

GLAUTER LIMA OLIVEIRA

**ALTERAÇÕES FISIOLÓGICAS E ENZIMÁTICAS EM SEMENTES DE *Jatropha*
curcas L. DURANTE O ARMAZENAMENTO**

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
2013**

Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e
Classificação da Biblioteca Central da UFV

T

O48a
2013

Oliveira, Glauter Lima, 1982-

Alterações fisiológicas e enzimáticas em sementes de
Jatropha curcas L. durante o armazenamento / Glauter Lima
Oliveira. – Viçosa, MG, 2013.

xiii, 59 f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Orientador: Denise Cunha Fernandes dos Santos Dias.
Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa.
Inclui bibliografia.

1. Sementes - Armazenamento. 2. Sementes - Fisiologia.
3. Sementes - Qualidade. 4. Enzimas. 5. Pinhão-mansão.
I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Fitotecnia.
Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia. II. Título.

CDD 22 ed. 633.85

GLAUTER LIMA OLIVEIRA

**ALTERAÇÕES FISIOLÓGICAS E ENZIMÁTICAS EM SEMENTES DE *Jatropha*
curcas L. DURANTE O ARMAZENAMENTO**

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: 22 de outubro de 2013

Luiz Antônio dos Santos Dias

Eduardo Euclides de Lima e Borges

Roberto Fontes Araújo

Maira Christina Marques Fonseca

Denise Cunha F. dos S. Dias
(Orientadora)

A Deus,

A minha família...

em especial aos meus pais e avos paternos e maternos,

aos meus irmãos, em especial a Gabriel,

e as minhas sobrinhas Stephany e Maria Vitoria,

a minha namorada e futura esposa Tatianne Ferreira,

e aos meus grandes amigos e irmãos da UFV em especial a

todos os que fazem parte do Laboratório de Rotina em

Sementes,

Dedico.

Se querendo partir uma pedra,
bateste nela cem vezes e nada conseguiste,
e se, na centésima primeira vez, a pedra se rompeu,
não foi esta batida que conseguiu o que querias, mas as cem primeiras.
(Autor desconhecido)

AGRADECIMENTOS

À Deus primeiramente pelo direito e a graça da vida.

À Universidade Federal de Viçosa, especialmente ao Departamento de Fitotecnia, pela oportunidade da realização do Doutorado.

À Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de estudos.

À Empresa de Pesquisa Agropecuária do Estado de Minas Gerais (EPAMIG), pela concessão do material de pesquisa.

Aos professores Luiz Antônio dos Santos Dias e Denise Cunha Fernandes dos Santos Dias, por terem acreditado ao longo desses seis anos no desenvolvimento profissional e pessoal de mais um Nordestino que por aqui passa, e terem se tornado mais que orientadores e amigos, e sim parte de uma família que só cresce respeitando-os e admirando-os como pessoas e excelente profissionais que são, o meu mais sincero obrigado.

À professora Eveline Mantovani por seus ensinamentos repassados e acima de tudo pela sua amizade, descontração e alegria de viver.

Ao laboratorista José Custódio da Silva pela amizade.

A todos os meus amigos dos cursos de graduação e pós-graduação em especial aos que fazem parte do Laboratório de Rotina de Sementes.

Também gostaria de fazer um agradecimento especial à minha segunda família, GSem, em especial a Paulo Cesar Hilst, Marcos Moraes Soares, Marcelo Coelho Sekita, Laercio da Silva Junior, por terem me apoiado e aconselhado ao longo desses seis anos.

Enfim, o meu reconhecimento e a minha gratidão a todos aqueles que, de alguma forma, auxiliaram na realização deste sonho.

BIOGRAFIA

Glauter Lima Oliveira, filho de Francisco Jurandir de Oliveira e Vera Lúcia de Lima Oliveira, nasceu no dia 20 de agosto de 1982 em Alto Santo, no estado do Ceará.

Cursou o Primeiro Grau no Ginásio e Escola Normal Clovis Bevilaqua na cidade de Jaguaribe no estado do Ceará, concluindo-o em 1997, ainda neste mesmo estado da federação, na cidade de Iguatu, no ano de 1998, iniciou o Segundo Grau Tecnológico na Escola Agrotecnica Federal de Iguatu concluindo-o em 2000.

Em 2002, iniciou o curso de Agronomia pela Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA) na cidade de Mossoró no estado do Rio Grande do Norte, recebendo o título de Engenheiro Agrônomo no ano de 2007.

Em agosto de 2007, iniciou, na Universidade Federal de Viçosa (UFV), o Mestrado em Fitotecnia, concluindo-o em 2009. Neste mesmo ano ingressou no Curso de Doutorado em Fitotecnia na mesma Instituição sobre a orientação da Prof^a Dr^a Denise Cunha Fernandes dos Santos Dias.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	ix
RESUMO	xi
ABSTRACT	xiii
1. INTRODUÇÃO GERAL	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	3
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	11
3.1. Caracterização do experimento.....	11
3.2. Variáveis analisadas	15
3.2.1. Grau de umidade (Um)	15
3.2.2. Teste de germinação (G)	15
3.2.3. Primeira contagem do teste de germinação (PC)	15
3.2.4. Emergência de plântulas (Em)	16
3.2.5. Índice de velocidade de emergência de plântulas (IVE) e velocidade de emergência de plântulas (VE).....	16
3.2.6. Teste de envelhecimento acelerado (EA).....	16
3.2.7. Condutividade elétrica (CE).....	17
3.2.8. Teste de frio (TF)	17
3.2.9. Análise de proteínas totais e de atividade enzimática	18
3.2.9.1. Proteínas totais (PT).....	18
3.2.9.2. Obtenção do extrato enzimático para análise das enzimas Catalase (CAT) e Superóxido Dismutase (SOD).....	18
3.2.9.3. Determinação da atividade enzimática das enzimas Catalase (CAT) e Superóxido Dismutase (SOD)	19
3.3. Procedimento estatístico	20
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	21
5. CONCLUSÕES	52
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	53

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Estágios de maturação de frutos de pinhão manso (*J. curcas* L.) segundo Silva *et al.* (2012): **A**-Frutos verdes; **B**-Frutos verde-amarelo e amarelo; **C**-Frutos amarelos-marrom e **D**-Frutos marrons, Viçosa-MG, 2013.....11
- Figura 2.** Embalagens utilizadas para o acondicionamento das sementes de pinhão manso (*J. curcas* L.) nos diferentes ambientes de armazenamento: **A**-Saco de papel multifoliado; **B**-Saco de pano; **C**-Saco de plástico de alta densidade (40 µm), Viçosa-MG, 2013.....12
- Figura 3.** Médias mensais das temperaturas máxima (T max.) e mínima (T min.) obtidas nos ambientes de armazenamento (**A**-Laboratório; **B**-Sala refrigerada e **C**-Câmara fria) de sementes de pinhão manso (*J. curcas* L.) durante doze meses, Viçosa-MG, 2013.....13
- Figura 4.** Médias mensais da umidade relativa do ar máxima (UR max.) e mínima (UR min.) obtidas nos ambientes de armazenamento (**A**-Laboratório; **B**-Sala refrigerada e **C**-Câmara fria) de sementes de pinhão manso (*J. curcas* L.) durante doze meses, Viçosa-MG, 2013.....14
- Figura 5.** Valores médios para o grau de umidade das sementes de pinhão manso (*J. curcas* L.) armazenadas em diferentes ambientes e embalagens durante doze meses, Viçosa-MG, 2013.....21
- Figura 6.** Germinação de sementes de pinhão manso (*J. curcas* L.) armazenadas em **A**-Laboratório, **B**-Sala refrigerada e **C**-Camara fria em saco de papel Kraft, saco de pano e saco de plástico de 40 µm, em função do tempo de armazenamento, Viçosa-MG, 2013.....23
- Figura 7.** Primeira contagem de germinação de sementes de pinhão manso (*J. curcas* L.) armazenadas em **A**-Laboratório, **B**-Sala refrigerada e **C**-Camara fria em saco de papel Kraft, saco de pano e saco de plástico de 40 µm, em função do tempo de armazenamento, Viçosa-MG, 2013.....26
- Figura 8.** Emergência de plântulas de pinhão manso (*J. curcas* L.) obtida de sementes armazenadas em **A**-Laboratório, **B**-Sala refrigerada e **C**-Camara fria em saco de papel Kraft, saco de pano e saco de plástico de 40 µm, em função do tempo de armazenamento, Viçosa-MG, 2013.....28
- Figura 9.** Índice de velocidade de emergência de plântulas de pinhão manso (*J. curcas* L.) obtido de sementes armazenadas em **A**-Laboratório, **B**-Sala refrigerada e **C**-Camara fria em saco de papel Kraft, saco de pano e saco de plástico de 40 µm, em função do tempo de armazenamento, Viçosa-MG, 2013.....31
- Figura 10.** Velocidade de emergência de plântulas de pinhão manso (*J. curcas* L.) obtido de sementes armazenadas em **A**-Laboratório, **B**-Sala refrigerada e **C**-Camara fria em saco de papel Kraft, saco de pano e saco de plástico de 40 µm, em função do tempo de armazenamento, Viçosa-MG, 2013.....33

Figura 11. Teste de frio de sementes de pinhão manso (<i>J. curcas</i> L.) armazenadas em A -Laboratório, B -Sala refrigerada e C -Camara fria em saco de papel Kraft, saco de pano e saco de plástico de 40 µm, em função do tempo de armazenamento, Viçosa-MG, 2013.....	35
Figura 12. Teste de envelhecimento acelerado de sementes de pinhão manso (<i>J. curcas</i> L.) armazenadas em A -Laboratório, B -Sala refrigerada e C -Camara fria em saco de papel Kraft, saco de pano e saco de plástico de 40 µm, em função do tempo de armazenamento, Viçosa-MG, 2013.....	37
Figura 13. Condutividade elétrica de sementes de pinhão manso (<i>J. curcas</i> L.) armazenadas em A -Laboratório, B -Sala refrigerada e C -Camara fria em saco de papel Kraft, saco de pano e saco de plástico de 40 µm, em função do tempo de armazenamento, Viçosa-MG, 2013.....	41
Figura 14. Conteúdo de proteínas totais de eixos embrionários de sementes de pinhão manso (<i>J. curcas</i> L.) armazenadas em A -Laboratório, B -Sala refrigerada e C -Camara fria em saco de papel Kraft, saco de pano e saco de plástico de 40 µm, em função do tempo de armazenamento, Viçosa-MG, 2013.....	43
Figura 15. Atividade da enzima catalase de eixos embrionários de sementes de pinhão manso (<i>J. curcas</i> L.) armazenadas em A -Laboratório, B -Sala refrigerada e C -Camara fria em saco de papel Kraft, saco de pano e saco de plástico de 40 µm, em função do tempo de armazenamento, Viçosa-MG, 2013.....	46
Figura 16. Atividade da enzima superóxido dismutase de eixos embrionários de sementes de pinhão manso (<i>J. curcas</i> L.) armazenadas em A -Laboratório, B -Sala refrigerada e C -Camara fria em saco de papel Kraft, saco de pano e saco de plástico de 40 µm, em função do tempo de armazenamento, Viçosa-MG, 2013.....	49

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Valores médios para o teste de germinação em sementes de pinhão manso (*J. curcas* L.) armazenadas em diferentes ambientes (LAB-Laboratório, SRF-Sala refrigerada e CF-Câmara fria) e embalagens (Saco de papel Kraft, Saco de pano e Saco de plástico) durante doze meses, Viçosa-MG, 2013.....24
- Tabela 2.** Valores médios da primeira contagem de germinação de sementes de pinhão manso (*J. curcas* L.) armazenadas em diferentes ambientes (LAB-laboratório, SRF-sala refrigerada e CF-câmara fria) e embalagens (Saco de papel Kraft, Saco de pano e Saco de plástico) durante doze meses, Viçosa-MG, 2013.....27
- Tabela 3.** Valores médios para o teste de emergência de sementes de pinhão manso (*J. curcas* L.) armazenadas em diferentes ambientes (LAB-Laboratório, SRF-Sala refrigerada e CF-Câmara fria) e embalagens (saco de papel Kraft, saco de pano e saco de plástico) durante doze meses, Viçosa-MG, 2013.....29
- Tabela 4.** Valores médios para o teste de índice de velocidade de germinação de sementes de pinhão manso (*J. curcas* L.) armazenadas em diferentes ambientes (LAB-Laboratório, SRF-Sala refrigerada e CF-Câmara fria) e embalagens (Saco de papel Kraft, Saco de pano e Saco de plástico) durante doze meses, Viçosa-MG, 2013.....32
- Tabela 5.** Valores médios para o teste de velocidade de germinação de sementes de pinhão manso (*J. curcas* L.) armazenadas em diferentes ambientes (LAB-Laboratório, SRF-Sala refrigerada e CF-Câmara fria) e embalagens (Saco de papel Kraft, Saco de pano e Saco de plástico) durante doze meses, Viçosa-MG, 2013.....34
- Tabela 6.** Valores médios para o teste de frio de sementes de pinhão manso (*J. curcas* L.) armazenadas em diferentes ambientes (LAB-Laboratório, SRF-Sala refrigerada e CF-Câmara fria) e embalagens (Saco de papel Kraft, Saco de pano e Saco de plástico) durante doze meses, Viçosa-MG, 2013.....36
- Tabela 7.** Valores médios para o teste de envelhecimento acelerado de sementes de pinhão manso (*J. curcas* L.) armazenadas em diferentes ambientes (LAB-laboratório, SRF-sala refrigerada e CF-câmara fria) e embalagens (saco de papel Kraft, saco de pano e saco de plástico) durante doze meses, Viçosa-MG, 2013.....38
- Tabela 8.** Valores médios para o teste de condutividade elétrica de sementes de pinhão manso (*J. curcas* L.) armazenadas em diferentes ambientes (LAB-laboratório, SRF-sala refrigerada e CF-câmara fria) e embalagens (saco de papel Kraft, saco de pano e saco de plástico) durante doze meses, Viçosa-MG, 2013.....42
- Tabela 9.** Valores médios para o conteúdo de proteínas totais de eixos embrionários de sementes de pinhão manso (*J. curcas* L.) armazenadas em diferentes ambientes (LAB-laboratório, SRF-sala refrigerada e CF-câmara fria) e embalagens (saco de papel Kraft, saco de pano e saco de plástico) durante doze meses, Viçosa-MG, 2013.....44

Tabela 10. Valores médios para a atividade da enzima catalase de eixos embrionários de sementes de pinhão manso (*J. curcas* L.) armazenadas em diferentes ambientes (LAB-laboratório, SRF-sala refrigerada e CF-câmara fria) e embalagens (saco de papel Kraft, saco de pano e saco de plástico) durante doze meses, Viçosa-MG, 2013.....47

Tabela 11. Valores médios para a atividade da enzima superóxido dismutase de eixos embrionários de sementes de pinhão manso (*J. curcas* L.) armazenadas em diferentes ambientes (LAB-laboratório, SRF-sala refrigerada e CF-câmara fria) e embalagens (saco de papel Kraft, saco de pano e saco de plástico) durante doze meses, Viçosa-MG, 2013.....50

RESUMO

OLIVEIRA, Glauter Lima, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, Outubro de 2013.
Alterações fisiológicas e enzimáticas em sementes de *Jatropha curcas* L. durante o armazenamento. Orientadora: Denise Cunha Fernandes dos Santos Dias.

Sementes de oleaginosas, como as de pinhão manso (*J. curcas* L.), são mais propensas à peroxidação de lipídios que leva à deterioração e consequente perda de qualidade durante o armazenamento. Portanto, o emprego de tecnologias adequadas para a sua conservação é de grande importância para se obter sementes de alta qualidade. Objetivou-se, com este trabalho, verificar os efeitos de diferentes ambientes e embalagens na conservação de sementes de pinhão manso ao longo de doze meses de armazenamento. As sementes, após a colheita e secagem, foram acondicionadas em três diferentes embalagens: saco de papel multifoliado do tipo Kraft; saco de pano e saco plástico de alta densidade (40 µm). Em seguida, foram armazenadas em três diferentes condições de ambiente: laboratório (sem controle de temperatura e umidade relativa-UR); sala refrigerada (18 a 20 °C e 50 a 60% UR) e câmara fria (10 °C e 50 e 60% UR). Inicialmente, e a cada três meses durante 12 meses, foram realizadas avaliações da qualidade fisiológica (germinação e vigor) e da atividade enzimática das sementes. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições, com os tratamentos arranjados em esquema de parcelas subdivididas. Os dados referentes aos períodos de armazenamento foram submetidos à análise de regressão. Sementes de pinhão manso acondicionadas em saco de plástico e armazenadas em câmara fria mantiveram seu potencial germinativo por doze meses. Houve redução da qualidade fisiológica das sementes mantidas em ambiente de laboratório independente da embalagem utilizada. Também foi possível verificar redução no conteúdo de proteínas totais e na atividade da enzima catalase durante o armazenamento. Verificou-se que a condição mais

adequada para o armazenamento das sementes de pinhão manso foi o acondicionamento em saco plástico em câmara fria (10 °C e 50 a 60% UR).

ABSTRACT

OLIVEIRA, Glauter Lima, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, October, 2013.
Physiological and enzymatic changes in *Jatropha curcas* L. seeds during storage. Adviser:
Denise Cunha Fernandes dos Santos Dias.

Oil seeds, such as physic nut (*J. curcas* L.), are more willing to lipid peroxidation which leads to deterioration and consequently loss the quality during the storage. Therefore, the use of adequate technology for its preservation is of the great importance to obtain high quality seeds. This study aimed to determine the effects of different environments and packings in physic nut seed conservation during twelve months of storage. The seeds, after harvest and drying, were placed in three different packing: multiwall paper bag (Kraft); cloth bag; and high density plastic bag (40 µm). Then, the seeds were stored in three different environmental conditions: lab (without temperature and relative humidity control); cold room (18-20 °C and 50-60% relative humidity) and cold chamber (10 °C and 50-60% relative humidity). Initially, every three months during twelve months, the the physiological quality (germination and vigor) and the enzymatic activity of the seeds were evaluated. The experiment was conducted in a completely randomized design with four replications with the treatments arranged in split plots. The datas relating to storage periods were subjected to regression analysis. Physic nut seeds packed in plastic bag and stored in cold chamber maintained the germination potential during twelve months. There were a physiological quality decline of the seeds that were stored in the laboratory independent of the packing used. It was also observed a reduction in total protein content and in the catalase enzyme activity during the storage. It was checked that the most suitable condition for physic nut storage was packing in plastic bag, placed in cold chamber (10 °C e 50 a 60% UR).

1. INTRODUÇÃO GERAL

Desde o advento do Programa Nacional de Biodiesel e da regulamentação do governo sobre o assunto, a demanda por informações sobre o cultivo de *Jatropha curcas* L., conhecido por pinhão manso, tem crescido, devido ao potencial da cultura como matéria-prima para compor a tecnologia da matriz energética, em função do seu elevado teor de óleo na semente.

O cultivo desta espécie reúne diversas vantagens comparativas para a produção de biodiesel: é perene, rústica, de fácil manejo, possui alto teor óleo nas sementes (38%) e qualidade para produção de biodiesel e se adequa facilmente aos sistemas de cultivo consorciado e silvipastoril. Tais vantagens credenciam o pinhão manso como uma espécie apropriada para o cultivo em pequenas propriedades com mão-de-obra familiar, gerando renda e fixando o homem ao campo.

O pinhão manso é uma planta caducifólia que atinge seu auge produtivo aos quatro anos e permanece produtiva por pelo menos 40 anos. Sua propagação é feita principalmente por sementes. Todavia, carece de estudos básicos referentes à tecnologia de conservação de sementes a serem utilizadas para o plantio.

A implantação de cultivos de pinhão manso como opção de desenvolvimento de novas áreas agrícolas depende, principalmente, do desenvolvimento de tecnologias de produção adequadas, que envolvem o uso de insumos, a adoção de sistemas de produção eficientes e, principalmente, do uso de sementes de materiais selecionados. No entanto, estudos referentes à conservação de sementes são inconclusivos para a espécie, sendo, portanto, necessários.

Considerando que a deterioração das sementes durante o armazenamento é um processo inevitável e irreversível, são essenciais estudos que possam esclarecer os eventos fisiológicos e bioquímicos que ocorrem nas sementes de pinhão manso durante o armazenamento com visando reduzir perdas e aumentar o período de conservação dessas sementes.

A peroxidação de lipídios é freqüentemente citada como a principal causa da perda da integridade das membranas celulares e, conseqüentemente, da deterioração de sementes (McDONALD JR., 1999). Dessa forma, a intensidade e velocidade do processo deteriorativo nas sementes pode estar relacionado à composição química das mesmas. Sementes ricas em óleo, como as de pinhão manso, têm maior propensão ao processo deteriorativo. A longevidade das sementes no armazenamento depende, além da composição química, de fatores como teor de água, conteúdo de óleo, genótipo, condições de ambiente, embalagem, dentre outros fatores (CARVALHO, NAKAGAWA, 2012; MARCOS FILHO, 2005).

O armazenamento das sementes tem como finalidade principal minimizar a deterioração e, conseqüentemente, perda de germinação e vigor, assim como manter a identidade genética da semente.

Em sementes de pinhão manso, são ainda inconclusivos os estudos relacionados à definição de tecnologias adequadas para a conservação de sementes. Sendo assim, esta pesquisa teve como objetivo verificar os efeitos de diferentes ambientes e embalagens na conservação de sementes de pinhão manso ao longo de doze meses de armazenamento.

2. REVISÃO DE LITERATURA

A espécie *Jatropha curcas* L., conhecida como pinhão manso, é uma oleaginosa pertencente à família Euphorbiaceae, amplamente distribuída em áreas tropicais e subtropicais com potencial para a produção de biocombustível.

Atualmente, esta oleaginosa no Brasil ocupa cerca de 60 mil hectares de área plantada (MONTENEGRO, 2010). No estado de Minas Gerais é onde a cultura está mais organizada, com registros de plantios comerciais, campos de pesquisas e de produção de sementes (BRASIL, 2008). Heiffig-Del Aguila (2008) informou que o cultivo e a utilização industrial do pinhão manso pelo mundo estão em fase inicial de desenvolvimento, sendo atualmente explorado em 55 países, em uma área estimada de 900.000 ha, onde 85% destas (765.000 ha) estão localizadas na Ásia, aproximadamente 13% (120.000 ha) na África e, estimativa de 2% (20.000 ha) na América Latina, existindo a previsibilidade de que, a cada ano, durante os próximos 5 a 7 anos, cerca 1,5 a 2 mil de hectares sejam cultivados com essa oleaginosa.

Essa espécie apresenta diversos atributos, tais como: rápido crescimento, fácil propagação, planta perene, se adapta muito bem em áreas de baixa e alta precipitação, baixo custo de sementes e elevado teor de óleo (SUJATHA et al., 2008). O teor de óleo nas sementes varia entre 30 e 40%, com produção anual de 1.100 e 1.700 L ha⁻¹ (DIAS et al., 2007; NUNES, 2007). Trata-se de um óleo com variações pouco significativas de acidez, além de possuir melhor estabilidade à oxidação do que o óleo de soja e de palma, e boa viscosidade quando comparado ao óleo mamona (TAPANES et al., 2006).

Estas características contribuíram para aumentar a procura por sementes de pinhão manso que eram comercializadas sem validação mínima do sistema de produção de sementes em campo. Foi então estabelecida pelo MAPA, Instrução Normativa nº 4, de 14 de janeiro de 2008, que autoriza a inscrição no Registro Nacional de Cultivares - RNC da espécie *J. curcas*

sem a exigência de mantenedor e a comercialização dessas sementes com exigência de Termo de Compromisso e Responsabilidade firmado entre o produtor de sementes e o agricultor, que será exigido até que sejam estabelecidos os padrões de identidade e de qualidade para o material de propagação.

A implantação de cultivos de pinhão manso como opção de desenvolvimento de novas áreas agrícolas depende, principalmente, do desenvolvimento de tecnologias de produção adequadas, que envolvem o uso de insumos, a adoção de sistemas de produção eficientes e, principalmente, do uso de sementes de materiais selecionados com elevada pureza, germinação e vigor, uma vez que a propagação da espécie é feita principalmente por sementes.

Torna-se importante, portanto, o respaldo da pesquisa para fornecer informações relacionadas a tecnologias de produção de sementes de pinhão manso. Dentre estas, destacam-se os estudos sobre armazenamento e conservação destas sementes.

O armazenamento de sementes tem como objetivo assegurar a qualidade das sementes até a época da sementeira. A longevidade das sementes é variável de acordo com o genótipo, mas depende também, em grande parte, das condições do ambiente de armazenagem. Assim, a manutenção da qualidade fisiológica das sementes durante o armazenamento depende, principalmente do teor de água das sementes, das condições de ambiente, como temperatura e umidade relativa do ar, do tipo de embalagem de acondicionamento e também da ação de fungos e insetos (CARVALHO, NAKAGAWA, 2000). Os autores ainda afirmam que o nível de qualidade das sementes por ocasião da armazenagem também é um fator importante, pois está diretamente relacionado às adversidades ocorridas durante o desenvolvimento, colheita e processamento das mesmas, podendo contribuir para acelerar o processo de deterioração.

A deterioração das sementes envolve uma série de alterações fisiológicas, bioquímicas e físicas que provocam a queda progressiva e irreversível da qualidade, culminando com a

morte das mesmas (DELOUCHE, BASKIN, 1973). Dentre as principais alterações envolvidas na deterioração das sementes, destacam-se a alteração das membranas celulares (redução da integridade, aumento da permeabilidade e desorganização), redução da produção de ATP, diminuição na síntese de proteínas e ácidos nucleicos além de degeneração cromossômica (MARCOS FILHO, 2005 e BEWLEY et al., 2013).

Para muitos autores, os primeiros sinais da deterioração de sementes estão relacionados com a alteração ou perda da integridade das membranas celulares (DELOUCHE, BASKIN, 1973; WILSON Jr, McDONALD, 1986 e BEWLEY et al, 2013). Porém, atualmente, tem-se observado que antes desse fenômeno, a redução ou aumento da atividade de determinadas enzimas são indicativos do início deste processo (MARCOS FILHO, 2005).

A peroxidação de lipídios é freqüentemente citada como a principal causa da perda da integridade da membrana e, conseqüentemente, da deterioração de sementes (McDONALD JR., 1999). De acordo com Wilson Jr. e McDonald Jr. (1986), o processo de deterioração tem como alteração bioquímica inicial a desestruturação do sistema de membranas em nível celular, por meio da ação de radicais livres. Segundo Bewley et al. (2013), a peroxidação de um ácido graxo insaturado ocorre, inicialmente, com a remoção de um átomo de hidrogênio ligado a um carbono adjacente à dupla ligação, para produzir um radical livre, o qual reage com o oxigênio molecular, resultando num rearranjo na cadeia do ácido graxo e na formação de um radical peróxido. Os principais agentes oxidantes gerados são: hidroxilas ($\text{OH}^\cdot$), ânion superóxido ($\text{O}_2^\cdot$) e o peróxido de hidrogênio (H_2O_2).

Dessa forma, sementes ricas em lipídios, como as de pinhão manso, que apresentam alto teor de óleo (38%) (DIAS et al. 2007), podem ser consideradas com maior predisposição ao processo deteriorativo, ou seja, à peroxidação de lipídios.

As células, no entanto, apresentam um complexo sistema de defesa antioxidante para proteção dos danos causados pelas espécies de oxigênio ativo (McDONALD JR., 1999). O

sistema de defesa antioxidativo enzimático das plantas inclui diversas enzimas antioxidantes nos diferentes compartimentos celulares. Dentre as principais enzimas são citadas a superóxido dismutase (SOD; EC 1.15.1.1) e a catalase (CAT; EC 1.11.1.6) que juntamente com outras enzimas, protegem as células dos efeitos tóxicos das espécies reativas de oxigênio (EROs) (RESENDE, SALGADO e CHAVES, 2003; BAILLY, 2004; CAVALCANTI et al., 2004; SOARES, MACHADO, 2007).

A SOD é considerada a primeira barreira enzimática contra o estresse oxidativo, atuando na dismutação do radical superóxido, transformando em peróxido de hidrogênio e oxigênio ($O_2^{\bullet-} \rightarrow H_2O_2 + O_2$) (BLOKHINA et al., 2003; GRATÃO et al., 2005). O produto da dismutação do superóxido pela SOD, o H_2O_2 , deve ser removido da célula a fim de evitar sua conversão em radicais mais reativos, como o OH^- (PERL–TREVES, PERL, 2002).

Na literatura são encontrados relatos da redução da atividade de SOD em sementes de espécies oleaginosas em função do nível de qualidade das mesmas. Em sementes viáveis de soja foi constatada a presença de SOD já nas primeiras horas da embebição, porém naquelas não viáveis não houve atividade (STEWART, BEWLEY, 1980). Em sementes de girassol, que também são oleaginosas, houve decréscimo na atividade da SOD com a redução da viabilidade. Resultados semelhantes também foram observados em sementes de amendoim (SUNG, JENG, 1994) e algodão (GOEL et al., 2003).

Omar et al. (2012), avaliando o comportamento enzimático de sementes de pinhão manso em vários estágios de desenvolvimento observaram que a enzima SOD reduzia sua atividade a medida que o teor de umidade das sementes decrescia. E à medida que o tecido embrionário reinicia sua hidratação esta enzima retoma sua atividade, como visto por Cai et al. (2011).

A catalase (CAT) é uma enzima que catalisa reações de dismutação do H_2O_2 em H_2O e O_2 e atua na eliminação das EROs durante condições de estresse. A CAT apresenta uma das

maiores taxas de recuperação de todas as enzimas, sendo capaz de converter aproximadamente 6 000.000 (seis milhões) de moléculas de H_2O_2 em H_2O e O_2 por minuto (GILL, TUTEJA, 2010). A CAT tem importante função na remoção de H_2O_2 gerado nos peroxissomos durante a β -oxidação de ácidos graxos, fotorrespiração e catabolismo da purina (GILL, TUTEJA, 2010; KARUPPANAPANDIAN et al., 2011). Além disso, possui um mecanismo muito eficiente de remoção de radicais livres (MALLICK, RAI, 1999).

Vários autores trabalhando com sementes de espécies com alto teor de óleo observaram redução na atividade dessas enzimas, entre elas a catalase, com o aumento do período de armazenamento de sementes. Da mesma forma, Goel et al. (2003) relataram em sementes de algodão essa redução e resultados semelhantes foram observados por Sung e Chiu (1995) em sementes de soja, por Sung (1996) em sementes de amendoim, e por Bailly (1996) em sementes de girassol.

Freitas et al. (2004) e Freitas et al. (2006), ao trabalharem com armazenamento simulado (teste de envelhecimento acelerado) e armazenamento convencional com sementes de algodão, observaram que a atividade enzimática da SOD, CAT, POX e APX destas sementes decrescia linearmente à medida que se prolongava o período de armazenamento.

O processo de deterioração das sementes pode ser atenuado quando são mantidas sob condições adequadas de armazenamento. A temperatura e a umidade relativa do ar são os principais fatores físicos que afetam diretamente a velocidade da deterioração, sendo a umidade relativa considerada mais importante, dada a sua relação direta com o teor de água das sementes, uma vez que aumento no teor de água da semente eleva a sua atividade metabólica. Entretanto, a temperatura também contribui significativamente, afetando a velocidade dos processos bioquímicos (DELOUCHE, BASKIN, 1973). Altos teores de água nas sementes, combinados com altas temperaturas, aceleram os processos naturais de degeneração dos sistemas biológicos, de maneira que, sob estas condições, as sementes

perdem vigor rapidamente e, algum tempo depois, a viabilidade (ALMEIDA et al., 1997; FREITAS et al., 2004).

O tipo de embalagem utilizado para o armazenamento das sementes também é relevante para a sua longevidade. As embalagens podem ser permeáveis (porosas), semipermeáveis e impermeáveis; as permeáveis permitem a troca de umidade entre a semente e o ambiente circundante, como os sacos de pano, sacos plásticos perfurados e sacos de papel. As semipermeáveis não impedem completamente a passagem de umidade, permitindo uma menor troca de umidade (plástico fino, papel tratado com asfalto, papel plastificado) enquanto as impermeáveis, não possibilitam trocas de vapor de água (CARVALHO, NAKAGAWA, 2012).

A decisão sobre o tipo de embalagem a ser usado depende das condições climáticas sob as quais as sementes vão permanecer armazenadas até a semeadura e também da modalidade de comercialização das sementes (CARVALHO, NAKAGAWA, 2012).

Assim, a deterioração das sementes pode ser retardada pela adoção de tecnologias adequadas para o armazenamento. Especificamente para sementes de pinhão manso, ainda não são conclusivas as informações relacionando o processo de deterioração às condições de armazenamento.

Estudos sobre armazenamento de sementes de pinhão manso indicam que estas mantêm a sua viabilidade por 12 meses, quando armazenadas em condições de ambiente, sem controle da temperatura e umidade relativa (JOKER, JEPSEN, 2003). Por sua vez, Ratree (2004) verificou que a germinação das sementes decresceu de 90% para 43% após 112 dias de armazenamento em condição ambiente na Tailândia.

Estudando o efeito da temperatura na conservação de sementes de pinhão manso, Guzman, Aquino (2009) verificaram que as temperaturas de 20°C e 0°C não foram determinantes para a qualidade fisiológica das sementes ao longo do armazenamento, sendo o

teor de água das sementes o fator que mais influenciou na redução da germinação e do vigor. Segundo esses autores, sementes de pinhão manso com teor de água entre 4 e 5%, armazenadas em embalagens impermeáveis, podem ser armazenadas durante um ano com pequena redução na percentagem de germinação. Verificaram ainda que o teor de água de 9,5% foi prejudicial para a qualidade das sementes. Teores de água entre 7,9 e 8,4% foram considerados seguros para o armazenamento de sementes de pinhão manso sob condição de ambiente (WORANG et al., 2008). Estes autores constataram que sementes mantidas em embalagens plásticas sob condições de ambiente tiveram redução na germinação de 89% para 75% após um mês de armazenamento, declinando para 53% no sexto mês.

Visando estudar a qualidade de sementes armazenadas em diferentes ambientes, Chaves et al. (2012), utilizando sementes de *J. curcas* L., constataram que a qualidade fisiológica destas sementes foi mantida por 12 meses, se acondicionadas em saco de papel multifoliado e armazenadas em condições de câmara fria (10 °C / 55 % UR), aproximadamente 80%, enquanto que em condições ambientes, o potencial germinativo destas sementes foi reduzido de 80% para 57% após os 12 meses de armazenamento.

Höring, Malavasi e Malavasi (2011), ao estudarem o efeito do armazenamento em condições ambientes em sementes de pinhão manso acondicionadas em embalagens de papel multifoliado, verificaram uma redução de 24% do potencial germinativo das sementes após 150 dias de armazenamento. Pinto Jr et al. (2012) não observaram reduções no potencial fisiológico (vigor) e nem no potencial germinativo de sementes de pinhão manso armazenadas em diferentes combinações entre ambientes e embalagens para o armazenamento após 180 dias.

Informações sobre as condições mais adequadas para o armazenamento das sementes de pinhão manso nas nossas condições são necessários. Pereira et al. (2013) verificaram tanto em câmara fria como em condição de ambiente redução na germinação e no vigor de sementes de

pinhão manso durante o armazenamento independente da embalagem. Contudo, concluíram que quando se utilizou câmara fria, o acondicionamento em saco de papel ou de polipropileno trançado foi mais adequado para a conservação da qualidade fisiológica das sementes e do seu óleo. Nessas condições, observou-se a manutenção da qualidade até os seis meses de armazenamento. Quando armazenadas sob condição de ambiente a melhor conservação foi obtida em tambor de papelão.

Os estudos realizados com objetivo de verificar as melhores condições de armazenamento para sementes de pinhão manso ainda são inconclusivos, deixando ainda uma considerável margem para o surgimento de dúvidas sobre a melhor maneira de se conservar este material por um período seguro, podendo-se assim justificar a realização do presente trabalho.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Caracterização do experimento

Foram utilizadas sementes de pinhão manso, provenientes da Empresa de Pesquisa Agropecuária do Estado de Minas Gerais (EPAMIG), coletadas no campo experimental do município de Janaúba-MG.

Os frutos foram colhidos manualmente no estágio amarelo marrom, como recomendado por Silva *et al.* (2012) (Figura 1C). A remoção das sementes dos frutos foi realizada manualmente, a fim de se evitar danos ao tegumento das mesmas. Em seguida, foram secas à sombra até atingirem grau de umidade de aproximadamente 10%. Após a secagem, as sementes foram acondicionadas em sacos de polietileno trançado e transportadas para o Laboratório de Sementes do Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa–MG, onde foi conduzido o experimento.

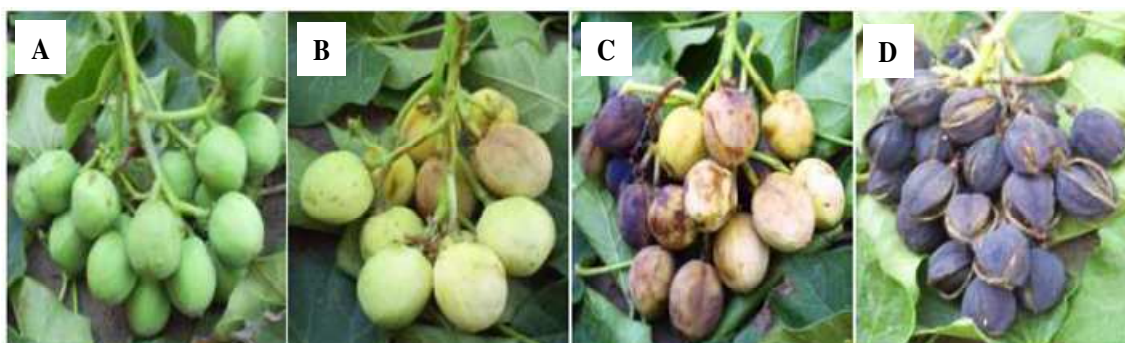


Foto: Santoso, Budianta e Aryana (2012).

Figura 1. Estágios de maturação de frutos de pinhão manso (*J. curcas* L.) segundo Silva *et al.* (2012): **A**-Frutos verdes; **B**-Frutos verde-amarelo e amarelo; **C**-Frutos amarelos-marrom e **D**-Frutos marrons, Viçosa-MG, 2013.

Inicialmente, foi determinado o grau de umidade inicial das sementes pelo método da estufa a 105 ± 3 °C por 24 horas utilizando-se quatro repetições de 10 g cada (BRASIL,

2009), sendo os resultados expressos em porcentagem. Em seguida, as sementes foram acondicionadas em três diferentes embalagens: saco de papel multifoliado do tipo Kraft; saco de pano e saco de plástico transparente de alta densidade de 40 μm (Figura 2). As embalagens foram fechadas e mantidas nas seguintes condições de ambiente: laboratório (sem controle de temperatura e umidade relativa do ar); sala refrigerada (com temperatura de 20 ± 2 °C e umidade relativa do ar na faixa de 50 a 60%) e câmara fria (com temperatura de 10 ± 2 °C e umidade relativa do ar na faixa de 50 a 60%).

A temperatura e a umidade relativa do ar dos locais de armazenamento foram monitoradas diariamente com o auxílio de Data logger, com sensor de temperatura e umidade relativa (Figuras 3 e 4).

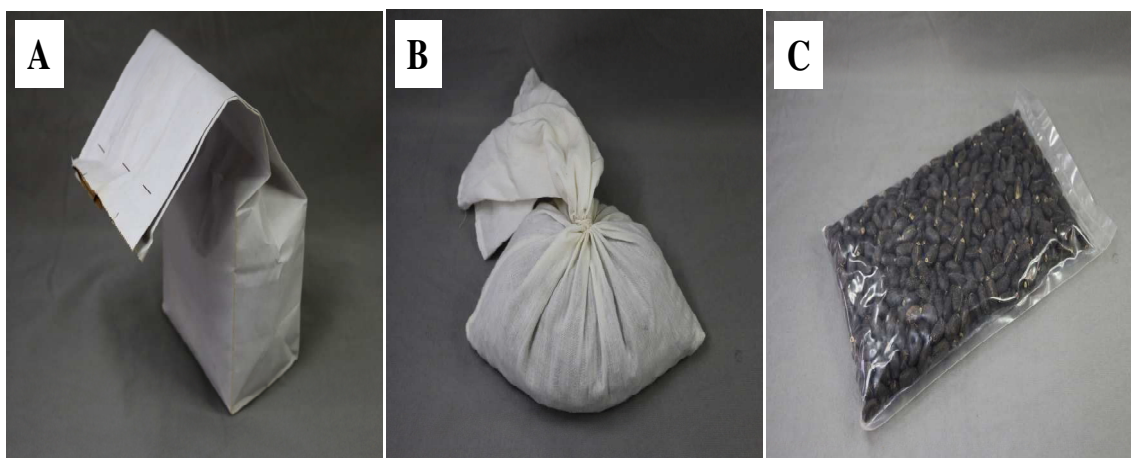


Foto: Arquivo pessoal.

Figura 2. Embalagens utilizadas para o acondicionamento das sementes de pinhão manso (*J. curcas* L.) nos diferentes ambientes de armazenamento: **A**-Saco de papel multifoliado; **B**-Saco de pano; **C**-Saco de plástico de alta densidade (40 μm), Viçosa-MG, 2013.

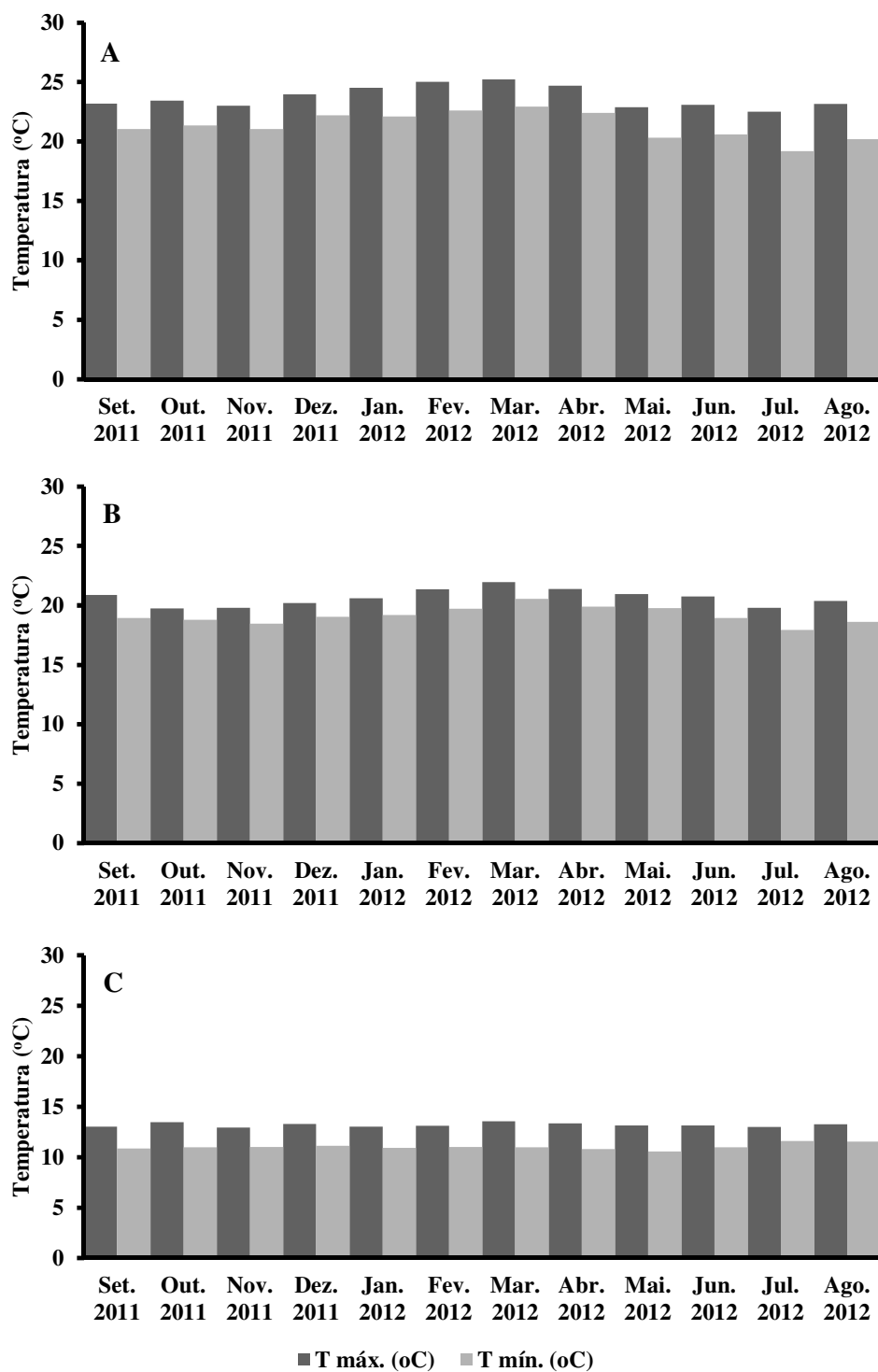


Figura 3. Médias mensais das temperaturas máxima (T max.) e mínima (T min.) obtidas nos ambientes de armazenamento (A-Laboratório; B-Sala refrigerada e C-Câmara fria) de sementes de pinhão manso (*J. curcas* L.) durante doze meses, Viçosa-MG, 2013.

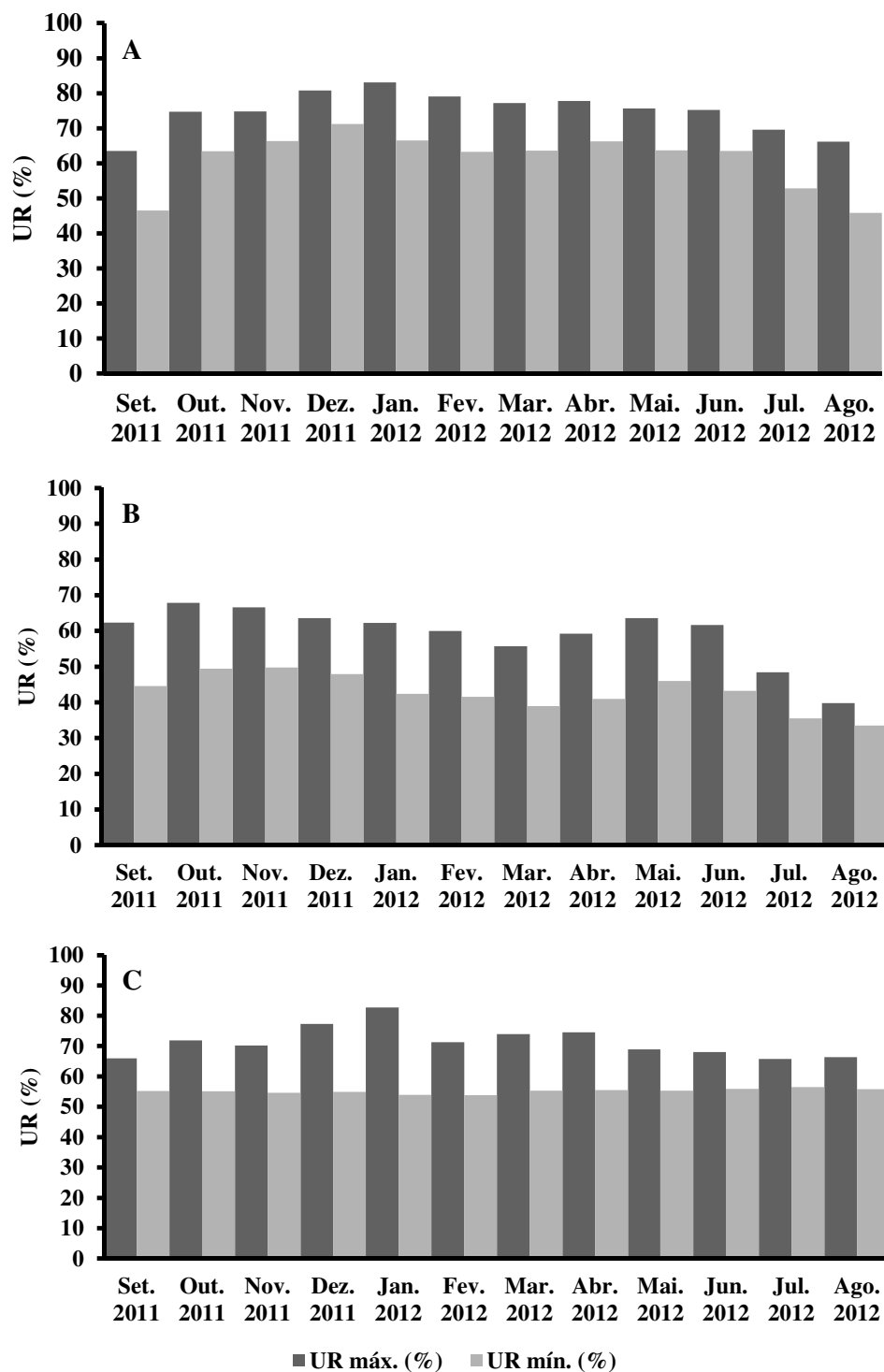


Figura 4. Médias mensais da umidade relativa do ar máxima (UR max.) e mínima (UR min.) obtidas nos ambientes de armazenamento (**A**-Laboratório; **B**-Sala refrigerada e **C**-Câmara fria) de sementes de pinhão manso (*J. curcas* L.) durante doze meses, Viçosa-MG, 2013.

3.2. Variáveis analisadas

Inicialmente e a cada 3 meses durante 12 meses, as sementes foram submetidas a avaliações da qualidade fisiológica e da atividade enzimática, conforme descrito a seguir:

3.2.1. Grau de umidade (Um)

Foi determinado antes e após cada período de armazenamento. Para tanto, utilizou-se o método da estufa a 105 ± 3 °C durante 24 horas, com quatro amostras de aproximadamente 10 g para cada tratamento (BRASIL, 2009), sendo os resultados expressos em percentagem na base úmida (% bu).

3.2.2. Teste de germinação (G)

Foi realizado com oito subamostras de 25 sementes, semeadas em papel toalha tipo germitest umedecido com quantidade de água equivalente a 2,7 vezes o peso do papel seco, confeccionando-se rolos após o semeio das sementes, de acordo com metodologia descrita por Oliveira, (2009). Os rolos foram mantidos em germinador regulado à temperatura de 25 °C. As avaliações foram realizadas aos sete e 12 dias após a semeadura, sendo os valores expressos em percentagem (OLIVEIRA, 2009).

3.2.3. Primeira contagem do teste de germinação (PC)

Consistiu do registro do número de plântulas normais obtidas no sétimo dia após o início do teste de germinação; os seus valores também foram expressos em percentagem.

3.2.4. Emergência de plântulas (Em)

Foi conduzido em casa de vegetação, utilizando-se bandejas plásticas contendo uma mistura de solo e areia lavada e esterilizada na proporção de 2:1, respectivamente, umedecida inicialmente com 60% de sua capacidade de retenção máxima, conforme Brasil (2009). Quatro subamostras de 50 sementes foram distribuídas em sulcos longitudinais de 2 cm de profundidade distanciados 5 cm entre si. Foram realizadas irrigações sempre que necessário. Realizaram-se, contagens diárias, registrando-se o número de plântulas emersas, que foram caracterizadas como sendo plântulas que apresentavam os cotilédones expostos acima do nível do solo, até o décimo segundo dia após a semeadura, para obtenção da porcentagem de plântulas emergidas.

3.2.5. Índice de velocidade de emergência de plântulas (IVE) e velocidade de emergência de plântulas (VE)

Foram conduzidos conjuntamente com o teste de emergência de plântulas seguindo-se a metodologia descrita por Nakagawa (1999). As contagens foram realizadas diariamente, a partir do dia em que surgiram as primeiras plântulas emergidas até o décimo segundo dia após a semeadura. O IVE e VE foram calculados segundo Nakagawa (1999) e seus valores foram expressos em número de plântulas germinadas por dia ($\text{plântulas.dia}^{-1}$) para o IVE e, número de dias necessários para a estabilização da germinação (dia^{-1}) para o VE.

3.2.6. Teste de envelhecimento acelerado (EA)

Foi realizado, adotando-se a metodologia descrita por Oliveira (2009), onde, uma camada única de sementes de pinhão manso foi disposta sobre tela metálica acoplada em caixa plástica tipo gerbox contendo, ao fundo, 40 mL de água destilada. As caixas foram tampadas, de modo a se obter cerca de 100% UR em seu interior, e mantidas em câmara tipo BOD, à temperatura de 42 °C, durante 48 horas. Após esse período, oito subamostras de 25 sementes foram avaliadas pelo teste de germinação, conforme metodologia descrita no item acima, calculando-se a porcentagem de plântulas normais obtidas aos sete dias após a semeadura.

3.2.7. Condutividade elétrica (CE)

Foi conduzido utilizando-se oito repetições de 25 sementes pesadas em balança de precisão (0,001 g), e em seguida foram colocadas para embeber em copos de plásticos com capacidade para 300 mL, contendo 200 mL de água destilada, a temperatura de 25 °C, por um período de 24 horas. Após este período, a condutividade elétrica da solução foi determinada em condutivímetro, sendo os resultados expressos em $\mu\text{S}.\text{cm}^{-1}.\text{g}^{-1}$ de semente.

3.2.8. Teste de frio (TF)

Foi realizado utilizando-se metodologia adaptada de Barros *et al.* (1999), com oito subamostras de 25 sementes, semeadas em substrato papel toalha umedecido, conforme descrito para o teste de germinação, confeccionando-se rolos após o semeio. Em seguida os rolos foram colocados em sacos plásticos transparentes e mantidos a 10 °C em incubadora do tipo BOD, por 7 dias. Após este período, os rolos foram retirados do saco plástico e transferidos para germinador a 25 °C, onde permaneceram por mais 5 dias. Ao término deste

período, foi realizada a contagem do número de plântulas normais. Os resultados foram expressos em porcentagem.

3.2.9. Análise de proteínas totais e de atividade enzimática

As análises enzimáticas e de proteínas totais foram realizadas separadamente no eixo embrionário de sementes de pinhão manso embebidas por período de 36 horas em câmara de germinação do tipo Mangelsdorf a 25 °C. As análises seguiram a seguinte sequência:

3.2.9.1. Proteínas totais (PT)

Foi realizada pelo método proposto por BRADFORD (1976), onde aproximadamente 0,3 g de embriões de sementes foram macerados em nitrogênio líquido, em seguida foram adicionados 2 mL de tampão fosfato de potássio 0,1 M, pH 6,8, ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) 0,1 mM, fluoreto de fenilmetilsulfônico (PMSF) 1 mM e polivinilpirrolidona (PVPP) 1% (p/v). Em seguida a mistura foi filtrada e centrifugada a 12.000 xg durante 15 minutos a 4 °C. Em seguida o sobrenadante foi colocado em tubo de ensaio com 100 µL de extrato juntamente com 1 mL de reagente de Bradford. Após 20 minutos foi realizada a leitura da absorvância em espectrofotômetro a 595 nm.

3.2.9.2. Obtenção do extrato enzimático para análise das enzimas Catalase (CAT) e Superóxido Dismutase (SOD)

Extratos enzimáticos brutos para as determinações das atividades da CAT e da SOD foram obtidos, conforme Peixoto et al. (1999), pela maceração de 0,3 g de tecido vegetal do

eixo embrionário em N₂ líquido, seguido da adição de 2,0 mL do seguinte meio de homogeneização: tampão fosfato de potássio 0,1 M, pH 6,8, ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) 0,1 mM, fluoreto de fenilmetilsulfônico (PMSF) 1 mM e polivinilpolipirrolidona (PVPP) 1% (p/v). Seguiu-se centrifugação a 12.000 x g por 15 minutos, a 4 °C, obtendo-se um extrato enzimático bruto.

3.2.9.3. Determinação da atividade enzimática das enzimas Catalase (CAT) e Superóxido Dismutase (SOD)

Catalase (CAT): a atividade da CAT foi determinada pela adição de 100 µL do extrato enzimático bruto a 2,9 mL de um meio de reação constituído de tampão de fosfato de potássio 50 mM, pH 7,0 e H₂O₂ 12,5 mM (HAVIR, MCHALE, 1987). O decréscimo na absorbância a 240 nm, à temperatura de 25 °C, foi medido durante o primeiro minuto de reação, sendo, a atividade da CAT determinada com base na inclinação da reta após o início da reação. A atividade enzimática foi calculada utilizando-se o coeficiente de extinção molar de 36 M⁻¹ cm⁻¹ (ANDERSON et al., 1995) e o resultado expresso em µmol min⁻¹ mg⁻¹ proteína. Foram utilizados quatro repetições.

Superóxido Dismutase (SOD): a atividade da SOD foi pela adição de 30 µL do extrato enzimático bruto a 2,97 mL de meio de reação constituído de tampão fosfato de sódio 50 mM, pH 7,8, contendo metionina 13 mM, azul de p-nitro tetrazólio (NBT) 75 µM, EDTA 0,1 mM e riboflavina 2 µM (DEL LONGO et al., 1993). A reação foi conduzida a 25 °C, numa câmara de reação sob iluminação de uma lâmpada fluorescente de 15 W, mantida no interior de uma caixa coberta com papel alumínio. Após 5 min de exposição à luz, a iluminação foi interrompida e a formazana azul, produzida pela fotorredução do NBT, foi determinada pela medição da absorbância a 560 nm. A medição da absorbância, nesse mesmo comprimento de onda, de um meio de reação exatamente igual ao anterior, mas mantido no escuro por igual tempo, serviu de

branco e foi subtraído da leitura da amostra que recebeu iluminação (GIANNOPOLITIS, RIES, 1977). Uma unidade de SOD foi definida como a quantidade de enzima necessária para inibir em 50 % a fotorredução do NBT (BEAUCHAMP, FRIDOVICH, 1971).

3.3. Procedimento estatístico

O experimento foi conduzido em delineamento experimental inteiramente casualizado (DIC), com quatro repetições. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANAVA) em esquema de parcela subdividida, tendo nas parcelas, em esquema fatorial (3x3), as condições de armazenamento (embalagens e ambientes), e nas sub-parcelas, os tempos de armazenamento. Os dados em percentagem foram submetidos a testes de normalidade dos resíduos de Shapiro-Wilk e homocedasticidade das variâncias que indicaram a não necessidade de transformação. Para comparação das médias dos tratamentos (embalagens e ambientes) utilizou-se o teste de Tukey a 5 % de probabilidade. Já os dados referentes aos tempos de armazenamento foram submetidos à análise de regressão pelo teste t, ao nível de 5% de probabilidade. O processamento dos dados foi realizado com o software SAS (SAS, 2009) e a elaboração dos gráficos pelos software's Excel e SigmaPlot 12.0.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Figura 5 são apresentados os valores médios para o grau de umidade das sementes de pinhão manso armazenadas em diferentes condições de ambientes e embalagens, antes e após cada período de armazenamento. O grau de umidade das sementes por ocasião do armazenamento foi de 9,38%. Verifica-se que não ocorreram variações acentuadas no grau de umidade ao longo do armazenamento, tendo os valores se mantido entre 8 e 10% durante os 12 meses de armazenamento. Resultados semelhantes foram obtidos por Pereira et al. (2013). Estes valores são considerados adequados para o armazenamento de sementes ortodoxas (MARCOS FILHO, 2005), pois evitam a reativação do metabolismo celular, reduzindo a velocidade do processo deteriorativo.

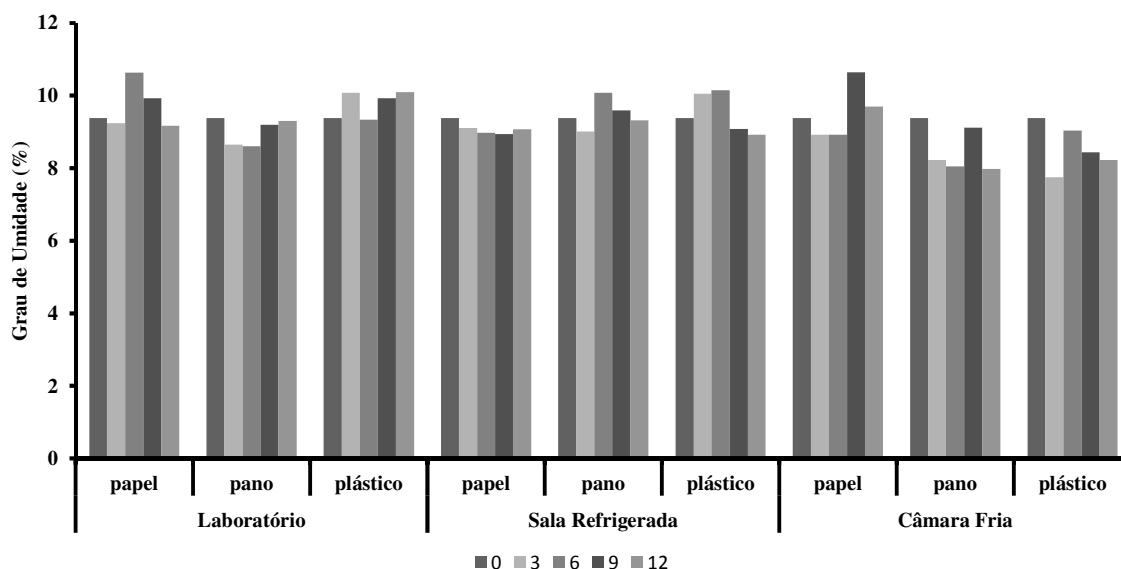


Figura 5. Valores médios para o grau de umidade das sementes de pinhão manso (*J. curcas* L.) armazenadas em diferentes ambientes e embalagens durante doze meses, Viçosa-MG, 2013.

A associação de baixas temperaturas e baixo conteúdo de água da semente contribui diretamente para desacelerar o metabolismo destrutivo sem que ocasione distúrbios às

sementes. Segundo Marcos Filho (2005), a umidade da semente é importante, pois está intimamente ligada às reações metabólicas que comandam os processos de germinação e deterioração, o que pode ser alterado ao longo do armazenamento se as condições não forem ideais. Afirmativa esta corroborada por Almeida et al. (2010), ao trabalharem com sementes de cinco espécies de oleaginosas com diferentes teores de água, concluíram que quanto maior o conteúdo de água menor é o potencial de armazenamento das sementes.

A redução do grau de umidade das sementes a níveis considerados seguros (abaixo de 14%) para o armazenamento tem como objetivo reduzir o consumo de reservas devido à respiração, que aumenta com o incremento do grau de umidade das sementes.

Para Guzman e Aquino (2009), o teor de água das sementes de pinhão manso foi o fator que mais influenciou na redução da qualidade fisiológica no armazenamento, sendo que sementes com grau de umidade entre 4 e 5% em embalagens impermeáveis tiveram pequena redução na germinação após um ano de armazenagem. Verificaram ainda que o teor de água de 9,5% foi prejudicial para a qualidade das sementes. Por sua vez, Worang et al. (2008) observaram que teores de água entre 7,9 e 8,4% foram considerados seguros para o armazenamento de sementes de pinhão manso sob condição de ambiente.

Pela Figura 6, verifica-se que a germinação das sementes foi pouco afetada durante o período de armazenamento, mantendo-se próxima a 80%, com exceção das sementes armazenadas em condições de laboratório, que tiveram redução da germinação ao longo dos 12 meses de armazenamento. Contudo, ao final de 12 meses a germinação das sementes destes tratamentos foi de 74% em média (Tabela 1), o que permite afirmar que não houve redução acentuada da germinação. Nas demais condições de armazenamento (sala refrigerada e câmara fria) a germinação foi mantida durante os 12 meses. Sementes e pinhão manso armazenadas em condições de baixa temperatura tiveram a germinação praticamente mantida ao longo de um ano (GUZMAN, AQUINO, 2009). Contudo, de acordo com Nazreen et al.

(2000), mesmo em condições de baixa temperatura, sementes com alto teor de óleo, como as de pinhão manso, podem ter sua germinação reduzida ao longo do armazenamento e perder completamente a sua capacidade germinativa após um período de armazenamento de 12 meses.

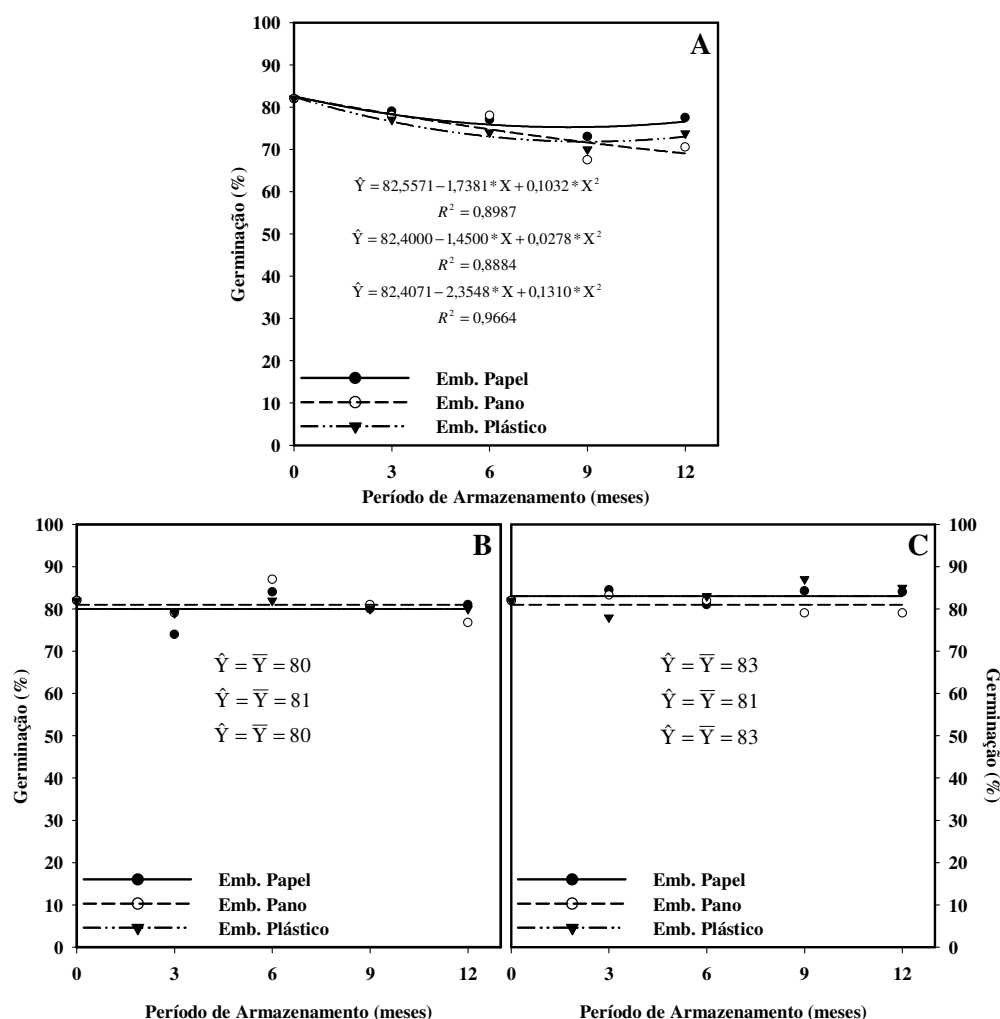


Figura 6. Germinação de sementes de pinhão manso (*J. curcas* L.) armazenadas em **A**-Laboratório, **B**-Sala refrigerada e **C**-Camara fria em saco de papel Kraft, saco de pano e saco de plástico de 40 µm, em função do tempo de armazenamento, Viçosa-MG, 2013.

Comparando-se os diferentes ambientes de armazenamento e embalagens (Tabela 1), verifica-se que, a partir do nono mês de armazenamento houve diferenças entre os ambientes

ao se utilizar a embalagem de pano e plástica, com menor germinação para as sementes mantidas em condição de laboratório.

Segundo Worang et al. (2008), a viabilidade e o vigor de sementes de pinhão manso são reduzidos com o emprego de embalagens plásticas durante o armazenamento em ambientes sem controle de temperatura e umidade

Tabela 1. Valores médios para o teste de germinação em sementes de pinhão manso (*J. curcas* L.) armazenadas em diferentes ambientes (LAB-Laboratório, SRF-Sala refrigerada e CF-Câmara fria) e embalagens (Saco de papel Kraft, Saco de pano e Saco de plástico) durante doze meses, Viçosa-MG, 2013

Germinação (%)									
Embalagens	Períodos de Armazenamento (meses)								
	Inicial	3				6			
		LAB	SRF	CF	Médias	LAB	SRF	CF	Médias
Papel		79 Aa	74 Aa	85 Aa	79	77 Aa	84 Aa	81 Aa	81
Pano	82	78 Aa	79 Aa	83 Aa	80	78 Aa	87 Aa	82 Aa	82
Plástico		77 Aa	79 Aa	78 Aa	78	74 Aa	82 Aa	83 Aa	80
Médias		78	77	82		76	84	82	
Embalagens	Inicial	9				12			
		LAB	SRF	CF	Médias	LAB	SRF	CF	Médias
Papel		73 Ab	80 Aa	84 Aa	79	78 Aa	81 Aa	84 Aa	81
Pano	82	68 Ab	81 Aa	79 Aa	76	71 Aa	77 Aa	79 Aa	76
Plástico		70 Ab	80 Aab	87 Aa	79	74 Ab	80 Aab	85 Aa	80
Médias		70	80	83		74	79	83	
CV (%)		6,14							

As médias seguidas pela mesma letra minúscula na linha e maiúscula na coluna, para cada época de armazenamento, não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Alguns estudos sobre armazenamento de sementes de pinhão manso têm indicado redução na germinação ao longo do armazenamento, principalmente sob condição de ambiente (SANTOSO, BUDIANTA, ARYANA, 2012; CHAVES et al., 2012; PEREIRA et al., 2013). Almeida et al. (2010) também constataram perda de poder germinativo em sementes de várias espécies oleaginosas (algodão, amendoim, girassol, mamona e soja)

armazenadas em sacos de papel multifoliado por 180 dias em condições de ambiente. Por outro lado, Pinto Junior et al. (2012) não observaram tal redução do potencial germinativo de sementes de pinhão manso armazenadas por 180 dias em embalagens permeáveis (sacos de papel multifoliado) e impermeáveis (plástico de alta densidade e recipiente de vidro) em diferentes ambientes de armazenamento.

Resultados semelhantes aos do teste de germinação também foram observados para a primeira contagem de germinação (Figura 7, Tabela 2), que está relacionada à velocidade de germinação das sementes.

Verificou-se redução na velocidade de germinação apenas para as sementes armazenadas em condição de ambiente de laboratório, independente da embalagem utilizada. Nota-se, pela Tabela 2, que aos três meses de armazenamento, não houve diferença entre as diferentes condições de ambiente. A partir do sexto mês, observa-se menor germinação na primeira contagem para as sementes mantidas em ambiente de laboratório. Resultados semelhantes foram obtidos por Pinto Junior et al. (2012) para sementes acondicionadas em embalagem plástica em condição de ambiente sem controle de temperatura e umidade relativa. Ainda na Figura 5, observa-se que, nas demais condições de armazenamento, a velocidade de germinação foi praticamente mantida durante os 12 meses. Apenas sementes acondicionadas em saco de papel em câmara fria tiveram redução na velocidade de germinação a partir dos seis meses de armazenamento.

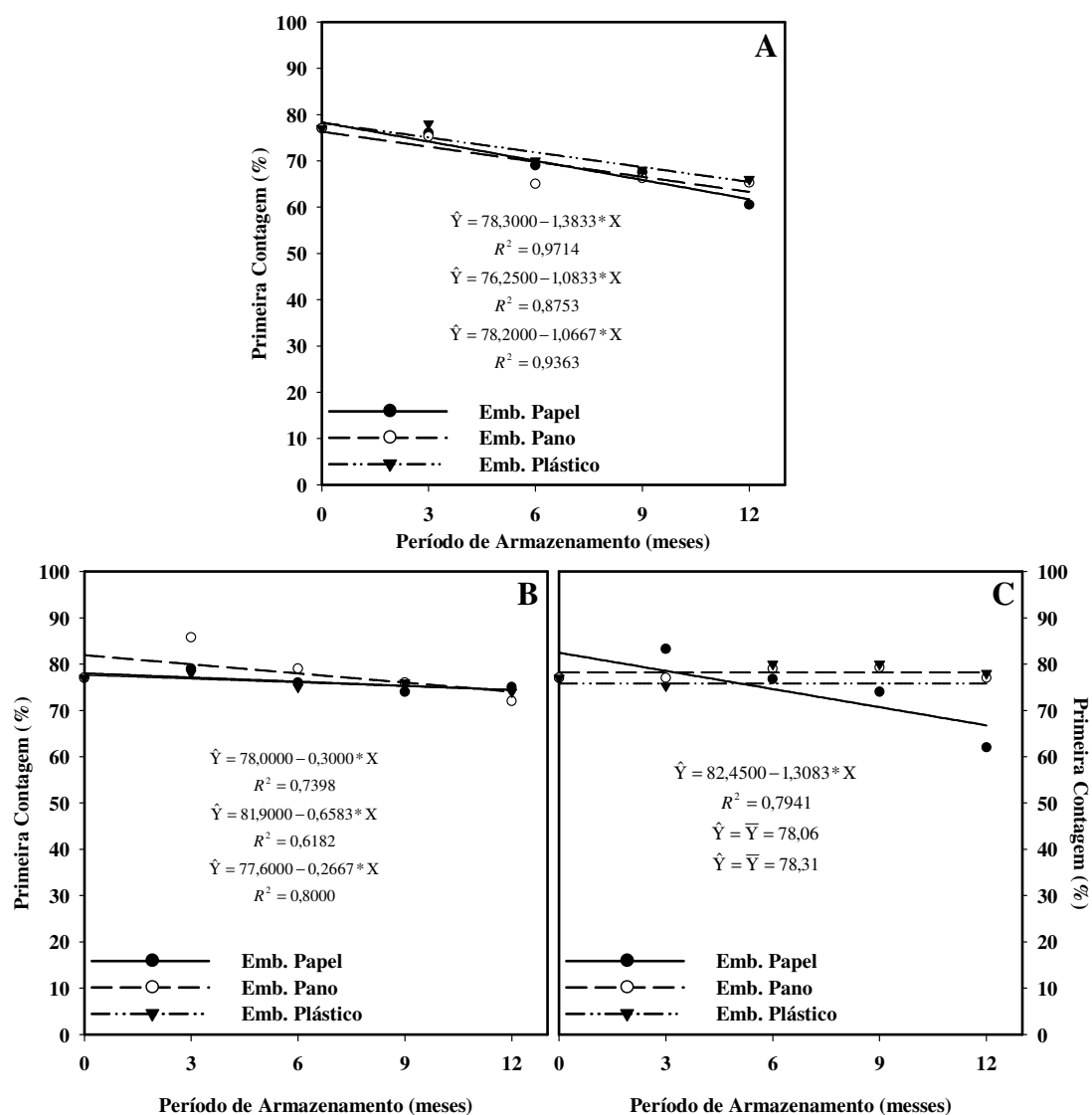


Figura 7. Primeira contagem de germinação de sementes de pinhão manso (*J. curcas* L.) armazenadas em **A**-Laboratório, **B**-Sala refrigerada e **C**-Camara fria em saco de papel Kraft, saco de pano e saco de plástico de 40 μ m, em função do tempo de armazenamento, Viçosa-MG, 2013.

Tabela 2. Valores médios da primeira contagem de germinação de sementes de pinhão manso (*J. curcas* L.) armazenadas em diferentes ambientes (LAB-laboratório, SRF-sala refrigerada e CF-câmara fria) e embalagens (Saco de papel Kraft, Saco de pano e Saco de plástico) durante doze meses, Viçosa-MG, 2013

Primeira Contagem (%)									
Embalagens	Períodos de Armazenamento (meses)								
	Inicial	3				6			
		LAB	SRF	CF	Médias	LAB	SRF	CF	Médias
Papel		76 Aa	79 Aa	83 Aa	79	69 Aa	76 Aa	77 Aa	74
Pano	77	75 Aa	86 Aa	77 Aa	79	65 Ab	79 Aa	79 Aa	74
Plástico		78 Aa	78 Aa	75 Aa	77	70 Aa	75 Aa	80 Aa	75
Médias		76	81	78		68	77	79	
Embalagens	Inicial	9				12			
		LAB	SRF	CF	Médias	LAB	SRF	CF	Médias
Papel		68 Ab	74 Aa	74 Aa	72	61 Ab	75 Aa	62 Bb	66
Pano	77	66 Ab	76 Aab	79 Aa	74	65 Ab	72 Aab	77 Aa	71
Plástico		68 Ab	76 Aab	80 Aa	75	66 Ab	74 Aa	78 Aa	73
Médias		67	75	78		64	74	72	
CV (%)		5,71							

As médias seguidas pela mesma letra minúscula na linha e maiúscula na coluna para cada época de armazenamento não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Pela Figura 8 pode-se observar, em geral, redução da emergência de plântulas em solo com o decorrer do armazenamento, principalmente após seis meses de armazenagem, sendo mais acentuada em condição ambiente (embalagem papel Kraft e pano) e em sala refrigerada (papel Kraft e plástico). Resultados semelhantes também foram obtidos por Worang et al. (2008), onde a porcentagem de emergência de plântulas reduziu com o decorrer do armazenamento ao se utilizar embalagem de papel sob condição ambiente. Para as sementes mantidas em câmara fria (Figura 8, Tabela 3), houve redução linear da emergência de plântulas ao longo do armazenamento, embora de modo menos acentuado do que nas demais condições estudadas, obtendo-se valores de aproximadamente 70% para todas as embalagens aos 12 meses de armazenamento. Valores acima de 70% para a emergência em campo

também foram obtidos para sementes armazenadas em laboratório e sala refrigerada quando se utilizou a embalagem plástica (Figura 8, Tabela 3).

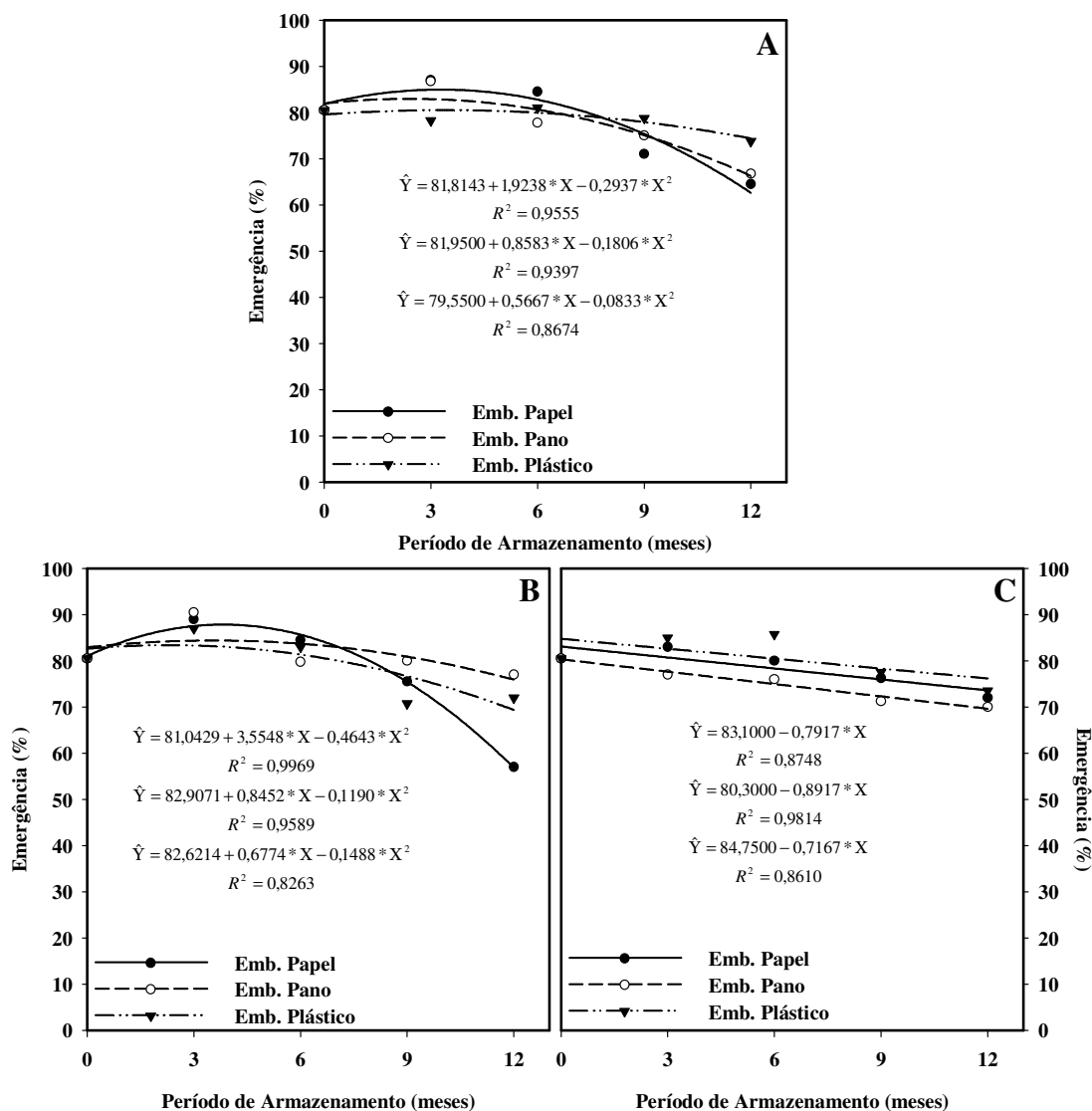


Figura 8. Emergência de plântulas de pinhão manso (*J. curcas* L.) obtida de sementes armazenadas em **A**-Laboratório, **B**-Sala refrigerada e **C**-Camara fria em saco de papel Kraft, saco de pano e saco de plástico de 40 µm, em função do tempo de armazenamento, Viçosa-MG, 2013.

Fanan et al. (2009) observaram que a emergência de plântulas de mamona não foi alterada durante 12 meses quando as sementes foram acondicionadas em papel multifoliado sob condição de ambiente. Já Pereira et al (2013), trabalhando com sementes de pinhão

manso, verificaram que há redução na emergência de plântulas durante o armazenamento independentemente do ambiente e do tipo de embalagem empregado.

Tabela 3. Valores médios para o teste de emergência de sementes de pinhão manso (*J. curcas* L.) armazenadas em diferentes ambientes (LAB-Laboratório, SRF-Sala refrigerada e CF-Câmara fria) e embalagens (saco de papel Kraft, saco de pano e saco de plástico) durante doze meses, Viçosa-MG, 2013

Emergência (%)									
Embalagens	Períodos de Armazenamento (meses)								
	Inicial	3				6			
		LAB	SRF	CF	Médias	LAB	SRF	CF	Médias
Papel	81	87 Aa	89 Aa	83 Aa	86	85 Aa	85 Aa	80 Aa	83
Pano		87 Aa	91 Aa	77 Aa	85	78 Aa	80 Aa	76 Aa	78
Plástico		78 Aa	87 Aa	85 Aa	83	81 Aa	83 Aa	86 Aa	83
Médias		84	89	82		81	83	81	
Embalagens	Inicial	9				12			
		LAB	SRF	CF	Médias	LAB	SRF	CF	Médias
Papel	81	71 Aa	76 Aa	76 Aa	74	65 Aab	57 Bb	72 Aa	65
Pano		75 Aa	80 Aa	71 Aa	75	67 Aa	77 Aa	70 Aa	71
Plástico		79 Aa	71 Aa	78 Aa	76	74 Aa	72 Aa	74 Aa	73
Médias		75	76	75		69	69	72	
CV (%)		6,42							

As médias seguidas pela mesma letra minúscula na linha e maiúscula na coluna, para cada época de armazenamento, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Na Figura 9 e Tabela 4, são apresentados os valores médios para o índice de velocidade de emergência de plântulas (IVE). Observa-se que o número de plântulas emergidas por dia decresceu com o decorrer do período de armazenamento em todos os ambientes e embalagens. Uma provável explicação para este decréscimo pode estar relacionado ao processo deteriorativo, que se instala nas sementes a partir da maturidade fisiológica. Delouche e Baskin (1983) destacam a redução na velocidade de germinação como um dos eventos iniciais do processo de deterioração, ocorrendo logo após a desorganização das membranas celulares e a redução das atividades de biosíntese. Desta forma, a redução da exponencial do número de plântulas emergidas por dia (IVE) constatada já a partir do terceiro mês de armazenamento sob condição de ambiente de laboratório (Figura 9A) vem confirmar tal afirmação. Para os demais ambientes (SRF e CF) esta redução só é observada a partir do sexto mês de armazenamento. Pinto Junior et al. (2012); Santoso, Budianto e Aryana (2012) e Pereira et al. (2013) também evidenciaram redução da velocidade de emergência de sementes de pinhão manso ao longo do período de armazenamento.

Pela Tabela 4, verifica-se que, para cada período de armazenamnto, não houve diferença significativa entre embalagens e ambientes de armazenamento quanto à velocidade de emergência de plântulas.

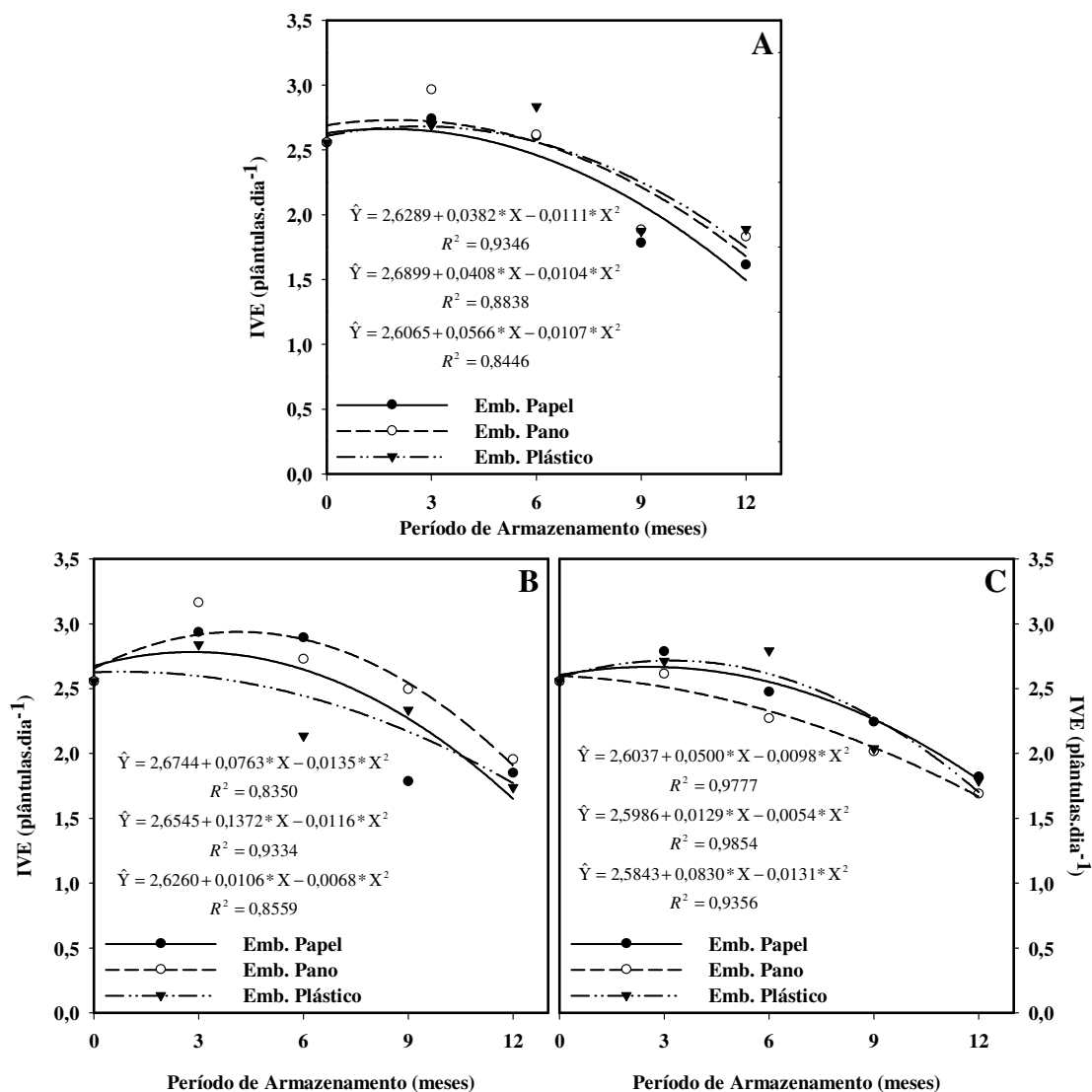


Figura 9. Índice de velocidade de emergência de plântulas de pinhão manso (*J. curcas* L.) obtido de sementes armazenadas em **A**-Laboratório, **B**-Sala refrigerada e **C**-Camara fria em saco de papel Kraft, saco de pano e saco de plástico de 40 µm, em função do tempo de armazenamento, Viçosa-MG, 2013..

Tabela 4. Valores médios para o teste de índice de velocidade de germinação de sementes de pinhão manso (*J. curcas* L.) armazenadas em diferentes ambientes (LAB-Laboratório, SRF-Sala refrigerada e CF-Câmara fria) e embalagens (Saco de papel Kraft, Saco de pano e Saco de plástico) durante doze meses, Viçosa-MG, 2013

Índice de Velocidade de Emergência (plântulas.dia ⁻¹)									
Embalagens	Períodos de Armazenamento (meses)								
	Inicial	3				6			
		LAB	SRF	CF	Médias	LAB	SRF	CF	Médias
Papel		2,74	2,94	2,79	2,82 A	2,61	2,89	2,47	2,66 A
Pano	2,55	2,97	3,16	2,62	2,92 A	2,62	2,73	2,27	2,54 A
Plástico		2,69	2,84	2,71	2,75 A	2,83	2,14	2,79	2,59 A
Médias		2,8 a	2,98 a	2,71 a		2,69 a	2,59 a	2,51 a	
Embalagens	Inicial	9				12			
		LAB	SRF	CF	Médias	LAB	SRF	CF	Médias
Papel		1,78	1,78	2,24	1,93 A	1,62	1,85	1,82	1,76 A
Pano	2,55	1,88	2,5	2,02	2,13 A	1,83	1,95	1,69	1,82 A
Plástico		1,87	2,33	2,04	2,08 A	1,89	1,74	1,79	1,81 A
Médias		1,84 a	2,2 a	2,1 a		1,78 a	1,85 a	1,77 a	
CV (%)					17,73				

As médias seguidas pela mesma letra minúscula na linha e maiúscula na coluna, para cada época de armazenamento, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Os resultados obtidos para a velocidade de emergência (Figura 10 e Tabela 5) vêm confirmar o que já comentado acima para as variáveis porcentagem de emergência de plântulas e IVE (Figuras 8 e 9), reforçando a tendência de que a partir do sexto mês de armazenamento inicia-se o processo de redução do vigor destas sementes em todas as condições de armazenamento. Com o aumento do período armazenamento observou-se tendência de aumento do número de dias (VE) necessários para se obter a estabilização da emergência em todas as combinações de ambientes e embalagens, resultado este que caracteriza a perda de vigor das sementes. Comportamento semelhante foi observado por Santoso, Budianto e Aryana (2012), ao armazenarem sementes de pinhão manso de diferentes estágios de maturação em sacos plásticos em condições ambiente; estes autores verificaram

que o tempo médio gasto para se estabilizar a germinação das sementes provenientes de frutos amarelo-marrons passou de seis para 10 dias.

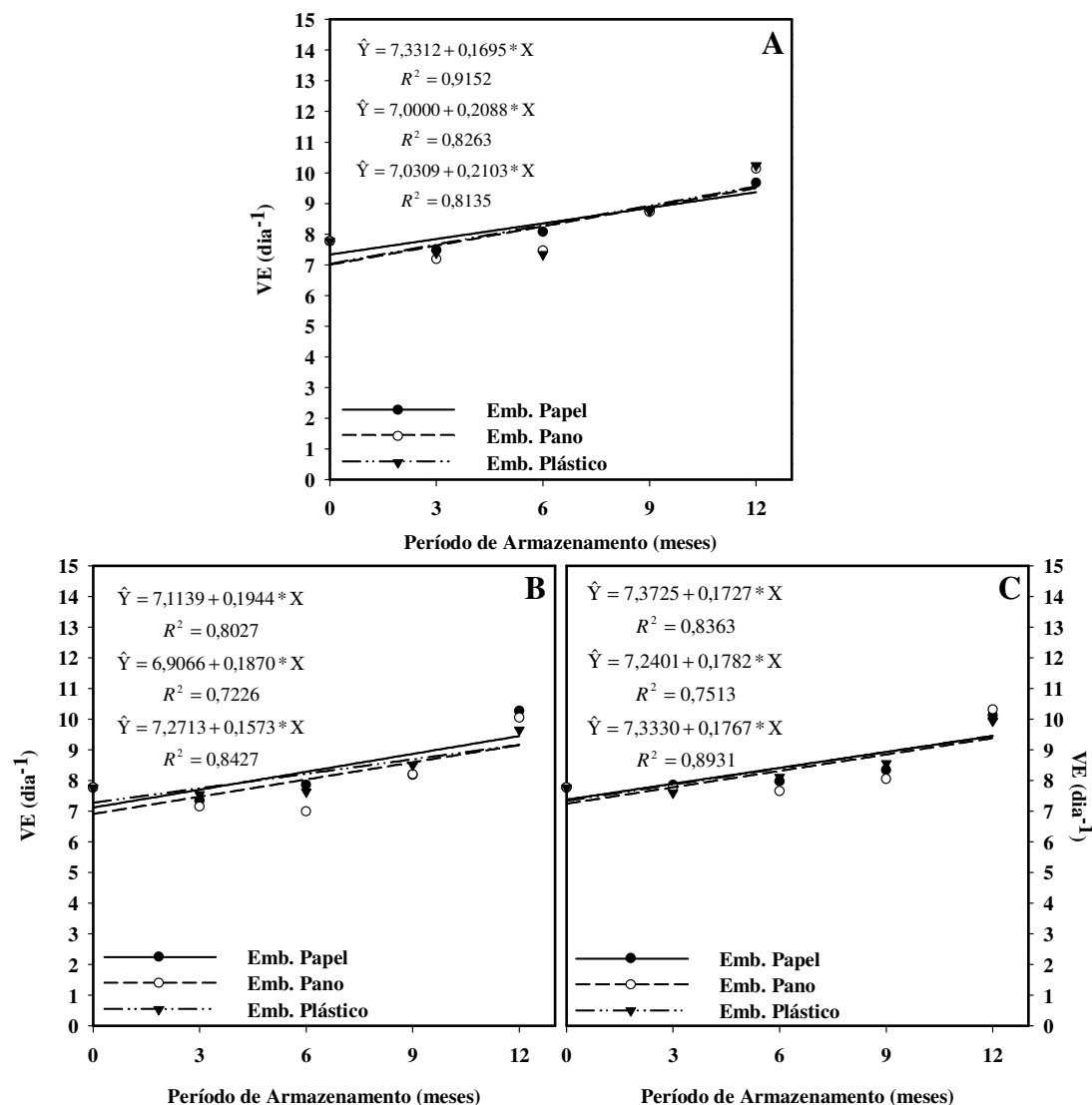


Figura 10. Velocidade de emergência de plântulas de pinhão manso (*J. curcas* L.) obtido de sementes armazenadas em **A**-Laboratório, **B**-Sala refrigerada e **C**-Camara fria em saco de papel Kraft, saco de pano e saco de plástico de 40 µm, em função do tempo de armazenamento, Viçosa-MG, 2013.

Tabela 5. Valores médios para o teste de velocidade de germinação de sementes de pinhão manso (*J. curcas* L.) armazenadas em diferentes ambientes (LAB-Laboratório, SRF-Sala refrigerada e CF-Câmara fria) e embalagens (Saco de papel Kraft, Saco de pano e Saco de plástico) durante doze meses, Viçosa-MG, 2013

Velocidade de Emergência (dia ⁻¹)									
Embalagens	Períodos de Armazenamento (meses)								
	Inicial	3				6			
		LAB	SRF	CF	Médias	LAB	SRF	CF	Médias
Papel		7,48	7,34	7,86	7,56 A	8,07	7,86	7,97	7,97 A
Pano	7,77	7,18	7,15	7,78	7,37 A	7,46	6,99	7,65	7,37 A
Plástico		7,38	7,54	7,6	7,51 A	7,33	7,62	8,11	7,69 A
Médias		7,35 a	7,34 a	7,75 a		7,62 a	7,49 a	7,91 a	
Embalagens	Inicial	9				12			
		LAB	SRF	CF	Médias	LAB	SRF	CF	Médias
Papel		8,75	8,17	8,33	8,42 A	9,67	10,26	10,11	10,01 A
Pano	7,77	8,73	8,2	8,05	8,33 A	10,13	10,04	10,31	10,16 A
Plástico		8,75	8,49	8,55	8,6 A	10,24	9,64	9,94	9,94 A
Médias		8,74 a	8,29 a	8,31 a		10,01 a	9,98 a	10,12 a	
CV (%)		8,79							

As médias seguidas pela mesma letra minúscula na linha e maiúscula na coluna, para cada época de armazenamento, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Pelo teste de frio (Figura 11 e Tabela 6), o vigor das sementes armazenadas em ambiente sem controle de temperatura e umidade (laboratório) decresceu exponencialmente e de forma acentuada ao longo do armazenamento, independente da embalagem utilizada. Os valores obtidos ao final do armazenamento (entre 18 e 43%) indicam que houve deterioração acentuada das sementes ao longo do armazenamento. Pereira et al. (2013) verificaram resultados semelhantes também armazenando as sementes em ambiente de laboratório, tanto em embalagens permeáveis como impermeáveis. Por outro lado, o vigor das sementes armazenadas em sala refrigerada e câmara fria praticamente foi mantido ao longo do armazenamento, obtendo-se cerca de 70% de plântulas normais no teste de frio ao final do período (12 meses), exceto para as sementes acondicionadas em embalagem de papel multifoliado (Tabela 6).

De acordo com Matthews (1985), a consequência final do processo de deterioração das sementes é a redução dos valores de germinação, entretanto, antes que a porcentagem de germinação seja afetada ocorre redução na tolerância ao estresse, de modo que, por meio dos testes de vigor pode-se detectar reduções mais sutis da qualidade das sementes, o que nem sempre é possível pelo teste de germinação que detecta deterioração já em sua fase final.

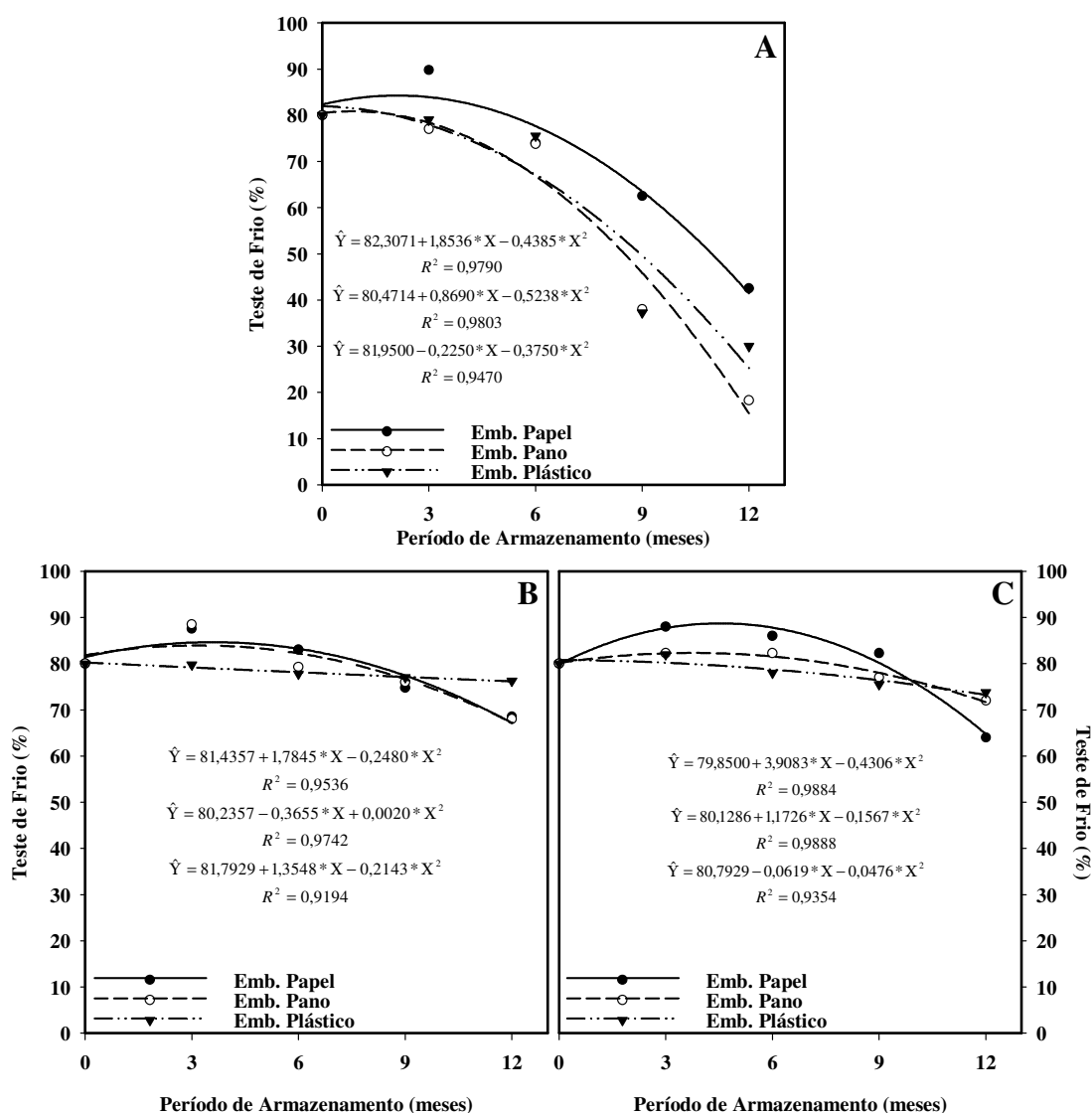


Figura 11. Teste de frio de sementes de pinhão manso (*J. curcas* L.) armazenadas em **A**-Laboratório, **B**-Sala refrigerada e **C**-Camara fria em saco de papel Kraft, saco de pano e saco de plástico de 40 μ m, em função do tempo de armazenamento, Viçosa-MG, 2013.

Tabela 6. Valores médios para o teste de frio de sementes de pinhão manso (*J. curcas* L.) armazenadas em diferentes ambientes (LAB-Laboratório, SRF-Sala refrigerada e CF-Câmara fria) e embalagens (Saco de papel Kraft, Saco de pano e Saco de plástico) durante doze meses, Viçosa-MG, 2013

Teste de Frio (%)									
Embalagens	Períodos de Armazenamento (meses)								
	Inicial	3				6			
		LAB	SRF	CF	Médias	LAB	SRF	CF	Médias
Papel	80	90 Aa	88 Aa	88 Aa	89	74 Ab	83 Aa	86 Aa	81
Pano		77 Bb	89 Aa	82 Aab	83	74 Aa	79 Aa	82 Aa	78
Plástico		79 ABa	80 Aa	82 Aa	80	76 Aa	78 Aa	78 Aa	77
Médias		82	86	84		75	80	82	
Embalagens	Inicial	9				12			
		LAB	SRF	CF	Médias	LAB	SRF	CF	Médias
Papel	80	63 Ab	75 Aab	82 Aa	73	43 Ab	69 Aa	64 Aa	59
Pano		38 Bb	76 Aa	77 Aa	64	18 Bb	68 Aa	72 Aa	53
Plástico		37 Bb	77 Aa	76 Aa	63	30 ABb	76 Aa	74 Aa	60
Médias		46	76	78		30	71	70	
CV (%)					6,53				

As médias seguidas pela mesma letra minúscula na linha e maiúscula na coluna, para cada época de armazenamento, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Os resultados obtidos no teste de envelhecimento acelerado (Figura 12 e Tabela 7) também evidenciam redução no vigor das sementes de pinhão manso ao longo do armazenamento em todos os ambientes, com redução mais expressiva no ambiente de laboratório, à semelhança do que foi observado no teste de frio (Figura 11). Resultado semelhante também foi obtido por Freitas et al. (2000), armazenando sementes de algodão em sacos de papel em condições de laboratório (sem controle de temperatura e umidade relativa do ar), por 12 meses. Segundo Worang et al. (2008); Santoso, Budianto e Aryana (2012), há redução no vigor e na viabilidade de sementes de pinhão manso quando armazenadas em condições de ambiente.

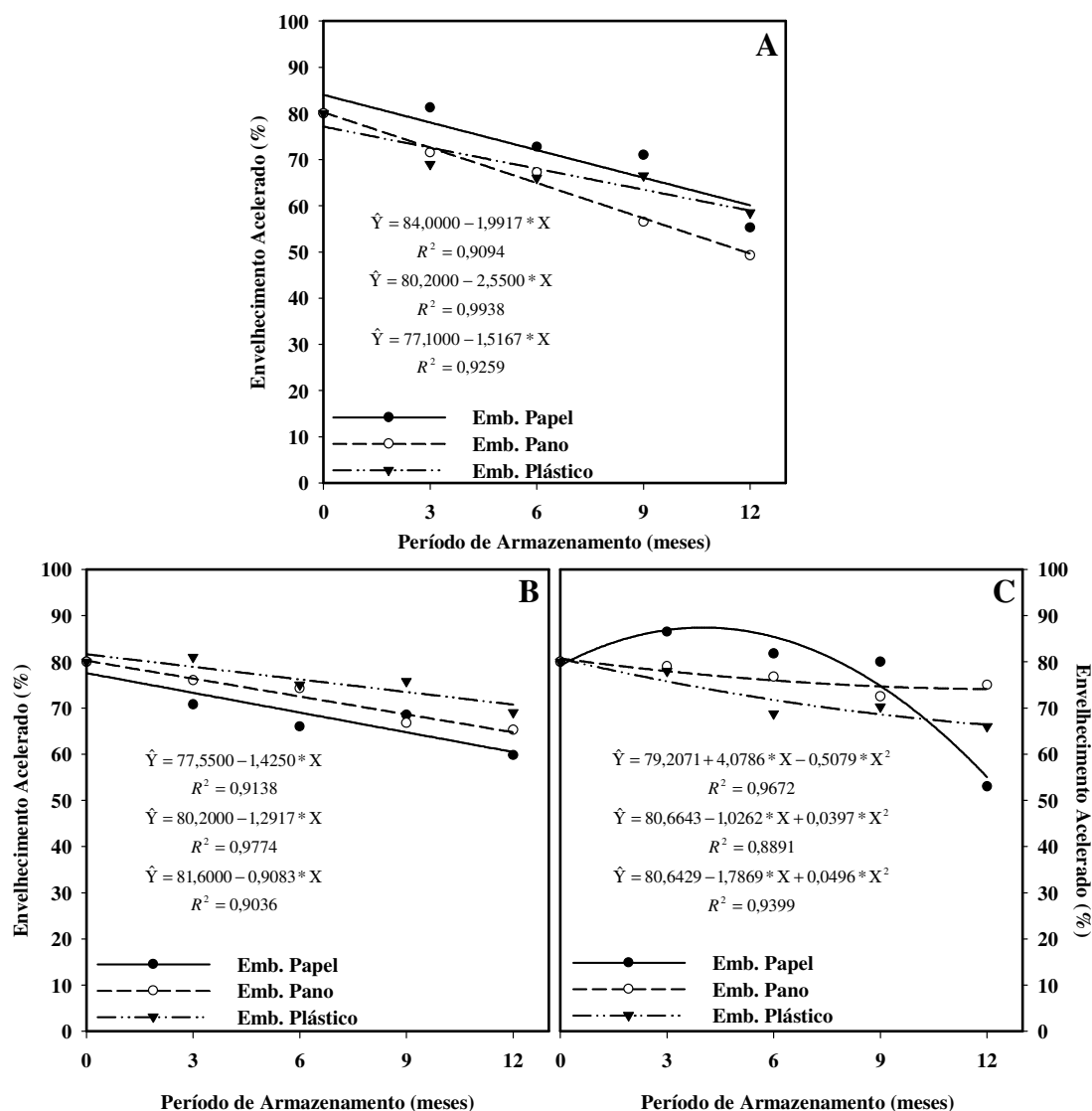


Figura 12. Teste de envelhecimento acelerado de sementes de pinhão manso (*J. curcas* L.) armazenadas em **A**-Laboratório, **B**-Sala refrigerada e **C**-Câmara fria em saco de papel Kraft, saco de pano e saco de plástico de 40 μ m, em função do tempo de armazenamento, Viçosa-MG, 2013.

Sementes acondicionadas em sacos de pano e plástico em câmara fria (Figura 12) tiveram redução menos acentuada no vigor a partir de terceiro mês de armazenamento quando comparadas àquelas acondicionadas em saco de papel, resultado este também observado pelo teste de frio (Figura 11). Contudo, pode-se afirmar, em geral, que o vigor das sementes armazenadas em câmara fria foi praticamente mantido ao longo do armazenamento, o que pode ser explicado pelas condições de baixa temperatura (± 10 °C) deste ambiente. Observa-se

que a umidade relativa do ar, tanto na sala refrigerada como na câmara fria, foi semelhante durante todo o armazenamento (Figuras 3 e 4), cerca de 50 a 60%. Portanto, neste caso, o fator que mais interferiu na conservação das sementes foi à temperatura que na câmara fria era de aproximadamente 10°C enquanto na sala refrigerada era aproximadamente 20°C.

A redução da temperatura contribui para diminuir a atividade respiratória das sementes, reduzindo a velocidade do processo de deterioração (MARCOS FILHO, 2005; BEWLEY et al., 2013), conforme também mencionado por Cunha (1996); Hoekstra et al. (2001); Santos (2001) e Coelho (2006).

Tabela 7. Valores médios para o teste de envelhecimento acelerado de sementes de pinhão manso (*J. curcas* L.) armazenadas em diferentes ambientes (LAB-laboratório, SRF-sala refrigerada e CF-câmara fria) e embalagens (saco de papel Kraft, saco de pano e saco de plástico) durante doze meses, Viçosa-MG, 2013

Envelhecimento Acelerado (%)									
Embalagens	Períodos de Armazenamento (meses)								
	Inicial	3				6			
		LAB	SRF	CF	Médias	LAB	SRF	CF	Médias
Papel	80	81 Aab	71 Ab	87 Aa	80	73 Aab	66 Ab	82 Aa	74
Pano		72 Aa	76 Aa	79 Aa	76	67 Aa	74 Aa	77 Aa	73
Plástico		69 Ab	81 Aa	78 Aa	76	66 Ab	75 Aa	69 Aa	70
Médias		74	76	81		69	72	76	
Embalagens	Inicial	9				12			
		LAB	SRF	CF	Médias	LAB	SRF	CF	Médias
Papel	80	71 Aab	69 Ab	80 Aa	73	55 Aa	60 Aa	53 Ba	56
Pano		57 Bb	67 Aab	73 Aa	66	49 Ab	65 Aab	75 Aa	63
Plástico		67 ABb	76 Aa	70 Aa	71	59 Aa	69 Aa	66 Aba	65
Médias		65	71	74		54	65	65	
CV (%)					6,65				

As médias seguidas pela mesma letra minúscula na linha e maiúscula na coluna, para cada época de armazenamento, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Nota-se que praticamente não houve alteração na germinação das sementes (Figura 6) armazenadas tanto em sala refrigerada como em câmara fria. Contudo, ao se avaliar o vigor,

verifica-se que a temperatura mais baixa (10 °C) foi mais adequada para a manutenção da qualidade fisiológica das sementes (Figuras 11 e 12).

Na Figura 13 e Tabela 8 são apresentados os valores médios obtidos para a condutividade elétrica das sementes de pinhão manso durante o período de armazenamento. Observa-se que ocorreu aumento linear da condutividade elétrica com o aumento tempo de armazenamento das sementes em todos os ambientes, independentemente da embalagem utilizada. Resultado semelhante também foi obtido por Chaves et al. (2012) com sementes de pinhão manso armazenadas por doze meses em diferentes ambientes em embalagem de papel. Freitas et al. (2000) também observaram aumento linear da condutividade elétrica de sementes de algodão armazenadas em sacos de papel multifoliado sob condição de ambiente sem controle de temperatura e umidade relativa do ar.

O teste de condutividade elétrica permite identificar alterações fisiológicas e bioquímicas relacionadas ao início do processo de deterioração. Conforme Delouche e Baskin (1973), a desestruturação do sistema de membranas celulares é uma das primeiras manifestação da deterioração de sementes. Assim, os resultados obtidos já aos três meses de armazenamento para todas as condições estudadas, indicam aumento na condutividade elétrica e, conseqüentemente, redução do vigor das sementes.

Observa-se ainda, que apenas aos doze meses de armazenamento é que o tipo de embalagem teve influência sobre o vigor das sementes, quando se observou maior condutividade elétrica (menor vigor) para as sementes acondicionadas em embalagem de papel, principalmente quando comparadas com aquelas mantidas em saco de pano (Tabela 8).

Uma análise geral dos resultados dos diferentes testes de avaliação da qualidade fisiológica das sementes, permite verificar que a germinação das sementes de pinhão manso foi praticamente mantida durante os 12 meses de armazenamento sob condições de sala refrigerada (20 °C) e câmara fria (10 °C), independente da embalagem utilizada (Figura 6). Já

o vigor das sementes, sofreu redução acentuada quando estas permaneceram armazenadas sob condição de ambiente de laboratório, o que pode ser constatado principalmente pelos resultados dos testes de estresse, ou seja, teste de frio (Figura 11) e de envelhecimento acelerado (Figura 12) e também pelo teste de condutividade elétrica (Figura 13) que é um teste bioquímico. Pelos testes de estresse, verificou-se que a redução no vigor das sementes foi menos drástica quando armazenadas em ambiente refrigerado. Nestas condições, o pior desempenho foi obtido para sementes acondicionadas em saco de papel, como indicado pelos resultados dos testes de emergência de plântulas (Figura 8), teste de frio (Figura 11) e de envelhecimento acelerado (Figura 12). A redução menos acentuada do vigor sob baixas temperaturas não foi constatada pelos resultados de condutividade elétrica, onde nas três condições de armazenamento, houve redução linear do vigor das sementes ao longo de 12 meses (Figura 13).

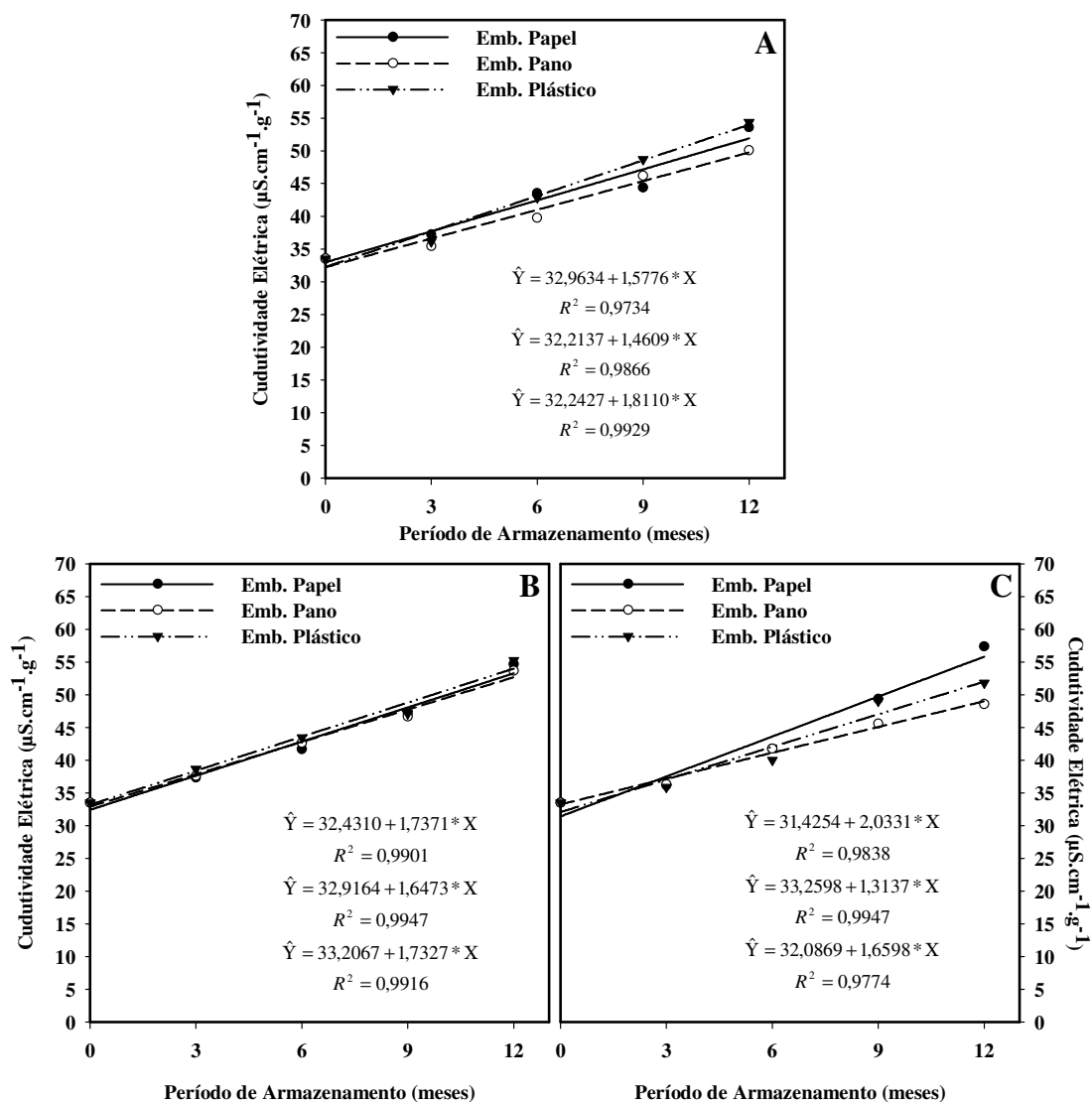


Figura 13. Condutividade elétrica de sementes de pinhão manso (*J. curcas* L.) armazenadas em A-Laboratório, B-Sala refrigerada e C-Camara fria em saco de papel Kraft, saco de pano e saco de plástico de 40 μm , em função do tempo de armazenamento, Viçosa-MG, 2013.

Tabela 8. Valores médios para o teste de condutividade elétrica de sementes de pinhão manso (*J. curcas* L.) armazenadas em diferentes ambientes (LAB-laboratório, SRF-sala refrigerada e CF-câmara fria) e embalagens (saco de papel Kraft, saco de pano e saco de plástico) durante doze meses, Viçosa-MG, 2013

Condutividade Elétrica ($\mu\text{S.cm-1.g-1}$)									
Embalagens	Períodos de Armazenamento (meses)								
	Inicial	3				6			
		LAB	SRF	CF	Médias	LAB	SRF	CF	Médias
Papel		37,2 Aa	37,3 Aa	36,1 Aa	36,87	43,5 Aa	41,7 Aa	41,7 Aa	42,3
Pano	33,5	35,4 Aa	37,6 Aa	36,3 Aa	36,43	39,7 Aa	42,6 Aa	41,8 Aa	41,36
Plástico		36,1 Aa	38,7 Aa	35,9 Aa	36,9	42,9 Aa	43,5 Aa	40 Aa	42,13
Médias		36,23	37,87	36,1		42,03	42,6	41,17	
Embalagens	Inicial	9				12			
		LAB	SRF	CF	Médias	LAB	SRF	CF	Médias
Papel		44,4 Aa	47,1 Aa	49,4 Aa	46,97	53,6 Aa	54,7 Aa	57,4 Aa	55,23
Pano	33,5	46,2 Aa	46,7 Aa	45,6 Aa	46,17	50,1 Aa	53,7 Aa	48,6 Ba	50,8
Plástico		48,7 Aa	47,1 Aa	49 Aa	48,27	54,4 Aa	55,3 Aa	51,8 ABa	53,83
Médias		46,43	46,97	48		52,7	54,57	52,6	
CV (%)		5,53							

As médias seguidas pela mesma letra minúscula na linha e maiúscula na coluna, para cada época de armazenamento, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Na Figura 14 e Tabela 9 são apresentados os valores para o conteúdo de proteínas totais do eixo embrionário de sementes de pinhão manso durante o armazenamento. Observa-se redução expressiva do conteúdo de proteínas totais do eixo embrionário das sementes de pinhão manso ao longo do período de armazenamento em todas as combinações utilizadas entre ambientes e embalagens.

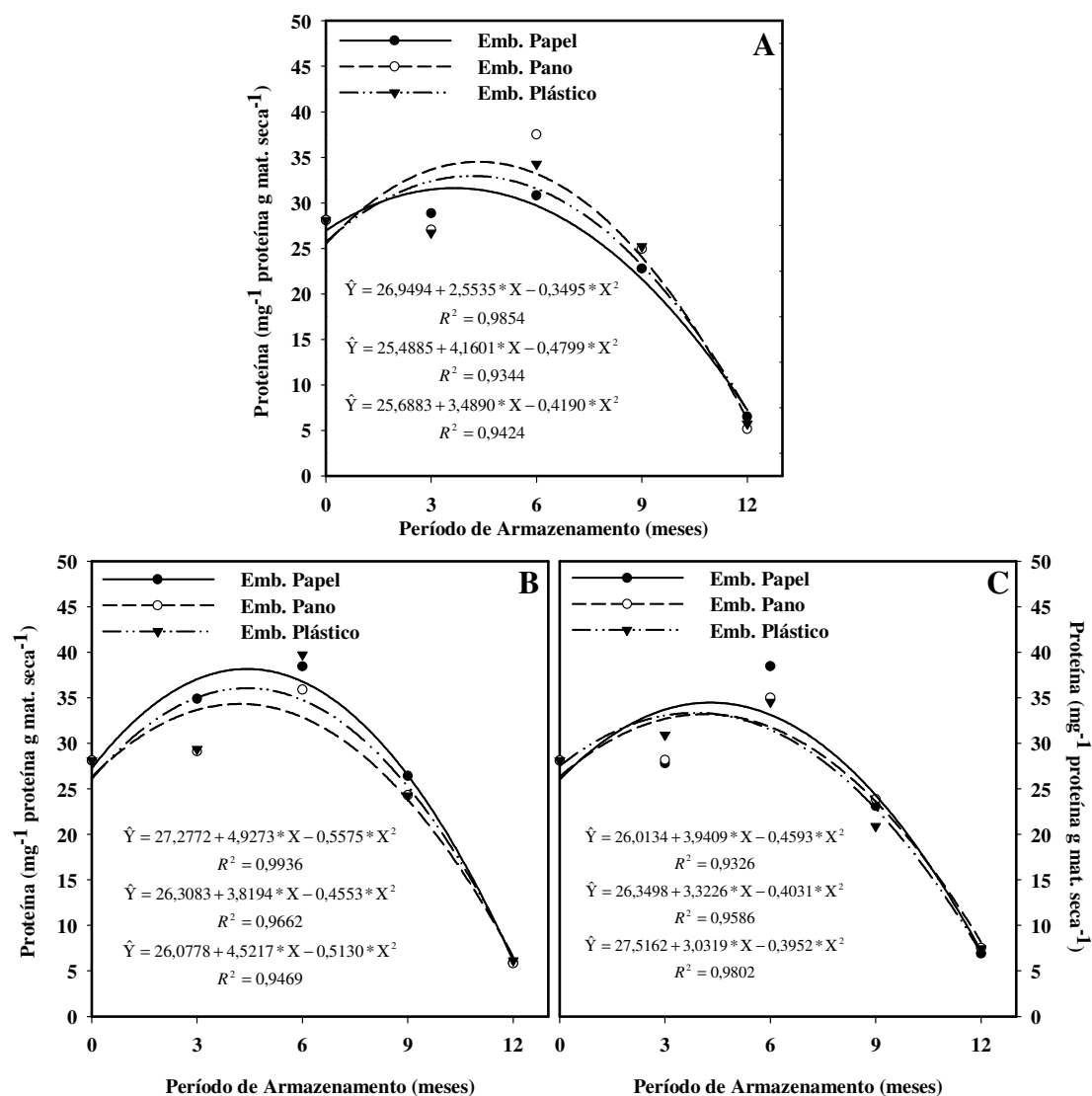


Figura 14. Conteúdo de proteínas totais de eixos embrionários de sementes de pinhão manso (*J. curcas* L.) armazenadas em **A**-Laboratório, **B**-Sala refrigerada e **C**-Camara fria em saco de papel Kraft, saco de pano e saco de plástico de 40 µm, em função do tempo de armazenamento, Viçosa-MG, 2013.

A redução do conteúdo de proteínas pode refletir no mal funcionamento do metabolismo germinativo, comprometendo vários outros processos, como o de síntese de novas enzimas do complexo antioxidativo. Desta maneira, pode ocorrer aumento das concentrações de substâncias peroxidativas (EROs), como o oxigênio singlete (¹O₂), o ânion superóxido (O₂⁻), o peróxido de hidrogênio (H₂O₂) e os radicais hidroxilas (OH⁻), que em concentrações elevadas ocasionam danos aos mecanismos celulares, como a peroxidação de

lipídios que ocasiona danos à membrana celular.

Comparando-se os ambientes e embalagens dentro de cada época (Tabela 9), observa-se que o conteúdo de proteínas totais só é afetado pelo ambiente aos 12 meses de armazenamento. Sementes armazenadas em câmara fria foram menos afetadas em relação às aquelas armazenadas sob condição de laboratório ou de sala refrigerada.

Tabela 9. Valores médios para o conteúdo de proteínas totais de eixos embrionários de sementes de pinhão manso (*J. curcas* L.) armazenadas em diferentes ambientes (LAB-laboratório, SRF-sala refrigerada e CF-câmara fria) e embalagens (saco de papel Kraft, saco de pano e saco de plástico) durante doze meses, Viçosa-MG, 2013

Proteína (mg proteína ⁻¹ g mat. seca ⁻¹)									
Embalagens	Períodos de Armazenamento (meses)								
	Inicial	3				6			
		LAB	SRF	CF	Médias	LAB	SRF	CF	Médias
Papel		28,83	34,88	27,79	30,5 A	30,8	38,44	38,45	35,9 A
Pano	28,08	27,02	29,11	28,15	28,09 A	37,49	35,88	34,99	36,12 A
Plástico		26,69	29,36	30,91	28,99 A	34,25	39,72	34,52	36,16 A
Médias		27,51 a	31,12 a	28,95 a		34,18 a	38,01 a	35,99 a	
Embalagens	Inicial	9				12			
		LAB	SRF	CF	Médias	LAB	SRF	CF	Médias
Papel		22,77	26,41	23,1	24,09 A	6,5	5,88	6,88	6,42 A
Pano	28,08	24,92	24,3	23,84	24,35 A	5,15	5,82	7,51	6,16 A
Plástico		25,22	24,25	20,89	23,45 A	5,72	6,13	7,44	6,43 A
Médias		24,3 a	24,99 a	22,61 a		5,79 b	5,94 b	7,27 a	
CV (%)		13,67							

As médias seguidas pela mesma letra minúscula na linha e maiúscula na coluna, para cada época de armazenamento, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

A atividade da enzima CAT (Figura 16) reduziu acentuadamente ao longo do período de armazenamento, passando de 30 $\mu\text{mol min}^{-1}$ mg proteína⁻¹ (época 0) para aproximadamente 5 $\mu\text{mol min}^{-1}$ mg proteína⁻¹ após doze meses de armazenamento. Assim, com o avanço do processo de deterioração provocado pelo aumento do tempo de armazenamento, há redução da atividade dessa enzima. A catalase, por ser uma enzima envolvida no processo de remoção do peróxido de hidrogênio, exerce controle desses peróxidos endógenos por meio do ciclo

óxido-redução (FRIDOVICH, 1986). Sendo assim, a redução na atividade dessa enzima poderá resultar na diminuição da prevenção de danos oxidativos, ou seja, contribui para que as sementes fiquem mais susceptíveis à ação das substâncias peroxidativas, em especial do peróxido de hidrogênio (H_2O_2). Avaliando-se separadamente cada época de armazenamento, verifica-se que não houve efeito do ambiente e da embalagem na atividade desta enzima (Tabela 10).

Freitas et al. (2006) observaram que o envelhecimento de sementes de algodão acarreta drástica redução da atividade da catalase. Santos (2010), ao observar redução da atividade da catalase no período inicial do armazenamento de sementes de mamona, ocorrendo o contrário ao final do armazenamento, afirma que o estresse causado pelo armazenamento, em especial sob condições de ambiente não controlado, pode induzir processos oxidativos que favorecem a formação de radicais livres. Para este autor, a enzima catalase se destaca como um marcador da deterioração de sementes de mamona durante o armazenamento. Sementes de mamona mais deterioradas tiveram redução acentuada na atividade dessa enzima chegando até a não ativação, observada em sementes sob condições de armazém convencional e câmara fria, independente do período de armazenamento ou embalagem (SANTOS, 2010).

Redução na atividade desta enzima associada ao decréscimo na viabilidade também foi constatada em outras sementes oleaginosas como algodão (GOEL et al., 2003), girassol (BAILLY et al., 1996), amendoim (SUNG, 1996) e soja (SUNG e CHIU, 1995).

Segundo Walters (1998) e McDonald (1999), um dos eventos causadores e indicadores da deterioração de sementes é a redução da atividade de algumas enzimas, dentre elas a catalase. Moller (2001) ressalta que H_2O_2 pode reagir com proteínas e assim ocasionar a redução da atividade da enzima, como também ocasionar a perda da integridade do sistema de membranas e até mesmo ocasionar danos a estrutura de DNA e, desta maneira, gerar mutações.

A catalase encontra-se presente nos glioxissomas e é a principal enzima responsável pela detoxificação do H_2O_2 produzidos durante a degradação dos ácidos graxos no glioxissoma. Também pode catalisar diretamente o H_2O_2 ou mesmo oxidar substratos, tais como metanol, etanol, formaldeído e ácido fórmico (RESENDE, SALGADO e CHAVES, 2003).

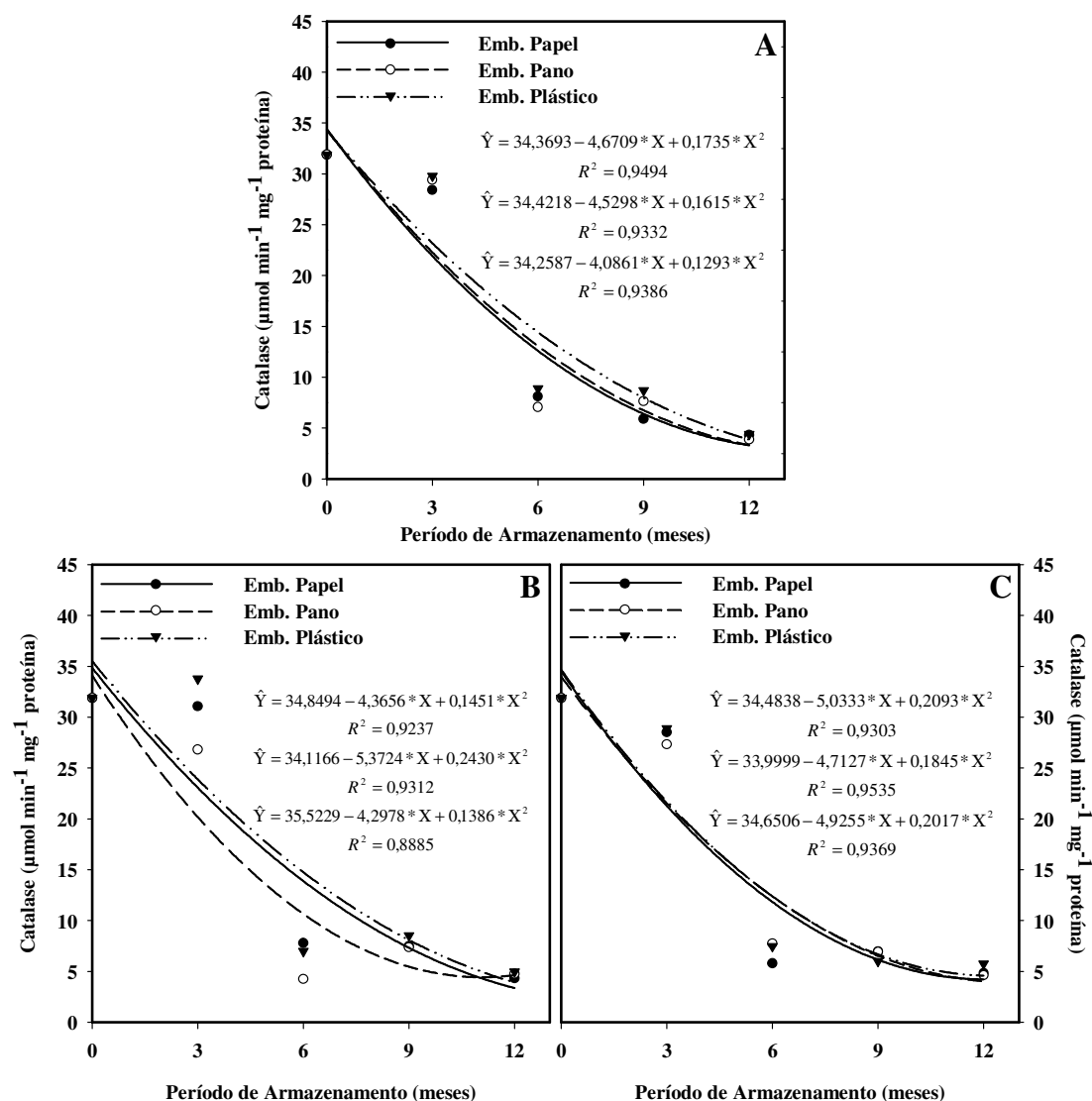


Figura 15. Atividade da enzima catalase de eixos embrionários de sementes de pinhão manso (*J. curcas* L.) armazenadas em **A**-Laboratório, **B**-Sala refrigerada e **C**-Câmara fria em saco de papel Kraft, saco de pano e saco de plástico de 40 μm , em função do tempo de armazenamento, Viçosa-MG, 2013.

Tabela 10. Valores médios para a atividade da enzima catalase de eixos embrionários de sementes de pinhão manso (*J. curcas* L.) armazenadas em diferentes ambientes (LAB-laboratório, SRF-sala refrigerada e CF-câmara fria) e embalagens (saco de papel Kraft, saco de pano e saco de plástico) durante doze meses, Viçosa-MG, 2013

Catalase ($\mu\text{mol min}^{-1} \text{mg proteína}^{-1}$)									
Embalagens	Períodos de Armazenamento (meses)								
	Inicial	3				6			
		LAB	SRF	CF	Médias	LAB	SRF	CF	Médias
Papel		28,41	31,05	28,5	29,32 A	8,1	7,78	5,78	7,22 A
Pano	31,87	29,39	26,81	27,32	27,84 A	7,05	4,23	7,74	6,34 A
Plástico		29,78	33,76	28,87	30,8 A	8,88	6,97	7,46	7,77 A
Médias		29,19 a	30,54 a	28,23 a		8,01 a	6,33 a	6,99 a	
Embalagens	Inicial	9				12			
		LAB	SRF	CF	Médias	LAB	SRF	CF	Médias
Papel		5,89	7,46	6,96	6,77 A	4,31	4,3	4,82	4,48 A
Pano	31,87	7,64	7,36	6,9	7,3 A	3,86	4,75	4,6	4,4 A
Plástico		8,7	8,52	5,99	7,74 A	4,39	4,98	5,73	5,03 A
Médias		7,41 a	7,78 a	6,62 a		4,19 a	4,68 a	5,05 a	
CV (%)		23,95							

As médias seguidas pela mesma letra minúscula na linha e maiúscula na coluna, para cada época de armazenamento, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Pela Figura 16, observa-se que a atividade da enzima SOD teve pequena alteração nos primeiros meses de armazenamento, ocorrendo um ligeiro aumento no decimo segundo mês em todas as condições de armazenamento. Em geral, observa-se que os valores obtidos até o nono mês de armazenamento mantiveram-se em torno de $0,50$ a $0,90 \mu\text{mol min}^{-1} \text{mg proteína}^{-1}$, aumentando para $3,70$ a $4,80 \mu\text{mol min}^{-1} \text{mg proteína}^{-1}$ aos 12 meses. Confrontando com os resultados obtidos para a CAT (Figura 15), observa-se, para esta enzima, redução expressiva ao longo do armazenamento. Desse modo, é possível que a baixa atividade de SOD indique baixa produção de peróxido de hidrogênio, com a consequente redução da atividade da CAT. Os altos valores iniciais de CAT podem estar relacionados à produção de peróxido durante a formação da semente, sendo sua presença a garantia de redução dos efeitos de peroxidação de compostos vitais para o metabolismo durante a germinação.

Segundo Resende, Salgado e Chaves (2003), as espécies reativas de oxigênio (ERO's) ocorrem naturalmente no metabolismo celular. Como sementes de pinhão manso possuem elevado teor de óleo (38%), pressupõe-se que estas estão mais vulneráveis à deterioração por peroxidação de lipídios que pode vir a formar ânion superóxido (O_2^-) por autooxidação de hidroquinonas, leucoflavinas e tióis ou por via enzimática (desidrogenases), que formam o ânion superóxido (O_2^-), substrato este que é catalisado pela ação de dismutação realizada pela enzima SOD. Corte et al. (2010) observaram decréscimo na atividade desta enzima após 24 h de envelhecimento artificial em sementes de *Melanoxylon brauna*.

Comparando-se as diferentes condições de armazenamento e embalagens dentro de cada época (Tabela 11), em geral, é possível verificar menor atividade da SOD nas sementes armazenadas em câmara fria em saco de papel, aos nove meses, e em saco de plástico e de pano aos 12 meses armazenamento (Tabela 11). Assim, em geral, menor atividade desta enzima ocorreu principalmente quando o armazenamento foi feito sob baixa temperatura. De acordo com Mallick e Rai (1999) a formação de ERO's, como o O_2^- , é favorecida por vários fatores ambientais de estresse como a exposição a variações de temperatura, o que explicaria os menores valores obtidos para a atividade da SOD nas sementes armazenadas em ambiente de câmara fria devido à estabilidade térmica.

Para Stanwood (1985) a possibilidade da manutenção da viabilidade de sementes quando armazenadas em condições controladas de temperatura, há redução dos mecanismos deletérios à semente, sobretudo, produção de metabólitos essenciais, decomposição de macromoléculas e acúmulo de metabólitos tóxicos.

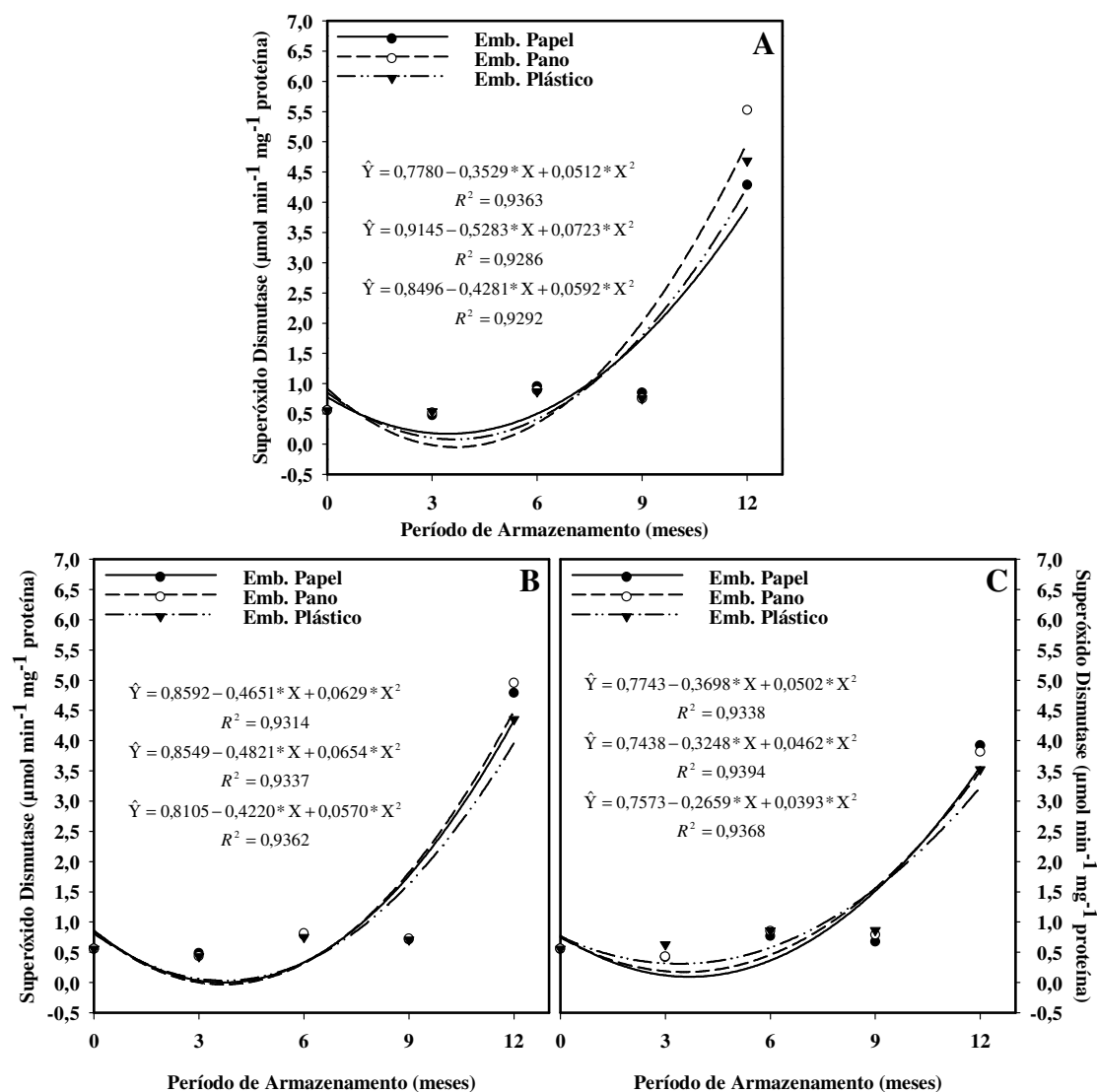


Figura 16. Atividade da enzima superóxido dismutase de eixos embrionários de sementes de pinhão manso (*J. curcas* L.) armazenadas em **A**-Laboratório, **B**-Sala refrigerada e **C**-Camara fria em saco de papel Kraft, saco de pano e saco de plástico de 40 μ m, em função do tempo de armazenamento, Viçosa-MG, 2013.

Tabela 11. Valores médios para a atividade da enzima superóxido dismutase de eixos embrionários de sementes de pinhão manso (*J. curcas* L.) armazenadas em diferentes ambientes (LAB-laboratório, SRF-sala refrigerada e CF-câmara fria) e embalagens (saco de papel Kraft, saco de pano e saco de plástico) durante doze meses, Viçosa-MG, 2013

Superóxido Dismutase ($\mu\text{mol min}^{-1} \text{mg proteína}^{-1}$)									
Embalagens	Períodos de Armazenamento (meses)								
	Inicial	3				6			
		LAB	SRF	CF	Médias	LAB	SRF	CF	Médias
Papel		0,48 Aa	0,49 Aa	0,42 Aa	0,46	0,95 Aa	0,78 Aa	0,77 Aa	0,83
Pano	0,56	0,52 Aa	0,43 Aa	0,43 Aa	0,46	0,89 Aa	0,81 Aa	0,85 Aa	0,85
Plástico		0,54 Aa	0,43 Aa	0,62 Aa	0,53	0,87 Aa	0,75 Aa	0,86 Aa	0,83
Médias		0,51	0,45	0,49		0,9	0,78	0,83	
Embalagens	Inicial	9				12			
		LAB	SRF	CF	Médias	LAB	SRF	CF	Médias
Papel		0,85 Aa	0,71 Aab	0,67 Bb	0,74	4,28 Ba	4,78 Aa	3,92 Aa	4,33
Pano	0,56	0,75 Aa	0,72 Aa	0,79 ABa	0,75	5,52 Aa	4,95 Aa	3,81 Ab	4,76
Plástico		0,75 Aa	0,71 Aa	0,86 Aa	0,77	4,69 ABa	4,35 Aab	3,52 Ab	4,19
Médias		0,78	0,71	0,77		4,83	4,69	3,75	
CV (%)		21,87							

As médias seguidas pela mesma letra minúscula na linha e maiúscula na coluna, para cada época de armazenamento, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Pelos resultados dos testes de avaliação da qualidade fisiológica, em geral, pode-se constatar que a germinação das sementes foi praticamente mantida quando o armazenamento foi feito em câmara fria ou sala refrigerada. Sob condição de ambiente de laboratório, houve redução na germinação a partir dos seis meses de armazenamento, principalmente nas embalagens saco de pano e de plástico. A germinação inicial que era de 82% caiu para aproximadamente 70% (Figura 6). Por outro lado, houve redução no vigor das sementes de pinhão manso com o decorrer do armazenamento, principalmente quando o mesmo foi realizado em condições de laboratório, sem controle de temperatura e umidade relativa do ar, em embalagens de pano e papel. Resultados semelhantes também foram observados por Worang et al. (2008); Chaves et al. (2012) e Pereira et al. (2013). Quando as sementes foram armazenadas em sala refrigerada e câmara fria, também foi possível observar a redução do

vigor, no entanto quando se armazenou as sementes em embalagens de saco de pano e de plástico essa redução foi menos acentuada, mantendo-se os valores próximos aos obtidos na avaliação inicial. Os resultados obtidos pela análise da atividade enzimática da CAT, também demonstra tendência semelhante à observada nos testes de vigor, confirmando que a partir do sexto mês de armazenamento, um indicativo de que o processo de deterioração das sementes se acentua a partir deste período. Redução da atividade da CAT também foi detectada em sementes de algodão durante o armazenamento (GOEL e SHEORAN, 2003). Já os resultados para atividade enzimática da SOD não foram coerentes com os obtidos nos testes de vigor e para a atividade da CAT. Houve pequena variação na atividade da SOD durante o armazenamento.

De maneira geral, o armazenamento de sementes de pinhão manso quando realizado em ambiente que possua controle térmico, como sala refrigerada (20oC) e câmara fria (10oC), em conjunto com embalagem adequada (saco plástico), conseguem minimizar o efeito deteriorativo da semente ao longo do armazenamento proporcionando a manutenção da viabilidade e vigor a níveis aceitáveis por um período mínimo de 12 meses.

5. CONCLUSÕES

Os ambientes de sala refrigerada e câmara fria são os mais adequados para a manutenção da germinação de sementes de pinhão manso a valores semelhantes aos originais (aproximadamente 80%) após doze meses de armazenamento.

O monitoramento da atividade enzimática da catalase (CAT) é eficiente para se verificar o início do processo deteriorativo das sementes de pinhão manso em todos os tratamentos utilizados.

As condições mais adequadas para a manutenção do potencial fisiológico das sementes de pinhão manso durante 12 meses de armazenamento são: sala refrigerada ($20\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 50\%$) e câmara fria ($10\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 50\%$) utilizando-se sacos de plástico.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, F. A. C.; JERÔNIMO, E. S.; ALVES, N. M. C.; GOMES, J. P.; SILVA, A. S. Estudo de técnicas para o armazenamento de cinco oleaginosas em condições ambientais e criogênicas. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**. v. 12, n. 2, p. 189 – 202, 2010.

ALSCHER, RG; ERTURK, N; HEALTH, LS. Role of superoxide dismutases (SODs) in controlling oxidative stress in plants. **Journal of experimental Botany, Antioxidants and Reactive Oxygen Species in Plants Special Issue**, v.53, n.372, p.1331-1341, 2002.

ANDERSON, M.D.; PRASAD, T.K.; STEWART, C.R. Changes in isozyme profiles of catalase, peroxidase, and glutathione reductase during acclimation to chilling in mesocotylus of maize seedlings. **Plant Physiology**, v. 109, p. 1247 - 1257, 1995.

ARAÚJO, J.M.A. **Química de Alimentos** – Teoria e Prática. 3ª Edição. Editora UFV. 478 p, 2004.

BAILLY, C.; BENAMAR, A.; COBINEAU, F.; CÔME, D. Changes in malondialdehyde content and in superoxide dismutase, catalase and glutathione reductase activities in sunflower seeds as related to deterioration during accelerated aging. **Physiologia Plantarum**, v. 97, n. 1, p. 104-110, 1996.

BAILLY, C. Active oxygen species and antioxidants in seed biology. **Seed Science Research**, v.14, p. 93–107, 2004.

BARROS, S.R.B.; DIAS, M.C.L.L.; CICERO, S.M.; KRZYZANOWSKI, F.C. Teste de frio. In: KRZYZANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA NETO, J.B. (Ed.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999. Cap 5, p. 1–15.

BEAUCHAMP, C.; FRIDOVICH, I. Superoxide Dismutase: Improved assays and na assay applicable to acrylamide gels. **Analytical Biochemistry**, v.44, p.276-287, 1971.

BEWLEY, J. D.; BRADFORD, K. J.; HILROST, H. W. M.; NONOGAKI, H. **Seeds: physiology of development, germination and dormancy**. 3 ed., New York, Springer, 381p. 2013.

BLOKHINA, O.; VIROLAINEN, E.; FAGERSTEDT, K.V. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. **Annals of Botany**. v. 91. p. 179 - 194, 2003.

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

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **A Cultura do Pinhão Manso (*Jatropha curcas* L.) no Brasil**. Brasília. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. 2007.

BRASIL. **Instrução normativa nº 4**, de 14 de janeiro de 2008, D.O.U. no dia 15/01/08, Secao 01. Disponível em: <extranet.agricultura.gov.br/sislegisconsulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=18392>. Acesso em: 11 dez. 2012.

BRASIL. Ministério da Indústria e do Comércio. Secretaria de Tecnologia Industrial. **Produção de combustíveis líquidos a partir de óleos vegetais**. Brasília, 1985. 364 p. (Brasil. Ministério da Indústria e Comércio. Documentos, 16).

BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Regras para análise de sementes**. Brasília: SNDA/DNDV/CLAV, 365 p. 2009.

CÁCERES, D.R.; PORTAS, A.A.; ABRAMIDES, J.E. **Pinhão-mansão**. Campinas: Infobibos, 2007. Disponível em: <http://www.infobibos.com/Artigos/2007_3/pinhaomanso/index.htm>. Acesso em: 17 jul. 2012.

CAI, F.; MEI, L.J.; AN, X.L.; GAO, S.; TANG, L.; CHEN, F. Lipid peroxidation and antioxidant responses during seed germination of *Jatropha curcas*. **International Journal of Agriculture & Biology**, v. 13, n. 1, p. 25-30, 2011.

CARNEIRO, J.G.A.; AGUIAR, I.B. Armazenamento de sementes. In: AGUIAR, I.B.; PIÑARODRIGUES, F.M.C.; FIGLIOLIA, M.B. (coords.). **Sementes florestais tropicais**. Brasília: ABRATES, p. 333 - 350. 1993.

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

CAVALCANTI, F. R.; OLIVEIRA, J. T. A.; MARTINS-MIRANDA, A. S.; VIÉGAS, R. A.; SILVEIRA, J. A. G. Superoxide dismutase, catalase and peroxidase activities do not confer protection against oxidative damage in salt-stressed cowpea leaves. **New Phytologist**, v. 163, p. 563 – 571, 2004.

COELHO, R.R.P. **“Protocolo de criopreservação de sementes de algodão (*Gossypium hirsutum* L. raça *Latifolium* Hutch.) cultivares BRS 200 marrom e BRS verde”**. 2006. 89p. Tese (Doutorado em Agronomia), Universidade Federal da Paraíba, Centro de Ciências Agrárias, Areia, PB.

CORTE, V.B.; BORGES, E.E.L.; LEITE, H.G.; PEREIRA, B.L.C.; GONÇALVES, J.F.C. estudo enzimático da deterioração de sementes de *Melanoxylon brauna* submetidas ao envelhecimento natural e acelerado. Londrina, **Revista Brasileira de Sementes**, v. 32, n. 1, p. 083-091, 2010.

CUNHA, R. Métodos alternativos para conservação de germoplasma-semente. In: PUIGNAU, J.P. e CUNHA, R. Serie Dialogo XLV: Conservación de germoplasma vegetal. Montivideo, Uruguay, 1996, 166p.

CHAVES, T. H.; RESENDE, O.; SIQUEIRA, V. C.; ULLMAN, R. Qualidade fisiológica das sementes de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.) durante o armazenamento em três ambientes. **Semina**. v. 33, n. 5, p. 1653-1662, 2012.

DELOUCHE, J. C.; BASKIN, C. C. Accelerated aging techniques for predicting the relative storability of seed lots. **Seed Science and Technology**, v. 1, n. 2, p. 427-452, 1973. DEL LONGO, O.T.; GONZÁLEZ, A.; PASTORI, G.M.; TRIPPI, V.S. Antioxidant defenses under hyperoxygenic and hyperosmotic conditions in leaves of two lines of maize with differential sensitivity to drought. **Plant and Cell Physiology**, v. 34, p. 1023 - 1028, 1993.

DIAS, L.A. dos S.; LEME, L.P.; LAVIOLA, B.G.; PALLINI, A.; PEREIRA, O.L.; DIAS, D.C.F.S.; CARVALHO, M.; MANFIO, C.E.; SANTOS, A.S. dos; SOUZA, L.C.A. de; OLIVEIRA, T.S.; PRETTI, L.A. **Cultivo de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.) para a produção de óleo combustível**. Viçosa, MG: UFV, 2007. 40 p.

FANAN, S.; MEDINA, P.F.; CAMARGO, M.B.P.; RAMOS, N.P. Influencia da colheita e do armazenamento na qualidade fisiológica de sementes de mamona. **Revista Brasileira de Sementes**. v. 31, n. 1, p. 150-159, 2009.

FERREIRA, A.L.A.; MATSUBARA, L.S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Revista da Associação Médica Brasileira**. v. 43, n. 1, p. 61-68, 1997.

FREITAS, R.A.; DIAS, D.C.F.S.; DIAS, L.A.S.; OLIVEIRA, M.G.A. Alterações fisiológicas e bioquímicas em sementes de algodão submetidas ao envelhecimento artificial. **Bioscience Journal**. v. 22, n. 1, p. 67-76, 2006.

FREITAS, R.A.; DIAS, D.C.F.S.; DIAS, L.A.S.; OLIVEIRA, M.G.A. Testes fisiológicos e bioquímicos na estimativa do potencial de armazenamento de sementes de algodão. Londrina, **Revista Brasileira de Sementes**, v. 26, n. 1, p. 84-91, 2004.

FREITAS, R. A.; DIAS, D.C.F.S.; CECON, P.P.; REIS, S.R. Qualidade fisiológica e sanitária de sementes de algodão durante o armazenamento. **Revista Brasileira de Sementes**. v. 22, n. 2, p. 94-101, 2000.

FRIDOVICH, I. Superoxide dismutases. *Advances Enzymol. Related Areas Molecular Biology*. v. 58, n. 1, p. 61-97, 1986.

GIANNOPOLITIS, C.N.; RIES, S.K. Superoxide dismutases. **Plant Physiology**, v. 59, p. 309 - 314, 1977.

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

GOEL, A.; GOEL, A.K.; SHEORAN, I.S. Changes in oxidative stress enzymes during artificial ageing in cotton (*Gossypium hirsutum* L.) seeds. **Journal Plant Physiology**. v. 160, n. 9, p. 1093-1100, 2003.

GUZMAN, L.E.P.; AQUINO, A.L. Seed Characteristics and Storage Behavior of Physic Nut (*Jatropha curcas* L.), **Philippine Journal of Crop Science (PJCS)**, v.34, n.1, p.13-21, 2009.

GRATÃO, P.L. POLLE, A.; LEA, P.J.; AZEVEDO, R.A. Making the life of heavy metal stressed plants a little easier. **Functional Plant Biology**. v. 32, p. 481 - 494, 2005.

HAVIR, E.A.; McHALE, N.A. Biochemical and developmental characterization of multiple forms of catalase in tobacco leaves. **Plant Physiology**. v. 84, p. 450 - 455, 1987.

HEIFFIG-DEL AGUILA, L.S. Potencial da cultura do pinhão manso na produção de biocombustíveis. In: **The Global Exchange for Social Investment**, 2008. Disponível em: <http://www.pecege.esalq.usp.br/plantas/1.pdf>. Acesso em: 30 de ago. 2012.

HÖRING, C. F.; MALAVASI, M. M.; MALAVASI, U. C. Armazenamento não controlado na qualidade de sementes de *Jatropha curcas* L. **Semina**. v. 32, n. 2, p. 521-526, 2011.

JOKER, D.; JEPSEN, J. *Jatropha curcas* L. **Seed Leaflet**, Denmark, n.83, p.1-2, 2003.

KARUPPANAPANDIAN, T.; WANG, H.W.; PRABAKARAN, N.; JEYALAKSHMI, K.; KWON, M.; MANOHARAN, K.; KIM, W. 2,4-dichlorophenoxyacetic acid-induced leaf senescence in mung bean (*Vigna radiata* L. Wilczek) and senescence inhibition by co-treatment with silver nanoparticles. **Plant Physiol Biochem**. v. 49. p.168 – 177, 2011.

MAES, W. H.; ACHTENA, W. M. J.; REUBENS, B.; RAES, D.; SAMSONC, R.; MUYS, B. Plant - water relationships and growth strategies of *Jatropha curcas* L. seedlings under different levels of drought stress. **Journal of Arid Environments**. v. 73, p. 877-884, 2009.

MALAVASI, M.M. Germinação de sementes. In: RODRIGUES, F.C.M. (coord). **Manual de análise de sementes florestais**. Campinas: Fundação Cargill, p. 25 - 40. 1988.

MALLICK, N.; RAI, L.C. Response of the antioxidant systems of the nitrogen fixing cyanobacterium *Anabaena doliolum* to the copper. **Journal of Plant Physiology**, v. 155, p. 146-149, 1999.

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

MATTHEWS, S. Physiology of seed ageing. **Outlook on Agriculture**, v. 14, n. 2, p. 19 - 23, 1985.

MEDEIROS, A.C.S. **Armazenamento de Sementes de Espécies Florestais nativas**. Embrapa Floresta, Colombo, 24 p. (documento 66). 2001.

MOLLER, I.M. Plant mitochondria and oxidative stress: electron transport, NADPH turnover, and metabolism of reactive oxygen species. **Annual Review Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v. 52, n. 1, p. 561-91, 2001.

MONTENEGRO, J. **Pinhão-manso incipiente**. (2010) Disponível em: <http://www.energiahoje.com/online/biocombustiveis/biodiesel/2010/10/14/419471/pinhao-manso-incipiente.html> [14.10.2010] 17h01m / Acessado em 08 de jan. 2013.

MCDONALD JR, M. B. Seed deterioration: physiology, repair and assessment. **Seed Science and Technology**. v. 27, n. 1, p. 177-237, 1999.

NAZREEN, S.; KHAN, B.R.; MOHMAND, A.S. The effect of storage temperature, storage period and seed moisture content on seed viability of soybean. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, v.3, n.12, p.2003-2004, 2000.

NAKAGAWA, J. Testes de vigor baseados no desempenho das plântulas. In: KRZYZANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA-NETO, J.B. (Ed.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, Cap. 2, p. 1-21, 1999.

NERY, A.R.; RODRIGUES, L.N.; SILVA, M.B.R.; FERNANDES, P.D.; CHAVES, L.H.G.; DANTAS NETO, J.; GHEYI, H.R. Crescimento do pinhão-mansão irrigado com águas salinas em ambiente protegido. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**. v. 13, n. 5, p. 551-558, 2009.

NUNES, C.F. **Caracterização de frutos, sementes e plântulas e cultivo de embriões de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.)**. Lavras, 2007. 78 p. Dissertação de Mestrado (M. S.), Universidade Federal de Lavras.

OLIVEIRA, G.L. **Testes para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de Pinhão Manso (*Jatropha curcas* L.)**. Viçosa, 2009. 60p. Dissertação (M.S.)-Universidade Federal de Viçosa.

OMAR, S.A.; ELSHEERY, N.I.; KALAJI, H.M.; XUL, Z.F.; QUAN, S.S. CARPENTIER, R.; LEE, C.H.; ALLAKHVERDIEV, S. Dehydroascorbate reductase and glutathione reductase play an important role in scavenging hydrogen peroxide during natural and artificial dehydration of *jatropha curcas* seeds. **Journal of Plant Biology**, v. 55, n. 1, p. 469-480, 2012.

PEIXOTO, A.R. **Plantas oleaginosas arbóreas**. São Paulo: Nobel, 284p. 1973.

PEIXOTO, P.H.P.; CAMBRAIA, J.; SANT'ANA, R.; MOSQUIM, P.R.; MOREIRA, M.A. Aluminum effects on lipid peroxidation and on activities of enzymes of oxidative metabolism in sorghum. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**. v. 11, p. 137 - 143, 1999.

PEREIRA, M.D.; DIAS, D.C.F.S.; BORGES, E.E.L.; MARTINS FILHO, S.; DIAS, L.A.S.; SORIANO, P. E. Physiological quality of physic nut (*Jatropha curcas* L.) seeds during storage. **Journal of Seed Science**. v. 35, n. 1, p. 21 - 27, 2013.

PERL-TREVES, R.; PERL, A. Oxidative stress: an introduction. In: _____. **Oxidative Stress in Plants**, 2002.

PINTO JUNIOR, A.S.; GUIMARÃES, V.F.; DRANSKI, J.A.L.; STEINER, F.; MALAVASI, M. M.; MALAVASI, U.C. Armazenamento de sementes de pinhão manso em diferentes embalagens e ambientes. **Revista Brasileira de Sementes**. v. 34, n. 4, p. 636 – 643. 2012.

RESENDE, M. L.; SALGADO, S. M. L.; CHAVES, Z, M. Espécies ativas de oxigênio na resposta de defesa de plantas a patógenos. **Revista Brasileira de Fitopatologia**, v. 28, n. 2, 2003.

ROBERTS, E.H. Predicting the storage life of seeds. Zurich: **Seed Science and Technology**. v. 1, p. 499 - 514, 1973.

RATREE, S. A preliminary study on physic nut (*Jatropha curcas* L.) in Thailand. **Pakistan Journal of Biological Sciences**. v.7, n.9, p.1620-1623, 2004.

SANTOS, H.O. **Conservação de sementes de mamona (*Ricinus communis* L.)**. Lavras, 2010. 104p. Dissertação (M.S.)-Universidade Federal de Lavras.

SANTOS, I.R.I. Criopreservação de germoplasma vegetal. **Revista Biotecnologia: Ciência & Desenvolvimento**, v.20, p. 60-65, 2001.

SANTOSO, B. B.; BUDIANTO, A.; ARYANA, I. M. Seed viability of *Jatropha curcas* in different fruit maturity stages after storage. **Nusantara Bioscience**. v. 4, n. 3, p. 113 – 117. 2012.

SAS. **SAS Programming 9.3**. Cary: SAS, 2009.

SILVA, L.J.; DIAS, D.C.F.S.; MILAGRES, C.C.; DIAS, L.A.S. Relationship between fruit maturation stage and physiological quality of physic nut (*Jatropha curcas* L.) seeds. **Revista Ciência e Agrotecnologia**. v. 36, n. 1, p. 39-44, 2012.

SOARES, A.M.S.; MACHADO, O.L.T. Defesa de plantas: sinalização química e espécies reativas de oxigênio. **Revista Trópica**, v.1, n.1, p. 9-19, 2007.

SOUZA, V.C.; BRUNO, R.L.A; ANDRADE, L.A. Vigor de sementes armazenadas de Ipê-amarelo *Tabebuia serratifoli* (VAHL.) NICH1. **Revista Árvore**. v. 29, n. 6, p. 833 - 841, 2006.

SUJATHA, M.; REDDY, T.P.; MAHASI, M.J. Role of biotechnological interventions in the improvement of castor (*Ricinus communis* L.) and *Jatropha curcas* L. **Biotechnology Advances**, v.26, p.424 - 435, 2008.

SUNG, J.M. Lipid peroxidation and peroxide scavenging in soybean seeds during ageing. **Physiologia Plantarum**. v. 97, n. 1, p. 85-89, 1996.

SUNG, J.M.; JENG, T.L. Lipid peroxidation and peroxide-scavenging enzymes associated with accelerated aging of peanut seed. **Physiology Plantarum**. v. 91, n. 1, p. 51-55, 1994.

SUNG, J.M.; CHIU, C.C. Lipid peroxidation and peroxide-scavenging enzymes of naturally aged soybean seed. **Plant Science**, Clare, v. 110, n. 1, p. 45-52, 1995.

STEWART, R.R.C.; BEWLEY, J.D. Lipid peroxidation associated with accelerated aging of soybean axes. **Plant Physiology**. v. 65, n. 2, p. 245-248, 1980.

STANWOOD, P.C. Cryopreservation of seed germplasm for genetic conservation In: KARTHA, K.K (ed). **Cryopreservation of plant cells and organs**. Boca Rotan: CRC Press, 1985, p.199-225.

TAPANES, N.O.; ARANDA, D.A. G.; CARNEIRO, J.W.M. **Transesterificação dos glicerídeos do óleo de *Jatropha curcas* L.**: estudo teórico. Disponível em: <http://www.biodiesel.gov.br/docs/congressso2006/producao/Glice27.pdf>. Acesso em: 20 dez. 2012.

TEOFILO, E. M. et al. Qualidade fisiológica de sementes de aroeira (*Myracrodruon urundeuva* ALL.) em função do tipo de embalagem, ambiente e tempo de armazenamento. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 35, n. 2, p. 371 - 376, 2004.

TOLEDO, F.F.; MARCOS FILHO, J. **Manual de sementes**: tecnologia da produção. São Paulo: Agronômica Ceres, 224 p. 1977.

TOMINAGA, N.; KAKIDA, J.; YASUDA, E. K.; SOUZA, L.A.; RESENDE, P.L.; SILVA, N.D. **Cultivo de pinhão manso para produção de biodiesel**. Viçosa, MG: CPT, 220 p. 2007.

WALTERS, C. Understanding the mechanisms and kinetics of seed aging. **Seed Science Reserch**, v. 8, n. 2, p. 223-244, 1998.

WILSON JR., D.O.; MCDONALD JR., M.B. The lipid peroxidation model of seed ageing. **Seed Science and Technology**, v.14, n.2, p.269-300, 1986.

WORANG, R.L.; DHARMAPUTRA, O.S.; SYARIEF, R.; MIFTAHUDIN, S. The quality of physic nut (*Jatropha curcas* L.) seeds packed in plastic material during storage. **Biotropia**. v.15, n.1, p.25 - 36, 2008.