após a colheita sobre a qualidade fisiológica das sementes de mamão (Aroucha, 2004; Balbinot et al., 2004). O efeito do armazenamento pós-colheita dos frutos sobre a qualidade fisiológica de sementes também tem sido relatado para sementes de outras espécies, conforme foi observado por Dias et al. (2006) para sementes de tomate e Vidigal et al. (2009) para sementes de pimenta, onde o armazenamento pós-colheita, ainda que curto, melhorou a qualidade fisiológica das sementes.

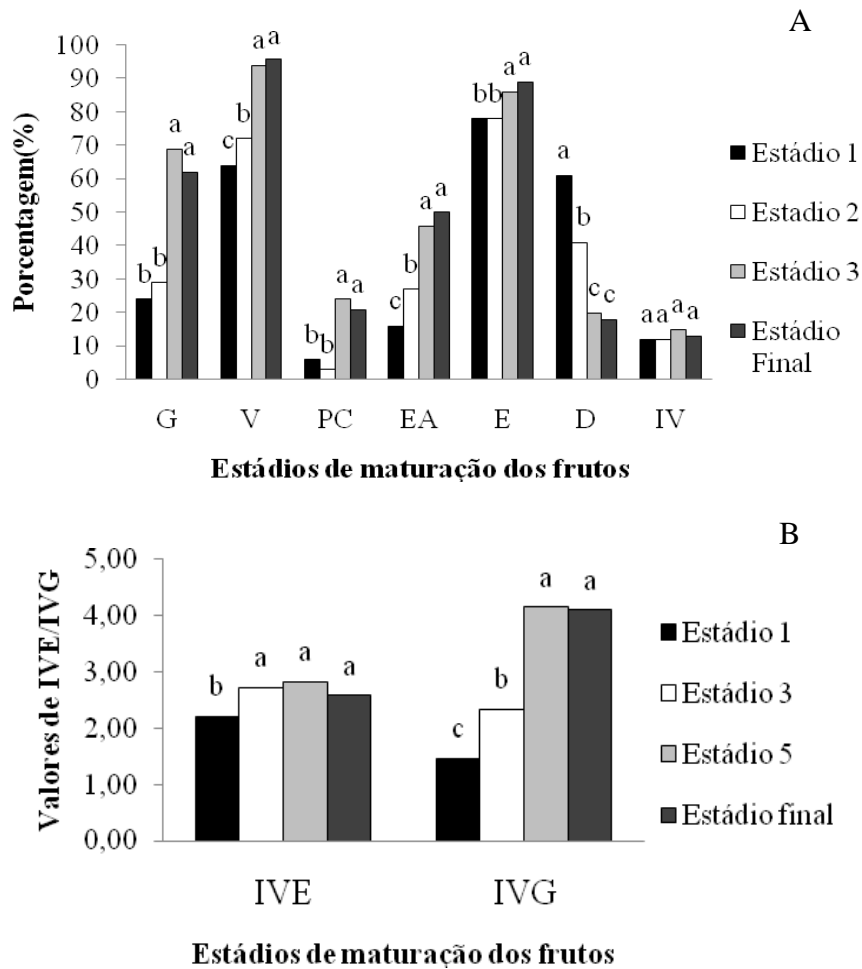


Figura 5. **A)** Porcentagens de germinação aos 30 dias (G), primeira contagem aos 15 dias (PC), sementes dormentes (D), sementes viáveis (V), sementes inviáveis (IV), germinação no envelhecimento acelerado (EA), emergência (E); **B)** índice de velocidade de emergência (IVE) e índice de velocidade de germinação (IVG) em sementes de mamão em função do estágio de maturação do fruto após a colheita. * Para cada teste, médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre estádios de maturação pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Pela Tabela 1 verifica-se que com o amadurecimento dos frutos houve aumento na porcentagem de sementes germinadas tanto para sementes com e sem sarcotesta. Apenas nos estádios 5 e final de maturação é que se observou maior porcentagem de germinação para as sementes sem sarcotesta em relação às com sarcotesta. Pode-se inferir que a remoção da sarcotesta da semente favoreceu a germinação das sementes

em frutos com mais de 75% da casca amarela, o que ocorreu a partir do décimo dia de armazenamento pós-colheita dos frutos. No entanto, para sementes nos estádios 1 e 3, a remoção da sarcotesta resultou em menor número de sementes inviáveis em relação às sementes com sarcotesta.

Ainda na Tabela 1, observa-se que a germinação das sementes com sarcotesta foi maior para frutos do estágio 5 de maturação e menor para frutos do estágio 1. Nas sementes sem sarcotesta, maior germinação ocorreu quando os frutos atingiram os estádios de maturação 5 e final, onde foram obtidos valores significativamente superiores aos observados nos estádios 1 e 3. Também Tokuhisa et al. (2007a) verificaram melhor germinação das sementes sem sarcotesta extraídas de frutos com mais de 75% da superfície da casca amarela (estádio 5). Sementes de mamão dos grupos Solo e Formosa, colhidos em diferentes estádios de maturação, tiveram baixa germinação logo após a colheita, independente do estágio de maturação do fruto (Aroucha et al., 2005). Para estes autores, o armazenamento pós-colheita dos frutos por 12 dias a 25°C proporcionou aumento na germinação e no vigor das sementes. Resultados semelhantes foram observados por Balbinot et al. (2004), que armazenou os frutos à temperatura de 10°C, verificando efeito significativo do período de repouso dos frutos na qualidade fisiológica das sementes de mamão.

Paralelamente, verifica-se que a proporção de sementes dormentes, tanto com como sem sarcotesta, foi maior nos frutos no estágio 1 de maturação, ocorrendo redução da dormência com o decorrer da maturação dos frutos. A proporção de sementes dormentes foi maior naquelas sem sarcotesta nos estádios 1 e 3 de maturação. Apenas no estágio final de maturação é que a porcentagem de sementes sem sarcotesta com dormência foi inferior às com sarcotesta (Tabela 1). Assim, apesar da remoção da sarcotesta, ainda houve alta proporção de sementes dormentes indicando que outros mecanismos de dormência estariam atuando nas sementes e que a dormência em sementes de mamão não deve ser atribuída apenas à presença de compostos inibidores presentes na sarcotesta, conforme relatam alguns autores (Gherardi e Valio, 1976; Chow e Lin, 1991; Tokuhisa et al., 2007b). A presença dos compostos fenólicos foi verificada tanto na sarcotesta como na esclerotesta de sementes de mamão, com maior conteúdo nesta última estrutura, observando ainda que a presença destes compostos nas estruturas

internas das sementes (endosperma e embrião) é praticamente nula (Tokuhisa et al., 2007b).

Também Aroucha et al.(2005) ao avaliar sementes de mamão dos grupos Solo e Formosa, colhidos em diferentes estádios de maturação, verificaram baixa germinação das sementes logo após a colheita, independente do estádio de maturação no qual o fruto foi colhido. Para estas sementes, o repouso dos frutos por 12 dias a 25°C, proporcionou aumento do percentual germinativo e no vigor. Resultados semelhantes foram observados por Balbinot et al. (2004) que armazenaram os frutos à temperatura de 10°C, verificando efeito significativo do período de repouso dos frutos na germinação e no vigor das sementes.

Observa-se pela Tabela 1 melhor desempenho na primeira contagem da germinação para sementes sem sarcotesta no estádio 5 e final, realçando o que foi verificado para a germinação das sementes. Pelo teste de tetrazólio verificou-se que sementes não germinadas no transcorrer do teste de germinação mantiveram-se viáveis, sendo, portanto, dormentes, apresentando valores decrescentes dos estádios iniciais para os estádios finais de maturação do fruto. Aroucha et al.(2005) e Dias et al. (2010) também verificaram ocorrência de dormência pós-colheita em sementes de mamão recém colhidas.

Houve maior ocorrência de dormência em sementes sem sarcotesta obtidas de frutos dos estádios de maturação 1 e 3, quando comparadas às com sarcotesta. Nestes estádios, a remoção da sarcotesta pode ter promovido, simultaneamente, a remoção de compostos que seriam utilizados pelas sementes nas fases posteriores para estruturação das paredes celulares e/ou ter interferido removendo substâncias promotoras da germinação presentes na sarcotesta, para o endosperma e embrião durante a germinação.

Os resultados obtidos no teste do envelhecimento acelerado (EA) demonstram que sementes sem sarcotesta, nos estádios 1,3 e 5 de maturação do fruto, foram mais vigorosas que as com sarcotesta. O vigor das sementes com sarcotesta obtidas de frutos no estádio final de maturação foi superior às dos demais estádios, enquanto para as sementes sem sarcotesta, maior vigor foi constatado no estádio 5 de maturação (Tabela 1).

Com relação à emergência de plântulas (Tabela 1), não se verificou diferença entre sementes com e sem sarcotesta nos estádios 3 e final. Nos demais estádios, sementes sem sarcotesta apresentaram melhor desempenho. O armazenamento pós-colheita dos frutos favoreceu a emergência tanto em sementes com e sem sarcotesta, que aumentou do estágio 1 para o final; neste estágio maior emergência de plântulas foi obtida para sementes com sarcotesta, enquanto para as sem sarcotesta o maior valor foi observado no estágio 5, que não diferiu do estágio de maturação final.

O índice de velocidade de germinação (IVG) seguiu comportamento similar, aumentando do estágio de maturação inicial para o final, não sendo verificada diferença entre os estádios 5 e final para sementes sem sarcotesta. Nos estádios 5 e final, a presença da sarcotesta nas sementes contribuiu para a redução dos valores de IVG em relação às sem sarcotesta. Assim, verifica-se que a sarcotesta interfere principalmente na velocidade de germinação (Figura 3A) e emergência das plântulas (Figura 4B e Tabela 1).

Tabela 1: Porcentagens de germinação, sementes viáveis, primeira contagem, sementes dormentes, germinação após o envelhecimento acelerado, emergência, sementes inviáveis e índices de velocidade de germinação (IVG) e emergência(IVE) em sementes de mamão com e sem sarcotesta extraídas de frutos em quatro diferentes estádios de maturação.

	ESTÁDIOS DE MATURAÇÃO			
	Estádio 1	Estádio 3	Estádio 5	Estádio final
SEMENTES	Germinação (%)			
Com sarcotesta	26 aC	31 aBC	59 bA	40 bB
Sem sarcotesta	21 aB	27 aB	78 aA	85 aA
	Sementes Viáveis (%)			
Com sarcotesta	71 aB	81 aB	100 aA	96 aA
Sem sarcotesta	56 bB	63 bB	87 aA	95 aA
	Primeira contagem (%)			
Com sarcotesta	0 bB	2 aB	16 bA	5 bB
Sem sarcotesta	11 aB	4 aC	33 aA	37 aA
	Dormentes (%)			
Com sarcotesta	45 bA	25 bB	21 aB	25 aB
Sem sarcotesta	77 aA	58 aB	18 aC	11 bC
	Envelhecimento Acelerado (%)			
Com sarcotesta	8 bC	11 bC	20 bB	39 bA
Sem sarcotesta	24 aD	42 aC	73 aA	62 aB
	Emergência (%)			
Com sarcotesta	73 bC	80 aB	79 bBC	90 aA
Sem sarcotesta	82 aBC	76 aC	93 aA	88 aAB
	Inviáveis (%)			
Com sarcotesta	12 aA	14 aA	15 aA	11 bA
Sem sarcotesta	12 aAB	9 bB	15 aA	15 aA
	IVG			
Com sarcotesta	1,62 aC	2,95 aAB	3,25 bA	2,48 bB
Sem sarcotesta	1,27 aB	1,72 bB	5,06 aA	5,71 aA
	IVE ns			
Com sarcotesta	2,04	2,41	2,52	2,17
Sem sarcotesta	2,39	3,04	3,14	2,99

Médias seguidas pela mesma letra, maiúsculas na linha e minúsculas na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade; ^{ns} Não significativo pelo teste F a 5% de probabilidade.

Conforme Figura 6A, os frutos colhidos em outubro, quando as temperaturas mínimas atingiram 15 °C e colhidos em outubro/2010, forneceram sementes com maior porcentagem de dormência, menor porcentagem de germinação e menor vigor pelo teste de envelhecimento acelerado (Figura 6A) em relação àqueles colhidos em abril/2010 (desenvolvidos no verão). Esse comportamento das sementes indica o efeito exercido pelas variações climáticas ocorrentes no período de formação do fruto e das sementes sobre a sua qualidade, reduzindo a germinação e o vigor e elevando o número de sementes dormentes. Por outro lado, observa-se que frutos formados no período do inverno, quando o metabolismo vegetal normalmente é reduzido, produziram sementes com maior porcentagem de plântulas normais na primeira contagem e velocidade de germinação e de emergência de plântulas, o que pode ser um indicativo de que a possível redução no metabolismo da planta nesse período tenha favorecido, simultaneamente, a formação de sementes com maior vigor, em consequência de um acúmulo mais lento de fotoassimilados.

A literatura relata que sementes de mamão extraídas de frutos formados durante a época mais fria do ano (junho/julho) podem apresentar redução na taxa de germinação com maior ocorrência de sementes dormentes (Tokuhisa et al., 2007b). Estes autores verificaram que sementes de mamão extraídas de frutos colhidos em diferentes épocas do ano apresentam diferentes níveis de dormência, sendo esta mais evidente nas sementes provenientes de frutos produzidos no inverno.

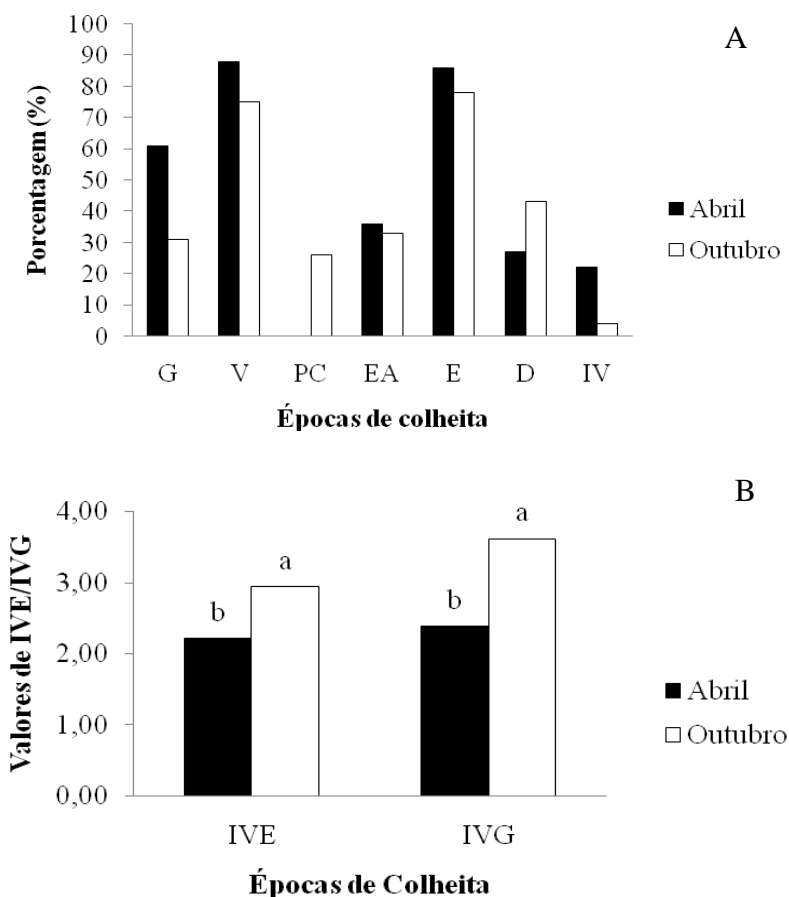


Figura 6. **A)** Porcentagens de germinação aos 30 dias (G), primeira contagem aos 15 dias (PC), sementes dormentes (D), sementes viáveis (V), sementes inviáveis (IV), germinação no envelhecimento acelerado (EA), emergência (E); **B)** índice de velocidade de emergência (IVE) e índice de velocidade de germinação (IVG) em sementes de mamão em função da época de colheita dos frutos. *Para cada teste, médias seguidas pela mesma letra entre épocas de colheita não diferem significativamente pelo teste F a 5% de probabilidade.

Para sementes de frutos colhidos em abril, não houve efeito favorável da remoção da sarcotesta das sementes sobre a germinação, não sendo observada diferença entre sementes com e sem sarcotesta (Tabela 2). No entanto, para os frutos colhidos em outubro, a remoção da sarcotesta das sementes apresentou efeito benéfico significativo sobre a formação de plântulas normais no teste de germinação. Tanto em presença como em ausência de sarcotesta, as sementes de frutos colhidos em abril apresentaram percentual de germinação superior àquelas de frutos colhidos em outubro. Em contrapartida, a remoção da sarcotesta nas sementes colhidas no mês de abril contribuiu

para o aumento no percentual de sementes dormentes, o que não foi verificado nas sementes colhidas em outubro. Nestas sementes, o número de sementes dormentes foi significativamente superior aquelas colhidas em abril (Tabela 2). Pelos resultados, observa-se que a redução da germinação estaria relacionada à ocorrência de dormência nas sementes. Esse resultado difere parcialmente do que foi verificado por Tokuhisa et al. (2008), estudando o efeito da época do ano sobre a qualidade de sementes de mamão, onde independente da época, as sementes que tiveram a sarcotesta removida apresentaram melhor desempenho germinativo em relação às intactas. Cardoso et al.(2007) também afirmam que a sarcotesta exerce papel prejudicial à germinação devido a presença de inibidores nesta estrutura, o que também foi observado por Tokuhisa et al. (2007b). Estes autores constataram a presença de compostos fenólicos inibidores tanto na sarcotesta, como na esclerotesta das sementes de mamão.

Para sementes submetidas ao envelhecimento acelerado (Tabela 2), constatou-se maior germinação para sementes colhidas em abril que tiveram a sarcotesta removida. Nas duas épocas de colheita verificou-se efeito favorável da remoção da sarcotesta sobre o vigor das sementes avaliado pelo envelhecimento acelerado, porcentagem de emergência e índice de velocidade de emergência. Na primeira contagem de germinação verificou-se maiores valores de plântulas normais para as sementes sem sarcotesta colhidas em outubro. Já a emergência de plântulas foi superior para sementes sem sarcotesta nas duas épocas de colheita avaliadas, enquanto sementes com sarcotesta colhidas em abril apresentaram maiores valores de emergência e de sementes inviáveis. O mesmo não foi verificado para o índice de velocidade de germinação para o qual não houve efeito da interação época de colheita e presença/ausência de sarcotesta. Estes resultados corroboram com aqueles verificados por Tokuhisa et al. (2008), que detectaram melhor desempenho de sementes colhidas em períodos de temperaturas mais elevadas. Estes autores verificaram ainda um efeito favorável da remoção da sarcotesta das sementes independente da época de colheita, o que concorda parcialmente com o que foi observado nas duas épocas de colheita avaliadas neste trabalho, uma vez que para germinação (Tabela 2) não houve efeito da remoção da sarcotesta para as sementes colhidas em abril. Dias et al. (2009) também obtiveram resposta favorável da remoção da sarcotesta de sementes de mamão em relação ao seu comportamento durante o armazenamento.

A dormência nas sementes obtidas de frutos colhidos em outubro foi maior, sendo que nesta época, não foi observada diferença entre sementes com e sem sarcotesta. Nos frutos colhidos em abril, sementes com sarcotesta apresentaram menor porcentagem de dormência. Conceitualmente, a dormência é um fenômeno através do qual sementes viáveis, ainda que encontrem todas as condições adequadas à germinação, não germinam devido à ação de mecanismos bloqueadores internos, determinados pelo genótipo (Carvalho e Nakagawa, 2000; Baskin e Baskin, 2004; Marcos Filho, 2005). Em sementes de mamão a ocorrência de dormência vem sendo relacionada à presença de compostos fenólicos sarcotesta. Tokuhisa et al. (2007b), no entanto, verificaram a presença desses compostos tanto na sarcotesta, quanto na esclerotesta das sementes. Observaram ainda que, extratos aquosos obtidos a partir da sarcotesta das sementes inibiram a germinação de sementes de alface. Contudo, Viggiano et al. (2000) verificaram ocorrência de dormência também em sementes desprovidas de sarcotesta. Deste modo, pode-se inferir que além dos compostos inibidores presentes na sarcotesta das sementes de mamão, outro mecanismo de dormência pode estar atuando nestas sementes, restringindo o crescimento do embrião.

Tabela 2: Porcentagens de germinação, sementes viáveis, primeira contagem, sementes dormentes, germinação após o envelhecimento acelerado, emergência, sementes inviáveis, índice de velocidade de germinação (IVG) e índice de velocidade de emergência (IVE) de sementes de mamão com e sem sarcotesta extraídas de frutos em duas diferentes épocas de colheita.

ÉPOCA DE COLHETA	SEMENTES	
	Com Sarcotesta	Sem sarcotesta
	Germinação (%)	
Abril	60 aA	61 aA
Outubro	18 bB	44 bA
	Viáveis (%)	
Abril	92 aA	84 aA
Outubro	82 bA	66 bB
	Primeira Contagem (%)	
Abril	0 bA	0bA
Outubro	11 aB	42 aA
	Dormentes (%)	
Abril	17 bB	36 bA
Outubro	41 aA	45 aA
	Envelhecimento Acelerado (%)	
Abril	15 bB	58 aA
Outubro	24 aB	43 bA
	Emergência (%)	
Abril	82 aB	89 aA
Outubro	71 bB	85 aA
	Inviáveis ns (%)	
Abril	22	22
Outubro	4	4
	IVG ns	
Abril	2,06	2,74
Outubro	3,09	4,15
	IVE	
Abril	2,09 bB	2,34 bA
Outubro	2,47 aB	3,43 aA

Médias seguidas pela mesma letra, maiúsculas na linha e minúsculas nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade; ^{ns} Não significativo pelo teste F a 5% de probabilidade

Pelos resultados apresentados na Tabela 3 verifica-se que, de modo geral, ocorre melhoria na qualidade fisiológica das sementes e redução da porcentagem de sementes dormentes, com o amadurecimento dos frutos. A germinação das sementes foi superior nos estádios 5 e final para as duas épocas de colheita. Comparando as épocas de colheita dos frutos, verifica-se ainda que na colheita realizada em outubro obtiveram-se os menores valores de germinação, independente do estágio de maturação do fruto. Em espécies de frutos carnosos, como o mamão, o processo de maturação das sementes continua após a colheita dos frutos. Assim, sementes imaturas ainda presentes no interior do fruto, completam o seu desenvolvimento resultando em melhor qualidade, conforme foi verificado para sementes de tomate (Vidigal et al., 2006; Dias et al., 2006) e para sementes de pimenta por Vidigal et al. (2009).

O vigor das sementes foi favorecido pelo amadurecimento dos frutos. Pela primeira contagem de germinação e IVE houve melhor desempenho para as sementes colhidas em outubro e removidas dos frutos no estágio 5 da maturação. Para as sementes colhidas em abril, não houve efeito do estágio de maturação do fruto nas velocidades de germinação e de emergência. Assim, a colheita de outubro favoreceu apenas a velocidade de germinação, contudo, não foi benéfica para a germinação e emergência de plântulas. As sementes de frutos no estágio final de maturação colhidos em outubro tiveram maior emergência de plântulas, enquanto para a colheita de abril os maiores valores foram obtidos no estágio 1, 5 e final de maturação. Pelo teste de envelhecimento acelerado, sementes mais vigorosas foram obtidas de frutos no estágio final de maturação colhidos em abril. Assim, de modo geral, o vigor das sementes de frutos nos estádios de maturação 5 e final foi superior. Com relação à época de colheita, pode-se afirmar que as sementes oriundas da colheita de outubro tiveram maior velocidade de germinação e emergência.

Conforme Martins et al. (2006), a manutenção das sementes de mamão no fruto após a colheita durante a fase de amadurecimento, contribuiu com a melhoria da qualidade das sementes, o que estaria associado a alguma alteração entre compostos promotores e inibidores de germinação no interior das sementes. Esse efeito favorável do armazenamento sobre a qualidade de sementes foi observado também por Aroucha et al. (2005) para sementes de mamão 'Golden'.

Tabela 3: Porcentagens de germinação, sementes viáveis, plântulas normais, sementes dormentes, envelhecimento acelerado, emergência, sementes chochas, índice de velocidade de germinação (IVG) e índice de velocidade de emergência (IVE) de sementes de mamão extraídas dos frutos nos estádios 1, 3, 5 e final da maturação em duas diferentes épocas de colheita.

ÉPOCA DE COLHETA	ESTÁDIOS DE MATURAÇÃO			
	Estádio 1	Estádio 3	Estádio 5	Estádio final
	Germinação (%)			
Abril	35 aC	50 aB	83 aA	75 aA
Outubro	13 bB	8 bB	54 bA	50 bA
	Viáveis (%)			
Abril	82 aC	72 aC	100 aA	96 aA
Outubro	45 bC	71 aB	86 bA	96 aA
	Primeira contagem (%)			
Abril	0 bA	0 bA	1 bA	0 bA
Outubro	11 aC	6 aC	48 aA	aB
	Dormentes (%)			
Abril	60 aA	37 bB	6 bC	3 bC
Outubro	62 aA	46 aB	33 aC	32 aC
	Envelhecimento Acelerado (%)			
Abril	14 aC	21 bC	49 aB	63 aA
Outubro	19 aC	33 aB	44 aA	38 bAB
	Emergência (%)			
Abril	84 aAB	82 aB	90 aA	89 aAB
Outubro	71 bC	74 bC	82 bB	90 aA
	Inviáveis ns			
Abril	22	21	25	20
Outubro	3	3	5	6
	IVG ns			
Abril	1,08	1,71	3,34	3,47
Outubro	1,81	2,96	4,98	4,71
	IVE			
Abril	2,01 bA	2,31 bA	2,23 bA	2,32 bA
Outubro	2,43 aC	3,12 aAB	3,41 aA	2,83 aB

Médias seguidas pela mesma letra, maiúscula na linha e minúsculas na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade; ^{ns} Não significativo pelo teste F a 5% de probabilidade.

As análises de compostos fenólicos totais nas estruturas de sementes de mamão (Figura 7) mostram que, para sementes de frutos colhidos em outubro, a maior concentração destes compostos foi verificada na sarcotesta, seguida pela esclerotesta e parte interna que diferiram significativamente entre si. Para sementes colhidas em abril, não foi detectada diferença significativa entre esclerotesta e parte interna, que apresentaram valores inferiores ao da sarcotesta..

Durante o período de formação dos frutos colhidos em abril (dezembro/2009 a março/2010) as temperaturas na região de Pinheiros-ES variaram entre mínima de 20,5° C e máxima de 35° C, enquanto durante a formação dos frutos colhidos em outubro (junho a setembro/2010), a mínima registrada foi de 15° C e a máxima de 29° C, com médias de 27° C e 21° C respectivamente para cada época (INCAPER, 2011). Portanto, as condições climáticas de cada época durante a formação dos frutos podem ter contribuído para a maior síntese de compostos fenólicos nas sementes desenvolvidas sob temperaturas mais amenas e colhidas em outubro/2010 (Figura 7). Os fenóis são compostos do metabolismo secundário das plantas, não estando diretamente envolvidos nos processos de crescimento e desenvolvimento. Em muitas espécies, a produção desses compostos está relacionada à defesa do metabolismo diante de alguma condição de estresse, como déficit hídrico, temperaturas extremas, ocorrência de pragas e doenças, dentre outros (Shahidi e Nacz, 1995; Taiz e Zeiger, 2004).

Pelos resultados apresentados na Figura 7, pode-se inferir que a ocorrência de dormência é mais acentuada em sementes que apresentam maior concentração de fenóis na sarcotesta, o que foi verificado em sementes colhidas em outubro/2010. O estresse é um dos principais fatores responsáveis pela alteração na síntese de compostos secundários em plantas, uma vez que estes compostos estão relacionados ao mecanismo de defesa vegetal. Conforme verificado por Rivero et al. (2001), o estresse térmico em plantas tomate e melancia acarretou aumento na produção de compostos fenólicos totais como uma possível resposta adaptativa das plantas à condição estressante, o que ocorreu com o aumento (35° C) e redução (15,25° C) da temperatura, respectivamente para cada espécie. A variação na concentração de compostos fenólicos seria resultado de um processo interno de adaptação às condições de estresse. Maciel et al.(1992) observaram variação na concentração de fenóis entre as estruturas das sementes de espécies florestais. Em sementes de mamão, Tokuhisa et al. (2007b) observaram maior

concentração de compostos fenólicos na sarcotesta e esclerotesta, ocorrendo variação na concentração conforme a época de colheita dos frutos. Segundo os autores, frutos formados sob temperaturas mais amenas e colhidos em setembro, apresentaram maior concentração de fenóis.

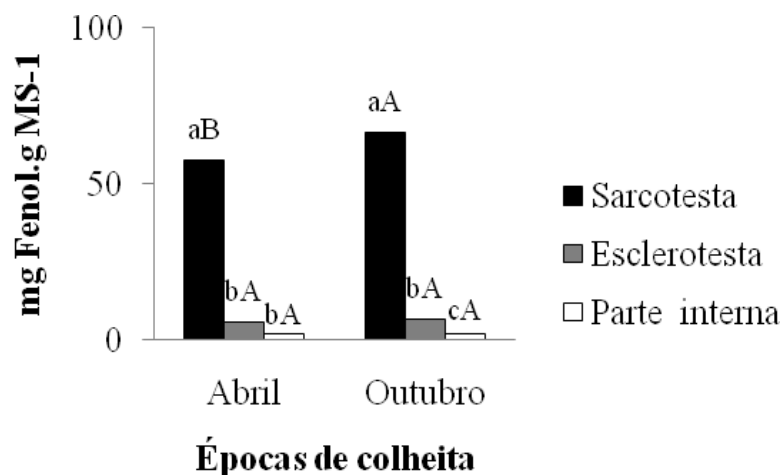


Figura 7. Concentração de compostos fenólicos em sementes de mamão colhidas em abril e outubro/2010, determinada na sarcotesta, esclerotesta e parte interna da semente (endosperma+embrião). *Médias seguidas pela mesma letra, maiúscula entre épocas e minúscula entre estruturas, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

CONCLUSÕES

Em geral, maior germinação e vigor ocorrem nas sementes de mamão Formosa sem sarcotesta extraídas de frutos nos estádios 5 e final da maturação.

O amadurecimento de frutos colhidos no estágio 1 de maturação por períodos de cinco, 10 e 13 dias favoreceu a qualidade fisiológica das sementes.

Há redução do percentual de sementes dormentes com o amadurecimento dos frutos independente da época de colheita.

Dentre as estruturas das sementes de mamão, a sarcotesta contém a maior concentração de compostos fenólicos, especialmente quando os frutos são colhidos em outubro.

Sementes extraídas de frutos colhidos em outubro/2010 apresentam maior porcentagem de dormência nas sementes.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGRIANUAL: **Anuário da agricultura brasileira**. São Paulo: FNP Consultoria e Agroinformativos, 2010, 520p.

ALMEIDA, G. V. B. A. Economia do mamão: o mamão no mundo, no Brasil e na CEAGESP. **Toda Fruta**. (2007). Disponível em: <http://www.todafruta.com.br>. Acesso em setembro 2010.

ALTHOFF, M.A.A.; CARMONA, R. Conservação de sementes de mamão (*Carica papaya* L. Caricaceae). **Revista Brasileira de Sementes**, v.21, n.1, p. 151-156, 1999.

AROUCHA, E.M.M.; SILVA, R.F.; VIEIRA, R.F.; VIANA, A.P.; FREITAS, S.P. Influência do estágio de maturação dos frutos e período de armazenamento das sementes no vigor das sementes de mamão dos grupos Solo e Formosa. In: REUNIÃO DE PESQUISA DO FRUTIMAMÃO, 2., Campos dos Goytacazes. **Anais...** Campos de Goytacazes: UENF, 2004. p.71-75.

AROUCHA, E.M.M.; SILVA, R.F.; OLIVEIRA, J.G.; VIANA, A.P.; GONZAGA, M.P. Época de colheita e período de repouso dos frutos de mamão (*Carica papaya* L.) cv. Golden na qualidade fisiológica das sementes. **Ciência Rural**, v.35, n.3, p.537-543, 2005.

BALBINOT, E.; SILVA, R.F.; BERBERT, P.A. Secagem de sementes e manejo dos frutos de mamão (*Carica papaya* L.). In: REUNIÃO DE PESQUISA DO FRUTIMAMÃO, 2., Campos dos Goytacazes, **Anais...** Campos dos Goytacazes: UENF, 2004. 379p

BASKIN, J. M. e BASKIN, C. C. A classification system for seed dormancy. **Seed Science Research**. n.14, p.1-16, 2004.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Regras para análise de sementes**, Brasília: SNAD/DNDV/ CLAV, 2009.398p.

CARDOSO, D.L.; SILVA, R.F.; SCHRIPEMA, J.; CASAGRANDE, G.; OLIVEIRA, A.C.S.; BRAGA, A.C. Influência da sarcotesta de genótipos de mamão na germinação em sementes de alface e mamoeiro. **Papaya Brasil**, p.307-309, 2007.

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

CHITARRA, M.L.F; CHITARRA, A.B. **Pós-Colheita de frutas e hortaliças: Fisiologia e manuseio**. Lavras: UFLA, 2005. 785p.

CHOW, Y.J.; LIN, C.H. p-Hydroxibenzoic acid the major phenolic germination inhibitor of papaya seed. **Seed Science and Technology**, v.19, n.1, p167-174, 1991.

DELWICHE, L.D.; SLAUGHTER, S.J. **The Little SAS Book: A Primer**. Cary: SAS Institute, 2003. 268p.

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

DIAS, D.C.F.S.; ESTANISLAU, W.T.; DIAS, L.A.S.; MARIN, S.L.D. Influence of sarcotesta, moisture content and packaging material on papaya seed germination during storage. **Seed Science and Technology**, v.37, n.2, p.372-382, 2009.

DIAS, D.C.F.S; ESTANISLAU, W.T.; FINGER, F.L.; ALVARENGA, E.M.; DIAS, L.A.S. Physiological and enzymatic alteration in papaya seed during storage. **Revista Brasileira de Sementes**, v.32, n.1, p.148-157, 2010.

DIAS, L.A.S.; BARROS, W. S. **Biometria experimental**. UFV, 2009. 408p.

FAO: Food and Agriculture Organization. Disponível em: <http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>. Acesso em março de 2011.

GHERARDI, E.; VALIO, I.F.M. Occurrence of promoting and inhibitory substances in the seed arils of *Carica papaya* L. **Journal of Horticultural Science**, v.51, p.1-14, 1976.

IBRAF – Instituto Brasileiro de Frutas (2009). Estatísticas. Disponível em: <<http://www.ibraf.org.br/>>. Acesso em: março de 2011.

INCAPER (Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e extensão Rural). Boletim Agroclimático. Disponível em: <http://hidrometeorologia.incaper.es.gov.br>. Acesso em março de 2011.

MACIEL, A.S.; BORGES, E.E.L.; BORGES, R.C.G. Determinação da presença de fenóis em sementes de espécies florestais e sua relação com inibidores de germinação. **Revista Brasileira de Sementes**, v.14, n.1, p.1-8, 1992.

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

MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Fealq, 2005. 495p.

MARTINS, G. N.; SILVA, R. F.; PEREIRA, M. G.; OLIVEIRA, A.C.S.; POSSE, S. C. P. Superação da dormência em sementes de mamão. **Papaya Brasil**, p.241-242, 2005.

MARTINS, G. N.; SILVA, R. F.; PEREIRA, M. G.; ARAÚJO, E. F.; POSSE, S. C. P. Influência do repouso pós-colheita de frutos na qualidade fisiológica de sementes de mamão. **Revista Brasileira de Sementes**, v.28, n.2, p.142-146, 2006.

REYES, M.N.; PÉREZ, A.; CUEVAS, J. Detecting endogenous growth regulators on the sarcotesta, sclerotesta, endosperm and embryo by paper chromatography on fresh and old seeds of two Papaya's varieties. **Journal Agriculture University of Puerto Rico**, v.64, n.2, p.167-172, 1980.

RIVERO, R.M.; RUIZ, J.M.; GARCIA, P.C.; LEFEBRE, L.R.L; SANCHEZ, E; ROMERO, L. Resistance to cold and heat stress: accumulation of phenolic compounds in tomato and watermelon plants. **Plant Science**, v.160, p.315–321, 2001.

SCHMILDT, E.R.; FRONZA, V.; DIAZ, J.L.S.; UNÊDA, S.H.; ALVARENGA, E.M. Comparação de métodos físicos de remoção da sarcotesta e de métodos de secagem de sementes de mamoeiro (*Carica papaya* L.). **Revista Brasileira de Sementes**, v.15, n.2, p.147-151, 1993.

SHAHIDI, F; NACZK, M. Food phenolics: sources, chemistry, effects and applications. 1. ed. Lancaster: **Technomic Publishing Co**, 1995.331p.

SWAINT, T. e HILLIS, W.E. The phenolic constituents of *Prunus domestica*. I. The quantitative analyses of phenolic constituents. **Journal Science Agricultural**, v.10, p.63-68, 1959.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3.ed. Porto Alegre: Artmed, 2004.719p.

TOKUHISA, D; DIAS, D. C. F. S.; ALVARENGA, E. M.; DIAS, L. S. A.; MARIN, S. L.D. Tratamentos para superação da dormência em sementes de mamão. **Revista Brasileira de Sementes**, v.29, n. 1, p.131-139, 2007(a).

TOKUHISA, D.; DIAS, D. C. F. S.; ALVARENGA, E. M.; DIAS, HILST, P. C.; DEMUNER, A. J. Compostos fenólicos inibidores da germinação em sementes de mamão (*Carica papaya* L.). **Revista Brasileira de Sementes**, vol.29, n.3, p.161-168, 2007(b).

TOKUHISA, D; DIAS, D. C. F. S.; ALVARENGA, E. M.; DIAS, L. A.S.; MARIN, S. L. D. Época de colheita dos frutos e ocorrência de dormência em sementes de mamão (*Carica papaya* L.). **Revista Brasileira de Sementes**, v.30, n.2, p.75-80, 2008.

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

VIDIGAL, D.S.; DIAS, D.C.F.S.; VON PINHO, E.R.V.; DIAS, L.A.S. Sweet pepper seed quality and lea-protein activity in relation to fruit maturation and post-harvest storage. **Seed science and Technology**. v.37, p.192-201, 2009.

VIGGIANO, J.R.; SILVA, R.F.; VIEIRA, H.D. Ocorrência de dormência em sementes de mamão (*Carica papaya* L.). **Sementes Online**, v.1, n.1, p.6-10, 2000.

ARTIGO II

COMPOSTOS FENÓLICOS INIBIDORES DA GERMINAÇÃO EM SEMENTES DE MAMÃO EM FUNÇÃO DA ÉPOCA DE COLHEITA E ESTÁDIO DE MATURAÇÃO DO FRUTO

RESUMO

Sementes de mamoeiro apresentam dormência, o que tem sido atribuído à presença da sarcotesta nas sementes que contém compostos fenólicos inibidores que interferem no processo de germinação. Estes inibidores são compostos secundários do metabolismo vegetal, não participando diretamente dos processos de crescimento e desenvolvimento, e têm sua síntese relacionada à defesa do metabolismo diante de alguma condição de estresse. O trabalho foi conduzido com os seguintes objetivos: i) identificar e quantificar compostos fenólicos inibidores de germinação em sementes de mamoeiro obtidas de frutos em diferentes estádios de maturação colhidos em diferentes épocas do ano; ii) avaliar o efeito desses compostos sobre a germinação das sementes de mamão e alface. Foram utilizadas sementes de mamão Formosa 'Tainung 01'. Os frutos foram colhidos no estágio 1 de maturação, nos meses de abril e outubro de 2010, sendo as sementes extraídas de frutos nos estádios de maturação 1, 3, 5 e final. Em um primeiro ensaio, foram separadas a sarcotesta, a esclerotesta e a parte interna (endosperma+embrião) das sementes para a quantificação e identificação dos compostos fenólicos (fenóis totais, ácidos cafeico, ferúlico e p-cumárico). A extração dos compostos fenólicos foi realizada em etanol 80%, determinando-se os fenóis totais pelo método de Folin Ciocalteau e os ácidos fenólicos por meio de análises cromatográficas. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, com três repetições. As médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$). No segundo ensaio, foram conduzidos testes de germinação com sementes de mamão sem sarcotesta e com sementes de alface utilizando-se papel toalha umedecido com soluções contendo 10ppm dos ácidos cafeico, ferúlico e p-cumárico, com uma solução mista dos três ácidos e com o solvente puro (metanol), constituindo a testemunha. Foi determinada a porcentagem de germinação de sementes de mamão aos 30 dias e de alface aos 7 dias após a semeadura e o comprimento da raiz primária das plântulas. Frutos colhidos em outubro/2010 apresentaram maior concentração de compostos fenólicos nas sementes, sendo a

sarcotesta a estrutura que apresentou maior concentração de compostos fenólicos totais, ácido p-cumárico e ácido ferúlico. A maior concentração de ácido caféico ocorreu na esclerotesta e na parte interna das sementes dos frutos colhidos em outubro/2010. Plântulas de mamão apresentaram os menores valores de comprimento de raiz primária em presença de solução de ácido p-cumárico.

Palavras-chave: *Carica papaya* L., germinação, dormência, compostos fenólicos.

PHENOLIC COMPOUNDS INHIBITORS OF PAPAYA SEEDS GERMINATION RELATED TO FRUIT HARVEST TIME AND MATURATION STAGE

ABSTRACT

Papaya seeds present dormancy, which has been attributed to the presence of the sarcotesta at the seeds. The sarcotesta containing phenolic inhibitors compounds that interfere on the germination process. These inhibitors are of plant secondary compounds, not directly participating in the processes of growth and development, and its synthesis are related to defense metabolism before any stress condition. The study was conducted with the following objectives: 1) identify and quantify phenolic compounds in papaya seed germination inhibitors obtained from papaya fruit at different maturity stages collected in different time, 2) evaluate the effect of these compounds on seed germination papaya seed and lettuce seed. Papaya seeds 'Tainung 01' were used. The fruits were harvested at maturity stage 1, the months of April and October 2010, and the seeds extracted from fruits at maturation stages 1, 3, 5 and final. In a first experiment, the sarcotesta were separated, and the inside esclerotesta (endosperm + embryo) seeds for the quantification and identification of phenolic compounds (phenolic compounds, caffeic acid, ferulic acid, and p-coumaric acid). The extraction of phenolic compounds was performed in 80% ethanol solution, determining the total phenols by Folin-Ciocalteu method and phenolic acids by chromatographic analysis. The experimental design was completely randomized with three replications. The treatment means were compared by Tukey's test ($P \leq 0.05$). In the second experiment, germination tests were conducted with no sarcotesta papaya seeds and lettuce seeds using germination paper moistened with solutions containing 10 ppm of caffeic acid, ferulic and p-coumaric, with a mixed solution of the three acids, and the pure solvent (methanol) as a witness. We determined the percentage of germination of papaya seeds and the length of the primary root of seedlings of lettuce and 30 days to 7 days after sowing, respectively. Fruits harvested in October/2010 had a higher concentration of phenolic compounds in seeds, and the sarcotesta the structure with the highest concentration of total phenolic compounds, p-coumaric acid and ferulic acid. The highest concentration of caffeic acid occurred in esclerotesta and seeds inside the

fruits harvested in October/2010. Papaya seedlings had the lowest values of the primary root length in the presence of solution of p-coumaric acid.

Key-words: *Carica papaya* L., germination, dormancy, phenolic compounds.

INTRODUÇÃO

O mamoeiro (*Carica papaya* L.) é uma espécie nativa da América Tropical e largamente distribuída em todas as áreas tropicais do mundo, onde é produzido, principalmente, para o consumo do fruto in natura. Em geral, espécies tropicais encontram condições mais favoráveis ao seu desenvolvimento em temperaturas próximas a 30 °C, enquanto aquelas de clima temperado, expressam melhor seu potencial genético sob condições mais amenas, próximas dos 15 °C. Para a cultura do mamoeiro, a temperatura média anual de 25°C, com limites entre 21°C e 33°C são as mais favoráveis (Salomão, 2007).

Por tratar-se de um fruto climatérico, frutos de mamoeiro apresentam rápidas mudanças entre estádios de amadurecimento quando colhidos na maturidade fisiológica. Durante o processo de amadurecimento dos frutos ocorre aumento da produção de etileno e da taxa respiratória, além de alterações fisiológicas, bioquímicas e morfológicas nas células vegetais (Chitarra e Chitarra, 2005).

Sementes de mamoeiro extraídas de frutos formados sob temperatura mais amena podem apresentar redução na taxa de germinação, caracterizando a ocorrência de dormência nestas sementes. Quando extraídas de frutos colhidos em diferentes épocas do ano apresentam diferentes níveis de dormência, sendo esta mais evidente nas sementes provenientes de frutos colhidos no inverno (Tokuhisa et al., 2008).

Sementes de mamão apresentam germinação lenta e irregular (Chacko e Singh, 1966; Yahiro, 1979; Yahiro e Oryoji, 1980; Tokuhisa et al., 2007a ; Dias, et al., 2010). Nestas sementes, a presença da sarcotesta, envelope mucilaginoso que envolve externamente a semente, interfere diretamente no desempenho da semente promovendo redução significativa do poder germinativo (Viggiano et al., 2000, Tokuhisa et al., 2007a). Esta redução estaria relacionada à presença de inibidores na sarcotesta das sementes que interfeririam no processo de germinação (Gherardi e Valio, 1976; Chow e

Lin, 1991). Tokuhisa et al., (2007b) verificaram que extratos feitos à base da sarcotesta das sementes inibiram a germinação de sementes de alface. Os autores constataram ainda presença de compostos fenólicos inibidores tanto na sarcotesta como na esclerotesta das sementes, sendo a maior concentração verificada na esclerotesta. Os compostos fenólicos presentes nas estruturas das sementes atuam retendo o oxigênio, dificultando dessa forma seu suprimento ao embrião durante a germinação (Marcos Filho, 2005).

Os fenólicos são compostos secundários do metabolismo vegetal, não participando diretamente dos processos de crescimento e desenvolvimento. Em muitas plantas, a produção desses compostos está relacionada à defesa do metabolismo diante de alguma condição de estresse. Quimicamente os compostos fenólicos são identificados pela presença de grupo(s) hidroxila ligado a um anel aromático. O grande grupo dos fenóis divide-se em flavonóides (polifenóis) e não-flavonóides (fenóis simples ou ácidos), podendo ser classificados em grupos de acordo com sua estrutura química (Shahidi e Naczk, 1995; Taiz e Zeiger, 2004).

A ocorrência e o tipo de compostos fenólicos presentes nos vegetais são determinados por fatores genéticos inerentes à espécie, ou ainda, pelas condições ambientais, exposição à luz solar, ataque de pragas e patógenos, tratos culturais, grau de maturação, dentre outros (Mazza et al., 1999; Palma et al., 2001; Alonso et al., 2002; Sánchez-Moreno, 2002; Vidal et al., 2002).

Dentre os compostos fenólicos com maior capacidade antioxidante estão os ácidos fenólicos, que são divididos em dois grupos: os derivados do ácido hidroxibenzóico e do ácido hidroxicinâmico. Os ácidos hidroxibenzóicos incluem os ácidos gálico, p-hidroxibenzóico, protocatecuico, vanílico e siríngico, enquanto ácidos hidroxicinâmicos são compostos aromáticos com três carbonos, como os ácidos caféico, ferúlico, p-cumárico. Estes últimos são antioxidantes mais ativos do que os derivados do ácido benzóico, podendo atuar retendo o oxigênio e, conseqüentemente, inibindo a germinação (Shahidi e Naczk, 1995).

A carência de informações conclusivas sobre a relação entre germinação, dormência e presença de compostos fenólicos em sementes de mamão motivou a condução deste trabalho, cujos objetivos foram detectar e quantificar compostos fenólicos em sementes de mamão obtidas de frutos em diferentes estádios de maturação

colhidos em diferentes épocas do ano e avaliar o efeito desses compostos sobre a germinação das sementes de mamão e alface.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido nos Laboratórios de Tecnologia de Sementes e de Análise de Sementes Florestais da Universidade Federal de Viçosa-MG. As sementes utilizadas nas análises foram provenientes de frutos de mamão Formosa ‘Tainung 01’, colhidos aleatoriamente, nos meses de abril e outubro de 2010, em uma população de plantas em plena produção em Pinheiros – ES em área de produção da empresa Nortefrut. Foram selecionados frutos hermafroditas colhidos no estágio 1 de maturação (até 15 % da superfície da casca amarela). Durante o período transcorrido entre a colheita dos frutos e a retirada das sementes, os frutos foram mantidos em ambiente de laboratório até atingirem os estádios de maturação 3, 5 (Aroucha et al., 2004) e Final, correspondendo a até 50%, 75% e 100% da superfície da casca amarela, respectivamente , que foram atingidos cinco, 10 e 13 dias após a colheita, respectivamente (Figura 1).

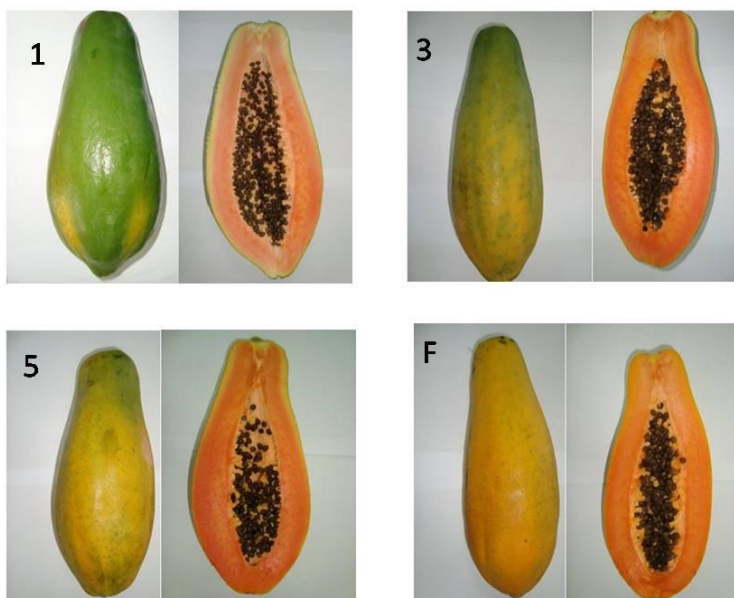


Figura 1. Padrões de coloração de frutos de mamão nos estádios de maturação 1 (até 15% da superfície da casca amarela); 3 (cerca de 50% da superfície da casca amarela); 5 (cerca de 75% da superfície da casca amarela) e Final – F (100% da casca amarela).

Ensaio 1: determinação de compostos fenólicos nas estruturas das sementes.

Ao atingirem o estágio de maturação estabelecido, os frutos de mamão foram seccionados longitudinalmente e as sementes extraídas e lavadas em água destilada. Em seguida, foram separadas a estrutura externa (sarcotesta), a esclerotesta e a parte interna (endosperma+embrião) com auxílio de estilete (Figura 2).



Figura 2. Estruturas de sementes de mamão – 1) sarcotesta: envelope mucilaginoso que envolve externamente a semente; 2) esclerotesta: camada enrugada localizada imediatamente abaixo da sarcotesta; 3) parte interna: composta pelo endosperma e embrião.

Para o preparo dos extratos, as amostras de cada estrutura foram secas a 35 °C, em estufa de circulação de ar por 24 h. Em seguida, foram trituradas e três gramas do material seco foram depositadas em balão de fundo chato, adicionando-se 30 mL de etanol 80%. Os balões contendo as amostras foram colocados em extrator para extração a quente com condensador, por um período de 90 minutos. O extrato obtido foi filtrado à vácuo utilizando-se funil de Buchner e filtro de papel. Procedeu-se a evaporação do etanol a 40 °C, em rotaevaporador. As amostras foram centrifugadas a 4°C durante 10 minutos a uma velocidade de 10.000 rpm, e o sobrenadante transferido para os frascos de armazenamento, nos quais foi injetado gás nitrogênio; em seguida foram vedados e mantidos congelados a -30 °C (Swaint e Hillis, 1959).

Determinação dos fenóis totais: antes das análises, foi construída a curva padrão com ácido fenílico ($y(\text{Totais}) = 0,001x + 0,127$ (Figura 4A)). A determinação dos fenóis totais foi realizada adicionando-se 25 µL da amostra. Com água destilada completou-se o volume para 3,5 mL. Foram adicionados 0,25 mL do reagente Folin-Ciocalteu, agitando-se os tubos; a seguir, foram adicionados 0,5 mL da solução de carbonato de sódio agitando-se novamente os tubos. Por último, elevou-se a mistura para 5mL com água destilada. Após uma hora no escuro, leu-se a absorbância em espectrofotômetro a 725nm em espectrofotômetro UV-Visível modelo C618-0437. As

determinações foram realizadas em três repetições em duplicata. Os resultados expressos em ppm.

Determinação e quantificação de compostos fenólicos específicos: Os extratos fenólicos obtidos das estruturas das sementes foram submetidos à análise cromatográfica, sendo determinados e quantificados os seguintes ácidos fenólicos: ácidos caféico, ferúlico e p-cumárico. Inicialmente foi construída a curva de calibração dos compostos: $y(\text{Ferúlico})=128x + 239,98$; $y(\text{Caféico})=114,71x - 120,88$; $y(\text{p-Cumárico})=146,48x + 390,15$. As análises foram realizadas conforme metodologia adaptada de Broinizi et al. (2007), em cromatógrafo a gás modelo CG-17A marca SHIMADZU, equipado com detector de chama (FID). Os registros das análises foram realizados em microcomputador, utilizando-se o programa GC Solution. A separação e identificação dos compostos foi realizada em coluna capilar NUKOL (30 m x 0,25 mm). Para a separação cromatográfica, 1 μL de amostra foi injetado com auxílio de seringa de 10 μL (Hamilton[®]) em sistema Splitless. O gás nitrogênio foi utilizado como carreador com velocidade linear programada para 42,30 cm/s. As temperaturas do injetor e do detector foram controladas isotérmicas em 300°C e 330°C, respectivamente. A temperatura inicial da coluna foi de 100°C (mantida por 2 minutos), aumentando em 8°C por minuto até atingir 200 °C. O fluxo do gás de arraste utilizado na coluna foi de 1,2 mL/minuto. Os ácidos fenólicos foram identificados comparando os tempos de retenção com os dos padrões e baseando-se no padrão interno (Figura 5) e os resultados expressos em ppm.

Ensaio 2: germinação de sementes de mamão e alface

Ao atingirem o estágio 5 de maturação, os frutos foram seccionados longitudinalmente ao meio, as sementes extraídas e, em seguida lavadas em água corrente para retirada dos restos placentários, pedaços de polpa e sementes chochas. Parte das sementes foi mantida com sarcotesta, compondo a amostra de sementes com sarcotesta. Estas sementes, depois de lavadas, foram dispostas para secagem em camada única, sobre papel em ambiente de laboratório até atingirem teor de água de 10%, sendo o teor de água monitorado diariamente em estufa a 105°C. A outra porção das sementes foi friccionada manualmente sobre peneira até a completa remoção da sarcotesta. Após esse procedimento, foram lavadas em água corrente e dispostas para secar conforme descrito para as sementes com sarcotesta. Em seguida, foram submetidas ao teste de germinação. Para tanto, quatro repetições de 50 sementes com e sem sarcotesta colhidas

em abril e outubro/2010 foram dispostas em sobre folhas de papel germitest umedecidas com água destilada em volume equivalente a 2,5 vezes o peso do papel seco. Foram confeccionados rolos que foram mantidos em câmaras de germinação do tipo B.O.D. sob temperatura alternada 20-30°C (16/8h) e fotoperíodo de oito horas (Brasil, 2009). Aos 30 dias após a semeadura determinou-se a porcentagem de plântulas normais. **Boiensaio:** foram preparadas soluções contendo cada um dos compostos fenólicos (ácido caféico, ferúlico e p-cumárico) na concentração 10 ppm, uma solução mista contendo a mistura das soluções na mesma proporção e, como testemunha, o solvente puro (Santos e Rezende, 2008), totalizando cinco tratamentos. Os ácidos foram dissolvidos em metanol. Um volume de 5 mL de cada solução ou do solvente puro, no caso da testemunha, foi aplicado sobre três folhas de papel germitest em caixas gerbox e, após a evaporação do solvente, o substrato foi umedecido com água destilada, em volume equivalente a 2,5 vezes o peso do papel seco. Em seguida, foi feita a semeadura de quatro repetições de 20 sementes de alface ‘Manteiga’, cuja germinação era de 91%, e de mamão Formosa ‘Tainung 1’, com 81% de germinação. As caixas gerbox foram tampadas e mantidas em câmara de germinação sob temperatura alternada de 20°C-30°C (16/8h) para mamão e 20 °C para alface. Determinaram-se as porcentagens de germinação (plântulas normais) aos 30 dias (mamão) e sete dias (alface).

Delineamento estatístico: o ensaio 1 foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado. Para a determinação dos compostos fenólicos foram utilizadas quatro repetições analisadas em duplicata. Os dados foram submetidos à análise de variância, com os tratamentos dispostos em esquema fatorial 2 (épocas de colheita) x 4 (estádios de maturação) x 3 (estruturas da semente: sarcotesta, esclerotesta e parte interna). Para o ensaio 2, o teste de germinação foi conduzido em DIC, em fatorial com duas épocas de colheita e sementes com e sem arcotesta com quatro repetições, sendo cada parcela constituída por 50 sementes. Para o bioensaio adotou-se o delineamento inteiramente casualizado com quatro repetições. Foi realizada a análise de variância e as médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$). Os valores obtidos em cada determinação foram previamente submetidos à transformação angular, para melhor aproximação à distribuição normal e homogeneização das variâncias (Dias e Barros, 2009). O processamento dos dados foi realizado com o software SAS (Delwiche e Slaughter, 2003).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A avaliação da concentração de compostos fenólicos em sementes de mamão Formosa (Figura 3) indicou, para todos os compostos avaliados, maior concentração nas sementes obtidas de frutos desenvolvidos durante o inverno e colhidos em outubro/2010. A variação na temperatura verificada na região produtora durante o período de formação dos frutos colhidos em outubro (junho a setembro de 2010), que atingiu média de 21 °C, com máxima de 29 °C e mínima de 15 °C (INCAPER, 2011), pode ter contribuído para o aumento na síntese de compostos fenólicos totais (Figura 3A) e ácidos fenólicos (Figura 3B, C e D) nas sementes, uma vez que, no inverno, as baixas temperaturas aliadas a um menor comprimento dos dias pode ter proporcionado condições de estresse para as plantas, favorecendo assim, a síntese destes compostos secundários nas sementes. Nas sementes colhidas em abril/2010, para as quais, no período de formação dos frutos (dezembro/2009 e março/2010) as temperaturas foram mais elevadas (média de 27 °C, com máxima de 35 e mínima de 20,5 °C), verificou-se menor concentração de compostos fenólicos. Conforme Taiz e Zeiger (2004) a síntese destes compostos secundários está relacionada a uma resposta fisiológica da planta a uma condição estressante.

Estes resultados concordam com os obtidos por Pimpão (2009), estudando a variação anual na concentração de compostos fenólicos em plantas de *Juniperus* sp., nas quais detectou elevada variação no teor desses compostos ao longo do ano. Resultados semelhantes foram obtidos por Brasileiro (2010) em plantas de *Talinum triangulares*. Também Tokuhsa et al.(2007b) observaram maior concentração de fenóis totais em sementes colhidas em maio em relação as colhidas em setembro. Tokuhsa et al. (2008) também observaram que a dormência em sementes de mamão apresenta diferentes intensidades conforme a época de colheita dos frutos, e se acentua no período de baixas temperaturas.

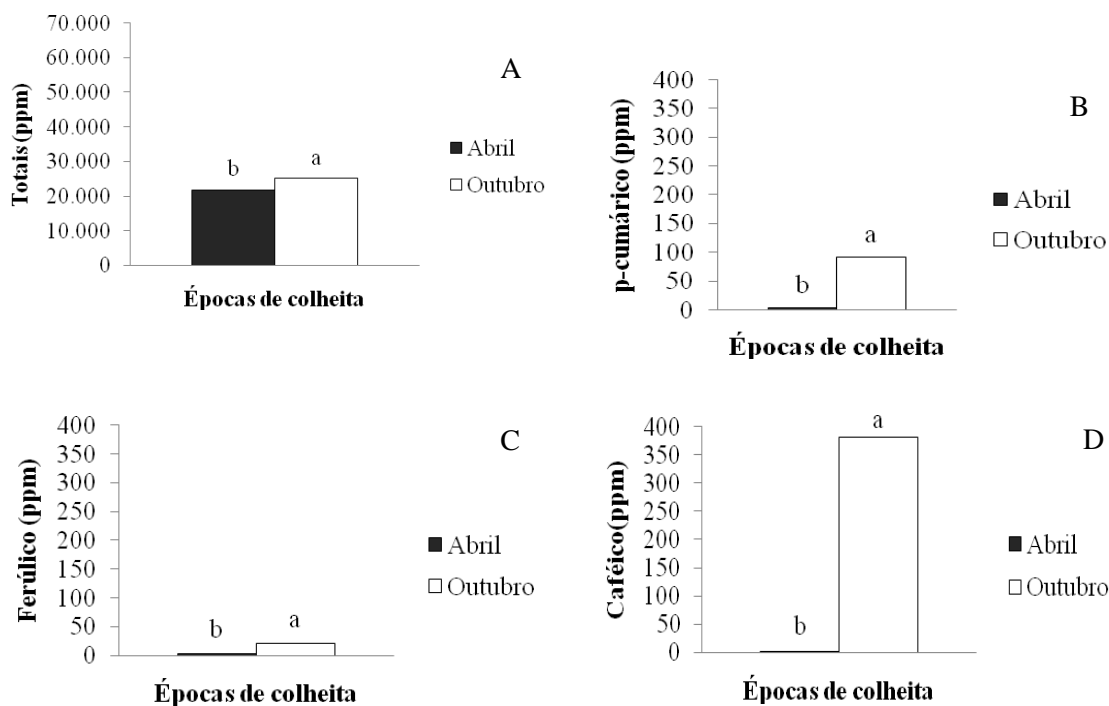


Figura 3. Concentração (ppm) de fenóis totais(A), ácido p-Cumárico(B), ácido ferúlico(C) e ácido caféico(D) em sementes de mamão obtidas de frutos colhidos em abril e outubro/2010. *Médias seguidas pela mesma letra para épocas de colheita não diferem entre si pelo teste F a 5% de probabilidade.

Ao analisar a época de maior ocorrência de compostos fenólicos nas sementes de mamão (Figura 3), verificou-se que os resultados são inversamente correspondentes àqueles verificados para germinação (Figura 4). Nos frutos colhidos em outubro obteve-se a maior concentração de compostos fenólicos nas sementes, em contrapartida, nesta época constatou-se também, a menor porcentagem de germinação das sementes. Os resultados confirmam o que foi verificado por Tokuhisa et al. (2007b), ao verificar que a época de maior concentração de fenóis totais nas sementes de mamão coincidiu coma época de maior ocorrência de dormência nestas sementes.

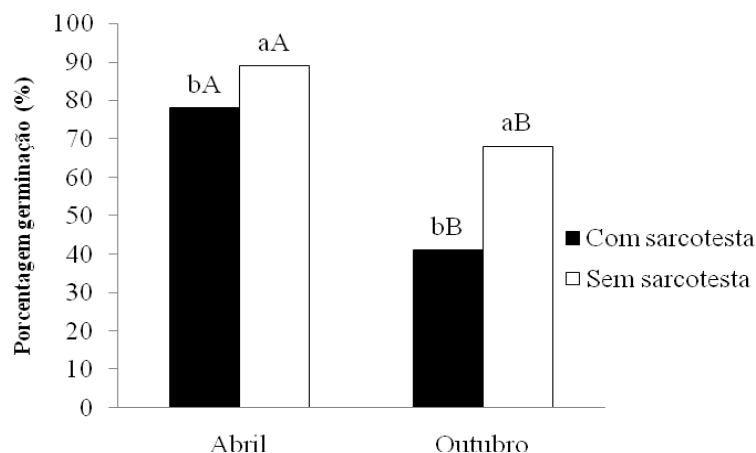


Figura 4. Porcentagem de germinação obtidas para sementes de mamão com e sem sarcotesta colhidas em abril/2010 e outubro/2010. Médias seguidas pela mesma letra, maiúsculas entre épocas e minúsculas para sementes com e sem sarcotesta dentro de cada época, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

As análises realizadas nas três estruturas das sementes de mamão (Figura 5) indicaram maior concentração de compostos fenólicos totais (Figura 5A) na sarcotesta, seguida pela esclerotesta e parte interna, que diferiram significativamente entre si. A concentração dos ácidos p-cumárico (Figura 5B) e ferúlico (Figura 5C) na sarcotesta da semente também foram superiores àquela detectada nas demais estruturas. Estes resultados relacionam-se com a inibição da germinação em sementes de mamão, uma vez que, sementes com sarcotesta apresentaram redução na porcentagem de germinação em relação à sementes sem sarcotesta (Figura 4). Estes ácidos atuam absorvendo oxigênio impedindo que este atinja o embrião durante o processo de germinação, ocasionando dormência. A redução no suprimento de O₂ ao embrião, conseqüentemente, reduz a velocidade das reações bioquímicas envolvidas na germinação, o que resultaria em uma maior irregularidade e lentidão no processo. Os fenóis têm sido apontados pela literatura como um dos mais importantes compostos responsáveis pela ocorrência de dormência em sementes de mamão (Gherardi e Valio, 1976; Reyes et al., 1980; Chow e Lin, 1991; Tokuhisa et al., 2007b).

Na avaliação da concentração de ácido caféico, verificou-se maior concentração na esclerotesta e parte interna das sementes, que não diferiram significativamente entre

si. Não foi verificada diferença entre o conteúdo de ácido caféico na parte interna e sarcotesta das sementes. Esse comportamento diferenciado na concentração dos ácidos nas estruturas das sementes explica a ocorrência de dormência em sementes sem sarcotesta, conforme foi observado por Viggiano et al. (2000), indicando que a dormência em sementes de mamão seria causada, ou potencializada, pela presença de inibidores não apenas na sarcotesta, mas também na esclerotesta das sementes. Resultado semelhante foi obtido por Tokuhisa et al. (2007b) que verificou maior concentração de compostos fenólicos totais na esclerotesta das sementes.

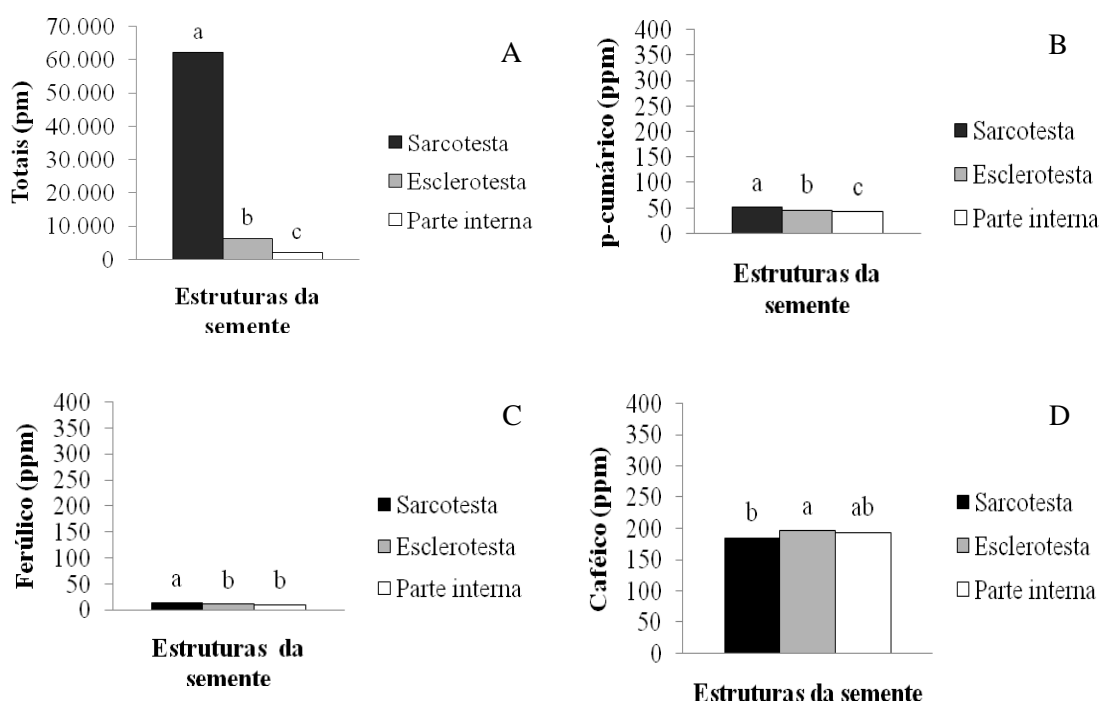


Figura 5. Concentração (ppm) de fenóis totais (A), ácido p-cumárico(B), ácido ferúlico(C) e ácido caféico (D) determinadas na sarcotesta, esclerotesta e parte interna das sementes de mamão. *Médias seguidas pela mesma letra para estruturas das sementes não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Não houve efeito significativo dos estádios de maturação dos frutos sobre a concentração de compostos fenólicos em sementes (Figura 6A). Para o ácido p-cumárico (Figura 6B) a maior concentração foi detectada em sementes obtidas de frutos no estágio 5 e a menor no estágio 1, que não diferiu do final. A concentração de ácido ferúlico (Figura 6C) foi maior as sementes dos estádios 1 e 5, sendo que as do estágio 5

apresentaram valores superiores aos obtidos nos estádios 3 e final, que não diferiram entre si. Menor concentração do ácido cafeíco (Figura 6D) ocorreu para as sementes de frutos no estádio 5 de maturação, enquanto maior valor foi observado em sementes do estádio final de maturação. Essa variação na concentração dos compostos ao longo do amadurecimento do fruto caracterizam algumas, das muitas alterações que ocorrem no interior dos frutos durante o processo de amadurecimento e que podem interferir na germinação das sementes. Alterações no conteúdo de compostos fenólicos nas estruturas das sementes também foi verificada por Maciel et al.(1992) em sementes de espécies florestais.

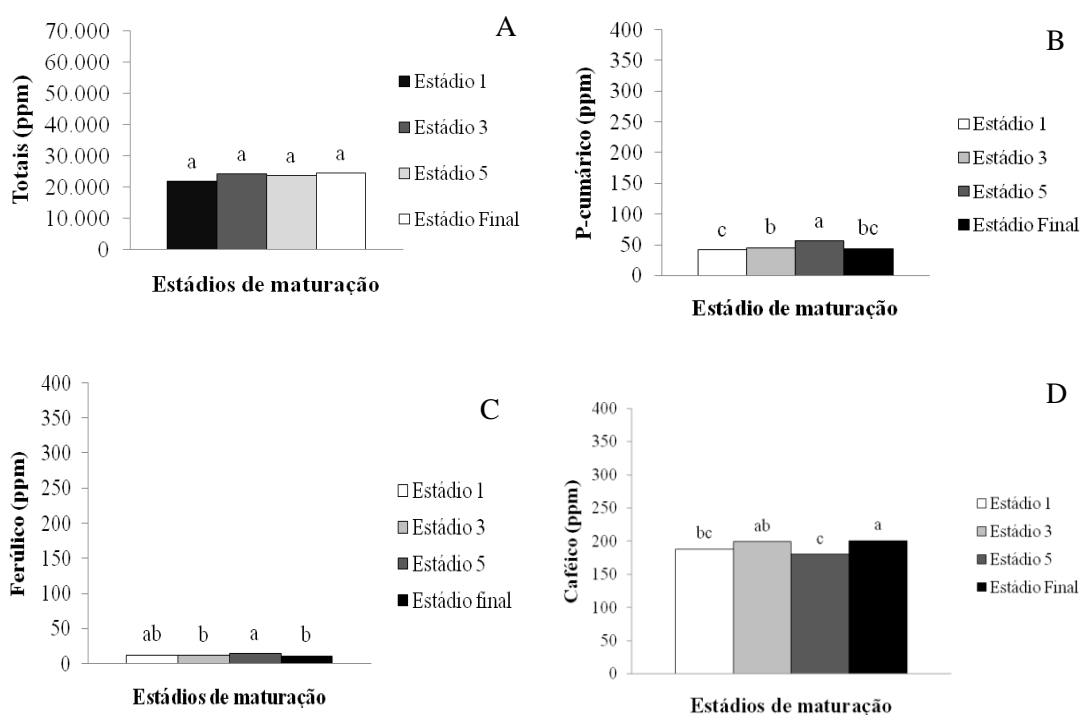


Figura 6. Concentração (ppm) de fenóis totais (A), ácido p-cumárico (B), ácido ferúlico (C) e ácido cafeíco (D) determinadas em sementes de mamão obtidas de frutos em diferentes estádios de maturação. *Médias seguidas pela mesma letra para estádios de maturação não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

A interação entre épocas de colheita do fruto e estruturas das sementes apresentou efeito significativo para a concentração de fenóis totais e ácido ferúlico (Figura 7A e C, respectivamente), com maiores concentrações verificadas na sarcotesta para a colheita foi realizada em outubro. Estes resultados reforçam aqueles encontrados

por diversos autores (Reyes et al.,1980; Chow e Lin,1991; Schmildt et al.,1993; Cardoso et al., 2007; Tokuhisa 2007a) que relataram o efeito inibitório exercido por essa estrutura sobre a qualidade das sementes de mamão e indicam que os compostos fenólicos identificados e quantificados nas sementes, em maior concentração na sarcotesta, dado suas características químicas, atuariam reduzindo o suprimento de O₂ durante a germinação, ou ainda, interferindo na atividade de fitormônios, formando complexos ou interferindo na ação da AIA-oxidases e, dessa forma, estimulando a ação das auxinas (Taiz e Zeiger, 2004; Soares et al., 2002). Dessa forma, mudanças no metabolismo dos fenóis podem interferir em muitos processos relacionados ao crescimento e desenvolvimento das plantas.

Houve diferença significativa nos conteúdos de ácido p-cumárico obtidos para as duas épocas de colheita e nas diferentes estruturas da semente. Nas sementes de frutos colhidos em abril/2010, a sarcotesta apresentou a maior concentração e, para a colheita de outubro/2010, não foi verificada diferença entre os valores obtidos na sarcotesta e esclerotesta.(Figura 7B). Segundo Taiz e Zeiger (2004), dentre os compostos fenólicos o ácido p-cumárico regula a síntese de AIA-oxidase, interferindo em diversos processos do desenvolvimento.

Quanto à concentração de ácido caféico (Figura 7D), ocorreu variação na concentração entre as épocas avaliadas, com maiores concentrações em sementes de frutos colhidos em outubro para as três estruturas da semente. Entre as estruturas, verificou-se diferença significativa apenas no inverno, quando a sarcotesta apresentou valores inferiores às demais estruturas. Os efeitos dos compostos fenólicos podem ser observados nos processos biológicos das sementes, conforme verificado por Maciel et al. (1992) e Borges et al. (1987) em espécies florestais e por Tokuhisa et al. (2007b) e Cardoso et al. (2007) para sementes de mamão. O potencial dos compostos fenólicos em inibir a germinação é um fenômeno que foi demonstrado por Santos e Rezende (2008) em espécies de plantas daninhas.

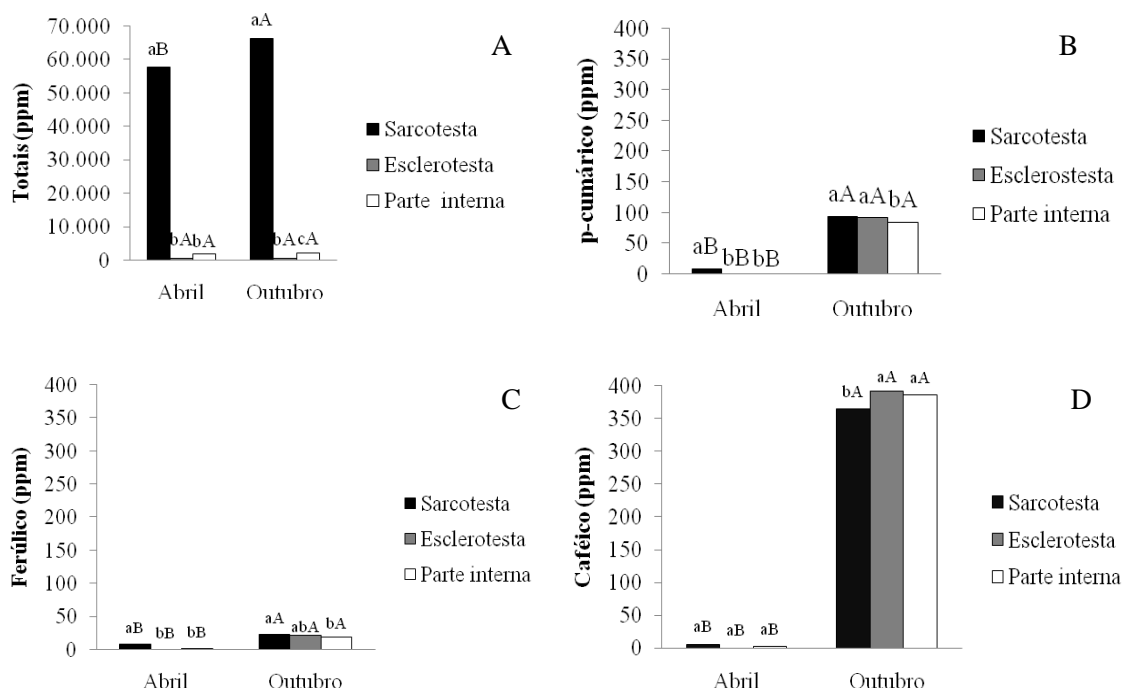


Figura 7. Concentração (ppm) de fenóis totais, ácido p-cumárico, ácido ferúlico e ácido caféico determinadas na sarcotesta, esclerotesta e parte interna das sementes de mamão obtidas de frutos colhidos em abril e outubro/2010. *Médias seguidas por letras minúsculas comparam as estruturas das sementes dentro de cada época de colheita e por letras maiúsculas comparam épocas para cada estrutura. Letras iguais não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

A época de colheita e os estádios de maturação dos frutos (Figura 8) não exerceram influência significativa sobre a concentração de compostos fenólicos totais (Figura 8A) em sementes de mamão. As concentrações dos ácidos p-cumárico e caféico (Figura 8B e D, respectivamente) variaram entre as épocas de colheita, com maiores concentrações em sementes obtidas de frutos colhidos em outubro em relação a abril, em todos os estádios de maturação. Maior e menor concentração de ácido p-cumárico foi detectada, respectivamente, nas sementes de frutos no estágio 5 e 1 colhidos em outubro. Apesar de ter ocorrido diferença significativa entre os conteúdos deste ácido também nas sementes colhidas em abril, observa-se que os valores obtidos foram baixos e bem inferiores aos observados na colheita de outubro. Já as análises de ácido caféico referentes às sementes colhidas em outubro (Figura 8D) detectaram, no estágio 5, as menores concentrações. Nesta época (outubro) as concentrações de ácido caféico nas

sementes se mostraram estatisticamente superiores àquelas verificadas em abril para todos os estádios de maturação testados.

A variação na concentração dos compostos fenólicos nas sementes em relação à época de colheita pode ser justificada considerando as condições climáticas verificadas na região durante a formação dos frutos colhidos em outubro (formados entre os meses de junho e setembro), nos quais foram registradas temperaturas inferiores àquelas registradas no período entre dezembro/2009 e março/2010, referentes ao período de formação dos frutos colhidos em abril (INCAPER, 2011). Segundo Taiz e Zeiger (2004) o estresse (de origem biótica ou abiótica) é um dos principais fatores responsáveis pela alteração na síntese de compostos secundários em plantas, uma vez que estes compostos estão relacionados ao mecanismo de defesa vegetal. Conforme verificado por Rivero et al. (2001), o estresse térmico em plantas tomate caracterizou-se no aumento na produção de compostos fenólicos totais como uma possível resposta adaptativa das plantas à condição estressante.

As condições climáticas ocorrentes nas diferentes épocas e regiões exercem grande influência sobre o processo de desenvolvimento das plantas. Diversos fatores podem ocasionar o estresse nas plantas, como variações de temperatura, umidade, luz, dentre outros. O estresse afeta diretamente a fisiologia das plantas, interferindo na transferência de nutrientes, no metabolismo e síntese de compostos. Sob condições adversas do meio, sensores internos sinalizam o desvio do metabolismo, sendo produzidos compostos secundários, que atuam na proteção das estruturas celulares de danos irreparáveis, permitindo assim, a adaptação ou sobrevivência das plantas ao fator limitante. (Larcher, 2000; Taiz e Zeiger, 2004).

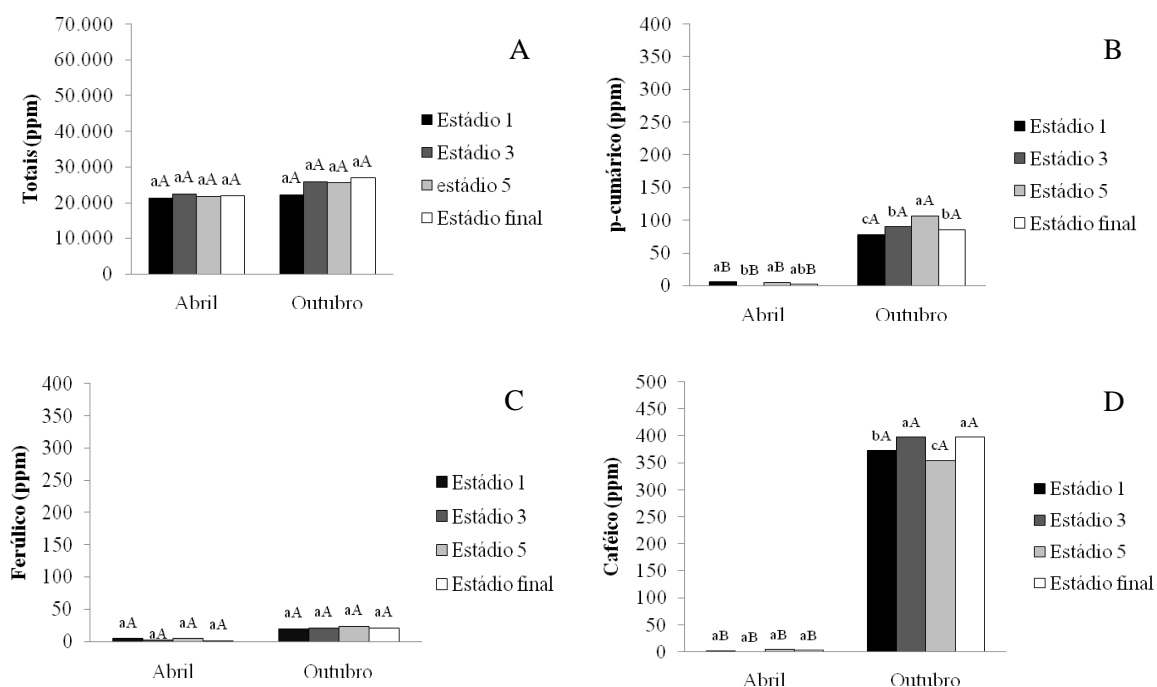


Figura 8. Concentração (ppm) de fenóis totais (A), ácido p-cumárico (B), ácido ferúlico (C) e ácido caféico (D) determinadas em sementes de mamão obtidas de frutos nos estádios de maturação 1, 3, 5 e final colhidos em abril e outubro/2010. *Médias seguidas por letras minúsculas comparam os estádios de maturação dentro de cada época de colheita e por letras maiúsculas comparam épocas para cada estádio. Letras iguais não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Pela Figura 9A observa-se, para todos os estádios de maturação do fruto, maior concentração de compostos fenólicos totais na sarcotesta das sementes em relação à esclerotesta e parte interna. Verificou-se ainda que a sarcotesta das sementes do estádio 1 de maturação tiveram menor concentração de fenóis totais do que a sarcotesta dos demais estádios, que não diferiram entre si. Sementes de frutos no estádio 1 apresentaram menor concentração de compostos fenólicos totais (Figura 9A). Em relação às demais estruturas das sementes, não houve efeito dos estádios de maturação do fruto na concentração de fenóis totais. A presença de compostos fenólicos na sarcotesta de sementes de mamão é mencionada pela literatura como a principal causa da ocorrência de dormência na espécie (Gherardi e Valio, 1976; Reyes et al., 1980; Chow e Lin, 1991; Tokuhisa et al., 2007). Os fenóis atuam reduzindo o O₂ que chega ao embrião, uma vez que as características estruturais desses compostos favorecem tal

comportamento, ou ainda, como inibidores da elongação celular. Dessa forma, a presença desses compostos nas estruturas das sementes retardaria sua germinação.

De maneira geral, a concentração dos ácidos avaliados variou conforme o estágio de maturação do fruto e a estrutura das sementes. A concentração de ácido p-cumárico na sarcotesta, esclerotesta e parte interna das sementes (Figura 9B) foi mais alta no estágio 5 de maturação. Apenas para o estágio 1 de maturação não ocorreu diferença entre as estruturas das sementes quanto ao conteúdo de ácido p-cumárico. Nos demais estádios, a sarcotesta apresentou valores superiores às demais estruturas, exceção apenas do estágio final, no qual não se verificou diferença entre sarcotesta e esclerotesta. O ácido ferúlico (Figura 9C) apresentou os menores teores dentre os compostos avaliados, com máximos próximos a 20 ppm, o que foi verificado na sarcotesta das sementes do estágio 5 de maturação. Não houve efeito do estágio de maturação do fruto na concentração deste ácido na esclerotesta, enquanto na parte interna das sementes verificou-se menor valor para o estágio 3 de maturação. Entre as estruturas, a sarcotesta foi a estrutura com maior concentração de ácido ferúlico, não sendo constatada diferença apenas no estágio 3, quando não diferiu da esclerotesta, e no estágio 5 em que não apresentou diferença significativa em relação as outras estruturas.

A concentração de ácido caféico (Figura 9D) foi superior na parte interna das sementes do estágio 1 de maturação, enquanto no estágio 3 foi constatada redução significativa na concentração deste ácido em relação as demais estruturas. Não foi verificada diferença significativa na concentração de ácido caféico nas diferentes estruturas das sementes do estágio 5 e final de maturação.

Diversos compostos fenólicos são constituintes comumente encontrados em plantas, muitos destes, como flavonóides e taninos, apresentam atividade antioxidante e podem ser utilizados nas indústrias substituindo antioxidantes sintéticos que são potencialmente tóxicos à saúde. Antioxidantes fenólicos são requeridos para extinguir radicais livres derivados de oxigênio assim como os substratos derivados dos radicais livres, produzidos durante a reação de fotossíntese, pela doação de um átomo de hidrogênio ou um elétron ao radical livre (Taiz e Zeiger, 2004). A produção destes compostos é descrita como uma resposta fisiológica da planta a situações estressantes, que podem ser de origem biótica ou abiótica. Peixoto et al. (2007) verificaram variação no teor de compostos fenólicos em plantas de milho submetidas ao estresse por alumínio, com respostas diferenciadas entre parte área e sistema radicular. Rivero et al. (2001) verificaram ainda que, a resposta ao estresse pode ser diferente entre as espécies,

quando submeteram plantas de tomate e de melancia ao estresse sob diferentes temperaturas e constataram aumento no teor de compostos fenólicos como resposta à condição de alta e baixa temperatura, respectivamente, para tomate e melancia.

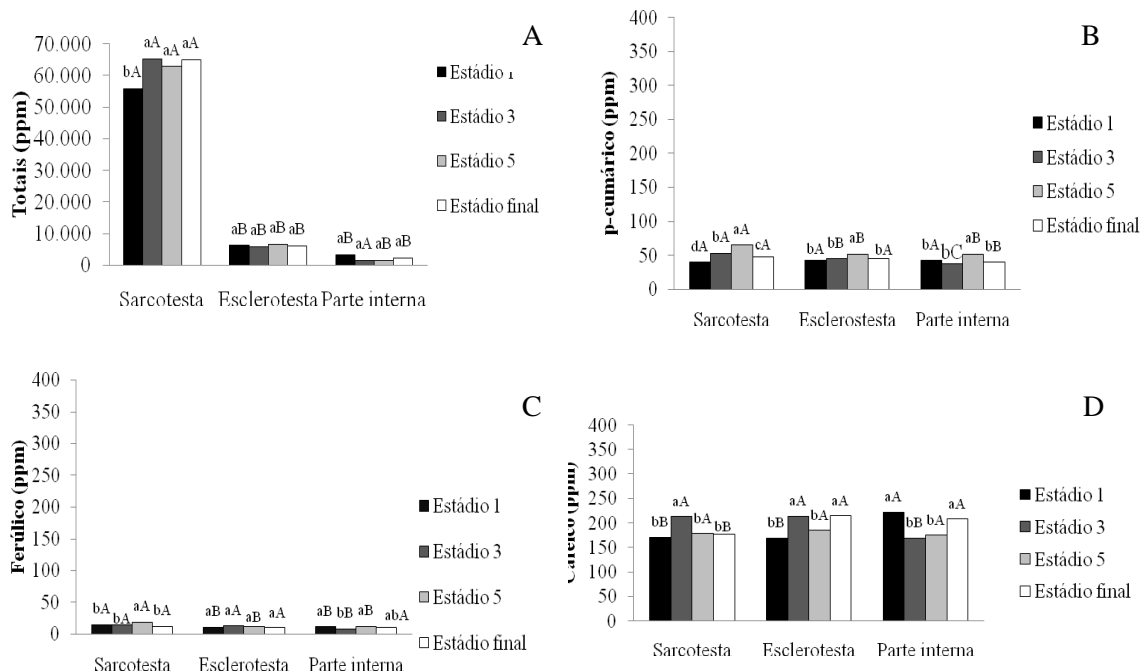


Figura 9: Concentração (ppm) de fenóis totais, ácido p-cumárico, ácido ferúlico e ácido caféico determinados na sarcotesta, esclerotesta e na parte interna de sementes de mamão e obtidas de frutos nos estádios de maturação 1, 3, 5 e final. *Médias seguidas por letras minúsculas comparam estádios de maturação dentro de cada estrutura das sementes e por letras maiúsculas comparam entre estruturas das sementes para cada estádio de maturação. Letras iguais não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Pelos resultados do bioensaio (Tabela 1) observa-se que a concentração de 10ppm dos ácidos caféico, ferúlico e cumárico, e da mistura entre eles, não se mostrou significativamente bioativa para sementes de alface e de mamão, que não tiveram sua germinação alterada. É possível a concentração utilizada, não tenha sido suficiente para exercer efeito inibitório sobre a germinação destas sementes. No entanto, Santos e Rezende (2008), utilizando uma concentração de 5ppm de diferentes compostos fenólicos, verificaram efeito inibitório sobre a germinação de espécies daninhas, e

constataram ainda, que o efeito herbicida dos compostos fenólicos sobre a germinação apresentou especificidade de alguns dos compostos com relação às determinadas espécies. Estes autores verificaram que as sementes de malícia (*Mimosa pudica*) foram a mais sensíveis e as de fedegoso (*Cássia occidentalis*) as menos sensíveis à ação dos compostos.

Para sementes de alface, também não se verificou efeito dos ácidos sobre o comprimento da raiz primária, enquanto para plântulas de mamão, o ácido p-cumárico foi o composto que mais reduziu o crescimento radicular, apresentando a menor média (2,40cm/plântula), embora estatisticamente tenha diferido apenas do tratamento com ácido ferúlico. Nota-se aqui um efeito diferenciado dos compostos em relação às duas espécies, concordando com o que foi observado por Santos e Rezende (2008) para sementes de espécies daninhas. Li et al. (1993), no entanto observaram que os ácidos ferúlico e cumárico inibiram a germinação de sementes de alface, enquanto Lehman et al. (1994) observaram efeito inibitório do ácido ferúlico sobre a germinação de sementes de cucurbitáceas. Segundo Colpas et al (2003), os efeitos dos compostos fenólicos podem ser verificados sobre diversos aspectos do crescimento vegetal. Este autor constatou que a concentração de 50ppm de ácido ferúlico inibiu a germinação e o crescimento de patógenos em sementes de soja. Maciel et al. (1992) também verificaram efeito inibitório de extratos fenólicos sobre o crescimento do hipocótilo de plântulas de alface. Os fenóis podem atuar como ativadores ou inibidores do sistema enzimático, favorecendo ou não atividade da auxina, com consequência influência sobre o desenvolvimento (Nazário, 2006).

Tabela 1. Germinação e comprimento de raiz primária (CR) (cm/plântula) de plântulas após sete dias (alface) e 30 dias (mamão) obtidas de sementes de alface e mamão tratadas com solução de 10ppm de ácidos fenólicos.

	ALFACE		MAMÃO	
	Germinação (%)	CR (cm/plântula)	Germinação (%)	CR (cm/plântula)
Testemunha	74 a	0,90 a	71 a	3,28 ab
A. caféico	73 a	0,77 a	64 a	3,26 ab
A. Ferúlico	68 a	0,81 a	71 a	3,49 a
A. cumárico	60 a	0,76 a	71 a	2,40 b
Mistura	63 a	0,71 a	69 a	2,83 ab

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

CONCLUSÕES

Sementes com sarcotesta apresentaram porcentagem de germinação inferior às sem sarcotesta.

A sarcotesta das sementes foi a estrutura que apresentou maior concentração de compostos fenólicos totais, ácido p-cumárico e ácido ferúlico. A maior concentração de ácido caféico ocorreu na esclerotesta e na parte interna das sementes.

Maior concentração de compostos fenólicos e menor germinação ocorreram em sementes de mamão obtidas de frutos colhidos em outubro/2010.

Os compostos fenólicos não influenciaram a germinação de sementes de alface e mamão, no entanto interferiram no desenvolvimento da raiz primária de plântulas de mamão.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALONSO, A.M; GUILLÉN, D.A; BARROSO, C.G; PUERTAS, B; GRACÍA, A. Determination of antioxidant activity of wine byproducts and its correlation with polyphenolic content. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, n.50, p.5832-5836, 2002.

AROUCHA, E.M.M.; SILVA, R.F.; VIEIRA, R.F.; VIANA, A.P.; FREITAS, S.P. Influência do estágio de maturação dos frutos e período de armazenamento das sementes no vigor das sementes de mamão dos grupos Solo e Formosa. In: REUNIÃO DE PESQUISA DO FRUTIMAMÃO, 2., Campos dos Goytacazes. **Anais...** Campos de Goytacazes: UENF, 2004. p.71-75.

BORGES, E.E.L., BRUNE, W.; BORGES, R.C.G.; OLIVEIRA, J.B. Avaliação de substância inibidora em sementes de pimenteira (*Xylopiá sericea* St. Hill.). **Revista Brasileira de Sementes**, v.9, n.3, p. 87-90, 1987.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Regras para análise de sementes**, Brasília: SNAD/DNDV/ CLAV, 2009.398p.

BRASILEIRO, B.G. Germinação e produção de compostos fenólicos em plantas de *Talinum triangulare* (Jacq) Willd (Portulacaceae) tratadas com homeopatia. 2010. 123f. Tese (Doutorado em Fitotecnia). Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, MG.

BROINIZI, P.R.B; ANDRADE-WARTHA, E.R.S.; SILVA, A.M.O.; NOVOA, A.J.V.; TORRES, R.P.; AZEREDO, H.M.C.; ALVES, R.E.; MANCINI-FILHO, J. Avaliação da atividade antioxidante dos compostos fenólicos naturalmente presentes em subprodutos do pseudofruto de caju (*Anacardium occidentale* L.). **Ciência e Tecnologia de Alimento**, v. 27, n.4, p.902-908, 2007.

CARDOSO, D.L.; SILVA, R.F.; SCHRIPEMA, J.; CASAGRANDE, G.; OLIVEIRA, A.C.S.; BRAGA, A.C. Influencia da sarcotesta de genótipos de mamão na germinação em sementes de alface e mamoeiro. **Papaya Brasil**, p.307-309, 2007.

CHACKO, E.K.; SINGH, R.N. The effect of gibberelic acid on the germination of papaya seeds and subsequent seedling growth. **Tropical Agricultural**, Trinidad, v.43, p.341-346, 1966.

CHITARRA, M.L.F; CHITARRA, A.B. **Pós-Colheita de frutas e hortaliças: Fisiologia e manuseio**. Lavras: UFLA. 785p. 2005.

CHOW, Y.J.; LIN, C.H. p-Hydroxibenzoic acid the major phenolic germination inhibitor of papaya seed. **Seed Science and Technology**, v.19, n.1, p167-174, 1991.

COLPAS, F. T.; ONO, E.O.; RODRIGUES, J.D.; PASSOS, J.R.S. Effects of some phenolic compounds on soybean seed germination and on seed-borne Fungi. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.46, n.2, p.155-161, 2003.

DELWICHE, L.D.; SLAUGHTER, S.J. **The Little SAS Book: A Primer**. Cary: SAS Institute, 2003. 268p.

DIAS, D.C.F.S; ESTANISLAU, W.T.; FINGER, F.L.; ALVARENGA, E.M.; DIAS, L.A.S. Physiological and enzymatic alteration in papaya seed during storage. **Revista Brasileira de Sementes**, v.32, n.1, p.148-157, 2010.

DIAS, L.A.S.; BARROS, W. S. **Biometria experimental**. UFV, 2009. 408p.

GHERARDI, E.; VALIO, I.F.M. Occurrence of promoting and inhibitory substances in the seed arils of *Carica papaya* L. **Journal of Horticultural Science**, v.51, p.1-14, 1976.

INCAPER (Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e extensão Rural). Boletim Agroclimático. Disponível em: <http://hidrometeorologia.incaper.es.gov.br>. Acesso em 15 março de 2011.

LARCHER, W. **Ecofisiologia Vegetal**. Ed. Rima. São Carlos, 2000. 529p.

LEHMAN, M.E.; BLUM, U.; GERIG, T.M. Simultaneous effects of ferulic and p-coumaric acids on cucumber leaf expansion in split-root experiments. **Journal Chemistry Ecology**, v.20, p.1773-1782, 1994.

LI, H.H.; INOVE, M.; NISHIMURA, H.; MIZUTANI, J.; TSUZUKI, E. Interactions of trans-cinnamic acid, its related phenolic allelochemicals, and abscisic acid in seedling growth and seed germination of lettuce. **Journal Chemistry Ecology**, v.19, p.1175-1787, 1993.

MACIEL, A.S.; BORGES, E.E.L.; BORGES, R.C.G. Determinação da presença de fenóis em sementes de espécies florestais e sua relação com inibidores de germinação. **Revista Brasileira de Sementes**, v.14, n.1, p.1-8, 1992.

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

MAZZA, G; FUKUMOTO, L; DELAQUIS, P; GIRARD, B; EWERT, B. Anthocyanins, phenolics, and color of Cabernet Franc, Merlot, and Pinot Noir wines from British Columbia. **Journal de Agricultural and Food Chemistry**, n.47, p.4009-4017, 1999.

NAZÁRIO, P. Tratamentos pré-germinativos visando minimizar a dormência em sementes de tucumã (*Astrocaryum aculeatum* G. Mey.). 2006. Dissertação (mestrado em ciências agrárias). Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia. Manaus, AM.

PALMA, M; ZULEMA, P; BARROSO, C.G. Stability of phenolic compounds during extraction with superheated solvents. **Journal of Chromatography**, v.921, p.169-174, 2001.

PEIXOTO, P.H.; PIMENTA, D.S.; CAMBRAIA, J. Alterações morfológicas e acúmulo de compostos fenólicos em plantas de sorgo sob estresse de alumínio. **Bragantia**, v.66, n.1, p.17-25, 2007.

PIMPÃO, R.C.S. Compostos fenólicos e sua atividade antioxidante em espécies de *Juniperus*: Análise da produção sazonal e sob condições de estresse. 2009. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular e Biotecnologia) – Universidade de Lisboa, Portugal.

REYES, M.N.; PÉREZ, A.; CUEVAS, J. Detecting endogenous growth regulators on the sarcotesta, sclerotesta, endosperm and embryo by paper chromatography on fresh and old seeds of two Papaya's varieties. **Journal Agriculture University of Puerto Rico**, v.64, n.2, p.167-172, 1980.

RIVERO, R.M.; RUIZ, J.M.; GARCIA, P.C.; LEFEBRE, L.R.L; SANCHEZ, E; ROMERO, L. Resistance to cold and heat stress: accumulation of phenolic compounds in tomato and watermelon plants. **Plant Science**, v.160, p.315–321.

SALOMÃO, L.C.C.; SIQUEIRA, D.L.; SANTOS, D.; BORBA, A.N. **Cultivo do mamoeiro**. Viçosa: UFV, 2007. 73p.

SÁNCHEZ-MORENO, C. Compuestos polifenólicos: estructura y clasificación. Presencia en alimentos y consumo. Biodisponibilidade y metabolismo. **Alimentaria**, n. 329, p.19-28, 2002.

SANTOS, S.; REZENDE, M.O.O. Avaliação do potencial herbicida de compostos secundários na germinação de sementes de plantas daninhas encontradas em pastagens. **Revista Analytica**, n.32, p.72-78, 2008.

SCHMILDT, E.R.; FRONZA, V.; DIAZ, J.L.S.; UNÊDA, S.H.; ALVARENGA, E.M. Comparação de métodos físicos de remoção da sarcotesta e de métodos de secagem de sementes de mamoeiro (*Carica papaya* L.). **Revista Brasileira de Sementes**, v.15, n.2, p.147-151, 1993.

SHAHIDI, F; NACZK, M. **Food phenolics: sources, chemistry, effects and applications**. 1. ed. Lancaster: Technomic Publishing Co, 1995.331p.

SOARES, G.L.G.; SCALON, V.R.; PEREIRA, T.O.; VIEIRA, D.A. Potencial alelopático do extrato aquoso de folhas de algumas leguminosas arbóreas brasileiras. **Floresta e Ambiente**, v.9, n.1, p.119-126, 2002.

SWAINT, T.; HILLIS, W.E. The phenolic constituents of *Prunus domestica*. I. The quantitative analyses of phenolic constituents. **Journal Science Agricultural**,v.10, p.63-68, 1959.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3.ed. Porto Alegre: Artmed, 2004.719p.

TOKUHISA, D; DIAS, D. C. F. S.; ALVARENGA, E. M.; DIAS, L. S. A.; MARIN, S. L.D. Tratamentos para superação da dormência em sementes de mamão. **Revista Brasileira de Sementes**, v.29, n.1, p.131-139, 2007(a).

TOKUHISA, D.; DIAS, D. C. F. S.; ALVARENGA, E. M.; DIAS, HILST, P. C.; DEMUNER, A. J. Compostos fenólicos inibidores da germinação em sementes de mamão (*Carica papaya* L.). **Revista Brasileira de Sementes**, v.29, n.3, p.161-168, 2007(b).

TOKUHISA, D; DIAS, D. C. F. S.; ALVARENGA, E. M.; DIAS, L. A.S.; MARIN, S. L. D. Época de colheita dos frutos e ocorrência de dormência em sementes de mamão (*Carica papaya* L.). **Revista Brasileira de Sementes**, v.30, n.2, p.75-80, 2008.

VIDAL, S; CARTALADE, D; SOUQUET, J. M; FULCRAND, H; CHEYNIER, V. Changes in proanthocyanidin chain length in winelike model solutions. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, n.50, p.2261-2266, 2002.

VIGGIANO, J.R.; SILVA, R.F.; VIEIRA, H.D. Ocorrência de dormência em sementes de mamão (*Carica papaya* L.). **Sementes Online**, v.1, n.1, p.6-10, 2000.

YAHIRO, M. Effects of pre-treatments on the promotion of germination in papaya, *Carica papaya* L. **Memoirs of the Faculty of Agriculture, Kagoshima University**, Kagoshima, v.15, n.1, p.49-54, 1979.

YAHIRO, M.; ORYOJI, Y. Effects of gibberellin and cytokinin treatments on the promotion of germination in papaya, *Carica papaya* L. seeds. **Memoirs of the Faculty of Agriculture, Kogoshima University**, Kagoshima, v.16, n.1, p.45-51, 1980.

ARTIGO III

ALTERAÇÕES MORFOLÓGICAS E QUALIDADE FISIOLÓGICA DE SEMENTES DE MAMÃO EM FUNÇÃO DA POSIÇÃO DA SEMENTE NO FRUTO E DIFERENTES ESTÁDIOS DE MATURAÇÃO

RESUMO

A qualidade de sementes de mamão é influenciada por diversos fatores, como época de colheita, presença de sarcotesta, compostos inibidores nas sementes, posição das sementes no fruto, dentre outros. Um dos requisitos básicos para a identificação de problemas associados com o potencial fisiológico de sementes é a avaliação da sua morfologia interna. Neste sentido, a análise de raios X tem fornecido informações importantes, identificando sementes vazias e mal formadas. Para o mamoeiro, a técnica de raios X pode ser utilizada para determinar a porcentagem de sementes vazias ou defeituosas, auxiliando na avaliação do potencial fisiológico dos lotes. O objetivo do estudo foi avaliar a qualidade morfológica e fisiológica de sementes de mamão obtidas de diferentes estádios de maturação e regiões do fruto com o auxílio das análises de raios X. Foram utilizadas sementes de mamão Formosa ‘Tainung 01’ colhidos no estágio 1 de maturação. Os frutos ficaram armazenados em ambiente de laboratório até atingirem os estádios de maturação 3, 5 e final. As sementes foram extraídas dos frutos nos estádios 1, 3, 5 e final. Em cada estágio, os frutos foram seccionados transversalmente em três partes de tamanhos iguais, sendo as sementes das duas extremidades (proximal e distal) extraídas separadamente daquelas localizadas na região central. As sementes tiveram a sarcotesta removida e, em seguida, foram dispostas para secagem. Foram realizadas as seguintes avaliações: 1) teste de germinação, em papel germitest umedecido com água destilada em temperatura alternada 20-30°C. Avaliou-se a velocidade de germinação, plântulas normais na primeira contagem e as porcentagens de germinação, sementes dormentes e sementes inviáveis aos 30 dias; 2) envelhecimento acelerado a 41°C por 48 horas; 3) emergência de plântulas em areia; 4) teste de raios X. Determinaram-se as porcentagens de sementes cujo embrião era facilmente visível, com radícula visível e sementes aparentemente vazias; 5) Comprimento de plântulas através do programa computadorizado *Seed Vigor imaging*

System[®]. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, em fatorial (duas regiões do fruto e quatro estádios de maturação) em quatro repetições. As médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Constatou-se que sementes localizadas na parte central dos frutos apresentaram desempenho superior às sementes das extremidades. O estágio 1 de maturação apresentou número de sementes vazias e dormentes superior aos demais estádios. O teste de raios X favoreceu a diferenciação entre sementes de mamão vazias e com embrião completamente desenvolvido.

Palavras-chave: *Carica papaya* L., raios X, qualidade fisiológica.

MORPHOLOGICAL CHANGES AND PHYSIOLOGICAL QUALITY OF PAPAYA SEED IN RELATION TO SITES IN FRUIT AND DIFFERENT MATURATION STAGE

ABSTRACT

The quality of papaya seeds is influenced by different factors, such as harvest time, the presence of sarcotesta, inhibitory compounds in seeds, seed position in the fruit, among others. One of the basic requirements for the identification of problems associated with the physiological potential of seeds is the assessment of their internal morphology. In this sense, the X ray analysis has provided important information, identifying empty and malformed seeds. For papaya, the technique of X rays can be used to determine the percentage of empty seeds or defective, assisting in the evaluation of the physiological potential of the lots. The objective of this study was to evaluate morphological and physiological quality of the papaya seeds obtained from different maturation stages and regions of the fruit with the help of X-ray analysis. Papaya seeds were used 'Tainung 01' harvested in stage 1 of maturation. The fruits were stored in a laboratory environment until they reach maturity stages 3, 5 and final. The seeds were extracted from fruits at stages 1, 3, 5 and final. At each stage, the fruits were cut transversely into three parts of equal size, and the seed of both ends (proximal and distal) extracted separately from those located in the central region. The seeds had the sarcotesta removed and then were placed for drying. We made the following assessments: 1) the germination test, germitest paper. We evaluated the germination speed, normal seedlings in the first count and the percentage of germination, dormant seeds and seeds viable for 30 days, 2) accelerated aging at 41 ° C for 48 hours, 3) seedling emergence in sand, 4) testing X rays, 5) Length of seedlings through the computer program *Seed Vigor Imaging System*[®]. The experiment was conducted in completely randomized design in factorial (two regions of the fruit and four maturation stages) with four replications. The means were compared by Tukey's test at 5% probability. It was found that seeds extracted from the central part of the fruits showed higher performance than the seeds of the extremities. The stage of maturation one showed a number of empty and dormant seeds than those in other stages. The X-ray test favored the differentiation between empty and papaya seeds with fully developed embryo.

Key-words: *Carica papaya* L., X ray, physiological quality.

INTRODUÇÃO

A cultura do mamoeiro é implantada principalmente por meio de sementes, uma vez que a propagação assexuada, por estaquia ou enxertia, não apresenta resultados economicamente satisfatórios. Neste contexto, a utilização de sementes de alta qualidade é fundamental para o estabelecimento de mudas vigorosas e saudáveis e por razões econômicas, pois as sementes têm alto preço, sendo muitas vezes, importadas (Almeida, 2007).

A qualidade fisiológica das sementes de mamão ainda se constitui em obstáculo para os viveiristas e agricultores, uma vez que a germinação é lenta e irregular, especialmente se a sarcotesta não for removida. As causas deste fraco desempenho ainda não estão bem elucidadas e atribui-se principalmente à dormência pós-colheita das sementes e, ou dificuldades na sua conservação durante o armazenamento. Dentre os diversos fatores podem influenciar a qualidade das sementes de mamão estão a época de colheita (Tokuhisa et al., 2007a), o armazenamento pós-colheita dos frutos (Aroucha et al., 2004; Aroucha et al., 2005; Martins et al. 2006), as condições de armazenamento das sementes (Althoff e Carmola, 1999; Viggiano et al., 2000; Martins et al., 2005; Dias et al., 2009; Dias et al, 2010;), a presença de sarcotesta (Reyes et al.,1980; Schmildt, et al., 1993; Viggiano et al., 2000, Tokuhisa et al., 2007a) e de compostos inibidores nas estruturas das sementes (Gherardi e Valio, 1976; Chow e Lin, 1991; Tokuhisa et al.,2007b;) e a ocorrência de dormência pós-colheita (Reyes et al., 1980; Chow e Lin, 1991; Schmildt et al., 1993; Vigiano et al., 2000; Tokuhisa et al., 2007b). Balbinot et al. (2003) acrescentaram ainda, que a posição da semente no fruto pode influenciar a uniformidade de germinação. Nagao e Furutani (1986), avaliando a relação peso e germinação de sementes de mamoeiro do grupo ‘Solo’, verificaram que sementes de menor densidade, embora externamente não apresentassem diferença em relação às de maior densidade, não possuíam embrião normal, o que foi verificado através da incisão das sementes. Tal resultado indica que a baixa germinação de sementes de mamão pode ser em parte, atribuída ao desenvolvimento anormal do embrião que foi constatado em, aproximadamente, 20% das sementes.

Neste contexto, a avaliação da morfologia interna das sementes de mamão pode se constituir em alternativa interessante e complementar na avaliação do potencial fisiológico das sementes. Dentre os diversos testes para avaliação da qualidade das sementes, destaca-se o de raios X que permite identificar alterações morfológicas internas e avaliar os seus efeitos na qualidade fisiológica das sementes (Carvalho et al., 2009a, Dell Aquila, 2009).

A técnica de raios X foi pioneiramente utilizada por Simak e Gustafsson (1953), que a empregaram na avaliação da qualidade de sementes de *Pinus sylvestris* L.. Trata-se de um método rápido e não destrutivo, que tem como vantagem não alterar a viabilidade das sementes, permitindo que as mesmas sementes sejam posteriormente submetidas ao teste de germinação, possibilitando assim o estudo comparativo da germinação em relação à imagem radiográfica (Simak et al., 1989; Souza et al., 2008; Gomes Júnior, 2010).

O teste de raios X pode ser recomendado para determinação da proporção de sementes bem formadas, vazias, danificadas mecanicamente ou por organismos nocivos em um lote de sementes, sendo considerado um método rápido e não destrutivo, que permite avaliar as estruturas internas das sementes (ISTA, 2004; Brasil, 2009). Assim, por meio do teste é possível verificar a evolução do desenvolvimento e maturação das sementes, avaliando as estruturas do embrião e tecido de reserva pelas características evidenciadas na radiografia (Craviotto et al., 2002; Silva e Nascimento, 2008).

Em espécies de frutos carnosos, como o mamão, o processo de maturação das sementes pode se estender após a colheita dos frutos. A manutenção das sementes de mamão no interior do fruto após a colheita, durante a fase de amadurecimento, pode contribuir para a melhoria na sua qualidade (Aroucha et al., 2005; Martins et al., 2006), o que poderia estar associado à transferência de nutrientes para as sementes, ou ainda, a alguma alteração entre compostos promotores e inibidores de germinação no interior das sementes (Martins et al., 2006). A manutenção das sementes no fruto após a colheita permite que sementes imaturas, completem o seu desenvolvimento resultando em melhor qualidade, conforme foi verificado para sementes de tomate (Vidigal et al., 2006; Dias et al., 2006) e pimenta (Vidigal et al., 2009).

Portanto, a técnica de raios X pode ser útil para monitorar o processo de maturação das sementes, permitindo identificar a presença de sementes mal formadas, vazias ou defeituosas de um lote, contribuindo para complementar as informações referentes ao seu potencial fisiológico. Assim, essa pesquisa foi proposta com o objetivo de utilizar o teste de raios X para verificar a ocorrência de alterações morfológicas internas associando seus efeitos à qualidade fisiológica das sementes de mamão extraídas de diferentes posições de frutos em diferentes estádios de maturação.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas sementes provenientes de frutos hermafroditas, colhidos em outubro de 2010 em uma população de plantas de mamão Formosa ‘Tainung 01’ pertencente a empresa Nortefrut Packing, em Pinheiros-ES. Os frutos foram colhidos no estágio 1 de maturação (até 15% da superfície da casca amarela), e prontamente transportados para o Laboratório de Sementes do Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa, em Viçosa – MG. Foi realizada então a extração das sementes dos frutos no estágio 1 de maturação, enquanto os demais frutos ficaram armazenados sob temperatura ambiente de laboratório até atingirem os estádios de maturação 3, 5 e final, correspondendo, respectivamente, a até 50%, 75% (Aroucha et al., 2004) e a 100% da superfície externa amarela (Figura 1), o que ocorreu aos cinco, 10 e 13 dias após a colheita.

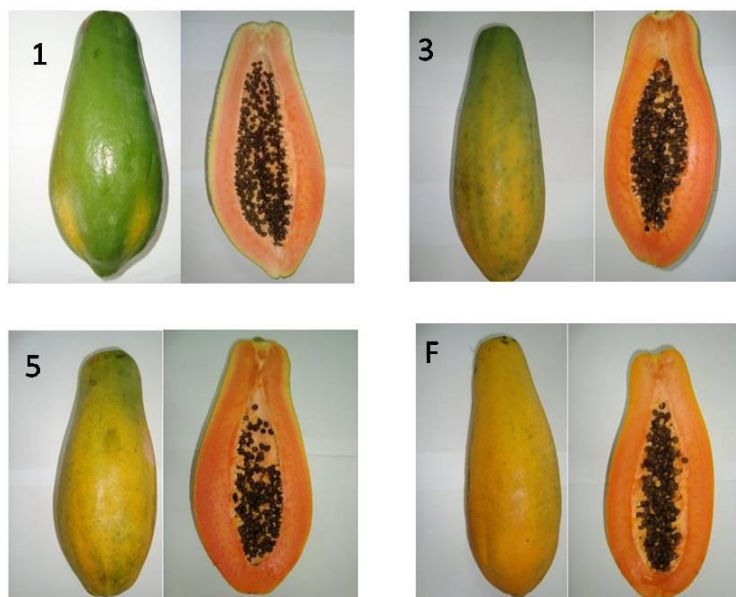


Figura 1. Padrões de coloração de frutos de mamão nos estádios de maturação 1 (até 15% da superfície da casca amarela); 3 (cerca de 50% da superfície da casca amarela); 5 (cerca de 75% da superfície da casca amarela) e Final – F (100% da casca amarela).

Ao atingirem cada estágio de maturação estabelecido, os frutos foram seccionados em três partes de tamanhos iguais (Figura 2), sendo as sementes das duas extremidades dos frutos (apical e distal) extraídas separadamente daquelas localizadas na região central. Em seguida, foram lavadas em água corrente para retirada dos resíduos de polpa e sementes chochas.

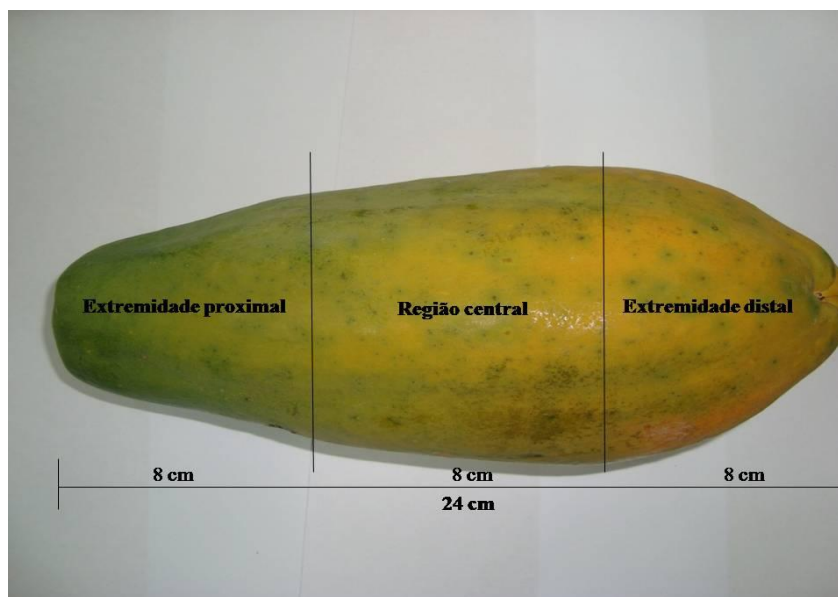


Figura 2. Locais de seccionamento dos frutos de mamão para extração das sementes e obtenção dos tratamentos relativos à posição das sementes no fruto: região central e extremidades (proximal+distal).

As sementes foram friccionadas manualmente sobre peneira até a completa remoção da sarcotesta. Após esse procedimento, foram lavadas em água corrente e dispostas para secar sobre papel em ambiente de laboratório até atingirem teor de água de cerca de 10%.

Sementes da região central e das extremidades dos frutos em cada estágio de maturação foram submetidas aos seguintes testes:

Germinação: quatro repetições de 50 sementes foram tratadas com o fungicida Captan® 0,2% e distribuídas entre folhas de papel germitest umedecidas com água destilada em volume equivalente a 2,5 vezes o peso do papel seco. Foram confeccionados rolos que foram mantidos em câmaras de germinação do tipo B.O.D. sob temperatura alternada 20°C-30°C (16/8h) e fotoperíodo de oito horas conforme Brasil (2009). Realizaram-se contagens diárias para cálculo do índice de velocidade de germinação (IVG) de acordo Maguire (1962). Aos 30 dias após a semeadura, avaliou-se a porcentagem de germinação, representada pela porcentagem de plântulas normais.

As sementes que não germinaram foram submetidas ao teste com tetrazólio para avaliação da sua viabilidade, de modo a permitir a identificação de sementes dormentes

ou mortas. Para realização de teste, a cobertura externa (sarcotesta e esclerotesta) das sementes (que já se encontravam embebidas) foi cuidadosamente retirada, obtendo-se assim, as estruturas internas (endosperma com o embrião). Com auxílio de estilete e lupa, o endosperma foi cuidadosamente seccionado longitudinalmente para exposição do embrião à solução de tetrazólio. Os endospermas seccionados foram, em seguida, colocados em solução de 0,05% de concentração do sal de tetrazólio por 12 horas, em temperatura de 35 °C, no escuro, conforme testes preliminares adaptados de Althoff e Carmola (1999). Após a coloração, a solução foi drenada e as sementes lavadas em água corrente, para observação em lupa. As sementes que apresentaram embriões com coloração róseo brilhante e consistência firme foram consideradas viáveis estando, portanto, dormentes. Aquelas sementes que não apresentavam as estruturas internas, ou seja, embrião e endosperma (chochas), ou ainda aquelas que não desenvolveram coloração (tecido branco leitoso) e/ou apresentaram tecidos flácidos ou amolecidos (mortas) foram classificadas como inviáveis. Foram registradas, portanto, as porcentagens de sementes dormentes e de sementes inviáveis.

Primeira contagem de germinação: foi realizada simultaneamente ao teste de germinação avaliando-se o percentual de plântulas normais aos 15 dias após a semeadura.

Envelhecimento acelerado: as sementes foram distribuídas em camada única sobre bandeja de tela acoplada em caixa gerbox contendo, ao fundo, 40 mL de água. As caixas foram fechadas para garantir cerca de 100% de umidade relativa em seu interior e mantidas em câmara B.O.D., a 41°C por 48 horas. Após esse período, foi realizado o teste de germinação (Brasil, 2009), avaliando-se a porcentagem de plântulas normais (germinação) aos 30 dias após a semeadura.

Emergência de plântulas em areia: em casa de vegetação, foram semeadas quatro repetições de 50 sementes de cada tratamento. O substrato utilizado foi areia esterilizada umedecida até 60% da sua capacidade de retenção, em caixas plásticas com dimensões de 41 x 27 x 5 cm. As sementes foram semeadas em sulcos de 1,0 cm de profundidade e recobertas com areia. As regas foram diárias e as contagens realizadas diariamente durante 30 dias. Foram consideradas como emergidas as plântulas cujos cotilédones afloraram na superfície do substrato. Determinaram-se a porcentagem de

plântulas emergidas aos 30 dias e o índice de velocidade de emergência (IVE) conforme Maguire (1962).

Teste de Raios X: foi conduzido no Laboratório de Sementes da ESALQ/USP, onde foram radiografadas quatro repetições de 25 sementes de cada tratamento, utilizando o equipamento digital Faxitron X-ray, modelo MX-20, acoplado ao computador Core 2 Duo (3.16 GHz, 2 GB de memória RAM, Hard Disk de 160 GB) e monitor MultiSync LCD1990SX de 17 polegadas). Após testes preliminares, as radiografias foram obtidas com as sementes posicionadas a 14,3 cm da fonte de emissão de raios X. Para o posicionamento adequado das sementes durante a exposição aos raios X, foi utilizada fita dupla face transparente aderida sobre uma placa de plástico transparente (29.7 x 21.0 x 0,1 cm). Determinaram-se as porcentagens de sementes com embrião facilmente visível (EFVi), com radícula visível (RVi) e sementes aparentemente vazias (AVa) (Figura 3).

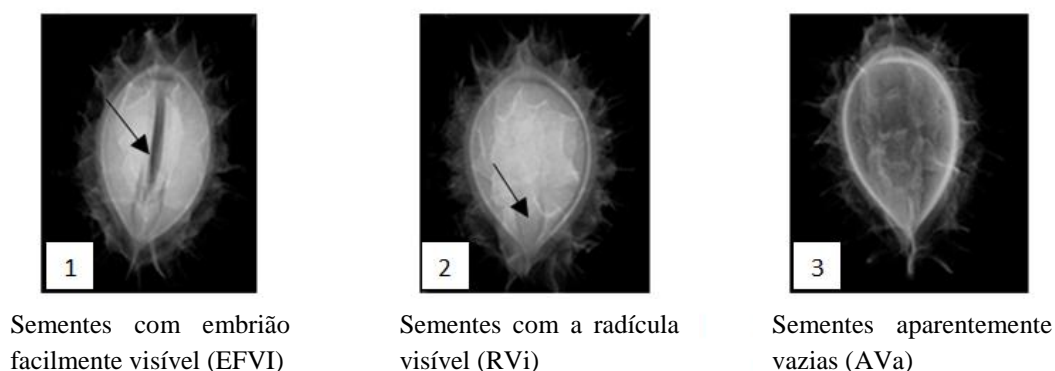


Figura 3. Classificação visual de imagens de sementes de mamão geradas pela aplicação de Raios X.

As sementes submetidas ao teste de raios X foram colocadas para germinar em rolos de papel toalha, em quatro repetições de 25 sementes, na mesma ordem de avaliação pelos raios X e nas mesmas condições descritas acima para o teste de germinação, sendo as avaliações feitas aos 15 dias após a semeadura. Foram obtidos assim, os valores médios de comprimento de plântula (cm/plântula), as porcentagens de sementes que emitiram raiz primária e de plântulas normais (germinação). Estas avaliações foram realizadas no Laboratório de Sementes da ESALQ/USP utilizando-se o programa computadorizado *Seed Vigor Imaging System*[®] utilizado por Marcos Filho

et al. (2009), que permite obter o comprimento individual das plântulas normais originadas de cada semente radiografada.

Delineamento estatístico: o experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições. Os dados foram submetidos à análise de variância, com os tratamentos dispostos em esquema fatorial composto por duas regiões do fruto e quatro estádios de maturação do fruto. Na análise de variância, os efeitos dos tratamentos foram testados pelo teste F ($P \leq 0,05$ e $\leq 0,01$) e, quando significativos, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$). Os valores percentuais das contagens foram previamente submetidos à transformação angular, para melhor aproximação à distribuição normal e homogeneização das variâncias (Dias e Barros, 2009). O processamento dos dados foi realizado com o software SAS (Delwiche e Slaughter, 2003).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Houve aumento da germinação (Figura 4A) e do IVG (Figuras 4B) com o amadurecimento dos frutos, obtendo-se menores e maiores valores, respectivamente para as sementes extraídas de frutos no estágio 1 e final de maturação. Em geral, sementes obtidas de frutos nos estádios 3, 5 e final foram superiores quanto ao vigor às do estágio 1, pelos testes de primeira contagem de germinação e emergência de plântulas. Já pelo teste de envelhecimento acelerado, maior vigor foi obtido para as sementes dos estádios 5 e final que foram significativamente superiores às dos estádios 1 e 3, que não diferiram entre si. Maior velocidade de emergência foi verificada para as sementes de frutos dos estádios 3, 5 e final, sendo que apenas as sementes deste estágio foram superiores às do estágio 1 (Figura 4B).

Não houve diferença significativa entre a porcentagem de sementes inviáveis, caracterizadas por sementes chochas e mortas, nos diferentes estádios de maturação (Figura 4B). Contudo, ao se avaliar a porcentagem sementes dormentes observou-se que o armazenamento pós-colheita dos frutos favoreceu a redução da dormência de modo significativo, com menores valores para frutos do estágio final de maturação, indicando que as mudanças na coloração dos frutos durante o amadurecimento, correspondem a

alterações fisiológicas e bioquímicas no interior dos mesmos que favorecem a qualidade das sementes. Tais alterações referem-se à síntese de etileno e incremento na taxa respiratória, bem como, a possíveis alterações entre compostos promotores e inibidores de germinação nas estruturas das sementes. O efeito benéfico do armazenamento dos frutos após a colheita sobre a qualidade de sementes de mamão também foi verificado por outros autores (Aroucha et al., 2004; Aroucha et al., 2005; Martins et al., 2006). Em espécies de frutos carnosos, o processo de maturação das sementes continua após a colheita dos frutos. Desta forma, sementes que ainda não teriam atingido a maturidade fisiológica enquanto os frutos encontravam-se na planta, podem completar o seu desenvolvimento após a colheita dos mesmos resultando em melhor qualidade, conforme foi verificado para sementes de pimenta por Vidigal et al., (2009) e para sementes de tomate (Vidigal et al., 2006; Dias et al., 2006). Martins et al. (2006) atribuiu a melhoria da germinação de sementes de mamão após o repouso a um provável equilíbrio entre substâncias promotoras e inibidoras de germinação no interior do fruto durante o armazenamento dos frutos.

Quanto à posição das sementes no fruto, verificou-se maior germinação (Figura 4C) e IVG (Figura 4D) e menor porcentagem de sementes dormentes (Figura 4C) nas sementes extraídas da região central do fruto. As sementes da região central do fruto não diferiram daquelas das extremidades quanto ao vigor e à porcentagem de sementes inviáveis (Figura 4C). Balbinot et al. (2003) verificaram que de mamão 'Golden' extraídas da posição intermediária dos frutos apresentaram melhor qualidade fisiológica em relação às das extremidades.

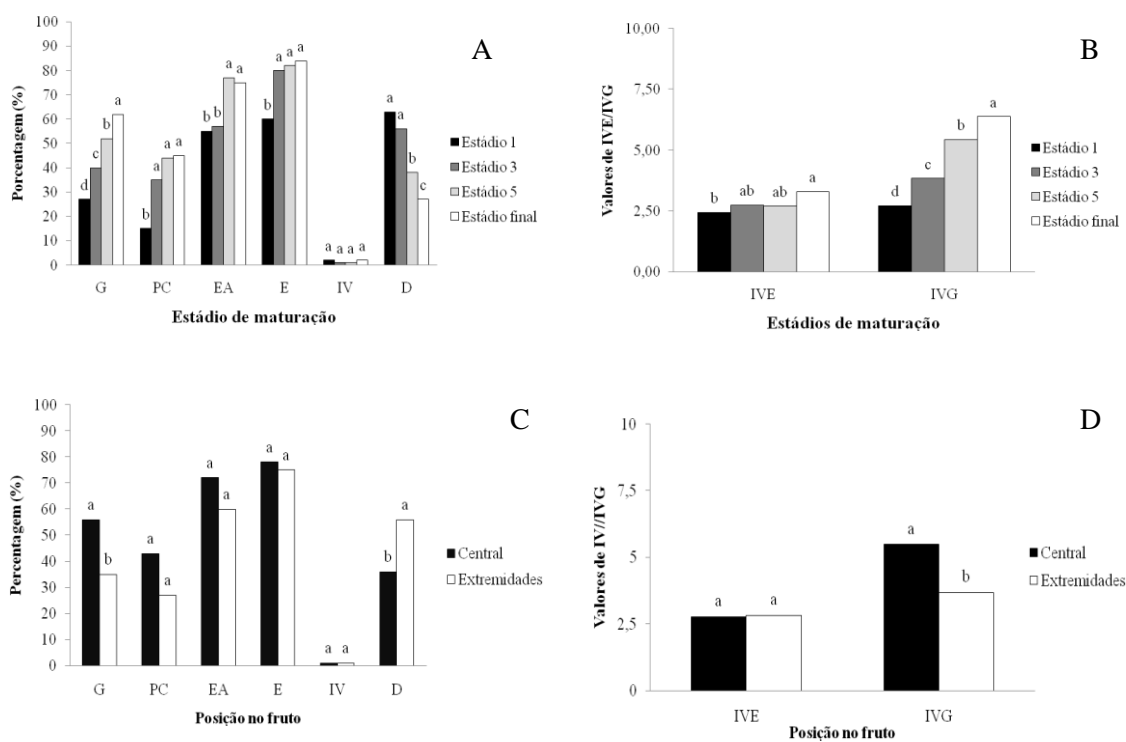


Figura 4. Valores percentuais médios de germinação (G), primeira contagem de germinação (PC), envelhecimento acelerado (EA), emergência (E), sementes inviáveis (IV) e sementes dormentes (D) em função do estágio de maturação (A) e posição das sementes no fruto (C); Índices de velocidade de emergência (IVE) e de germinação (IVG) em função do estágio de maturação do fruto (B) e da posição das sementes nos frutos (D). *Médias seguidas pela mesma letra a não diferem entre si pelo teste de Tukey para estádios de maturação e teste F para posição das sementes nos frutos a 5% de probabilidade.

Pela interação entre estágio de maturação do fruto e posição das sementes no fruto verifica-se que, com o amadurecimento do fruto houve aumento na germinação das sementes (Figura 5A) e no IVE (Figura 5G), obtendo-se maiores valores para sementes tanto das extremidades como da posição central extraídas de frutos no estágio final e para as da posição central de frutos no estágio 5. As sementes da região central apresentaram maior germinação do que as das extremidades do fruto nos estádio 3, 5 e final.

A primeira contagem de germinação (Figura 5B) foi maior para sementes extraídas da região central do fruto nos estádios 3 e 5 e das extremidades de frutos no

estádio final de maturação. Para frutos do estágio 1 e final, não houve efeito da posição da semente no fruto sobre a primeira contagem de germinação.

Houve redução na porcentagem de sementes dormentes (Figura 5E) com o armazenamento pós-colheita dos frutos, sendo os menores valores detectados em sementes de frutos nos estádios 5 e final. Sementes obtidas das extremidades dos frutos dos estádios 3, 5 e final tiveram maior dormência do que as da posição central, não havendo diferença entre as posições da semente no fruto para o estágio 1 de maturação. Por outro lado, não houve diferença entre os tratamentos quanto à porcentagem de sementes inviáveis (Figura 5F). Comparando estes resultados com os de germinação (Figura 5B) foi verificado que o aumento da germinação com o armazenamento pós-colheita dos frutos foi associado à redução na porcentagem de sementes dormentes (Figura 5E). Provavelmente, durante o amadurecimento dos frutos, até atingir mais de 75% da coloração externa amarela, ocorre redução de compostos inibidores e/ou síntese de compostos essenciais à germinação.

A redução da dormência pode relacionar-se ao equilíbrio entre promotores e inibidores (Martins et al., 2006), ou ainda, devido à continuidade do processo de maturação das sementes que ainda não teriam atingido a maturidade fisiológica por ocasião da colheita dos frutos. Efeito benéfico do armazenamento pós-colheita de frutos foi observado por Aroucha et al. (2004) e Aroucha et al. (2005) em sementes de mamão, por Dias et al. (2006), Vidigal et al. (2006) em sementes de tomate e por Vidigal et al. (2009) com sementes de pimenta.

Os resultados do teste de envelhecimento acelerado (Figura 5C) não separaram as sementes quanto ao vigor, enquanto os resultados de emergência (Figura 5D), em geral, indicaram maiores valores para sementes das extremidades de frutos dos estádios 1 e 3 e da posição central de frutos no estágio 5, não havendo diferença entre as posições no estágio final de maturação. Já o IVG (Figura 5H) para sementes da região central foi menor apenas quando estas foram obtidas de frutos no estágio 1 de maturação. Para sementes de milho, Mondo e Cicero (2005) verificaram que sementes retiradas da região proximal e intermediária dos frutos apresentaram vigor superior àquelas da região distal.

Em geral, observa-se que tanto a germinação como o vigor das sementes aumentou com o armazenamento pós-colheita dos frutos, o que foi acompanhado por redução na ocorrência de sementes dormentes, sendo que sementes de maior qualidade fisiológica foram obtidas, geralmente, da região central de frutos nos estádios 5 e final de maturação (Figura 5). O melhor desempenho destas sementes pode ser atribuído à menor porcentagem de sementes dormentes (Figura 5E) constatada nestes tratamentos. Em geral, sementes extraídas da região central dos frutos Noé estádios 5 e final da maturação apresentaram dos estádios 5 e final de maturação apresentaram menor ocorrência de dormência.

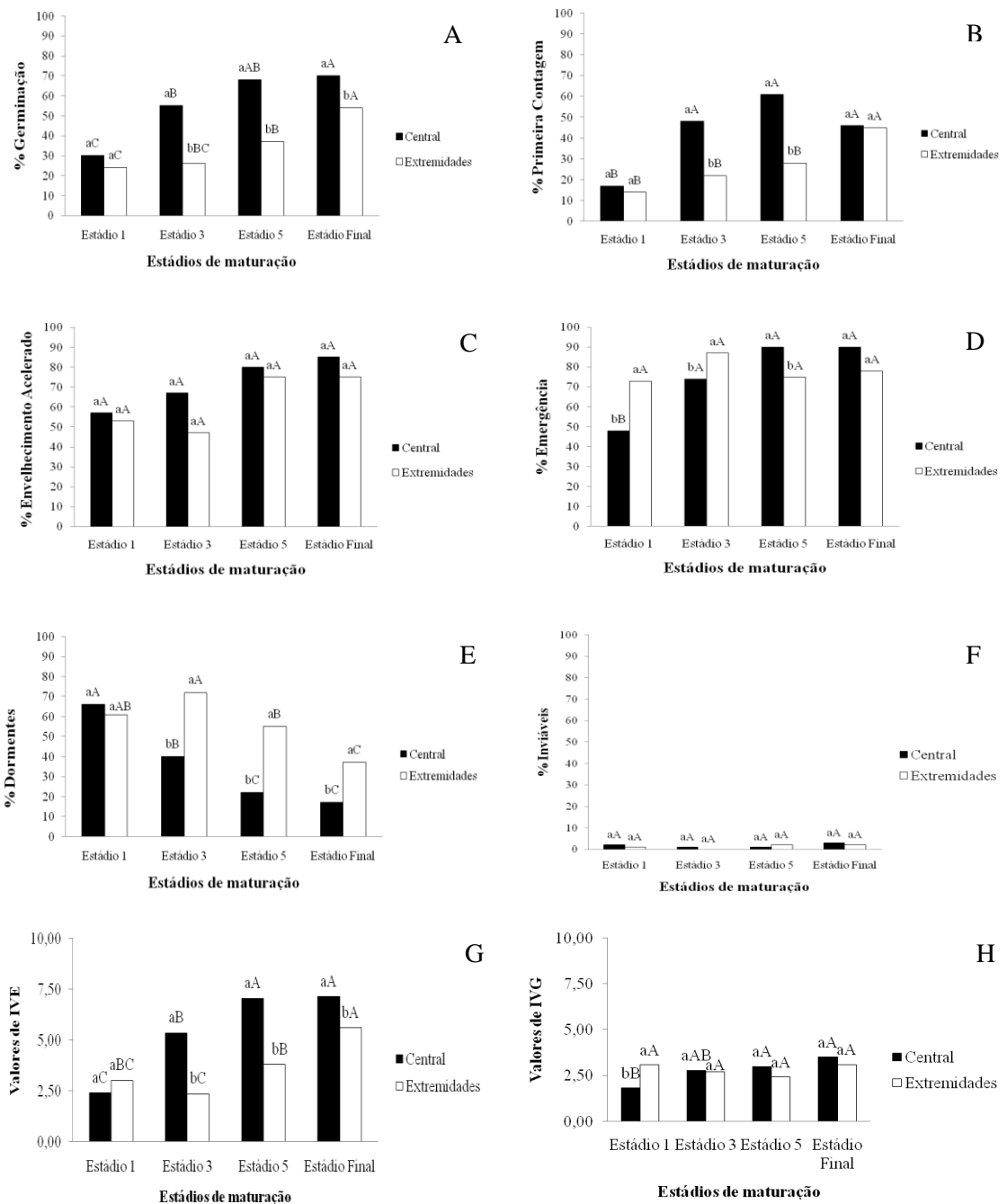


Figura 5: Valores médios de germinação (A), primeira contagem de germinação (B), envelhecimento acelerado (C), emergência (D), sementes inviáveis (E), sementes dormentes (F) e Índices de velocidade de emergência (G) e de germinação (H) em função do estágio de maturação e da posição das sementes no fruto. *Médias seguidas por letras minúsculas comparam a posição das sementes no fruto dentro de cada estágio e letras maiúsculas comparam entre estágios de maturação para cada posição das sementes. Letras iguais não diferem entre si pelos testes F e de Tukey a 5% de probabilidade, respectivamente.

Pelas imagens geradas através da aplicação de raios X em sementes de mamão extraídas das extremidades dos frutos no estágio 1 de maturação, verifica-se que, das 25 sementes de uma das repetições avaliadas, quatro (sementes 11, 13, 15 e 17) estavam vazias (chochas) (Figura 6A) e quando submetidas ao teste de germinação não germinaram (Figura 6B). Estes resultados indicam que a técnica pode ser utilizada para avaliar o potencial de um lote de sementes com relação à porcentagem de sementes chochas. Sementes vazias geralmente ocorrem em consequência de alguma deficiência decorrente da fecundação, que pode ser ocasionada por condições ambientais desfavoráveis, que interfiram na transferência do pólen e fecundação e/ou nos processos fisiológicos do desenvolvimento (fotossíntese, transferência de fotoassimilados, entre outros). Sementes vazias, embora externamente apresentem aspecto semelhante às sementes viáveis, não apresentam embrião desenvolvido e endosperma normal. O teste de raios X tem se mostrado eficiente para a avaliação da qualidade de sementes de *Cecropia pachystachya* e *Platypodium elegans*, classificando-as conforme a morfologia interna, em cheias, vazias e danificadas (Pupim et al., 2008; Souza et al., 2008).

Ainda na Figura 6A pode-se verificar que sementes com aspecto aparentemente normal, apresentando eixo embrionário visível (número 23), também não germinaram no teste de germinação (Figura 6B), o que pode ser atribuído à presença de dormência, fenômeno que tem sido constatado em sementes de mamão por diversos autores (Gherardi e Valio, 1976; Viggiano et al., 2000; Martins et al., 2005; Tokuhisa et al., 2007a). Consideram-se dormentes as sementes viáveis que, embora lhe sejam oferecidas todas as condições adequadas à germinação, não germinam devido a ação de fatores internos, determinados pela própria semente (Carvalho e Nakagawa, 2000; Baskin e Baskin, 2004; Marcos Filho, 2005). Pode-se observar, pelo teste de raios X, que sementes de mamão dormentes têm morfologia interna semelhante às não dormentes, apresentando eixo embrionário e endosperma semelhantes. A dormência nestas sementes seria atribuída não a aspectos morfológicos, mas a compostos inibidores, que atuariam interferindo na transferência de oxigênio ao embrião durante a germinação, ou ainda, ao equilíbrio entre fitormônios (Marcos Filho, 2005; Taiz e Zeiger, 2004).

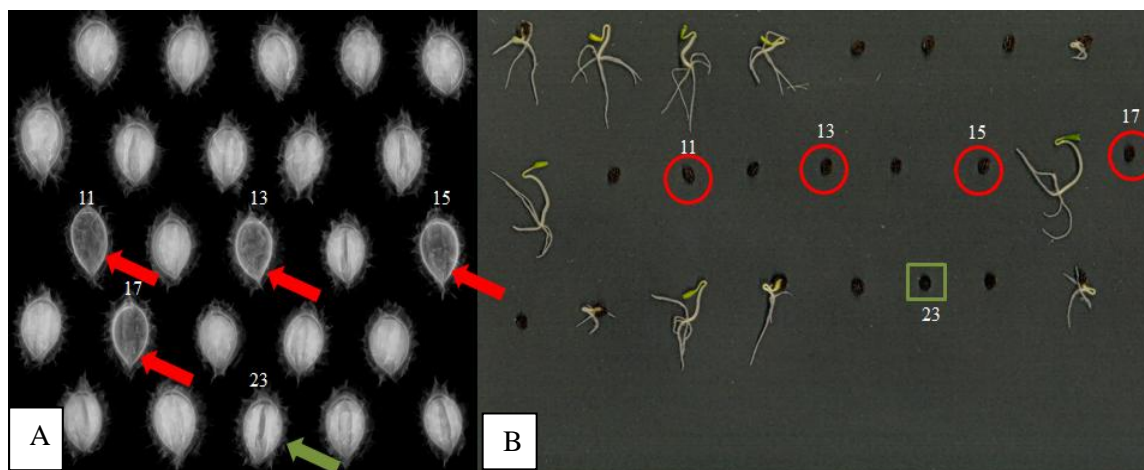


Figura 6. Imagem radiográfica das sementes de mamão extraídas das extremidades dos frutos no estágio 1 de maturação (A) e germinação das respectivas sementes aos 15 dias após a sementeira (B).

Para sementes extraídas da parte central de frutos de mamão no estágio 1 de maturação (Figura 7) não foi possível relacionar a presença de sementes não germinadas no teste de germinação (Figura 7B) com a presença de sementes vazias (Figura 7A), uma vez que esta classe de sementes não foi detectada pelo teste de raios X ao contrário do que foi constatado para sementes das extremidades (Figura 6A). Verifica-se ainda pela Figura 9, que algumas sementes que não germinaram apresentavam aspecto aparentemente normal pela análise com os raios X, com eixo embrionário visível, conforme pode ser verificado, por exemplo, para a semente 1 (Figura 7A), que não germinou no teste de germinação (Figura 7B). Provavelmente, a ausência de germinação pode ser explicada pela dormência, conforme ilustrado na Figura 5E, onde as sementes de frutos do estágio 1 de maturação apresentaram maior proporção de sementes dormentes, tanto na região central com nas extremidades, principalmente em relação aos estádios 3 e 5. Assim, os resultados obtidos no teste de raios X (Figura 6A) indicam que tratar-se de um teste adequado para auxiliar na avaliação da qualidade de lotes de sementes de mamão, uma vez que permite identificar a proporção de sementes vazias e sementes com embrião normal. Pela análise com raios X é possível visualizar as estruturas internas da semente, identificando possíveis alterações morfológicas (Brasil, 2009). A utilização da técnica é viável na avaliação da qualidade de sementes, pois possibilita a visualização e ampliação das imagens das estruturas internas, conferido maior exatidão à análise (Cicero e Banzatto Junior, 2003). Por tratar-se de

um método não destrutivo, apresenta ainda a vantagem de, a semente em análise, poder ser submetida aos testes fisiológicos subsequentes, estabelecendo relações entre as observações e o comportamento germinativo das mesmas. Assim, após a análise das estruturas internas das sementes (aspectos anatômicos, morfológicos e defeitos internos) durante a maturação e/ou germinação, as sementes podem ser avaliadas quanto à germinação (Cicero et al., 1998). O teste de raios X tem sido utilizado como técnica auxiliar na avaliação da qualidade de diversas espécies. Feitosa et al. (2009) verificou que a técnica de raios X pode ser empregada para auxiliar na avaliação da qualidade física de sementes de candeia (*Eremanthus erythropappus*), enquanto Pupim et al. (2008) avaliaram o desenvolvimento das estruturas internas das sementes de embaúba (*Cecropia pachystachya*), relacionando a morfologia interna das sementes com seu potencial germinativo. Machado e Cicero (2003) aplicaram o teste visando a detecção de danos e ou anormalidades em embriões de aroeira-branca (*Lithraea molleoides*). Características morfológicas dos embriões pertencentes a diferentes classes de massa foram avaliadas por Socolowski e Cicero (2008) em sementes de *Tecoma stans* L. Os autores verificaram que a maioria das sementes das classes de menor massa apresentava embriões deformados ou ausentes, enquanto as de massa maior apresentavam embriões sem defeitos. O teste de raios X foi eficiente para constatar danos internos que afetam a qualidade fisiológica das sementes de abóbora (Carvalho et al., 2009b), canafístula (*Peltophorum dubium*) (Oliveira et al., 2003), feijão-caupi (Melo et al., 2010) e em espécies da família Lauraceae (Carvalho et al., 2009a). Pinto et al. (2009) relacionaram a presença de manchas escuras nas sementes de pinhão-manso com ausência de germinação e formação de plântulas anormais e Melo et al., (2009) verificaram eficiência do teste de raios X na separação de aquênios mal formados em arnica.

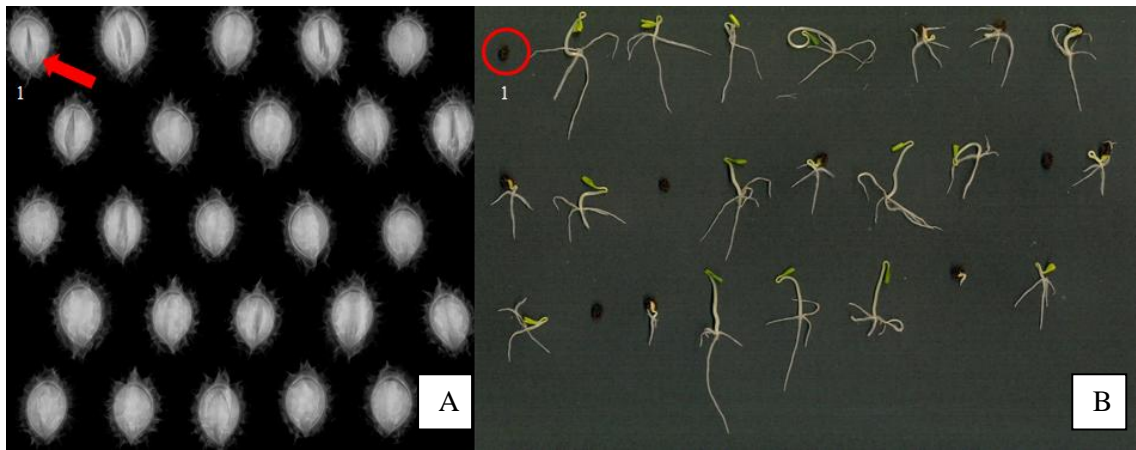


Figura 7. Imagem radiográfica das sementes de mamão extraídas da região central dos frutos no estágio 1 de maturação (A) e germinação das respectivas sementes aos 15 dias após a semeadura (B).

A partir das imagens radiográficas e do teste de germinação realizado em sementes extraídas de região central e extremidades dos frutos de mamão nos diferentes estádios de maturação foi possível quantificar o percentual de sementes vazias e como com embriões visíveis (Figura 8). Verificou-se que o armazenamento pós-colheita dos frutos de mamão por períodos entre 10 e 13 dias, quando atingiram os estádios de maturação 5 e final, foi favorável à emissão da raiz primária das sementes e à germinação (obtenção de plântulas normais) (Figura 8A) aos 15 dias após a semeadura. Não houve efeito do estágio de maturação dos frutos (Figura 8A) sobre o número de sementes com eixo embrionário facilmente visível (EFVi) e de sementes com radícula visível (RVi). Por outro lado, através das imagens foi possível constatar redução no número de sementes aparentemente vazias (AVa) à medida que os frutos amadureceram, com maiores valores no estágio 1, que não diferiu do estágio 3. Estes resultados indicam que durante o armazenamento pós-colheita dos frutos houve translocação de nutrientes do fruto para as sementes, reduzindo a proporção de sementes vazias nos frutos dos estádios 5 e final. Verifica-se ainda que maior comprimento de plântula foi obtido para sementes do estágio 5 de maturação (Figura 8B), que foi superior aos demais estádios.

Houve efeito da posição das sementes nos frutos apenas na emissão de raiz primária e AVa (Figura 8C) com maiores valores para as sementes da região central e das extremidades, respectivamente. Estes resultados reforçam o que foi verificado pelo

teste de raios X (Figuras 6 e 7), onde observou-se maior número de sementes chochas nas extremidades dos frutos. Com relação ao comprimento de plântula, sementes extraídas da região central do fruto originaram plântulas maiores do que as das extremidades (Figura 8D).

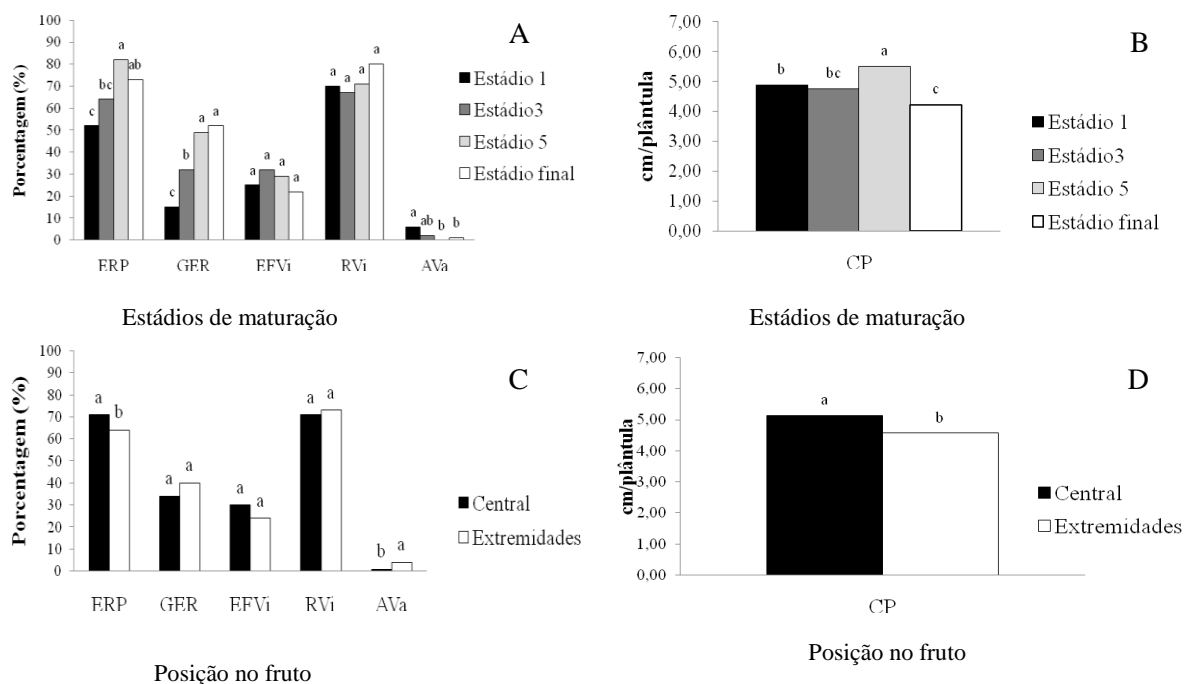


Figura 8: Porcentagem de sementes que emitiram raiz primária (ERP), de germinação (GER), de sementes com embrião facilmente visível (EFVi), de sementes com radícula visível (RVi) e de, sementes aparentemente vazias (AVa) e comprimento de plântulas de mamão (cm/plântula) em função do estágio de maturação do fruto (A e B) e da posição das sementes no fruto (C e D). *Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste F (posição no fruto) e de Tukey (estádios de maturação) a 5% de probabilidade.

O amadurecimento dos frutos de mamão beneficiou a emissão de raiz primária das sementes (Figura 9A), obtendo-se maiores valores para as sementes dos estádios 5 e final, de ambas as posições do fruto e para sementes obtidas da região central de frutos no estágio 3. A germinação também aumentou com o amadurecimento dos frutos, sendo maior para sementes da região central dos frutos nos estádios 3, 5 e final, e para sementes das extremidades dos frutos nos estádios 5 e final que não diferiram entre si

(Figura 9B). Verificou-se que apenas no estágio final de maturação ocorreu diferença entre a germinação das sementes da região central e das extremidades dos frutos.

O comprimento médio das plântulas (Figura 9C) foi semelhante para ambas as posições no fruto apenas para o estágio de maturação 5. Comparando-se os diferentes estágios de maturação, observa-se maior comprimento de plântulas foi obtido também no estágio 5 para sementes extraídas das extremidades do fruto, as quais diferiram das dos demais estágios. Sementes obtidas da região central dos frutos nos diferentes estágios de maturação não diferiram entre si. Pelas imagens de raios X não foi constatada diferença entre os estágios de maturação e posição das sementes no fruto para as variáveis EFVi (Figura 9D), RVi (Figura 9E) e AVa (Figura 9F). Em síntese, os resultados fornecidos pelos testes de raios X (Figuras 6 e 7) com relação às porcentagens de sementes com o embrião visível, com raiz primária visível e aparentemente vazias não detectaram o efeito benéfico do armazenamento pós-colheita e da posição das sementes nos frutos que havia sido constatado pelos testes de germinação e vigor (Figura 5). Em geral, sementes de melhor qualidade fisiológica foram obtidas da região central dos frutos nos estágios de maturação 5 e final, ou seja, colhidos no estágio 1 de maturação e submetidos ao armazenamento pós-colheita por 10 e 13 dias. A aplicação do teste de raios X para auxiliar no monitoramento da qualidade de sementes de pepino durante a maturação de frutos foi realizada por Nakada et al. (2011), que constataram estreita relação entre os resultados obtidos nas imagens e resultados do teste de germinação. Mondo e Cicero (2005) também verificaram que a presença de manchas escuras e sem definição observadas nas imagens de sementes de milho retiradas da região distal das espigas resultaram em redução na qualidade das sementes.

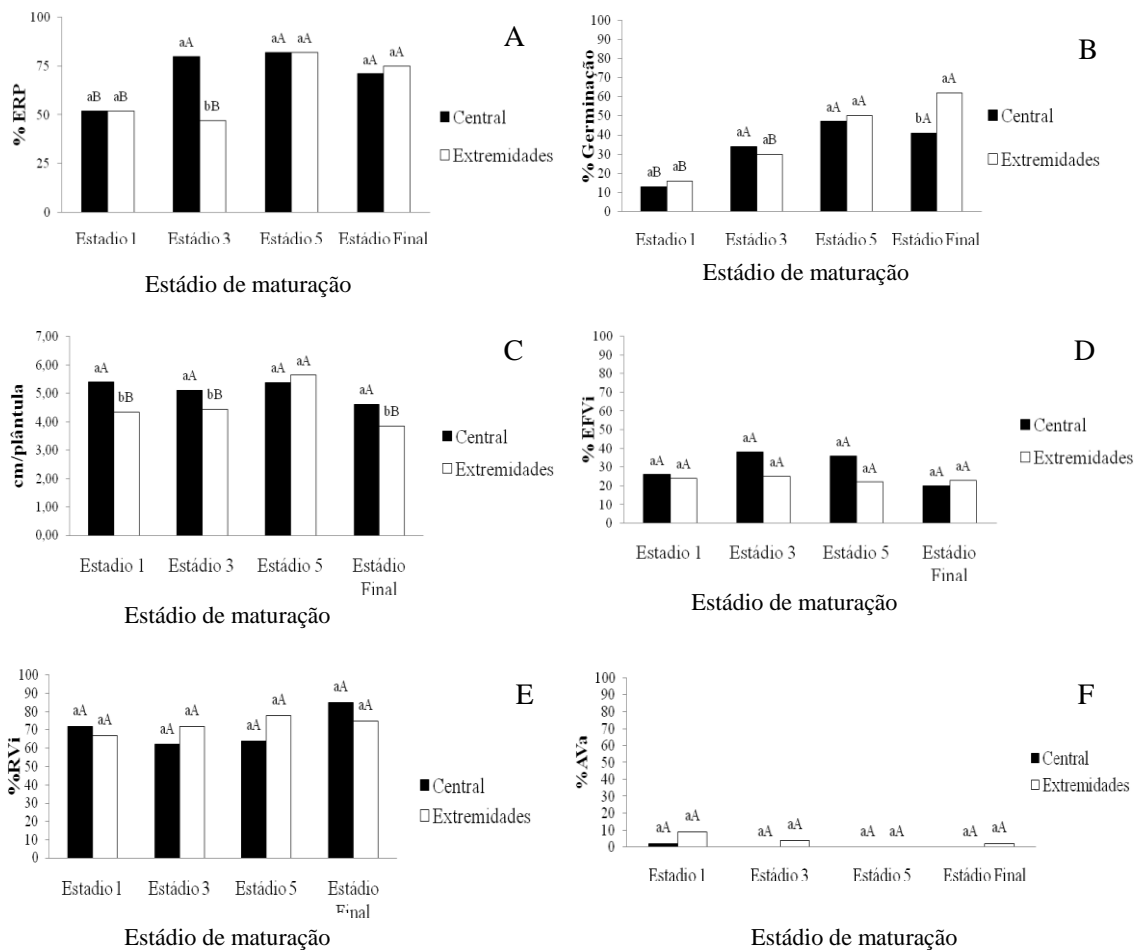


Figura 7. Porcentagem de sementes que emitiram raiz primária (A), de germinação (B) e comprimento médio de plântulas normais (cm/plântula) (C) obtidos para sementes submetidas ao teste de raios X. Valores percentuais extraídos das imagens radiográficas indicando sementes com embrião facilmente visível (EFVi) (D), sementes com raiz primária visível (RVi) (E) e sementes aparentemente vazias (AVa) (F) de mamão em função do estágio de maturação e da posição das sementes nos frutos. *Médias seguidas por letras minúsculas comparam a posição das sementes no fruto dentro de cada estágio de maturação e letras maiúsculas comparam entre estágios de maturação para cada posição das sementes. Letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

CONCLUSÕES

O amadurecimento dos frutos até atingirem os estádios de maturação 5 e final influenciou positivamente a qualidade fisiológica das sementes, havendo redução no número de sementes dormentes com o armazenamento pós-colheita dos frutos.

Sementes extraídas da região central dos frutos apresentaram desempenho superior as sementes das extremidades.

Maior proporção de sementes vazias e dormentes foram observadas em frutos do estágio 1 de maturação.

A região central dos frutos apresentou menor número de sementes chochas que aquele observado nas sementes provenientes das extremidades.

Para sementes de mamão, o teste de raios X foi eficiente na para distinguir entre sementes vazias e sementes com o embrião completamente desenvolvido.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, G. V. B. A. Economia do mamão: o mamão no mundo, no Brasil e na CEAGESP. **Toda Fruta**. (2007). Disponível em: <http://www.todafruta.com.br>. Acesso em setembro 2010.

ALTHOFF , M.A.A.; CARMONA, R. Conservação de sementes de mamão (*Carica papaya* L. Caricaceae). **Revista Brasileira de Sementes**, v.21, n.1, p.151-156, 1999.

AROUCHA, E.M.M.; SILVA, R.F.; VIEIRA, R.F.; VIANA, A.P.; FREITAS, S.P. Influência do estágio de maturação dos frutos e período de armazenamento das sementes no vigor das sementes de mamão dos grupos Solo e Formosa. In: REUNIÃO DE PESQUISA DO FRUTIMAMÃO, 2., Campos dos Goytacazes. **Anais...** Campos de Goytacazes: UENF, 2004. p.71-75.

AROUCHA, E.M.M.; SILVA, R.F.; OLIVEIRA, J.G.; VIANA, A.P.; GONZAGA, M.P. Época de colheita e período de repouso dos frutos de mamão (*Carica papaya* L.)

cv. Golden na qualidade fisiológica das sementes. **Ciência Rural**, v.35, n.3, p.537-543, 2005.

BALBINOT, E; COELHO, E.A.; MENDONÇA, A.R.; SOUZA, N.A.; SILVA, R.F. Qualidade fisiológica de sementes de mamão (*Carica papaya* L.) em função da posição no fruto. **Papaya Brasil**. p. 336-338, 2003.

BASKIN, J. M. e BASKIN, C. C. A classification system for seed dormancy. **Seed Science Research**. n 14, p. 1-16, 2004.

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

CARVALHO, L.R.; CARVALHO, M.L.M.; DAVIDE, A.C. Utilização do teste de raios X na avaliação da qualidade de sementes de espécies florestais de Lauraceae. **Revista Brasileira de Sementes**, v.31, n.4, p.57-66, 2009a.

CARVALHO, M.L.M.; SILVA, C.D.; OLIVEIRA, L.M.; SILVA, D.G.; CALDEIRA, C.M. Teste de raios X na avaliação da qualidade de sementes de abóbora. **Revista Brasileira de Sementes**, v.31, n.2, p.221-227, 2009b.

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

CHOW, Y.J.; LIN, C.H. p-Hydroxibenzoic acid the major phenolic germination inhibitor of papaya seed. **Seed Science and Technology**, v.19, n.1, p.167-174, 1991.

CICERO, S.M.; HEIJDEN, G.W.A.M.; BURG, W.J.; BINO, R.J. Evaluation of mechanical damage in seeds of maize (*Zea mays* L.) by X-ray and digital imaging. **Seed Science and Technology**, v. 26, p. 603-612, 1998.

CICERO, S.M.; BANZATTO JUNIOR, H.L. Avaliação do relacionamento entre danos mecânicos e vigor, em sementes de milho, por meio da análise de imagens. **Revista Brasileira de Sementes**, v.25, n.1, p.29-36, 2003.

CRAVIOTTO RM; YOLDJIAN AM; SALINA AR; ARANGO MR; BISAROV; MATURO H. Description of pure seed fraction of oat through usual evaluations and radiographic images. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.37, p.1183-1188, 2002.

DELL AQUILA, A. Development of novel techniques in conditioning, testing and sorting seed physiological quality. **Seed Science and Technology**, v.37, n.3, p. 608-624, 2009.

DELWICHE, L.D.; SLAUGHTER, S.J. **The Little SAS Book: A Primer**. Cary: SAS Institute, 2003. 268p.

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

DIAS, D.C.F.S.; ESTANISLAU, W.T.; DIAS, L.A.S.; MARIN, S.L.D. Influence of sarcotesta, moisture content and packaging material on papaya seed germination during storage. **Seed Science and Technology**, v.37, n.2, p.372-382, 2009.

DIAS, D.C.F.S.; Estanislau, W.T.; Finger, F.L.; Alvarenga, E.M. & Dias, L.A.S. Physiological and enzymatic alteration in papaya seed during storage. **Revista Brasileira de Sementes**, v.32, n.1, p.148-157, 2010.

DIAS, L.A.S.; BARROS, W. S. **Biometria experimental**. UFV, 2009. 408p.

FEITOSA, S.S.; DAVIDE, A.C.; TONETTI, O.A.O.; FABRICANTE, J.R.; LUI, J.J. Estudos de viabilidade de sementes de candeia *Eremanthus erythropappus* (DC.) MacLeish por meio de testes de germinação e raios X. **Revista Floresta**, v.39, n.2, p.393-399, 2009.

GHERARDI, E.; VALIO, I.F.M. Occurrence of promoting and inhibitory substances in the seed arils of *Carica papaya* L. **Journal of Horticultural Science**, v.51, p.1-14, 1976.

GOMES JUNIOR, F.G. Análise de Imagens: aplicação da análise de imagens para avaliação da morfologia interna de sementes. **Informativo Abrates**, v.20, n.3, p. 33-51, 2010.

ISTA: INTERNATIONAL SEED TESTING ASSOCIATION. **International rules for seed testing association**. Zurich, p.174, 2004.

MACHADO, C.F.; CICERO, S.M. Aroeira-branca. *Lithraea molleoides* (vell.) (anacardiaceae) seed quality evaluation by the x-ray test. **Scientia Agricola**, v.60, n.2, p.393-397, 2003.

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

MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Fealq, 2005. 495p.

MARCOS FILHO, J.; KIKUTI, A.L.P.; LIMA, L.B. Métodos para avaliação do vigor de sementes de soja, incluindo a análise computadorizada de imagens. **Revista Brasileira de Sementes**, v.31, n.1, p.102-112, 2009.

MARTINS, G. N.; SILVA, R. F.; PEREIRA, M. G.; OLIVEIRA, A.C.S.; POSSE, S. C. P. Superação da dormência em sementes de mamão. **Papaya Brasil**, p.241-242, 2005.

MARTINS, G. N.; SILVA, R. F.; PEREIRA, M. G.; ARAÚJO, E. F.; POSSE, S. C. P. Influência do repouso pós-colheita de frutos na qualidade fisiológica de sementes de mamão. **Revista Brasileira de Sementes**. v.28, n.2, p. 142-146, 2006

MELO, P.R.B. OLIVEIRA, J.A.; CARVALHO, M.L.M.; GUIMARÃES, R.M.; CARVALHO, B.O. Aplicação do teste de raios X no estudo da morfologia interna e da qualidade fisiológica de aquênios de arnica (*Lychnophora pinaster* Mart.). **Revista Brasileira de Sementes**, v.31, n.2, p.146-154, 2009.

MELO, R.A.; FORTI, V.A.; CICERO, S.M.; NOVEMBRE, A.D.L.C.; MELO, P.C.T. Use of X-ray to evaluate damage caused by weevils in cowpea seeds. **Horticultura Brasileira** v.28, n.4, p.472-476, 2010.

MONDO, V.H.V.; CICERO, S.M. Análise de imagens na avaliação da qualidade de sementes de milho localizadas em diferentes posições na espiga. **Revista Brasileira de Sementes**, v.27, n.1, p.9-18, 2005.

NAGAO, M.A.; FURUTANI, S.C. Improving germination of papaya seed by density separation, potassium nitrate, and gibberellic acid. **HortScience**, v.21, n.6, p.1439-1440, 1986.

NAKADA, P.G.; OLIVEIRA, J.A.; MELO, L.C.; GOMES, L.A.A.; PINHO, E.V.R.V. desempenho fisiológico e bioquímico de sementes de pepino nos diferentes estádios de maturação. **Revista Brasileira de Sementes**, v.33, n.1 p.113-122, 2011.

OLIVEIRA, L. M.; CARVALHO, M. L. M.; DAVIDE, A. C. Utilização do teste de raios X na avaliação da qualidade de sementes de canafístula (*Peltophorium dubium* (Sprengel) Taubert). **Revista Brasileira de Sementes**, v.25, n.1, p.116-120, 2003.

PINTO, T.L.F.; MARCOS FILHO, J.; FORTI, V.A.; CARVALHO, C.; GOMES JUNIOR, F.G. Avaliação da viabilidade de sementes de pinhão manso pelos testes de tetrazólio e de raios X. **Revista Brasileira de Sementes**, v.31, n.2, p.195-201, 2009.

PUPIM, T.L.; NOVENBRE, A.D.L.C.; CARVALHO, M.L.M.; CICERO, S.M. Adequação do teste de raios X para avaliação da qualidade de sementes de embaúba (*Cecropia pachystachya* Trec.). **Revista Brasileira de Sementes**, v.30, n.2, p.28-32, 2008.

REYES, M.N.; PÉREZ, A.; CUEVAS, J. Detecting endogenous growth regulators on the sarcotesta, sclerotesta, endosperm and embryo by paper chromatography on fresh and old seeds of two Papaya's varieties. **Journal Agriculture University of Puerto Rico**, v.64, n.2, p.167-172, 1980.

SCHMILDT, E.R.; FRONZA, V.; DIAZ, J.L.S.; UNÊDA, S.H.; ALVARENGA, E.M. Comparação de métodos físicos de remoção da sarcotesta e de métodos de secagem de sementes de mamoeiro (*Carica papaya* L.). **Revista Brasileira de Sementes**, v.15, n.2, p.147-151, 1993.

SILVA, P.P.; NASCIMENTO, W.M. Definição da metodologia para realização do teste de raios-X em sementes de abóbora. **Horticultura Brasileira**, v.28, n.2, p.4273-4277, 2008.

SIMAK, M.; GUSTAFSSON, A. X-ray photography and sensitivity in forest tree species. **Hereditas**, v.39, p.458-468, 1953.

SIMAK, M.; BERGSTEN, U.; HENRIKSSON, G. Evaluation of ungerminated seeds at the end germination test by radiography. **Seed Science and Technology**, v.17, n.2, p.361-369, 1989.

SOCOLOWSKI, F.; CICERO, S.M. Caracterização morfológica de embriões por imagens de raios X e relação com a massa e a qualidade fisiológica de sementes de *Tecoma stans* L. Juss. ex Kunth (Bignoniaceae). **Revista Brasileira de Sementes**, v.30, n.2, p.200-208, 2008.

SOUZA, L.A.; REIS, D.N.; SANTOS, J.P.; DAVIDE, A.C. Uso de raios-x na avaliação da qualidade de sementes de *Platypodium elegans*. **Revista Ciência Agronômica**, v.39, n.02, p.343-347, 2008.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 3.ed. Porto Alegre: Artmed, 2004.719p.

TOKUHISA, D.; DIAS, D. C. F. S.; ALVARENGA, E. M.; DIAS, L. S. A.; MARIN, S. L.D. Tratamentos para superação da dormência em sementes de mamão. **Revista Brasileira de Sementes**, v.29, n.1, p.131-139, 2007(a).

TOKUHISA, D.; DIAS, D. C. F. S.; ALVARENGA, E. M.; HILST, P. C.; DEMUNER, A. J. Compostos fenólicos inibidores da germinação em sementes de mamão (*Carica papaya* L.). **Revista Brasileira de Sementes**, v.29, n.3, p.161-168, 2007(b).

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

VIDIGAL, D.S.; DIAS, D.C.F.S.; VON PINHO, E.R.V.; DIAS, L.A.S. Sweet pepper seed quality and lea-protein activity in relation to fruit maturation and post-harvest storage. **Seed Science and Technology**. v.37, p.192-201, 2009

VIGGIANO, J.R.; SILVA, R.F.; VIEIRA, H.D. Ocorrência de dormência em sementes de mamão (*Carica papaya* L.). **Sementes Online**, v.1, n.1, p.6-10, 2000.

CONCLUSÕES GERAIS

Sementes provenientes de frutos de mamão colhidos no estágio 1 da maturação apresentam melhores resultados de germinação e vigor após armazenamento dos frutos até atingirem os estágios 5 e final da maturação.

A sarcotesta das sementes apresentou maior concentração de compostos fenólicos, sendo que sementes colhidas em outubro/2010 apresentaram os maiores teores destes compostos.

Sementes de mamão extraídas da região central do fruto nos estágios de maturação 5 e final apresentaram melhor qualidade fisiológica.

No estágio 1 de maturação e nas extremidades dos frutos verificou-se maior proporção de sementes dormentes e chochas, respectivamente.

ANEXOS

Tabela 1. Resumo da análise de variância dos dados de primeira contagem (PC), germinação (GER), germinação no envelhecimento acelerado (EA), sementes dormentes (DORM), sementes inviáveis, Emergência (EMERG), índice de velocidade de germinação (IVG), índice de velocidade de emergência (IVE) de sementes de mamão colhidas em diferentes épocas e analisadas em diferentes estádios de maturação do fruto com e sem sarcotesta. Departamento de Fitotecnia/UFV-2011.

Fonte de variação	GL	Quadrado médio			
		PC	GER	EA	DORM
Colheita (C)	1	294,37*	11089,40**	342,25**	4462,32**
Maturação (M)	3	7247,89**	1851,53**	8894,16**	6689,34**
Sarcotesta (S)	1	3074,18**	3859,01**	961,00 ^{ns}	2221,43**
C x M	3	63,71 ^{ns}	1781,96**	1982,41**	704,47**
C x S	1	2298,72**	3869,63**	182,25**	1000,58**
M x S	3	3306,31**	626,87*	733,50**	2360,75**
C x M x S	3	657,91**	627,26**	366,75**	25,83 ^{ns}
Resíduo	48	65.70851	19,22	18,52	57,06
Média geral		46.70 %	13,31%	35,62%	34,96%
CV (%)		17.36	14,28	12,08	21,61
		INVIÁVEIS	EMERG	IVG	IVE
Colheita (C)	1	5310,76**	862,89**	23,83**	8,63**
Maturação (M)	3	48,59**	533,64**	28,73**	1,13**
Sarcotesta (S)	1	40,64**	27,63**	12,04**	5,85**
C x M	3	35,93**	141,93**	0,56 ^{ns}	0,46**
C x S	1	40,64**	40,64 ^{ns}	0,59 ^{ns}	1,95**
M x S	3	109,97 **	276,68 **	16,42**	0,14 ^{ns}
C x M x S	3	109,97 **	115,76 **	3,06**	0,15 ^{ns}
Resíduo	48	5,05	27,30	0,24	0,08
Média geral		12,11%	82,64%	3,01	2,59
CV (%)		18,57	8,32	16,41	11,52

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < .01$)

* significativo ao nível de 5% de probabilidade ($.01 \leq p < .05$)

^{ns} não significativo ($p \geq .05$)

Tabela 2. Resumo da análise de variância da determinação de ácido caféico, ácido p-coumárico, ácido ferúlico e fenóis totais em sementes de mamão Formosa, cv. Tainung 01. Departamento de Fitotecnia/UFV-2011.

Fonte de variação	GL	Quadrado médio			
		Cafeico	p-cumárico	Ferúlico	Totais
Colheita (C)	1	25766315,04**	137353,91**	5820,21**	196,74 **
Maturação(M)	3	1689,43**	756,40**	27,12**	25,76 ^{ns}
Estrutura (E)	2	795,39*	485,95**	133,64**	26972,33**
C x M	3	2242,66**	624,43**	18,71**	13,21 ^{ns}
C x E	2	1723,40**	110,36**	118,95**	137,10 **
M x E	6	3704,55**	122,84**	20,57**	45,59 *
C x M x E	6	4197,56**	297,50**	8,69 ^{ns}	52,96 *
Resíduo	48	188,31	11,86	4,06	16,96
Média geral		191,59	46,85	12,19	23,42
CV (%)		7,16	7,35	16,52	17,60

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < .01$)

* significativo ao nível de 5% de probabilidade ($.01 \leq p < .05$)

^{ns} não significativo ($p \geq .05$)

Tabela 3. Resumo da análise de variância dos dados de germinação (%) de sementes e comprimento de raiz (CR) de plântulas de alface e mamão tratadas com solução de 10ppm de ácidos fenólicos. Departamento de Fitotecnia/UFV-2011.

Fonte de variação	GL	Quadrado médio			
		ALFACE		MAMÃO	
		CR	GER	CR	GER
Tratamentos	4	0,02 ^{ns}	145,00 ^{ns}	0,76*	42,50 ^{ns}
Resíduo	15	0,01	76,25	0,24	106,25
Média geral		0,79	67,25	3,05	69,25
CV (%)		11,96	12,98	16,10	14,88

* significativo ao nível de 5% de probabilidade ($.01 \leq p < .05$)

^{ns} não significativo ($p \geq .05$).

Tabela 4. Resumo da análise de variância dos dados de germinação (%) de sementes mamão no estágio 5 de maturação, em função da presença/ausência de sarcotesta e da época de colheita (Abril e outubro/2010). Departamento de Fitotecnia/UFV-2011.

Fonte de variação	GL	Quadrado médio
		Germinação
Colheita (C)	1	3356,52**
Sarcotesta (S)	1	1440,30**
C x S	1	234,35*
Resíduo	12	46,66
Média geral		68,80
CV (%)		9,93

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < ,01$)

* significativo ao nível de 5% de probabilidade ($.01 \leq p < ,05$)

^{ns} não significativo ($p \geq ,05$)

Tabela 5. Resumo da análise de variância dos dados de germinação (GER), primeira contagem (PC), sementes inviáveis, sementes dormentes (DOR), Emergência (EMERG), Índice de Velocidade de Germinação (IVG), Índice de Velocidade de Emergência (IVE), Envelhecimento Acelerado (EA) de sementes de mamão retiradas de diferentes locais dos frutos (região central e extremidades) em diferentes estádios de maturação do fruto. Departamento de Fitotecnia/UFV-2011.

Fonte de variação	GL	Quadrado médio			
		GER	PC	EA	EMERG
Local no fruto (L)	1	3321,12**	2016,12**	1176,12**	72,00ns
Maturação (M)	3	1858,12**	1548,45**	1119,12**	969,83**
M x L	3	284,12**	532,45**	156,45ns	742,00**
Resíduo	24	43,37	69,87	64,70	66,50
Média geral		45,31	34,94	65,94	76,62
CV (%)		14,53	23,92	12,19	10,64

		Inviáveis	IVE	IVG
Local no fruto (L)	1	0,50 ^{ns}	0,02 ^{ns}	25,77**
Maturação (M)	3	5,66 ^{ns}	1,02*	21,10**
M x L	3	1,50 ^{ns}	1,37**	6,33**
Resíduo	24	2,33	0,27	0,43
Média geral		1,25	2,80	4,59
CV (%)		12,20	18,82	14,30

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < .01$)

* significativo ao nível de 5% de probabilidade ($.01 \leq p < .05$)

^{ns} não significativo ($p \geq .05$)

Tabela 6. Resumo da análise de variância dos dados de germinação total (GER), plântulas normais, sementes com embrião facilmente visível (EFVi), sementes com a radícula visível (RVi) e sementes aparentemente vazias (AVa) avaliadas em sementes de mamão retiradas de diferentes locais dos frutos (região central e extremidades) em diferentes estádios de maturação do fruto e submetidas a avaliação pelo teste dos raios X e de germinação. Departamento de Fitotecnia/UFV-2011.

Fonte de variação	G	Quadrado médio		
		GER	NORMAIS	RVi
Local no fruto (L)	1	420,50*	264,50ns	40,50ns
Maturação(M)	3	1324,50**	2328,50**	256,50ns
M x L	3	596,50**	228,50ns	267,16ns
Resíduo	24	73,50	102,83	124,16
Média geral		67,62	36,62	71,87
CV (%)		12,67	27,68	15,50

	GL	EFVi	Ava
Local no fruto (L)	1	338,00ns	84,50**
Maturação(M)	3	155,33ns	45,83*
M x L	3	139,33ns	17,83ns
Resíduo	24	95,00000	9,83
Média geral		26,75	2,12
CV (%)		36,43	14,75

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < .01$)

* significativo ao nível de 5% de probabilidade ($.01 \leq p < .05$)

^{ns} não significativo ($p \geq .05$)

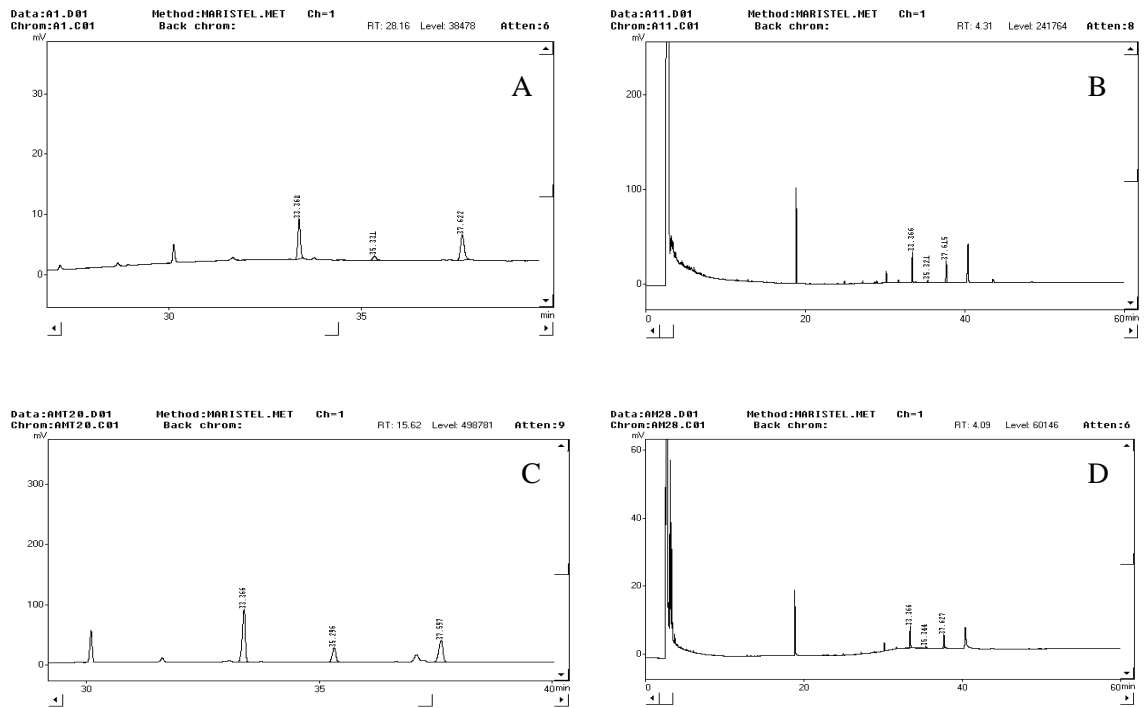


Figura 1. Perfil cromatográfico dos ácidos caféico, ferúlico e p-cumárico na sarcotesta de sementes de mamão obtidas de frutos colhidos em outubro nos estádios 1(A), 3 (B), 5 (C) e estágio final (D) de maturação.

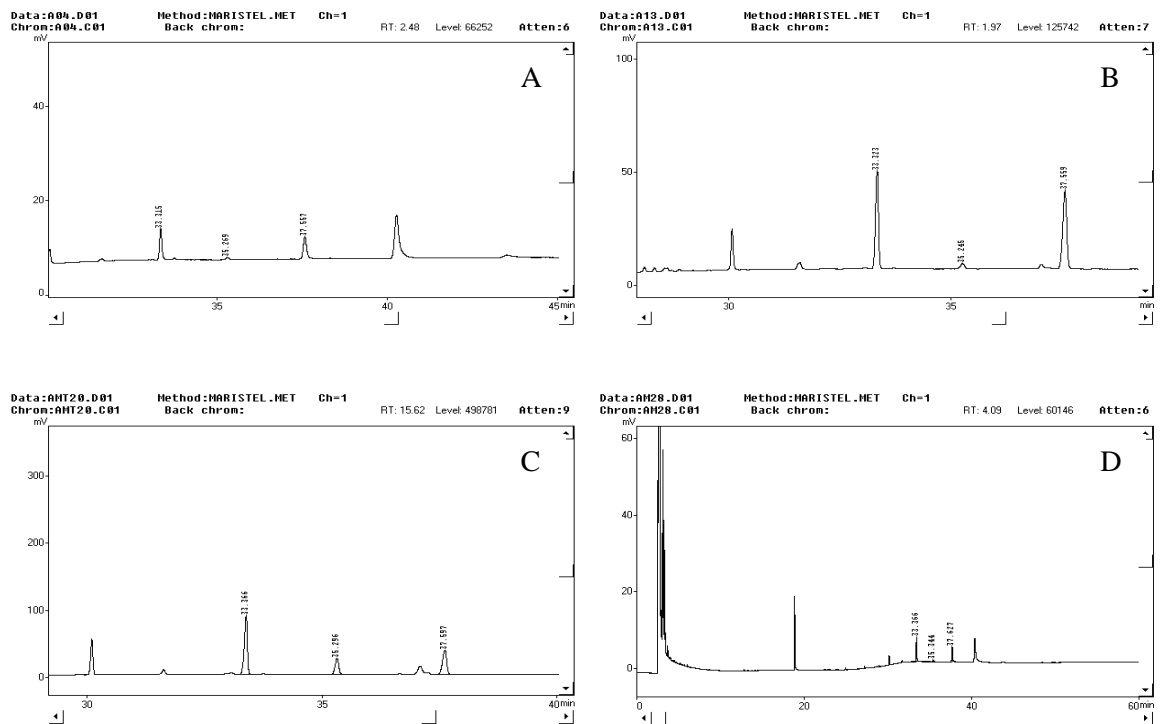


Figura 2. Perfil cromatográfico dos ácidos caféico, ferúlico e p-cumárico na esclerotesta de sementes de mamão obtidas de frutos colhidos em outubro nos estádios 1(A), 3 (B), 5 (C) e estágio final (D) de maturação.

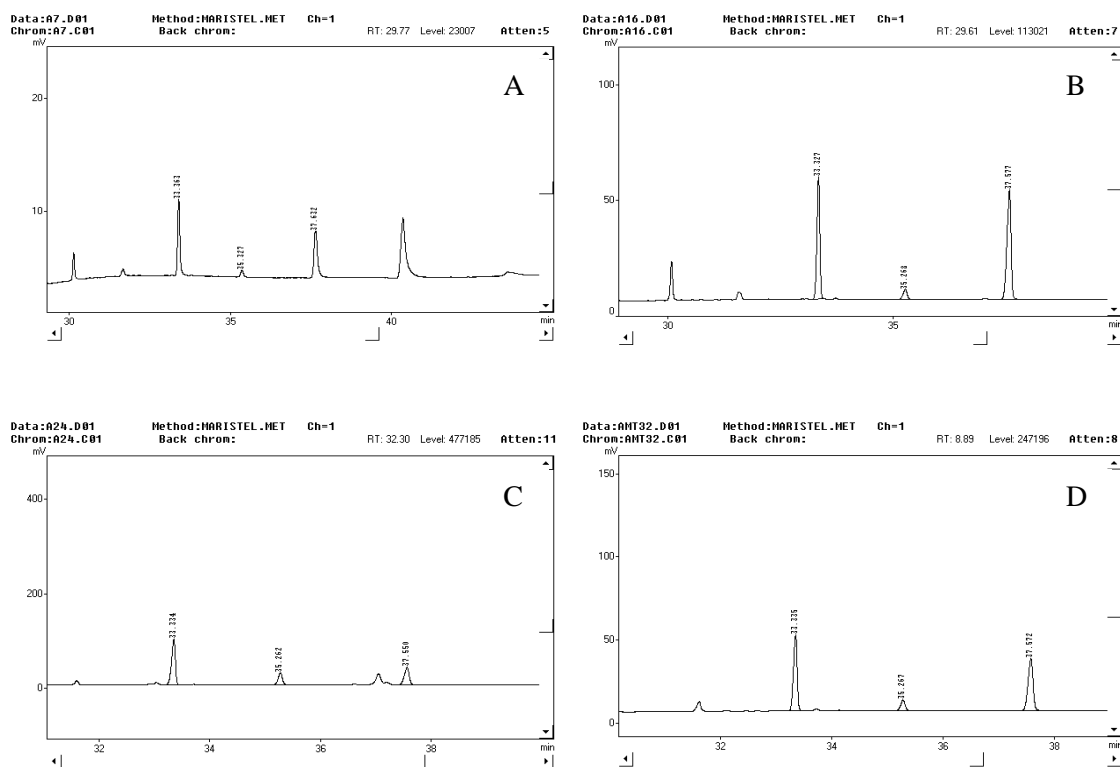


Figura 3. Perfil cromatográfico dos ácidos caféico, ferúlico e p-cumárico na parte interna (endosperma+embrião) de sementes de mamão obtidas de frutos colhidos em outubro nos estádios 1(A), 3 (B), 5 (C) e estágio final (D) de maturação.