

MARIA ISABEL DE LIMA SILVA

**ALTERAÇÕES FISIOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS EM  
SEMENTES DE PIMENTA (*Capsicum baccatum* L.), cv.  
DEDO-DE-MOÇA EM FUNÇÃO DO ESTÁDIO DE  
MATURAÇÃO DOS FRUTOS**

MOSSORÓ – RN  
2013

MARIA ISABEL DE LIMA SILVA

**ALTERAÇÕES FISIOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS EM  
SEMENTES DE PIMENTA (*Capsicum baccatum* L.), cv.  
DEDO-DE-MOÇA EM FUNÇÃO DO ESTÁDIO DE  
MATURAÇÃO DOS FRUTOS**

Tese apresentada à Universidade Federal Rural do  
Semi-Árido, como parte das exigências para obtenção  
do título de Doutora em Agronomia: Fitotecnia.

ORIENTADOR:

Prof. D.Sc. SALVADOR BARROS TORRES

CO-ORIENTADOR:

Prof. D.Sc. EDUARDO LUIZ VOIGT

MOSSORÓ – RN  
2013

**Ficha catalográfica preparada pelo setor de classificação e  
catalogação da Biblioteca “Orlando Teixeira” da UFERSA**

S581a Silva, Maria Isabel de Lima.

Alterações fisiológicas e bioquímicas em sementes de pimenta (capsicum baccatum L.), cv. Dedo-de-moça em função do estágio de maturação dos frutos. / Maria Isabel de Lima Silva -- Mossoró-RN: 2013.

60f.: il.

Tese (Pós-graduação em Fitotecnia) – Universidade Federal Rural do Semi-Árido. Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação.

Orientador: Prof<sup>o</sup>. Dr. Salvador Barros Torres

Coorientador: Prof<sup>o</sup>. Dr. Eduardo Luiz Voigt

1.Capsicum baccatum. 2.Índice de maturação. 3.Substâncias de reserva. 4.Época de colheira. I.Título

CDD:635.6433

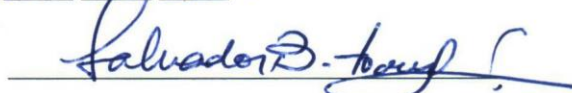
Bibliotecária: Marilene Santos de Araújo  
CRB-5/1033

MARIA ISABEL DE LIMA SILVA

**ALTERAÇÕES FISIOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS EM  
SEMENTES DE PIMENTA (*Capsicum baccatum* L.), cv.  
DEDO-DE-MOÇA EM FUNÇÃO DO ESTÁDIO DE  
MATURAÇÃO DOS FRUTOS**

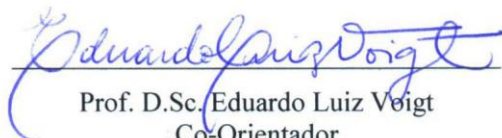
Tese apresentada à Universidade Federal Rural  
do Semi-Árido, como parte das exigências para  
obtenção do título de Doutora em Agronomia:  
Fitotecnia.

APROVADA EM: 28 / 02 / 2013.



Prof. D.Sc. Salvador Barros Torres  
Orientador

Empresa de Pesquisa Agropecuária do Rio Grande do Norte – EMPARN  
Universidade Federal Rural do Semi-Árido – UFERSA



Prof. D.Sc. Eduardo Luiz Voigt  
Co-Orientador

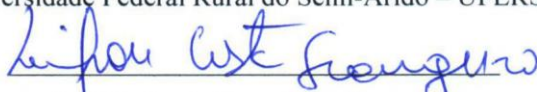
Universidade Federal do Rio Grande do Norte – UFRN



Prof. D.Sc. Sebastião Medeiros Filho  
Universidade Federal do Ceará – UFC



Prof. D.Sc. Clarisse Pereira Benedito  
Universidade Federal Rural do Semi-Árido – UFERSA



Prof. D.Sc. Leilson Costa Grangeiro  
Universidade Federal Rural do Semi-Árido – UFERSA

*A meus amados pais José Alves e Francisca,  
por uma vida inteira de dedicação, trabalho, amor,  
carinho, renúncias e pelo zelo com que cuidam de mim ...  
A eles meu eterno amor e gratidão!!!*

*A minha querida irmã Isabelle Joyce por ser um dos mais  
belos exemplos de ser humano que conheço...*

*A meu filho, meu pequenino Matheus que me faz sentir a  
pessoa mais especial do mundo sempre que diz que me  
ama do "tamanho do infinito"...*

*A Côca por ter auxiliado meus pais nos cuidados comigo  
desde a infância até os primeiros anos da vida adulta...*

*Às minhas tias Margarida e Zefinha pela torcida e pelas  
orações ...*

### *Dedico*

*A meu amado Leonardo Barreto Tavella, por todo amor  
a mim dedicado, por me fazer tão feliz*

### *Ofereço*

## AGRADECIMENTOS

A Deus pelas bênçãos gratuitamente concedidas.

À Universidade Federal Rural do Semi-Árido – UFERSA, pela oportunidade de realização do curso de pós graduação.

À Coordenação de aperfeiçoamento de pessoal de nível superior – CAPES pela concessão da bolsa de estudos.

Ao professor Salvador Barros Torres, pela eficiente orientação, por acreditar em mim, valorizar minhas opiniões e, sobretudo por me dar a mão no momento em que mais precisei.

Ao professor Eduardo Luiz Voigt pela excelente receptividade no Laboratório de Biotecnologia Vegetal, pelos conhecimentos transmitidos com tanta simplicidade, por tamanha paciência e dedicação.

Ao professor Leilson Costa Grangeiro pelo valioso auxílio na condução do experimento em campo.

Aos funcionários da Horta didática da UFERSA (Seu Antônio, Nanan, Josimar e Seu Alderí) pela ajuda na condução do experimento.

A Professora Clarisse Pereira Benedito pela enorme presteza em servir.

A professora e amiga Damiana Cleuma de Medeiros por me receber gentilmente em sua residência durante minha permanência em Natal.

Ao amigo Isaías Porfírio pelo auxílio na elaboração e formatação da tese.

Ao amigo Elder Carlos Bezerra pela ajuda em todas as etapas do experimento.

A amiga Jussara Lima pelo enorme auxílio com as análises bioquímicas, pelo exemplo de coragem e determinação.

Aos colegas do Laboratório de Biotecnologia Vegetal, especialmente Emerson Medeiros e Danilo Flademir

As amigas Samara Sibelle, Christiane Cassimiro e Ana Kaline pelos bons momentos compartilhados e pela sinceridade da amizade.

A todos que tornaram possível a finalização de mais esta etapa.

Muito Obrigada!!!

## RESUMO

SILVA, Maria Isabel de Lima. **Alterações fisiológicas e bioquímicas em sementes de pimenta (*Capsicum baccatum* L.), cv. Dedo-de-moça em função do estágio de maturação dos frutos.** 2013. 60f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal Rural do Semiárido – UFRSA, Mossoró – RN, 2013.

A determinação do ponto ou intervalo adequado à colheita dos frutos para a produção de sementes de pimenta é fundamental para garantir o sucesso da produção, bem como para a obtenção de sementes de qualidade. Desde a maturidade fisiológica até o momento de sua utilização na sementeira, as sementes estão sujeitas à perda de qualidade, em virtude das mudanças fisiológicas e bioquímicas que passam a ocorrer. Diante disso, esta pesquisa teve por objetivo avaliar as alterações fisiológicas e bioquímicas em sementes de pimenta, variedade Dedo-de-moça, obtidas de frutos colhidos em diferentes estágios de maturação, para determinação do momento mais adequado à colheita das sementes. Para tanto, foi conduzido o experimento em campo, onde foram colhidos frutos aos 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80 e 90 dias após a antese (DAA). Os frutos foram avaliados em relação ao peso, comprimento, diâmetro e espessura da polpa. A qualidade física, fisiológica e bioquímica das sementes foi avaliada pelos seguintes testes e determinações: grau de umidade, massas da matéria fresca e seca de 100 sementes, peso de mil sementes, condutividade elétrica, emergência, índice de velocidade de emergência e velocidade de emergência; foram quantificados, lipídios neutros, proteínas solúveis, aminoácidos livres totais, açúcares solúveis totais, açúcares não-redutores e amido. Foi determinado ainda o perfil eletroforético para estabelecer o padrão qualitativo das proteínas nas sementes de pimenta nos diferentes estágios de maturação. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado. Para as variáveis peso, diâmetro, comprimento e espessura da polpa dos frutos foram utilizadas 30 repetições. Para o peso de mil sementes e as determinações bioquímicas, foram utilizadas oito e cinco repetições, respectivamente e os dados foram submetidos às análises de variância e regressão. Os frutos de pimenta cv. Dedo-de-moça alcançam maiores valores em peso e comprimento entre 40 e 50 DAA. O máximo acúmulo em massa seca de 100 sementes ocorreu a partir dos 40 DAA, permanecendo estável a partir de então. O mesmo ocorreu para o peso de mil sementes. Menores valores de condutividade elétrica foram encontrados nos estágios entre 50 e 70 DAA, épocas onde ainda verificaram-se altos valores para grau de umidade (37%; 31% e 26%), o que é esperado por se tratar de uma espécie de frutos carnosos. Maiores valores de emergência de plântulas foram encontrados nos estágios de 50 e 60 DAA. O acúmulo de reservas nutritivas e conteúdo de metabólitos exibiu de modo geral maiores valores nos estágios de maturação entre 50 e 60 DAA. A análise do perfil eletroforético das proteínas evidenciou a presença de cadeias polipeptídicas provavelmente constituintes das globulinas. Desta forma, conclui-se que sementes

de pimenta cv. Dedo-de-moça atingem a maturidade fisiológica entre 50 e 60 DAA, sendo este, o período recomendado para colheita dos frutos, visando a produção de sementes de alta qualidade fisiológica.

Palavras-chave: *Capsicum baccatum*; índice de maturação, substâncias de reserva; época de colheita.



## ABSTRACT

SILVA, Maria Isabel de Lima. **Physiological and biochemical alterations in pepper seeds, (*Capsicum baccatum* L.), cv. Dedo-de-moça in maturation state function of fruits.** 2013. 60f. Thesis (Ph.D. in Agronomy) – Universidade Federal Rural do Semiárido – UFERSA, Mossoró – RN, 2013.

The determination of the appropriate point or interval for the harvest of fruits for sweet pepper seed production is fundamental for success in production, as well as for obtaining quality seeds. From their physiological maturity period up to the moment they are used for sowing, the seeds are subject to loss of physiological quality due to the occurrence of biochemical and physiological changes. Thus, this research aimed to evaluate physiological and biochemical alterations in pepper seeds, cv. Dedo-de-moça, harvested at different maturation state, aiming to determine the physiological maturity of seeds and the adequate moment for seed harvest. An experiment was conducted in the field and fruits were harvested at 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80 e 90 days after anthesis (DAA). The fruits were appraised in relation to the weight, diameter, length and flesh thickness. The physiological and biochemical quality of seeds was assessed by following tests and determinations: water content, dry and fresh matter weight of 100 seeds, weight of thousand seeds, electrical conductivity, emergence, speed emergence index and speed emergence; were quantified neutral lipids, total soluble protein, free amino acids, total soluble sugar, non reducing sugars and starch. Electrophoretic profile of globulins was determinate by electrophoretic analysis. The experiment was conducted in completely randomized design, with thirty replications for biometric variables; five and eight replications for biochemical determinations and weight of thousand seeds, respectively, and the data were submitted to variance analysis and regression. The fruits reach higher values in weight and length between 40 and 50 DAA. The maximum accumulation in dry mass of 100 seeds occurred after 40 DAA, which remained stable thereafter. The same occurred in thousand seed weight. Minor electrical conductivity values were found in stages between 50 and 70 DAA, still times where there were high values for moisture content (37%, 31% and 26%), which is expected because it is a kind of fruit fleshy. Higher values of emergence were found at stages 50 and 60 DAA. The nutrient storage and content of metabolites showed generally higher values in the maturity stages between 50 and 60 DAA. The analysis of the electrophoretic profile of proteins demonstrated the presence of the constituent polypeptide chains probably globulins. Thus, it is concluded that pepper seeds cv. Dedo-de-moça reach physiological maturity between 50 and 60 DAA, which is the recommended period to harvest the fruit, aimed at producing high seed physiological quality.

Key-words: *Capsicum baccatum*; maturation index; reserve substances; harvest time.

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1- Resumo da Análise de Variância dos dados obtidos das avaliações de frutos de pimenta colhidos em diferentes estádios de maturação. Peso do fruto (PF), comprimento do fruto (CF), diâmetro do fruto (DF) e espessura da polpa (EP). Mossoró – RN, UFERSA, 2013..... 32
- Tabela 2- Resumo da Análise de Variância dos dados obtidos das avaliações de sementes de pimenta em diferentes estádios de maturação (EM). Grau de umidade (GU), massa fresca (MF), massa seca (MS), peso de mil sementes (PMS), Emergência (E), Índice de Velocidade de emergência (IVE), Velocidade de emergência (VE) e Condutividade Elétrica (CE). Mossoró - RN – UFERSA, 2013..... 33
- Tabela 3- Resumo da Análise de Variância dos dados obtidos das avaliações de sementes de pimenta em diferentes estádios de maturação. Aminoácidos Livres totais (AALT), Proteínas Solúveis (PS), Lipídios neutros (LN), Amido (A), Açúcares Solúveis totais (AST) e Açúcares não redutores (ANR). Mossoró – RN, UFERSA, 2013..... 34

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Frutos de pimenta, cultivar Dedo-de-Moça, colhidos aos 10DAA (A); 20DAA(B); 30DAA (C); 40 DAA (D); 50DAA (E); 60 DAA (F); 70DAA (G); 80DAA (H); 90DAA (I). Mossoró – RN, 2013.....	32
Figura 2 - Variáveis biométricas em frutos de pimenta, cv. Dedo-de-moça, colhidos em diferentes dias após a antese (DAA). Peso do fruto (A), Comprimento do fruto (B), Diâmetro do fruto (C), Espessura da polpa (D). Mossoró – RN, 2013.....	36
Figura 3 - Grau de umidade (%) de sementes de pimenta, cv. Dedo-de-moça, extraídas de frutos colhidos em diferentes dias após a antese (DAA). Mossoró – RN, 2013.....	38
Figura 4 - Massa fresca (MF), Massa seca (MS) (A) e Peso de mil sementes de pimenta (B), cv. Dedo-de-moça, extraídas de frutos colhidos em diferentes dias após a antese. Mossoró – RN, 2013.....	39
Figura 5 - Emergência (A), índice de velocidade de emergência (IVE) (B) e velocidade de emergência (VE) (C) de sementes de pimenta, cv. Dedo-de-moça, extraídas de frutos colhidos em diferentes dias após a antese. Mossoró – RN, 2013.....	41
Figura 6 - Condutividade elétrica em sementes de pimenta, cv Dedo-de-moça, extraídas de frutos colhidos em diferentes dias após a antese (DAA). Mossoró – RN, 2013.....	43
Figura 7 - Acumulação de reservas nutritivas em sementes de pimenta, cv. Dedo-de-moça, durante a maturação. Amido (A), proteínas solúveis (B), lipídios neutros (C). Mossoró – RN, 2013.....	45
Figura 8 - Perfil eletroforético das Proteínas solúveis presentes nas sementes de pimenta, cv.Dedo-de-moça, extraídas aos 10, 20, 30, 40, 50, 70 e 90 DAA.Mossoró–RN, 2013.....	46
Figura 9 - Conteúdo de metabólitos em sementes de pimenta, cv. Dedo-de-moça, durante a maturação. Aminoácidos livres totais (A); açúcares solúveis totais (B); açúcares não redutores (C) Mossoró – RN, 2013.....	48

## SUMÁRIO

### ALTERAÇÕES FISIOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS EM SEMENTES DE PIMENTA (*Capsicum baccatum* L.), cv. DEDO-DE-MOÇA EM FUNÇÃO DO ESTÁDIO DE MATURAÇÃO DOS FRUTOS

RESUMO

ABSTRACT

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	11
<b>2 REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	14
2.1 CARACTERÍSTICAS GERAIS.....	14
2.1.1 Classificação Taxonômica.....	14
2.2 IMPORTÂNCIA SÓCIO-ECONÔMICA.....	15
2.3 PRODUÇÃO DE SEMENTES.....	16
2.4 DESENVOLVIMENTO – MATURAÇÃO FISIOLÓGICA DE SEMENTES.....	17
2.4.1 Deposição de Reservas em Sementes.....	21
<b>3 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	24
3.1 ANÁLISES FÍSICAS E FISIOLÓGICAS.....	25
3.1.1 Grau de umidade.....	25
3.1.2 Massas fresca e seca de 100 sementes.....	25
3.1.3 Peso de 1000 sementes.....	26
3.1.4 Emergência de plântulas.....	26
3.1.5 Índice de velocidade de emergência (IVE) e Velocidade de emergência.....	26
3.1.6 Condutividade elétrica.....	26
3.2 DETERMINAÇÕES BIOQUÍMICAS.....	27
3.2.1 Lipídios neutros (LN).....	27
3.2.2 Proteínas Solúveis (PS).....	27
3.2.3 Aminoácidos livres totais (AALT), Açúcares Solúveis totais (AST) e Açúcares não redutores (ANR).....	28
3.2.4 Amido.....	29
3.2.5 Eletroforese de proteínas em gel de poliacrilamida sob condições desnaturantes (SDS-PAGE).....	30
3.3 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	30
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	31
<b>5 CONCLUSÕES</b> .....	51
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	52

## 1 INTRODUÇÃO

As pimentas pertencentes ao gênero *Capsicum* dominam o comércio das especiarias picantes, sendo consideradas símbolo da culinária mundial, que vem ganhando destaque, como alimento funcional, devido ao alto valor nutricional dos seus frutos, ricos em vitaminas A, C e E, carotenos, minerais fundamentais e substâncias antioxidantes (CONFORTI et al., 2007). Apesar de ocorrerem mais de 20 espécies diferentes do gênero no país, pouco se conhece sobre a fisiologia das pimentas, como também a exploração de suas potencialidades ainda é incipiente. (BEDUHN, 2010). No Brasil o cultivo das pimentas ocorre em praticamente todos os estados, sendo realizado por pequenos, médios e grandes produtores, além de se ajustar aos modelos de agricultura familiar e de integração pequeno agricultor-agroindústria (CARVALHO et al., 2009) . Sua importância sócio-econômica é destacada, por permitir a fixação de pequenos produtores rurais e suas famílias no campo, possibilitando a contratação sazonal de mão-de-obra durante o período de colheita e o estabelecimento de novas indústrias processadoras e, conseqüentemente, a geração de novos empregos (REIFSCHNEIDER; RIBEIRO, 2008).

Como toda espécie de planta propagada sexuadamente, o cultivo da pimenta deve se iniciar com a utilização de sementes de alta qualidade. Portanto, dentre os fatores que determinam a qualidade das sementes, o momento da colheita dos frutos é um dos requisitos que deve ser levado em consideração. O processo de maturação das sementes é fundamental, considerando que essas, normalmente, alcançam qualidade máxima no campo. Nesse sentido, torna-se imprescindível, o conhecimento do processo de maturação, principalmente no que se refere à definição da época ideal de colheita dos frutos, buscando diminuir a deterioração das sementes provocada pela permanência prolongada no campo, além de aumentar a produtividade das sementes, uma vez que com a colheita precoce em época inadequada pode haver grande prevalência de sementes imaturas. (VIDIGAL et al.,2009; RIBEIRO, 2004; FARIA et al, 2004).

As pimentas apresentam crescimento indeterminado, com florescimento e frutificação ocorrendo de forma contínua. Portanto, são encontrados na mesma planta frutos em diferentes estádios de maturação. Essa situação dificulta a determinação da época em que ocorre a maturidade fisiológica das sementes e o momento ideal para a colheita dos frutos, visando garantir a máxima qualidade fisiológica das sementes (VIDIGAL et al., 2009).

Em geral as sementes adquirem a máxima qualidade próximo à maturidade fisiológica, período em que, normalmente, ocorre o máximo acúmulo de massa seca, promovendo a formação completa dos sistemas bioquímico, morfológico e estrutural. Esta etapa é variável entre as espécies e, até mesmo dentre a mesma e nem sempre é de fácil detecção. Alguns trabalhos na literatura evidenciam este fato (MENDONÇA et al., 2008; BARBEDO et al., 1999; GOMES, 1995; ALVARENGA et al., 1991).

A maturação das sementes é um processo controlado geneticamente que compreende um conjunto de etapas sucessivas de preparação para o sucesso da germinação. Este processo se caracteriza pela síntese e acúmulo de reservas, as quais são posteriormente mobilizadas durante a germinação, sendo responsáveis pelo fornecimento de nutrientes e energia necessários para a manifestação das funções vitais das sementes. (GUTIERREZ et al., 2007; MARCOS FILHO, 2005).

As reservas das sementes têm basicamente duas funções que se relacionam com a manutenção e o desenvolvimento do embrião até a formação de uma plântula que apresente a capacidade de se manter autotrófica. Os principais compostos de reserva em sementes, que correspondem a carboidratos, lipídios e proteínas, podem funcionar como fonte de energia para manter processos metabólicos em funcionamento e/ou como fonte de matéria para a construção de tecidos vegetais que irão constituir a plântula. (BUCKERIDGE et al., 2004a). Várias pesquisas se dedicam ao estudo da relação entre os principais componentes de reservas e o conteúdo de metabólitos durante o processo de maturação em sementes de diferentes culturas, no que se refere ao entendimento de como eles são controlados metabolicamente durante o desenvolvimento das sementes (SALDIVAR et al., 2011; SUDA ; GIORGINI, 2000; HARTWIG et al., 1997; BASHA et al., 1976; HYMOWITZ et al., 1972).

Diante do exposto, torna-se evidente a necessidade de se produzir sementes de qualidade e a importância da pesquisa na elucidação dos aspectos relacionados ao desenvolvimento e à qualidade das sementes durante a fase reprodutiva da planta. Sendo assim, esta pesquisa objetivou monitorar as alterações fisiológicas e bioquímicas que ocorrem em sementes de pimenta, cultivar Dedo-de-moça obtidas de frutos colhidos em diferentes estádios de maturação, buscando determinar o período do desenvolvimento mais adequado à colheita dos frutos para obtenção de sementes de alta qualidade fisiológica.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 CARACTERÍSTICAS GERAIS

As espécies de pimentas do gênero *Capsicum* são plantas perenes, arbustivas, porém cultivadas como plantas anuais e caracterizadas agronomicamente como cultura olerícola (FILGUEIRA, 2007). A maioria das cultivares de pimentas plantadas no Brasil é considerada variedade botânica ou grupo varietal, com características de frutos bem definidas, sendo as principais: *C. frutescens* (malaguetas: malagueta, malagueta, malagueta e malagueta-amarela e tabasco); *C. chinense* (pimenta-de-cheiro, pimenta-de-bode, cumari-do-pará, biquinho, murupi e habanero); *C. annuum* var. *annuum*: pimenta doce, jalapeño, cayenne, serano e cereja; *C. baccatum* var. *pendulum*: dedo-de-moça e cambuci; *C. baccatum* var. *baccatum* e *C. baccatum* var. *praetermissum*: cumari. (MOREIRA et al., 2006).

#### 2.1.1 Classificação Taxonômica

Atualmente, considera-se que o gênero *Capsicum* e suas espécies se enquadram na seguinte taxonomia:

Divisão: Spermatophyta, Filo: Angiospermae, Classe: Dicotiledônea, Ramo: Malvales-Tubiflorae, Ordem: Solanales (Personatae), Família: Solanaceae, Gênero: *Capsicum*.



## 2.2 IMPORTÂNCIA SÓCIO - ECONÔMICA

As pimentas constituem importante segmento do setor de hortaliças, tanto para a agricultura, quanto para a indústria alimentícia. São especiais para a produção de condimentos, devido às características de coloração dos frutos e princípios ativos, que lhes conferem aroma e sabor (MOREIRA et al., 2006).

No Brasil, a produção de pimenta tem sido crescente, com cultivos em regiões de clima subtropical como no Sul, ou de clima tropical como no Norte e Nordeste. No país, seu cultivo é de grande importância, por proporcionar suas características de rentabilidade, principalmente quando o produtor agrega valor ao produto (conservas, molhos, geléias, páprica), quer por sua importância social ou, por empregar elevado número de mão-de-obra (NASCIMENTO et al., 2006).

As pimentas, em sua maioria, são cultivadas em pequenas unidades familiares, em áreas que variam de 0,5 hectare a 10 hectares, com baixo custo de insumos. As principais regiões brasileiras produtoras de pimenta são Sudeste e Centro-Oeste. E os principais estados produtores são Minas Gerais, Goiás, São Paulo, Ceará e Rio Grande do Sul. No que se refere à produção de sementes de pimenta, destacam-se como maiores produtores os estados de Pernambuco, Goiás, Rio Grande do Sul e Minas Gerais, sendo necessário recorrer à importação para suprir a demanda interna (NASCIMENTO et al., 2006).

Há grandes perspectivas e potencialidades do mercado de pimenta pela versatilidade de suas aplicações culinárias, industriais, medicinais e ornamentais. Apesar disso, as estatísticas mundiais de área cultivada, produção, exportação e consumo para pimentas são escassas e, geralmente, apresentam-se em conjunto com pimentão, dificultando o entendimento das perspectivas para esse mercado específico. (RUFINO; PENTEADO, 2006).

## 2.3 PRODUÇÃO DE SEMENTES

A qualidade da semente é mencionada como um dos principais fatores de sucesso de uma atividade agrícola propagada por semente, como a pimenteira. Teoricamente, o manejo e as características de um campo de produção de sementes de pimenta não diferem muito de um campo destinado à produção comercial, cujo manejo para a produção de sementes segue as mesmas exigências e tratos culturais do cultivo de pimentas para comercialização.

De modo geral, a produção de sementes de pimentas pode ocorrer nas mesmas regiões e sob as mesmas condições de clima e solo recomendadas para a produção de frutos para o comércio. É desejável, entretanto, que ocorra em época do ano com temperaturas e umidade relativas mais baixas. A baixa umidade relativa do ar, a baixa precipitação pluviométrica e um período de estiagem bem definido na fase de maturação dos frutos são primordiais para obtenção de sementes de alta qualidade (FREITAS et al., 2008)

Para os dois tipos de produção, a semeadura, obtenção de mudas, transplântio, adubação, controle de pragas, doenças e plantas espontâneas são práticas similares (FREITAS et al., 2008; NASCIMENTO et al., 2006). Além disso, diversos são os fatores que podem influenciar a qualidade das sementes desde a semeadura e, nas etapas pós-colheita, como também na extração, na secagem, no beneficiamento e no armazenamento.

A qualidade das sementes compreende características ou atributos próprios que determinam o seu valor. Os componentes da qualidade das sementes (genético, físico, fisiológico e sanitário) têm importância equivalente, mas os atributos fisiológicos têm recebido maior atenção.

Sementes de alta qualidade são responsáveis por possibilitar maior uniformidade de emergência e vigor das plântulas e maior produtividade final, constituindo, portanto, fator básico para o sucesso de uma horta ou lavoura comercial. (FREITAS et al., 2008).

Para obter sementes de alta qualidade, a determinação da época mais adequada à realização colheita constitui um critério fundamental. Nesse sentido, Vidigal et al., (2009) verificaram que colheitas precoces acarretam prejuízos à qualidade fisiológica das sementes, prejudicando a germinação, a emergência e o desenvolvimento das mudas de *Capsicum annuum*.

Em espécies que apresentam frutificação heterogênea, como é comum no gênero *Capsicum*, são encontrados frutos em diversos estádios de maturação distribuídos de maneira desigual nos ramos (PEREIRA; MANTOVANI, 2001) e assim, a posição na qual estão dispostos os frutos na planta, pode estar relacionada com diferentes estádios de desenvolvimento e maturidade dos frutos e sementes.

Além disso, sob os diferentes estratos da copa, diferentes quantidade e qualidade de luz incidem sobre as folhas, o que condiciona a produção e translocação de fotoassimilados de forma diferenciada entre as porções da copa e dos ramos. Este padrão de alocação parcial de nutrientes é observado em espécies que apresentam produção estendida (PEREIRA; MANTOVANI, 2001), como a pimenteira que pode estender a produção por mais de um ano (REIFSCHNEIDER; RIBEIRO, 2008). Nestes casos, os fotoassimilados são distribuídos em pulsos de maneira a suprir a planta nos diferentes estádios, à medida que a mesma solicita recursos para finalizar os processos de desenvolvimentos vegetativo ou reprodutivo, entre eles, o desenvolvimento dos frutos e sementes (PEREIRA; MANTOVANI, 2001). Desta forma, a posição que os frutos ocupam na copa e nos ramos pode estar relacionada ao desenvolvimento diferencial de frutos e à qualidade das sementes formadas (MENGARDA; LOPES, 2012).

#### 2.4 DESENVOLVIMENTO - MATURAÇÃO FISIOLÓGICA DE SEMENTES

De acordo com Carvalho e Nakagawa (2012), o desenvolvimento e a maturação das sementes são aspectos importantes a serem considerados na tecnologia de produção de sementes, pois entre os fatores que determinam a

qualidade das sementes se encontram as condições de ambiente predominantes na fase de florescimento/frutificação e a colheita na época adequada. Portanto, o conhecimento de como se processa a maturação das sementes é um dos principais fatores envolvidos é de fundamental importância para a orientação dos produtores de sementes, auxiliando no controle de qualidade, principalmente no que se refere ao planejamento e a definição da época ideal de colheita, visando qualidade e produtividade.

As sementes se desenvolvem a partir de óvulos fertilizados, ocorrendo a partir de então, diversas modificações em algumas características físicas e fisiológicas, como tamanho, teor de água, conteúdo de matéria seca, capacidade de germinação e nível de vigor até que a maturidade fisiológica seja atingida, momento em que cessa a translocação de assimilados da planta mãe para a semente (CARVALHO; NAKAGAWA, 2012).

De modo geral, o desenvolvimento das sementes pode ser dividido em três fases: histodiferenciação, onde são intensas as divisões celulares logo após a fertilização; assim, as sementes crescem em tamanho rapidamente, atingindo o máximo em período de tempo muito curto em relação à duração total do período de maturação; a segunda fase caracterizada pelo aumento no acúmulo de massa seca no endosperma e/ou embrião, seguida pela terceira fase, quando ocorre a secagem ou dessecação, caracterizada pela redução no teor de água da semente (BEWLEY; BLACK, 1994). Durante a fase de dessecação, a perda de água pelas sementes ortodoxas normalmente é acompanhada pela acumulação de compostos que estabilizam as membranas e biomoléculas, como açúcares não redutores e proteínas abundantes da embriogênese tardia (LEA, do Inglês *late embryogenesis abundant*) (BLACK et al., 2006). Faria et al. (2004) trabalhando com milho, evidenciaram o fato de a secagem induzir o aparecimento de bandas de proteínas LEA em sementes colhidas com altos teores de água. Observaram também menor intensidade de bandas nos estádios iniciais de desenvolvimento nas sementes de híbridos de milho, quando não submetidos à secagem.

Por ser dreno, as sementes recebem os produtos da fotossíntese, os quais são transformados e aproveitados para a formação de novas células, tecidos e

substâncias de reserva, o que resulta em aumento no conteúdo de matéria seca, representada por proteínas, açúcares, lipídios e outras substâncias, até atingir valor máximo, quando cessa a translocação planta-semente (DIAS, 2001).

Muitos estudos feitos com maturação de sementes de diversas espécies apontam o ponto de máximo conteúdo de matéria seca como o melhor e mais seguro indicativo de que as sementes atingiram a maturidade fisiológica. Segundo Demir e Ellis (1992), a maturidade fisiológica fica caracterizada como aquele ponto após o qual a semente não recebe mais nutrientes da planta mãe, cessando a conexão planta-semente. Neste ponto, geralmente, a qualidade fisiológica (germinação e vigor) da semente é máxima e a deterioração é mínima (CARVALHO; NAKAGAWA, 2012). A partir daí, a semente permanece ligada à planta apenas fisicamente. É preciso ressaltar os cuidados com a semente neste ponto, visto que o conteúdo de reservas é máximo e o grau de umidade ainda é muito alto (variando de 30 a 50%, dependendo da espécie). Assim, as reservas acumuladas podem ser consumidas pela respiração intensa da semente com grau de umidade tão elevado (DIAS, 2001).

É importante enfatizar que o ponto de máxima matéria seca representa a maturidade de massa, pois nem sempre neste ponto a qualidade será máxima, sendo preferível empregar o termo maturidade fisiológica para caracterizar o ponto onde a germinação e o vigor são máximos, o que pode ocorrer um pouco antes ou um pouco depois da maturidade de massa. O momento em que as sementes adquirem a máxima qualidade fisiológica é variável entre espécies e, até mesmo dentre a mesma, e nem sempre é de fácil detecção. Alguns trabalhos na literatura evidenciam este fato (ALVARENGA et al., 1991; PIETA FILHO; ELLIS, 1991; BARBEDO et al., 1999; OLIVEIRA et al., 1999; DIAS et al., 2006).

Pelo fato de não haver mais conexão vascular entre a semente e a planta mãe a partir do ponto de máximo acúmulo de massa seca, o grau de umidade que se mantinha em leve declínio, tende a partir de então, a reduzir drasticamente, até entrar em equilíbrio com o ambiente, comportamento típico das sementes ortodoxas. Esta secagem natural é uma estratégia importante para a sobrevivência, já que na medida em que perde água, as reações metabólicas da semente vão

diminuindo, de modo a evitar sua germinação ainda no fruto, a preservar as suas reservas acumuladas e, conseqüentemente, a sua qualidade. Assim, a partir da maturidade fisiológica, o teor de água decresce rapidamente até um ponto em que começa a oscilar de acordo com a umidade relativa do ar, o que indica que a partir daí a planta mãe não exerce mais influência sobre a umidade das sementes. No entanto, é importante que as condições de ambiente permitam esta rápida desidratação das sementes. A ocorrência de chuvas prolongadas e alta umidade relativa do ar nesta ocasião retardarão o processo de secagem natural, comprometendo a qualidade das sementes, que estarão sujeitas à deterioração no campo. (MARCOS FILHO, 2005; DIAS, 2001)

Os mecanismos de desidratação das sementes durante a maturação não são perfeitamente conhecidos. Alguns estudos sugerem a existência de um mecanismo passivo, em que a água é perdida principalmente por evaporação, a partir da superfície da semente; outros indicam a possibilidade da movimentação da água da semente para a planta, mediante processo ativo, como se houvesse uma sucção de água da semente pela planta durante a senescência (MARCOS FILHO, 2005).

Variações no teor de água no final da maturação são típicas de sementes contidas em frutos secos, que quando maduros apresentam-se desidratados, como ocorre com soja, feijão, milho, trigo, arroz e outros cereais. Sementes contidas em frutos carnosos, como a pimenta, tomate, pimentão, berinjela, maxixe, abóbora, entre outros, geralmente não passam pela fase de rápida desidratação, nem sofrem grandes oscilações no seu teor de água em função da umidade relativa no interior do fruto. Neste caso, elas se mantêm com alto grau de umidade protegidas dentro do fruto; inicia-se a partir de então, um período de armazenamento no campo, que pode ser prejudicial à semente já que ela que fica exposta às intempéries, o que se torna especialmente grave em regiões onde o final da maturação coincide com períodos chuvosos (DIAS, 2001).

Sendo assim, a colheita realizada por ocasião da maturidade fisiológica seria ideal, mas encontra uma série de problemas a serem contornados. Em virtude destas dificuldades, as sementes permanecem no campo até atingirem um nível de umidade adequado para a operação de colheita. Assim, o intervalo entre a

maturidade e a colheita pode variar de alguns dias a várias semanas, sendo que, neste período, as condições climáticas nem sempre são favoráveis para a preservação da qualidade das sementes, as quais ficam, então, sujeitas às flutuações diárias da umidade relativa do ar, o que pode causar deterioração. Desta forma, quanto maior o atraso na colheita, maior é a probabilidade de ocorrência de deterioração no campo (DIAS, 2001). O entendimento do processo de desenvolvimento/maturação das sementes, bem como as principais mudanças que ocorrem desde a sua formação até a maturidade fisiológica constitui um importante suporte para que os problemas típicos desta fase possam ser contornados e quando essas forem colhidas apresentem elevado padrão de qualidade. De acordo com Nascimento (2005), a utilização de sementes com altos índices de germinação e vigor leva a maiores chances de sucesso na produção hortícola, sendo este fator muito importante, devido ao alto custo das sementes disponíveis no mercado.

#### **2.4.1 Deposição de Reservas em Sementes**

O conteúdo de reservas em sementes maduras compõe-se por pelo menos dois ou três componentes de armazenamento, sendo estes sintetizados ao mesmo tempo durante o desenvolvimento da semente. Apesar disso, é dada maior ênfase aos processos de síntese e metabolização dos componentes majoritários de reserva, que são representados por carboidratos, lipídios e proteínas. Sabendo-se que as sementes produzem pelo menos dois tipos de reservas no mesmo tecido, ou em alguns casos três tipos em diferentes tecidos, torna-se evidente que as sementes possuem múltiplas capacidades bioquímicas de síntese. Este processo deve alocar assimilados para biossíntese de componentes de reserva em quantidades e proporções precisas. Uma característica que muito contribui com esse processo é a síntese que ocorre em diferentes compartimentos celulares (BEWLEY; BLACK, 1994).

Em sementes ortodoxas, o período de enchimento do grão é sucedido por um período de secagem e a sacarose, por ser o principal composto de transporte de carbono dos órgãos fotossintéticos até a semente em desenvolvimento, pode ser acumulada em quantidades apreciáveis. Os carboidratos de reserva incluem a sacarose e os oligossacarídeos da série rafínosica, o amido e os polissacarídeos de reserva de parede celular (BUCKERIDGE et al., 2004a). Os oligossacarídeos, principalmente da série rafínosica, mesmo em pequenas quantidades, são os primeiros tipos de reserva a serem metabolizados na fase inicial da germinação (BUCKERIDGE et al., 2004b ; BEWLEY; BLACK, 1994;). No entanto, sua principal função tem sido atribuída à propriedade de sementes ortodoxas, de estabilizarem suas membranas e, com isso, poderem permanecer secas por longo período, germinando normalmente depois.

O carboidrato de reserva mais encontrado nas sementes é o amido (KREIS; DOLL, 1980). Embora polissacarídeos de reserva de parede celular possam estar presentes, constituindo-se no principal carboidrato de reserva (BUCKERIDGE; REID, 1996). O amido é depositado em corpos subcelulares denominados grânulos de amido, localizados no interior de amiloplastos. Nos cereais, os grânulos de amido estão distribuídos pelo endosperma amiláceo, formado por células mortas na maturidade. Esses grânulos são constituídos por 50 a 75% de amilopectina e 20 a 25% de amilose, as quais são depositadas em camadas concêntricas semicristalinas (BEWLEY; BLACK, 1994).

Os lipídios de reserva são óleos ou triacilgliceróis (TAGs), os quais são armazenados em organelas denominadas oleossomos ou corpos lipídicos (CLs) (BEWLEY; BLACK, 1994). Os CLs são constituídos por uma monocamada de fosfolipídios associada a proteínas, circundando um cerne preenchido por TAGs. As proteínas associadas à monocamada de fosfolipídios correspondem às oleosinas, relacionadas à estabilidade dos CLs, e caleosinas, possivelmente envolvidas na fusão de membranas durante a biogênese dessas organelas. A biogênese dos CLs envolve a síntese de TAGs, oleosinas e caleosinas no retículo endoplasmático, o brotamento de pequenos CLs imaturos no citosol e fusão dessas vesículas até o estabelecimento das organelas maduras (FRANDSEN et al., 2001).



As proteínas de reserva armazenadas em sementes podem ser classificadas em quatro grupos, de acordo com a sua solubilidade. As albuminas são solúveis em água ou tampões diluídos com pH neutro; as globulinas são solúveis em soluções salinas; as prolaminas são solúveis em soluções alcoólicas com concentração de 70 a 90% (v/v); e as glutelinas são solúveis em soluções diluídas de ácidos ou bases (OSBORNE, 1924). As albuminas são comuns em dicotiledôneas, as globulinas são as principais proteínas de reserva em leguminosas, as prolaminas são predominantes em cereais e as glutelinas são características do trigo (BEWLEY; BLACK, 1994).

As proteínas de reserva são armazenadas em organelas chamadas corpos protéicos (CPs) e vacúolos de estocagem de proteínas (VEPs). A biogênese dos CPs envolve a síntese de prolaminas no retículo endoplasmático rugoso (RER), seguida pelo brotamento de vesículas que originam os CPs no citosol. Essas organelas podem ser incorporadas pelos vacúolos por autofagia. Em contraponto, durante a biogênese dos VEPs, as globulinas sintetizadas no RER são processadas no complexo de Golgi (CG), acumuladas em compartimentos pré-vacuolares (CPVs) e enviadas para os VEPs em formação por intermédio de vesículas (HERMAN; LARKINGS, 1999).

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido na Horta Didática da Universidade Federal Rural do Semi-Árido, (UFERSA), em Mossoró, RN, no período de janeiro a outubro de 2012. O município de Mossoró localiza-se na região semiárida do nordeste brasileiro, a 18 m de altitude e coordenadas geográficas 5°11' de latitude sul e 37°20' de longitude oeste (SILVA, 2004).

As análises físicas, fisiológicas e bioquímicas foram conduzidas no Laboratório de Análise de Sementes do Departamento de Ciências Vegetais na UFERSA em Mossoró-RN e no Laboratório de Estudos em Biotecnologia Vegetal do Departamento de Biologia Celular e Genética da Universidade Federal do Rio Grande do Norte, (UFRN), em Natal, RN.

O campo de produção de sementes foi instalado em solo classificado como Argissolo Vermelho-Amarelo e antes do preparo da área foram retiradas amostras de solo para realização da análise química no Laboratório de Fertilidade do Solo e Nutrição de Plantas do Departamento de Ciências Ambientais e Tecnológicas da UFERSA, obtendo-se os seguintes resultados: pH (água) =6,40; P=324,8 mg.dm<sup>-3</sup>; K=111,3 mg.dm<sup>-3</sup>; Ca= 4,30cmol.dm<sup>-3</sup>; Na=24,0 mg.dm<sup>-3</sup> e Mg= 0,80 cmol.dm<sup>-3</sup>.

As sementes de pimenta utilizadas foram da variedade Dedo-de-moça que, após a semeadura e obtenção das mudas em viveiro, foram transplantadas, quando apresentaram de quatro a seis folhas definitivas ou dez a quinze centímetros de altura, conforme recomendação de Cruz e Banci (2008). No campo, o preparo do solo constou de aração, gradagem, sulcamento à tração animal e aberturas de covas com auxílio de enxada. As mudas foram dispostas em espaçamento de 1,0 x 0,6m, sendo cultivadas de acordo com as recomendações de Filgueira (2007). As plantas foram tutoradas com o auxílio de estacas e adubadas de acordo com as recomendações da análise do solo e, também, com base nas informações de Ribeiro et al. (1999). O sistema de irrigação utilizado foi o de gotejamento.

Durante o ciclo da cultura, as flores foram etiquetadas no dia de sua antese e as colheitas dos frutos realizadas em conformidade com as idades pré

estabelecidas para os tratamentos, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80 e 90 dias após a antese ( DAA). Os frutos obtidos, em cada estágio de maturação, foram levados ao Laboratório de Análise de Sementes, onde foram registrados seus aspectos visuais através de fotografias. Foi mensurada também a massa média de fruto, utilizando – se trinta frutos para cada época, os quais foram pesados em balança analítica (0,001g), em seguida foram mensurados também os diâmetros, comprimentos e espessuras da polpa, em milímetros, com auxílio de um paquímetro digital, sendo os resultados expressos para cada variável em valores médios por frutos. Em seguida, as sementes foram extraídas dos frutos manualmente, lavadas em água corrente e colocadas para secar em peneira de nylon, à sombra por 24 horas. Após a secagem, as sementes foram tratadas com produto comercial Thiran (3g produto/kg de sementes), com exceção daquelas que foram destinadas à realização dos testes de condutividade elétrica e determinação do grau de umidade. As avaliações das sementes e dos frutos foram efetuadas através das análises físicas, fisiológicas e bioquímicas.

### 3.1 ANÁLISES FÍSICAS E FISIOLÓGICAS

**3.1.1 Grau de umidade** – duas subamostras de 100 sementes, recém -extraídas dos frutos, foram pesadas e colocadas em estufa a  $105 \pm 3^{\circ}\text{C}$ , durante 24 horas, sendo os resultados expressos em porcentagem (base úmida), conforme recomendações das Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009).

**3.1.2 Massas fresca e seca de 100 sementes** - determinadas juntamente com o grau de umidade das sementes (BRASIL, 2009). A massa seca das 100 sementes consistiu da média das duas subamostras de 100 sementes após secagem a  $105 \pm 3^{\circ}\text{C}$  por 24 horas, sendo os resultados expressos em gramas.

**3.1.3 Peso de 1000 sementes** - foram utilizadas oito subamostras de 100 sementes que foram pesadas em balança (0,001 g), sendo os cálculos efetuados conforme Brasil (2009) e os resultados expressos em gramas.

**3.1.4 Emergência de plântulas** – conduzida em casa de vegetação sob temperatura ambiente média diária de 30°C com quatro subamostras de 50 sementes, distribuídas em bandejas plásticas, contendo substrato comercial (fibra de coco). As irrigações foram realizadas sempre que necessário, e os resultados expressos em porcentagem de plântulas normais obtidas aos 17 dias após a semeadura.

**3.1.5 Índice de velocidade de emergência (IVE) e velocidade de emergência** – conduzidos semelhantemente à descrição anterior. Para determinação do IVE, foram realizadas contagens diárias, no mesmo horário, a partir do dia em que surgiram as primeiras plântulas, até aos 30 dias após a semeadura, conforme Maguire (1962). A Velocidade de emergência foi obtida em quantidade de dias requeridos para completa estabilização do número total de sementes emergidas.

**3.1.6 Condutividade elétrica** – foram utilizadas quatro subamostras de 50 sementes, com massas conhecidas, imersas em 25 mL de água destilada e mantidas em incubadora BOD, a 25°C, por 24 horas (VIDIGAL et al., 2008). Após esse período, a condutividade elétrica de cada solução foi determinada em condutímetro, e os resultados expressos em  $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$  de sementes (ISTA, 1995).

## 3.2 DETERMINAÇÕES BIOQUÍMICAS

### 3.2.1 Lipídios Neutros (LN)

A quantificação dos LN foi realizada pelo método gravimétrico utilizando n-hexano como solvente. Para tanto, amostras de sementes com aproximadamente 200 mg de massa seca foram pulverizadas em gral e pistilo, e os LN foram extraídos com 8 mL de n-hexano a 60°C, durante 5 h, sob agitação eventual. Em seguida, o sobrenadante foi transferido para tubos de plástico de massa conhecida. Após a evaporação do n-hexano a 80°C, a massa de lipídios foi calculada a partir da diferença entre a massa inicial e a final dos tubos e expressa em mg de LN/semente.

### 3.2.2 Proteínas Solúveis (PS)

A determinação das PS foi realizada de acordo com o método de Bradford (1976), utilizando albumina sérica bovina (BSA) como padrão. Para a extração das PS a partir das sementes, amostras com cerca de 200 mg de massa fresca foram maceradas durante 5 minutos com 1,5 mL de tampão Tris-HCl 100 mM pH 7,0 contendo NaCl 500 mM e 2-mercaptoetanol 2 mM. Após centrifugação a 10.000 xg por 10 minutos, os sobrenadantes foram coletados, e os precipitados foram reextraídos com 1 mL do tampão de extração por mais duas vezes. Ao final, os sobrenadantes foram reunidos, perfazendo 3,5 mL de extrato total por amostra. O conteúdo de PS das sementes foi expresso em µg de PS/semente.

### **3.2.3 Aminoácidos Livres Totais (AALT), Açúcares Solúveis Totais (AST) e Açúcares não Redutores (ANR)**

Para a extração de AALT, AST e ANR, amostras com cerca de 200 mg de massa fresca de sementes foram cortadas com bisturi em fragmentos de aproximadamente 2x2 mm e foram transferidas para tubos de vidro com tampa rosqueável contendo 5 mL de etanol 80% (v/v). Os tubos foram fechados hermeticamente e a extração foi realizada a 60°C por 30 minutos. Após a coleta dos sobrenadantes, os resíduos foram reextraídos com 5 mL de etanol 80% (v/v) sob as mesmas condições. Em seguida, os sobrenadantes foram reunidos, perfazendo 10 mL de extrato total por amostra, enquanto os resíduos foram utilizados para a extração e a determinação de amido.

A dosagem de AALT foi realizada pelo método de Peoples et al. (1989), com a utilização do reagente de ninidrina. Para cada determinação, foram adicionados 100 µL da amostra; 400 µL de água destilada; 250 µL de tampão citrato 200 mM pH 5,0; e 250 µL do reagente de ninidrina (1 mL de cianeto de potássio 10 mM; 59 mL de metoxietanol; 0,5 g de ninidrina). Os tubos foram vedados e incubados a 100°C, durante 15 minutos. Após resfriamento, foram adicionados 4 mL de etanol 50% (v/v) em cada amostra. As leituras foram realizadas a 570 nm, e a quantidade de AALT foi calculada de acordo com uma curva padrão de L-glutamina, sendo expressa em µmol de AALT/g de MS.

Para a dosagem de AST, foi utilizado o método de Dubois et al. (1956) com algumas modificações. Em cada determinação, foram adicionados 100 µL da amostra; 400 µL de água destilada; 500 µL de fenol 5% (m/v); e 2,5 mL de ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) 90% (v/v). A leitura foi realizada a 490 nm, e o cálculo da quantidade de AST foi baseado em uma curva padrão de D-glicose, sendo expressa em µmol de AST/g de MS. A dosagem de ANR foi realizada pelo método de Morris (1948) com algumas modificações, utilizando o reagente de antrona (YEMM; WILLIS, 1954; MORRIS, 1948). Em cada determinação, 100 µL da amostra; 800 µL de água destilada; e 100 µL de KOH 30% (m/v) foram pré-

incubados a 100°C, durante 10 minutos. Após resfriamento, 2,5 mL do reagente de antrona foram adicionados em cada amostra, e foi realizada incubação a 40°C, durante 15 minutos. A leitura foi realizada a 620 nm, e a quantidade de ANR das amostras foi calculada a partir de uma curva padrão de sacarose, sendo expressa em  $\mu\text{mol}$  de ANR/g de MS.

### **3 2.4 Amido**

A extração de amido foi realizada utilizando os resíduos da extração dos compostos solúveis de baixa massa molecular (AALT, AST e ANR). Para tanto, os resíduos foram macerados durante 5 minutos com 1,5 mL de ácido perclórico 30% (v/v). Após centrifugação a 10.000 xg, durante 10 minutos, os sobrenadantes foram coletados, e os precipitados foram reextraídos com 1 mL de ácido perclórico 30% (v/v) por mais duas vezes. Ao final, os sobrenadantes foram reunidos, perfazendo 3,5 mL de extrato total por amostra.

A dosagem de amido foi realizada com a utilização do reagente de antrona (YEMM; WILLIS, 1954; MORRIS, 1948). Para cada determinação, foram utilizados 100  $\mu\text{L}$  da amostra; 900  $\mu\text{L}$  de água destilada; e 2,5 mL do reagente de antrona. A leitura foi realizada a 620 nm, utilizando uma curva padrão de D-glicose. Os valores obtidos foram multiplicados pelo fator 0,9 para conversão em amido, segundo McCready et al. (1950), sendo expressos em mg de amido/semente.

### **3.2.5 Eletroforese de Proteínas em gel de Poliacrilamida sob Condições Desnaturantes (SDS-PAGE)**

Os ensaios de SDS-PAGE, em presença de 2-mercaptoetanol, foram conduzidos seguindo-se a técnica descrita por Laemmli (1970). As PS das sementes de pimenta foram separadas em géis de poliacrilamida 12% (m/v) sob condições de corrida de 200 Volts, 50 mA, durante 1:20h. A revelação dos géis foi feita utilizando-se o corante Azul Brillhante de Coomassie R-250 0,1% (m/v) em metanol 40% (v/v) e ácido acético 10% (v/v), durante 30 minutos. A descoloração foi realizada por meio de lavagens sucessivas em solução de metanol 40% (v/v) e ácido acético 10% (v/v). O gel foi digitalizado em sistema de captação de imagens.

### **3.3 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E ANÁLISE ESTATÍSTICA**

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com nove tratamentos. Para as variáveis biométricas, peso, diâmetro, comprimento e espessura da polpa dos frutos utilizaram-se trinta frutos. Para o peso de mil sementes foram utilizadas oito repetições de 100 sementes e para as determinações bioquímicas, utilizaram-se cinco repetições. Para as demais características, quatro repetições foram utilizadas.

Para demonstrar os dados referentes às determinações bioquímicas, não foi necessário ajustar os gráficos a nenhum modelo de função, haja vista tratar-se de fenômenos biológicos, os quais dificilmente podem ser descritos por uma única equação. Em razão disso, foram expressos nas figuras os valores das médias e dos desvios referentes a cada variável analisada.

As análises estatísticas foram processadas no software Sisvar 4.5 (FERREIRA, 2008) e os valores obtidos para cada variável foram submetidos à análise de variância e regressão.



#### **4 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Foram observadas diferenças significativas para todas as variáveis analisadas, conforme os dados apresentados nas tabelas 1, 2 e 3. A Figura 1 apresenta o aspecto visual dos frutos de pimenta, cv. Dedo-de-moça, colhidos aos 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80 e 90 dias após a antese (DAA). Dos 10 aos 30 DAA, os frutos apresentavam-se com coloração variando entre verde intenso e verde amarelado com pequenas manchas avermelhadas. A partir dos 40 DAA, houve completa mudança de coloração dos frutos, apresentando-se com pericarpo completamente vermelho.

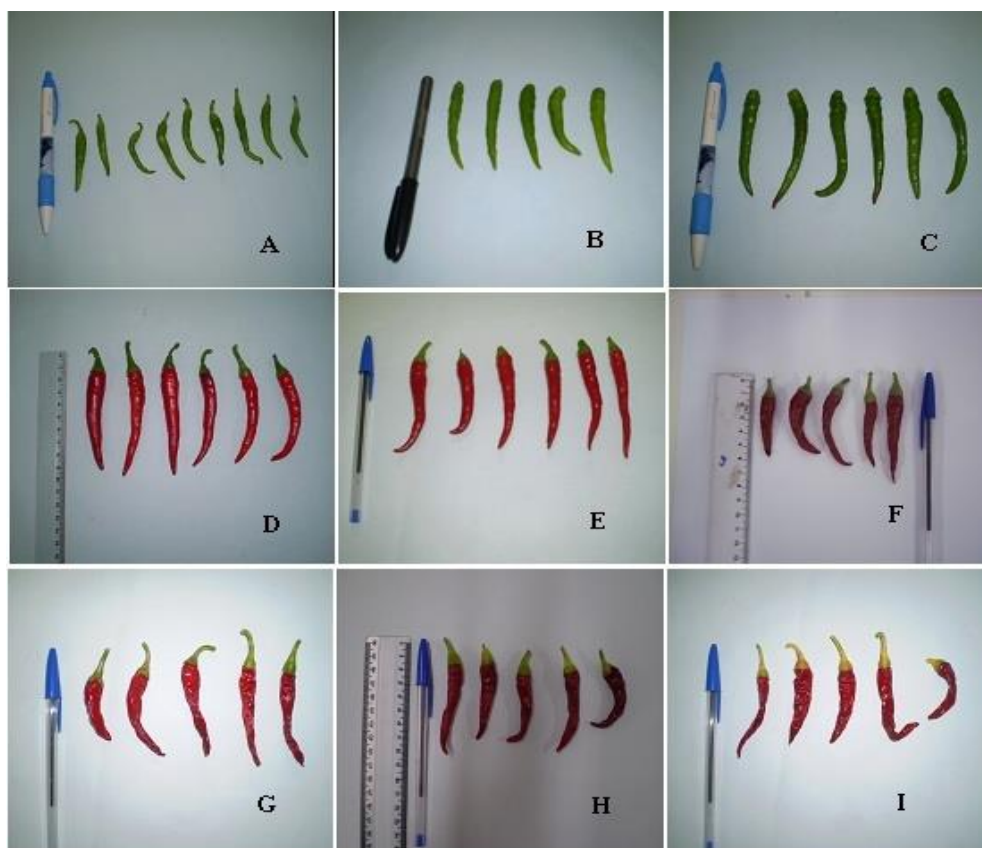


Figura 1 - Frutos de pimenta, cultivar Dedo-de-Moça, colhidos aos 10DAA (A); 20DAA(B); 30DAA (C); 40DAA (D); 50DAA (E); 60DAA (F); 70DAA (G); 80DAA (H); 90DAA (I). Mossoró – RN, 2013.

Tabela 1 - Resumo da Análise de Variância dos dados obtidos das avaliações de frutos de pimenta colhidos em diferentes estádios de maturação. Peso do fruto (PF), comprimento do fruto (CF), diâmetro do fruto (DF) e espessura da polpa (EP). Mossoró – RN – UFERSA. 2013.

Fontes de Variação	Teste F				
	GL	PF	CF	DF	EP
Estádios de maturação	8	62,83*	21,96*	17,13*	120,92*
ERRO	261	-	-	-	-
CV (%)	-	30,69	13,67	12,41	20,75
Média Geral	-	2,50	7,34	11,30	1,12

\*Teste F significativo a 5% de probabilidade.

Tabela 2 - Resumo da Análise de Variância dos dados obtidos das avaliações de sementes de pimenta em diferentes estádios de maturação (EM). Grau de umidade (GU), massa fresca (MF), massa seca (MS), peso de mil sementes (PMS), Emergência (E), Índice de Velocidade de emergência (IVE), Velocidade de emergência (VE) e Condutividade Elétrica (CE). Mossoró – RN – UFERSA. 2013.

Fonte de Variação	Teste F								
	GL	GU	MF	MS	PMS	E	IVE	VE	CE
Estádios de maturação	8	7058,55*	181,268*	1753,98*	37,04*	211,91*	131,62*	348,64*	798,16*
ERRO	27	-	-	-	-	-	-	-	-
CV (%)	-	1,39	2,32	2,11	8,08	10,97	14,56	8,22	9,43
Média Geral	-	43,87	0,73	0,42	0,69	44,44	1,82	8,67	1249,12

\*Teste F significativo a 5% de probabilidade.

Tabela 3 - Resumo da Análise de Variância dos dados obtidos das avaliações de sementes de pimenta em diferentes estádios de maturação(EM). Aminoácidos Livres totais (AALT), Proteínas Solúveis (PS), Lipídios neutros (LN), Amido (A), Açúcares Solúveis totais (AST) e Açúcares não redutores (ANR). Mossoró – RN – UFERSA. 2013.

Fonte de Variação	Teste F						
	GL	AALT	PS	LN	A	AST	ANR
Estádios de maturação	8	216,08*	207,08*	73,048*	122,80*	211,91*	131,62*
ERRO	27	-	-	-	-	-	-
CV (%)	-	35,98	59,71	0,21	0,11	10,97	14,56
MédiaGeral	-	27,95	122,77	0,31	0,25	44,44	1,82

\*Teste F significativo a 5% de probabilidade.

Na Figura 2A-D, observa-se que o peso máximo dos frutos (4,26 g) foi obtido aos 40 DAA, declinando a partir desta data. Nos estádios de 40 e 50 DAA, foram encontrados os maiores valores para comprimento de frutos com 8,78cm e 8,39cm, respectivamente, ocorrendo diminuição nos estádios seguintes. Os valores encontrados para diâmetro diferiram significativamente apenas nos frutos colhidos aos 10 DAA e, para a espessura da polpa, ocorreu redução ao longo dos períodos avaliados. Estas reduções nas características biométricas dos frutos devem estar relacionadas ao hábito de crescimento indeterminado da espécie, cujo tamanho dos frutos tende a estabilizar ou diminuir com o aumento da ordem de frutificação da planta. Nesse sentido, Dias et al. (2006) verificaram diferenças entre o peso dos frutos de tomate, em relação a ordem de frutificação na planta, observando que os frutos colhidos em racemos superiores, ou seja, mais tardios possuíam peso menor do que os colhidos no primeiro racemo. De acordo com Mengarda; Lopes (2012), a disposição dos frutos na planta pode ser um indicativo da maturidade se baseada na qualidade física das sementes. Estes autores trabalhando com *C. frutescens* (pimenta malagueta) observaram que os frutos posicionados na região basal e mediana da copa e dos ramos, apresentaram sementes de maior tamanho e maior

peso de mil sementes (maior massa seca de sementes). Também com pimenta, Vidigal et al. (2011) observaram aumentos mais expressivos no comprimento dos frutos entre os estádios de 40 e 45 DAA, permanecendo praticamente inalterado nos estádios seguintes. Tais reduções observadas nas características biométricas dos frutos de pimenta cv. Dedo-de-moça, podem ter ocorrido em virtude da perda de água decorrente da respiração dos frutos ainda sobre a planta. Resultados semelhantes foram encontrados por Oliveira et al. (1999) que obtiveram maior peso de frutos em pimentão aos 55 DAA e Nakada et al. (2011) que trabalhando com frutos de pepino, obtiveram maior peso dos frutos colhidos aos 45 DAA.

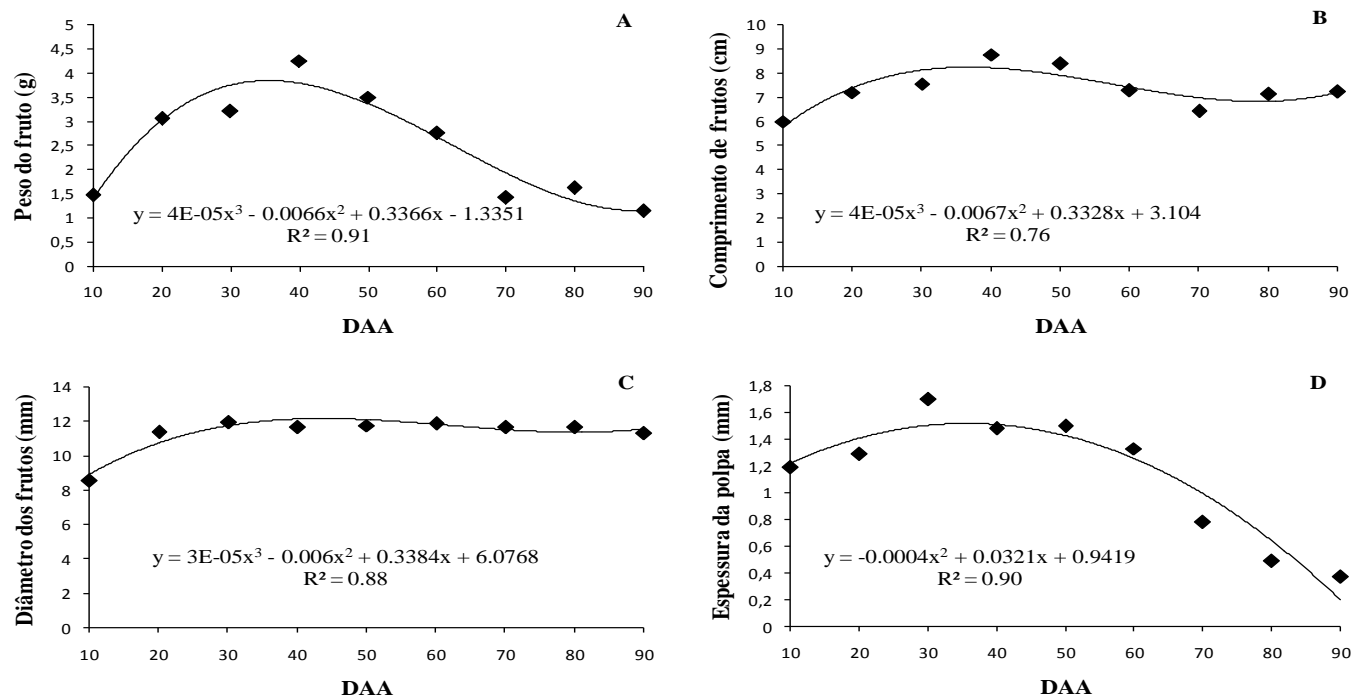


Figura 2 - Variáveis biométricas em frutos de pimenta, cv. Dedo-de-moça, colhidos em diferentes dias após a antese (DAA). Peso do fruto (A), Comprimento do fruto (B), Diâmetro do fruto (C), Espessura da polpa (D). Mossoró – RN, 2013.

O grau de umidade das sementes, para os nove estádios de maturação, variou de 90% (10 DAA) a 15% (90 DAA), mantendo-se contudo, elevado nos períodos próximos à maturidade fisiológica (entre 31% e 37%), mas de maneira geral, observa-se que o avanço dos estádios de maturação promoveu redução no teor de água das sementes (Figura 3). O elevado teor de água inicial na semente pode ser justificado pela necessidade da mesma sintetizar e metabolizar materiais de reserva que ocorrem em meio aquoso (MARROCOS et al., 2011). No entanto, por se tratar de um fruto carnoso, as sementes ao atingirem a maturidade fisiológica mantêm o teor de água elevado, tendendo a estabilidade, próximo à maturidade fisiológica (MARCOS FILHO, 2005). Nesse tipo de fruto, as sementes normalmente não passam pela fase de rápida desidratação, nem sofrem grandes oscilações no seu teor de água em função da umidade relativa no interior do fruto (DEMIR et al., 2002; DIAS, 2001).

Resultados semelhantes, também, foram obtidos por Albuquerque (2009) que ao trabalhar com híbridos de pimentão Magnata Super e Konan, encontrou valores de grau de umidade variando de 56% a 50% para todos os estádios de maturação dos frutos. Segundo Welbaum e Bradford (1988), embora seja bastante utilizado, o grau de umidade das sementes não é um indicador adequado de maturidade fisiológica, por sofrer influências ambientais e genéticas. Isso foi demonstrado por Demir e Ellis (1992) que, por ocasião da maturidade fisiológica, observaram valores diferentes para o teor de água das sementes de tomate, constatando valores de 53% e 72% em dois anos agrícolas estudados. Resultados nesse sentido também foram obtidos por Demir et al. (2002) em sementes de berinjela.

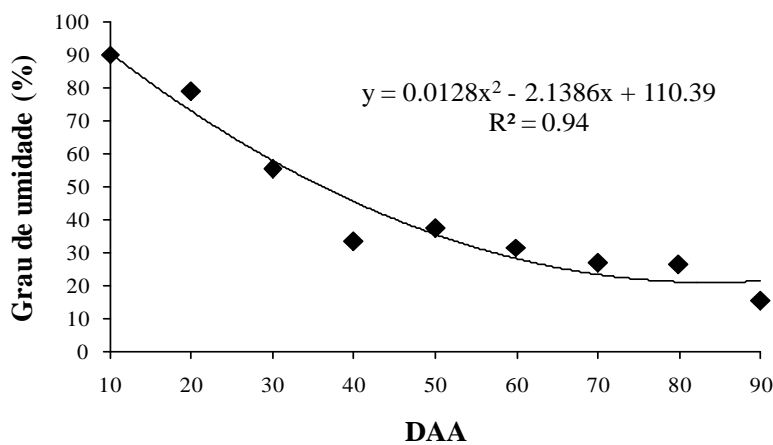


Figura 3 - Grau de umidade (%) de sementes de pimenta, cv. Dedo-de-moça, extraídas de frutos colhidos em diferentes dias após a antese (DAA). Mossoró – RN, 2013.

Na Figura 4 A-B, verifica-se que os maiores valores encontrados para massa fresca de 100 sementes e peso de mil sementes foram observados nos estádios entre 30 e 60 DAA, haja vista que nestes estádios de desenvolvimento, as sementes ainda se encontravam com elevado teor de água, variando de 55% a 31%. Nos estádios em que foram encontrados maiores valores para peso de 1000 sementes, também foram verificados maiores valores de massa seca de 100 sementes, tendo sido verificado aumento com a idade dos frutos, sendo os valores máximos encontrados nos estádios entre 40 e 60 DAA. Portanto, a partir dos 60 DAA, observou-se que o peso permaneceu estável, o que indica ter havido interrupção na translocação de assimilados da planta para as sementes, sendo este fato considerado um indicativo da maturidade fisiológica (DEMIR; ELLIS, 1992). Resultados semelhantes foram obtidos por Vidigal et al. (2011) com sementes de pimenta, cv. Amarela comprida e por Dias et al. (2006) e Ribeiro (2004) com sementes de tomate.



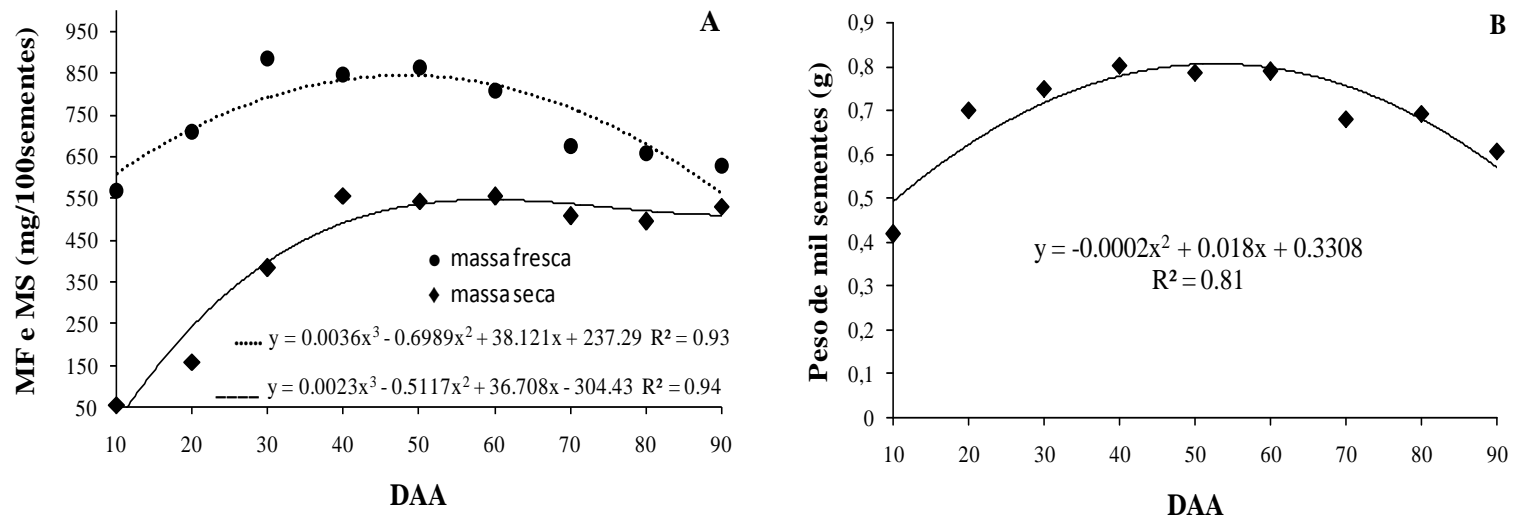


Figura 4 - Massa fresca (MF), Massa seca (MS) (A) e Peso de mil sementes de pimenta (B), cv. Dedo-de-moça, extraídas de frutos colhidos em diferentes dias após a antese. Mossoró – RN, 2013.

A emergência de plântulas aos 10, 20 e 30 DAA foi nula, ocorrendo germinação a partir de 40 DAA. A maior porcentagem de emergência ocorreu aos 80 DAA, alcançando 85%. Sendo assim, a emergência mais elevada foi obtida após o momento de maior acúmulo de massa seca das sementes, o qual se iniciou aos 40 DAA. Existem relatos de que sementes recém-colhidas de pimenta podem apresentar dormência (NASCIMENTO et al., 2006; BOSLAND; VOTAVA, 2000; LAKSHMANAN; BERKE, 1998;). Há diversos trabalhos evidenciando que a emergência das plântulas de pimentas é lenta e irregular mesmo sob condições favoráveis (GERSON; HONMA, 1978; RANDLE; HONMA, 1981; EDWARDS; SUNDSTROM, 1987; LAKSHMANAN; BERKE, 1998). Conforme Randle e Honma (1981), ao avaliarem sementes de 19 cultivares representantes de quatro espécies do gênero *Capsicum*, foram necessários de 14 a 23 dias para obter 50% de emergência das plântulas. Por sua vez, Belletti e Quagliotti (1989) relataram que é alta a porcentagem de sementes que não germinam até os 14 dias após a semeadura, podendo ser necessário um período de até 45 dias para que a maioria das sementes de um lote germine satisfatoriamente. Isto pode estar relacionado com a cultivar e também com as condições de cultivo, principalmente fatores climáticos na fase de maturação das sementes.

Em sementes de berinjela, Demir et al. (2002) verificaram aumento no percentual de emergência de plântulas em função das datas de colheitas, obtendo maiores valores aos 55 DAA (89%). O índice de velocidade de emergência apresentou melhores resultados aos 80 DAA, verificando-se o mesmo comportamento para velocidade de emergência, onde se verificou maior valor numérico aos 80 DAA (11 dias). Portanto, não diferindo dos valores encontrados em estádios de maturação mais precoces, tais como 60 DAA (13 dias) e 70 DAA (11 dias) (Figura 5A-C).

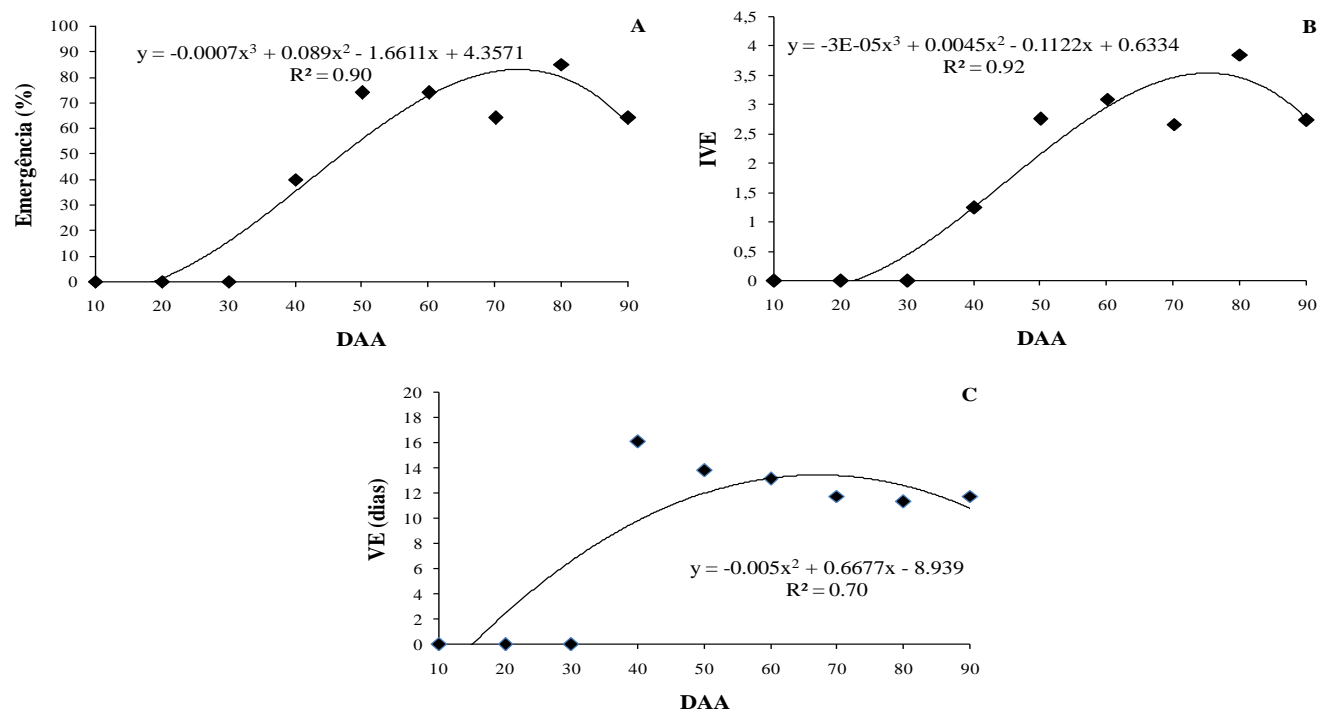


Figura 5 - Emergência (A), índice de velocidade de emergência (IVE) (B) e velocidade de emergência (VE) (C) de sementes de pimenta, cv. Dedo-de-moça, extraídas de frutos colhidos em diferentes dias após a antese. Mossoró – RN, 2013.

Com relação aos resultados do teste de condutividade elétrica, verificou-se que houve redução nos valores com a maturação dos frutos, indicando aumento no vigor das sementes de pimenta (Figura 6). Medeiros et al. (2010) com sementes de maxixe, verificaram que a condutividade elétrica decresceu à medida que aumentaram os dias para colheita dos frutos, sendo obtidos os valores de 2321,57  $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$  em sementes com 15 DAA e de 1556,19  $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$  aos 40 DAA.  $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$ . Em tomate, os valores de condutividade elétrica observados para sementes extraídas de frutos com idade de 60 DAA indicavam que as sementes já estavam completamente formadas (VIDIGAL et al., 2006). Já em pepino, Nakada et al. (2011) obtiveram os melhores resultados em sementes colhidas aos 30 DAA, observando-se valores de 71  $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$  aos 30 DAA e 16  $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$  aos 55 DAA.

Esses resultados indicam que inicialmente as sementes possuíam menor potencial fisiológico, liberando maior quantidade de lixiviados como consequência da menor estruturação e seletividade das membranas. Posteriormente, houve redução na lixiviação de solutos em decorrência da estruturação adequada das membranas celulares com a aproximação do ponto de maturidade fisiológica. De acordo com Dias et al. (2006), quando as sementes estão imaturas, a organização de suas membranas celulares ainda é deficiente e com a permanência das sementes nos frutos, estas vão se organizando de modo a reduzir a lixiviação dos solutos. Martins et al. (2012) afirmam que existe a possibilidade do sistema de proteção de membranas celulares ser ineficiente nos estágios iniciais do desenvolvimento, quando as membranas ainda não estão bem constituídas e que os processos de deterioração das membranas iniciam-se nos estágios mais avançados do desenvolvimento, momentos em que o sistema de membranas celulares também apresenta-se mal estruturado.

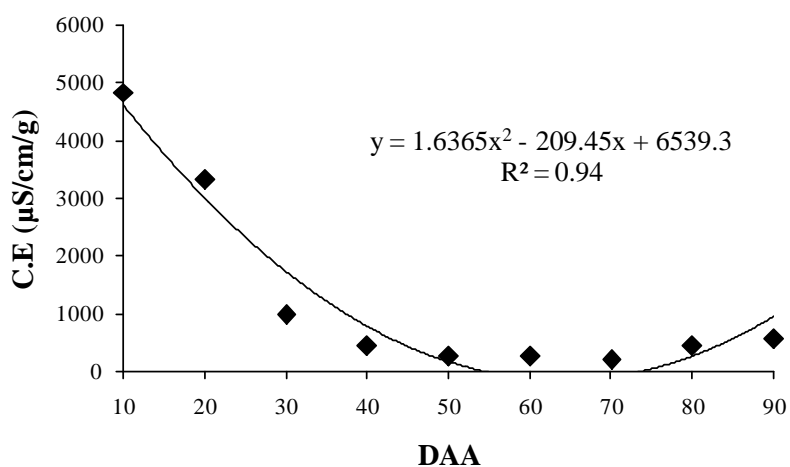


Figura 6 - Conduividade elétrica em sementes de pimenta, cv Dedo-de-moça, extraídas de frutos colhidos em diferentes dias após a antese (DAA). Mossoró – RN, 2013.

Nos estádios iniciais do desenvolvimento (10 DAA e 20 DAA) houve baixo acúmulo de reservas nas sementes, refletindo diretamente na germinação. Isso pode ser explicado pelo fato de que no início do desenvolvimento, logo após a fertilização, o acúmulo de matéria seca se processa de maneira lenta, havendo nesta fase inicial, predominância de divisões celulares, com aumento expressivo no número de células. Em seguida, verifica-se o aumento contínuo e rápido na matéria seca acompanhado por um aumento na germinação e no vigor, até atingir o máximo, podendo-se afirmar que, em geral, a semente deve atingir a sua máxima qualidade fisiológica quando o conteúdo de matéria seca for máximo (DIAS, 2001). Durante esta fase, o teor de água das sementes mantém-se elevado, decrescendo lentamente à medida que a água vai sendo substituída pelas reservas sintetizadas (CARVALHO; NAKAGAWA, 2012).

Na Figura 7A-C, identifica-se o padrão de acumulação das reservas nutritivas nas sementes de pimenta durante a maturação, percebendo-se de maneira geral que os maiores valores para deposição de amido e proteínas foram obtidos entre 40 e 60 DAA. Durante estes estádios, as sementes apresentaram máximo conteúdo de massa seca, máximos percentuais de emergência, e baixos valores referentes a

condutividade elétrica e grau de umidade, podendo-se considerar tais características como indicativas da maturidade fisiológica. Percebe-se que o teor de lipídios neutros foi crescente até os 30 DAA, decrescendo a partir de então e permanecendo praticamente inalterado nos demais estádios avaliados. A redução no teor de lipídios coincidiu com o início da germinação, o qual ocorreu aos 40 DAA e também coincidiu com o aumento no teor de amido dos 40 aos 60 DAA, indicando que os LN podem atuar como fontes de energia e esqueletos de carbono para a biossíntese do amido durante a maturação da semente. Assim, é possível que parte dos LN armazenados inicialmente seja consumida como substratos da respiração para o desenvolvimento da semente. Em paralelo, parte dos esqueletos de carbono gerados pode ter sido canalizada como precursores da gliconeogênese, permitindo a acumulação de amido (BLACK et al., 2006).

Os percentuais de reservas nutritivas nas sementes entre 40 e 60 DAA variaram em torno de 5 a 8% para LN, 2 a 3% para PS e 5 a 6% para amido, podendo-se inferir que as reservas de carbono são majoritariamente depositadas nas sementes de pimenta, cv. Dedo-de-moça, durante a fase de maturação. Estes resultados estão em concordância com aqueles relatados por Black et al. (2006) para sementes do gênero *Capsicum*.

O perfil de acumulação observado para os LN permite verificar uma correlação negativa em relação ao acúmulo das PS, ou seja, para os estádios em que houve maior deposição proteica, observou-se redução nos teores de lipídios neutros. Resultados semelhantes foram obtidos por Saldivar et al. (2011), Marega Filho et al. (2001) e Hymowitz et al. (1972), os quais verificaram o mesmo padrão de acumulação em genótipos de soja, comparando lipídios e proteínas. Levando em conta que parte dos LN deve ter sido remobilizada durante a fase de maturação (Fig. 7C), é possível que parte dos esqueletos de carbono oriundos dos LN tenha sido usada para a biossíntese de PS. Alguns trabalhos têm demonstrado a existência de vias alternativas de interconversão de ácidos graxos em esqueletos de carbono precursores de aminoácidos (BOREK et al., 2003; LEHMANN; RATAJCZAK, 2008; BOREK; RATAJCZAK, 2010).

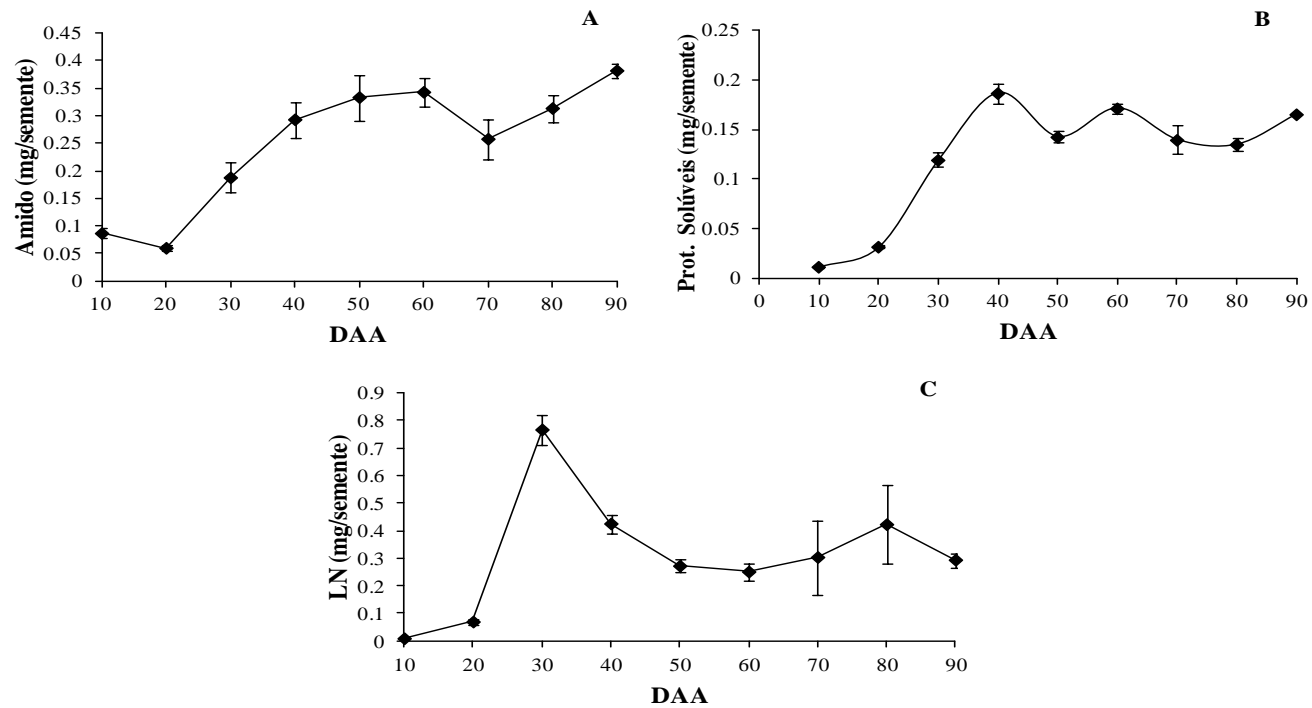


Figura 7 - Acumulação de reservas nutritivas em sementes de pimenta, cv. Dedo-de-moça, durante a maturação. Amido (A), proteínas solúveis (B), lipídios neutros (C). Mossoró – RN, 2013.

De acordo com o perfil obtido por eletroforese em gel de poliacrilamida sob condições desnaturantes e redutoras (SDS-PAGE com 2-mercaptoetanol) (Fig. 8), foi possível identificar, na população de PS, quatro cadeias polipeptídicas majoritárias com massa molecular aparente em torno de 55, 45, 35 e 20 kDa. É possível que as cadeias de 45, 35 e 20 kDa sejam constituintes das globulinas 11S de pimenta. Comumente, as sementes das dicotiledôneas armazenam globulinas 11S formadas por seis subunidades, cada qual composta por uma cadeia acídica e uma cadeia básica, cujas massas moleculares apresentam aproximadamente 40 e 20 kDa, nesta ordem (BLACK et al., 2006). Assim sendo, as cadeias de 45 e 35 kDa podem ser variantes da cadeia acídica, enquanto que a cadeia de 20 kDa pode corresponder à cadeia básica das globulinas 11S. Em concordância com os resultados obtidos para a quantificação das PS (Fig. 8B), é notável que a acumulação das cadeias de 45, 35 e 20 kDa se intensifica a partir 50 DAA.

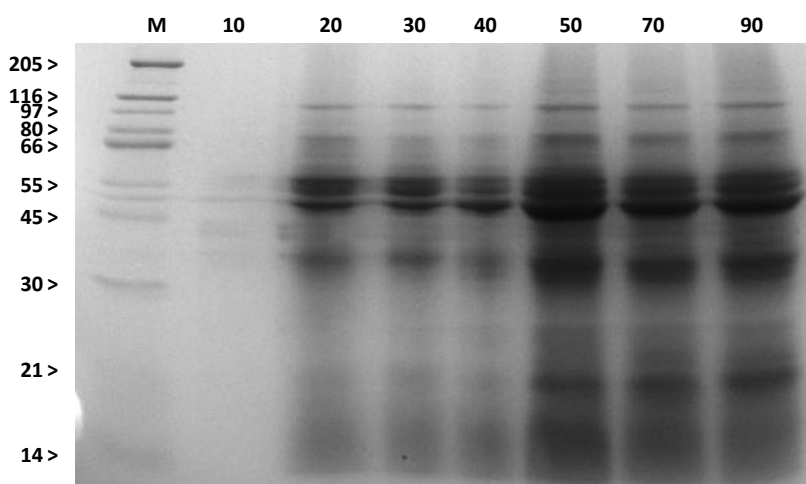


Figura 8 - Perfil eletroforético das PS presentes nas sementes de pimenta ao longo da maturação. As PS foram extraídas com tampão Tris-HCl 100 mM pH 7,0 contendo NaCl 500 mM e 2-mercaptoetanol 2 mM e submetidas a eletroforese em gel de poliacrilamida 12% (m/v) sob condições desnaturantes e redutoras (SDS-PAGE com 2-mercaptoetanol). As amostras incluem M (marcador de massa molecular) e as PS extraídas aos 10, 20, 30, 40, 50, 70 e 90 DAA. Mossoró –RN, 2013.



Houve declínio acentuado nos teores de AALT e AST até os 30 DAA (Figura 9 A e B), ambos permanecendo praticamente estáveis no decorrer das demais épocas avaliadas. Este padrão representa um indicativo da utilização desses metabólitos como precursores para biossíntese de reservas, ou seja, evidencia a alta capacidade das sementes em incorporar aminoácidos, açúcares e parte do esqueleto de carbono dos lipídios neutros em proteínas e amido durante a maturação. Os açúcares solúveis totais mensurados devem representar uma mistura complexa de monossacarídeos e oligossacarídeos, inclusive formas fosforiladas, com destaque às chamadas populações de trioses fosfato e hexoses fosfato, compostos chaves nos processos de biossíntese de carboidratos e outras biomoléculas (BUCHANAN et al., 2000)

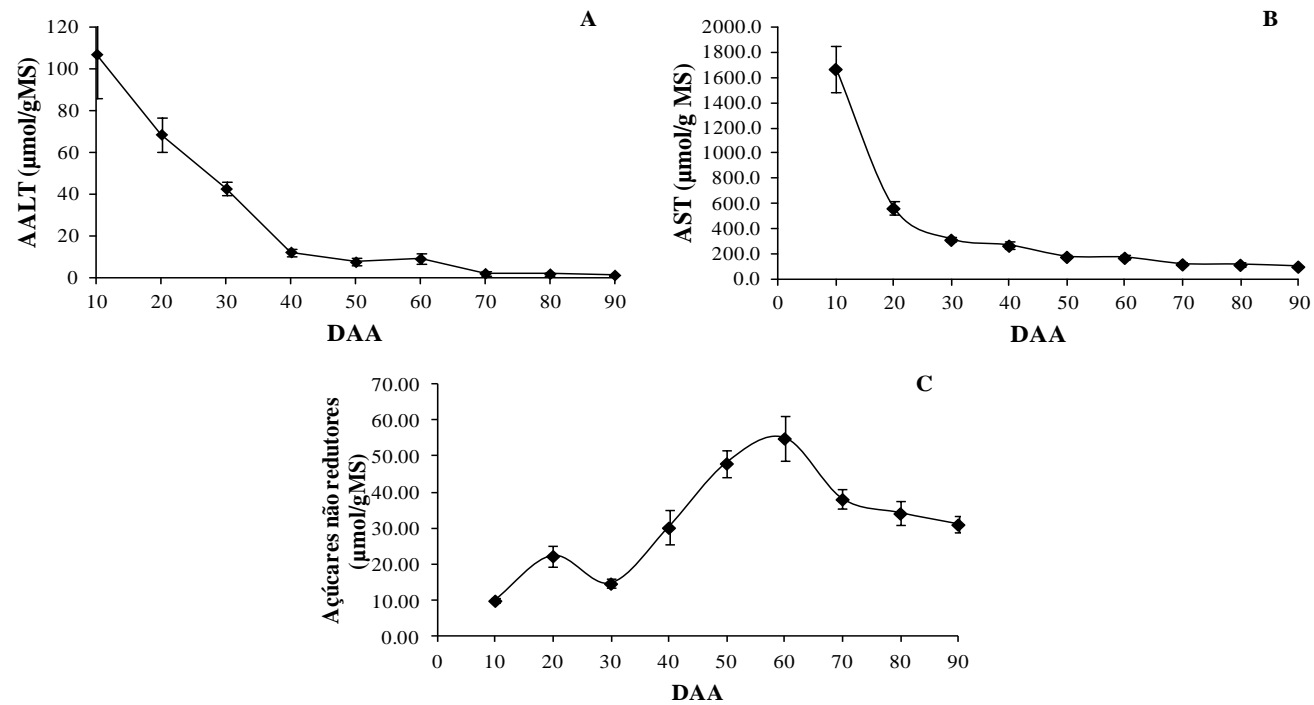


Figura 9 - Conteúdo de metabólitos em sementes de pimenta, cv. Dedo-de-moça, durante a maturação. Aminoácidos livres totais (A); Açúcares solúveis totais (B); Açúcares não redutores (C) Mossoró – RN, 2013.

A diminuição do conteúdo de AALT até os 40 DAA (Fig. 9) é acompanhada pelo aumento do conteúdo de PS (Fig. 7). Segundo estes resultados, as sementes de pimenta devem receber grande aporte de aminoácidos nos momentos iniciais do seu desenvolvimento, provavelmente durante a fase de histodiferenciação. Em seguida, estes aminoácidos devem ser incorporados em proteínas de reserva no decorrer da fase de maturação (BLACK et al., 2006). Resultados semelhantes foram encontrados por Basha et al. (1976) em amendoim, verificando o aumento na deposição de proteínas totais em paralelo com o declínio no conteúdo de AALT. Nossos resultados divergem, no entanto, daqueles obtidos por Cruz et al. (1970), que verificaram em arroz a proporcionalidade direta entre os níveis de AALT e o acúmulo de proteínas. Deve-se enfatizar, contudo, que os AALT não são exclusivamente incorporados em proteínas, servindo como precursores de ácidos orgânicos, hormônios e metabólitos secundários (HELDT; PIECHULLA, 2011).

De maneira similar ao padrão verificado para os AALT e as PS, a redução do conteúdo de AST até os 30 DAA (Fig. 10B) coincide com o aumento do conteúdo de amido (Fig. 7A), LN (Fig. 7B) e ANR (Fig. 9C). Novamente, as sementes de pimenta devem ter recebido grande aporte de açúcares durante a fase de histodiferenciação, possibilitando a sua incorporação nas reservas de carbono ao longo dos momentos seguintes da fase de maturação (BLACK et al., 2006). No entanto, o padrão de deposição de reservas de carbono parece ser mais complexo que o das reservas de nitrogênio.

Os AST devem ter sido utilizados mais intensamente como precursores dos LN durante o início da fase de maturação, haja vista que aos 30 DAA os lipídios constituíam a reserva majoritária nas sementes. Em paralelo, parte dos AST também deve ter sido incorporada sob a forma de amido. Da metade para o final da fase de maturação, deve ter ocorrido a remobilização de LN para a biossíntese de amido, como já foi discutido. No entanto, é importante salientar que o acúmulo de ANR neste mesmo período pode ser explicado pelo papel destes compostos durante a dessecação da semente. De fato, os ANR correspondem principalmente à sacarose e aos oligossacarídeos da série rafínosica, incluindo a própria rafinose e os

seus derivados, a estaquiose e a verbascose. Devido a sua estabilidade, estes açúcares podem ser armazenados como reservas de rápida mobilização durante a germinação, fornecendo energia para o reparo de estruturas danificadas pela embebição. Além disso, estes açúcares podem atuar na proteção da integridade das membranas e macromoléculas durante a fase de dessecação (BUCKERIDGE et al., 2004a).

## **5 CONCLUSÕES**

Os frutos de pimenta, cv. Dedo-de-moça, alcançam maiores valores em peso e comprimento entre 40 e 50 DAA;

O máximo acúmulo em massa seca de 100 sementes ocorreu a partir dos 40 DAA;

O acúmulo de reservas nutritivas e conteúdo de metabólitos exibiu maiores valores nos estádios de maturação entre 40 e 60 DAA;

Sementes de pimenta cv. Dedo-de-moça atingem a maturidade fisiológica entre 50 e 60 DAA, sendo este, o período recomendado para colheita dos frutos, visando a produção de sementes de alta qualidade fisiológica.

## REFERÊNCIAS

ALBUQUERQUE, K. S. **Aspectos fisiológicos e bioquímicos da maturação de sementes de pimentão**. 2009. 120 f. Tese (Doutorado em Fitotecnia)-Universidade Federal de Lavras.

ALVARENGA, E. M.; SILVA, R. F.; ARAÚJO, E. F.; CARDOSO, A. A. Maturação fisiológica de sementes de abóbora italiana. **Revista Brasileira de Sementes**, Viçosa-MG, v.13, n.2, p.147-150, 1991.

BARBEDO, C. J.; BARBEDO, A. S. C.; NAKAGAWA, J.; SATO, O. Efeito da idade e do repouso pós-colheita de frutos de pepino na semente armazenada. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.34, n.5, p.839-847, 1999.

BASHA, S. M. M.; CHERRY, J. P.; YOUNG, C. T. Changes in free amino acids, carbohydrates and proteins of maturing seeds from various peanut (*Arachis Hypogaea* L.) cultivars. **Cereal Chemistry**, v.53, n.4, p. 586-597, 1976.

BEDUHN, F. A. **Crescimento e fotossíntese em *Capsicum baccatum* L. e *Capsicum frutescens* L.** 2010. 56f. Tese (Doutorado em Fisiologia Vegetal) – Universidade Federal de Pelotas.

BELLETTI, P.; QUAGLIOTTI, L. Problems of seed production and storage of pepper. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM OF INTEGRATED MANAGEMENT PRACTICES, 1988, Tainan. **Proceedings...** Tainan: Taiwan, 1988. p. 28-41.

BEWLEY, J. D.; BLACK, M. **Seeds. Physiology of development and germination**. 2 ed. New York : Plenum Press,.1994  
BLACK, M.; BEWLEY, J. D.; HALMER, P. **The encyclopedia of seeds: science, technology and uses**. Wallingford: CAB International, 2006.

BOREK, S.; RATAJCZAK, W.; RATAJCZAK, L. A transfer of carbon atoms from fatty acids to sugars and amino acids in yellow lupine (*Lupinus luteus* L.) seedlings. **Journal of Plant Physiology**, v.160, p.539-545, 2003.

BOREK, S.; RATAJCZAK, L. Storage lipids as a source of carbon skeletons for asparagine synthesis in germinating seeds of yellow lupine (*Lupinus luteus* L.). **Journal of Plant Physiology**, v.167, p.717-724, 2010.

BOSLAND, P. W.; VOTAVA, E. J. **Peppers: vegetable and spice capsicums**. New Mexico State University, Las Cruces, 2000. 250 p.

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

BUCHANAN, B.B.; GRUISSEM, W.; JONES, R.L. **Biochemistry and Molecular Biology of Plants**. Rockville: American Society of Plant Physiologists, 2000.

BUCKERIDGE, M. S.; REID, J. S. G.. Major cell wall storage polysaccharides in legume seeds: Structure, catabolism and biological functions. **Ciência e Cultura Journal of the Brazilian Association for the Advancement of Science** v.48, n.3: p. 153-162, 1996.

BUCKERIDGE, M. S.; AIDAR, M. P. M.; SANTOS, H. P.; TINÉ, M. A. S. Acúmulo de Reservas. In: FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. **Germinação: do básico ao aplicado**. Alfredo Gui Ferreira e Fabian Borgheti (Eds.). Artmed, Porto Alegre p.31-50, 2004a.

BUCKERIDGE, M. S., SANTOS, H. P., TINÉ, M. A.; AIDAR, M. P. M. Mobilização de Reservas. In: FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. **Germinação: do básico ao aplicado**. Alfredo Gui Ferreira e Fabian Borgheti (Eds.). Artmed, Porto Alegre p.163-185, 2004b.

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

CARVALHO, S. I. C.; RIBEIRO, C. S. C.; HENZ, G. P. "BRS Mari": nova cultivar de pimenta dedo-de-moça para processamento. **Horticultura Brasileira**, v. 27, n. 4, p. 571-573, 2009.

CONFORTI, F.; STATTI, G.A.; MENICHINI, F. Chemical and biological variability of peper fruits (*Capsicum annum* var. *acuminatum* L.) in relation to maturity stage. **Food Chemistry**, v.102, p.1096-1104, 2007.

CRUZ, D. M. R.; BANCI, C. A. Produção de mudas e plantio. In: RIBEIRO, C. S.; LOPES, A. C.; CARVALHO, S. I.; HENZ, G. P.; REIFSCHNEIDER, F. J. B. (Ed.). **Pimentas *Capsicum***. Brasília: Embrapa Hortaliças, p. 73-80, 2008.

CRUZ, L. J.; CAGAMPANG, G. B.; JULIANO, B. O. Biochemical factors affecting protein accumulation in the rice grain. **Plant Physiol**, v.46, p: 743-747, 1970.

DIAS, D. C. F. S.: Maturação Fisiológica de sementes: o processo. **Seed news**, Pelotas, v.5, n.6, p. 22-24, 2001.

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

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

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

DUBOIS, M.; GILLES, K. A.; HAMILTON, J. K.; REBERS, P. A.; SMITH, F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analytical Chemistry**, v.28, p. 248-254, 1956.

EDWARDS, R. S.; SUNDSTROM, F. I. Afterripening and harvesting effects on tabasco pepper seed germination performance. **HortScience**, Alexandria, v. 22, n. 3, p. 473-475, 1987.



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

FERREIRA, D. F. SISVAR: um programa para análise e ensino de estatística. **Revista Symposium**, Lavras, v.6, p. 36-41, 2008.

FILGUEIRA, F. A. R. **Novo manual de olericultura**: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças. (3 ed.). Revista e ampliada, Viçosa: UFV, 2007. 421 p.

FRANDSEN, G. I.; MUNDY, J.; TZEN, J. T. C. Oil bodies and their associated proteins, oleosin and caleosin. **Physiologia Plantarum**, v.112, p.301-307, 2001.

FREITAS, R. A.; NASCIMENTO, W. M.; CARVALHO, S. I. Produção de sementes. In: RIBEIRO, C. S.; LOPES, A. C.; CARVALHO, S. I.; HENZ, G. P.; REIFSCHNEIDER, F. J. B. (Eds.). **Pimentas *Capsicum***. Brasília: Embrapa Hortaliças, 2008. p. 173-187.

GERSON, R.; HONMA, S. Emergence response of the pepper at low soil temperature. **Euphytica**, Dordrecht, v.27, n.1, p. 151-156, Feb. 1978.

GOMES, S. M. S. **Influência da idade, coloração externa e armazenamento dos frutos na qualidade de sementes de pepino (*Cucumis sativus* L.)**. 80f. Dissertação (Mestrado em fitotecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. 1995.

GUTIERREZ, L.; WUYTSWINKEL, O. V.; CASTELAIN, M.; BELLINI, C. Combined networks regulating seed maturation. **Plant Science**. v.12, n.7, 2007.

HARTWIG, E. E.; KUO, T. M.; KENTY, M. M. Seed protein and its relationship to soluble sugars in soybean. **Crop Science**, v.37, p.770–773, 1997.

HELDT, H. W.; PIECHULLA, B. **Plant Biochemistry**. 4<sup>th</sup> ed. Londres: Academic Press, 2011.

HERMAN, E. M.; LARKINS, B. A. Protein storage bodies and vacuoles. **The Plant Cell**, v.11, p.601-613, 1999.

HYMOWITZ, T., COLLINS, F. I., PANCZNER, J., WALKER, W. M. Relationship between the content of oil, protein, and sugar in soybean seed. **Agronomy Journal**, v.64, p. 613–616, 1972.

INTERNATIONAL SEED TESTING ASSOCIATION. **Handbook of vigour test methods**. 3. ed. Zurich: ISTA, 1995. 117 p.

KREIS, M.; DOLL, H. Starch and prolamin level in single and double high lysine barley mutants. **Physiologia Plantarum** v. 48 p. 139-143, 1980

LAKSHMANAN, V.; BERKE, T. G. Lack of primary seed dormancy in pepper (*Capsicum* spp.). **Capsicum and Eggplant Newsletter**, Turin, v. 17, p. 72-75, 1998.

LAEMMLI, U. K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. **Nature**, v.227, p.680-685, 1970.

LEHMANN, T.; RATAJCZAK, L. The pivotal role of glutamate dehydrogenase (GDH) in the mobilization of N and C from storage material to asparagine in germinating seeds of yellow lupine. **Journal of Plant Physiology**, v.165, p.149-158, 2008.

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

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

MAREGA FILHO, M.; DESTRO, D.; MIRANDA, L. A.; SPINOSA, W. A.; CARRÃO-PANIZZI, M. C.; MONTALVÁN, R. Relationships among oil content, protein content and seed size in Soybeans. **Brazilian Archives of Biology and Technology**. v.44, n.1, p. 23-32, 2001.

MARROCOS, S. T. P.; MEDEIROS, M. A.; GRANGEIRO, L. C.; TORRES, S. B.; LUCENA, R. R. M. Maturação de sementes de abobrinha menina brasileira. **Revista Brasileira de sementes**, v. 33, n.2, p. 272-278, 2011.

MARTINS, D. C.; VILELA, F. K. J.; GUIMARÃES, R. M.; GOMES, L. A. A. G.; SILVA, P. A. Physiological maturity of eggplant seeds. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 34, n.4, p.534-540, 2012.

MCCREADY, R. M.; GUGGOLZ, J.; SILVIERA, V.; OWENS, H. S. Determination of starch and amylose in vegetables. Application to peas. **Analytical Chemistry**, v.22, p.1156-1158, 1950.

MEDEIROS, M. A.; GRANGEIRO, L. C.; TORRES, S. B.; FREITAS, A. V. L. Maturação fisiológica de 299 sementes de maxixe (*Cucumis anguria* L.). **Revista Brasileira de Sementes**, Lavras, v. 32, n. 3, p. 17-24, 2010.

MENDONÇA, R. M.; LUZ, J. M. Q.; GARCIA, C.C. Qualidade de sementes de tomate colhidas em diferentes estádios de maturação, produzidas nos sistemas hidropônico e convencional. **FAZU em Revista**. Uberaba, n.5, p. 39-45, 2008.

MENGARDA, L. H. G.; LOPES, J. C. Qualidade de sementes e desenvolvimento inicial de plântulas de pimenta malagueta e sua relação com a posição de coleta de frutos. **Revista Brasileira de Sementes**. v.34, n.4, p. 644-650, 2012.

MOREIRA, G. R.; CALIMAN, F. R. B.; SILVA, D. J. H.; RIBEIRO, C. S. C. Espécies e variedades de pimentas. **Informe Agropecuário: Cultivo da pimenta**, Belo Horizonte, v.27, n.235, p-16, 2006.

MORRIS, D. L. Quantitative determination of carbohydrates with Dreywood's anthrone reagent. **Science**, v.107, p.111-114, 1948.

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

NASCIMENTO, W. M. Condicionamento osmótico em sementes de hortaliças visando à germinação em condições de temperaturas baixas. **Horticultura Brasileira**. v.23, n.2, p.211-214, 2005.

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

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

OSBORNE, T. B. **The vegetable proteins**. London: Longmans Green and Co., 1924.

PEOPLES, M. B.; FAIZAH, A. W.; REAKASEN, B.; HARRIDGE, D. F. **Methods for evaluating nitrogen fixation by nodulated legumes in the field**. Australian Centre for International Agricultural Research Caberra, p.76, 1989.

PEREIRA, T. S.; MANTOVANI, W. Maturação e dispersão de *Miconia cinnamomifolia* (dc). Naud. Na Reserva Biológica de Poço das Antas, município de Silva Jardim, RJ, Brasil. **Acta Botânica Brasílica**. V.15, n.3, p. 335-348, 2001.

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

RANDLE, M.; HONMA, S. Dormancy in peppers. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 14, p. 19-25, 1981.

REIFSCHNEIDER, F. J. B.; RIBEIRO, C. S. C. Cultivo. In: RIBEIRO, C. S.; LOPES, C. A.; CARVALHO, S. I.C; HENZ, G. P.; REIFSCHNEIDER, F. J. B. (Ed.). **Pimentas Capsicum**. Brasília: Embrapa Hortaliças, 2008. p.11-14.

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

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

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

SALDIVAR, X.; WANG, Y.; CHEN, P.; HOU, A. Changes in chemical composition during soybean seed development. **Food Chemistry**, p. 1369-1375, 2011.

SILVA, P. S. L.; MASQUITA, S. S. X; ANTÔNIO, R. P; BARBOSA E SILVA, P. I. Efeitos do número e época de capinas sobre o rendimento de grãos do milho. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 3, n. 2, p. 204-213, 2004.

SUDA, C. N. K.; GIORGINI, J. F. Seed reserve composition and mobilization during germination and initial seedling development of *Euphorbia heterophylla*. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v.12, n.3, p. 226-245, 2000.

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

VIDIGAL, D. S.; LIMA, J. S.; BHERING, M. C.; DIAS, D. C. F. S. Teste de condutividade elétrica para sementes de pimenta. **Revista Brasileira de Sementes**, Lavras, v. 30, n. 1, p. 168-174, 2008.

VIDIGAL, D. S.; DIAS, D. C. F. S.; PINHO, E. V. R. V.; DIAS, L. A. S. Alterações fisiológicas e enzimáticas durante a maturação de sementes de pimenta (*Capsicum annuum* L.). **Revista Brasileira de Sementes**, Lavras, v. 31, n. 2, p. 129-136, 2009.

VIDIGAL, D. S.; DIAS, D. C. F. S.; DIAS, L. A. S.; FINGER, F. L. Changes in seed quality during fruit maturation of sweet pepper. **Scientia Agricola.**, v.68, n.5, p. 535-539, 2011.

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

YEMM, E. W.; WILLIS, A. J. The estimation of carbohydrates in plant extracts by anthrone. **Biochemical Journal**, v.57, p.508-514, 1954.