

LAÉRCIO JUNIO DA SILVA

**ALTERAÇÕES FISIOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS EM SEMENTES DE
Jatropha curcas L. EM FUNÇÃO DO ESTÁDIO DE MATURAÇÃO DOS
FRUTOS E DO ARMAZENAMENTO**

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2014

LAÉRCIO JUNIO DA SILVA

**ALTERAÇÕES FISIOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS EM SEMENTES DE
Jatropha curcas L. EM FUNÇÃO DO ESTÁDIO DE MATURAÇÃO DOS
FRUTOS E DO 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
2014

**Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa**

T

S586a
2014
Silva, Laércio Junio da, 1984-
Alterações fisiológicas e bioquímicas em sementes de
Jatropha curcas L. em função do estágio de maturação dos
frutos e do armazenamento / Laércio Junio da Silva. – Viçosa,
MG, 2014.
xiii, 57f. : il. ; 29 cm.

Orientador: Denise Cunha Fernandes dos Santos Dias.
Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa.
Referências bibliográficas: f.52-57.

1. *Jatropha curcas*. 2. Sementes - Maturação. 3. Sementes -
Qualidade. I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de
Fitotecnia. Programa de Pós-graduação em Fitotecnia. II. Título.

CDD 22. ed. 633.85

LAÉRCIO JUNIO DA SILVA

**ALTERAÇÕES FISIOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS EM SEMENTES DE
Jatropha curcas L. EM FUNÇÃO DO ESTÁDIO DE MATURAÇÃO DOS
FRUTOS E DO 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: 07 de maio de 2014.

Prof^a. Beatriz Gonçalves Brasileiro

Prof. Eduardo E. de Lima e Borges

Prof. Eduardo Fontes Araújo

Prof. Luiz Antônio dos Santos Dias

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

À minha família, especialmente à minha esposa Carla do Carmo Milagres,

Dedico!

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Viçosa e ao Departamento de Fitotecnia, pela oportunidade de realização do curso.

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

À Professora Denise Cunha Fernandes dos Santos Dias, pela oportunidade, orientação, ensinamentos, apoio e amizade.

Aos professores do Departamento de Fitotecnia, em especial ao Professor Luiz Antônio dos Santos Dias e à Professora Eveline Alvarenga Mantovani, pelo apoio, ensinamentos e amizade.

A todos os integrantes do GSem, em especial aos doutorandos Marcelo Coelho Sekita, Glauter Lima Oliveira, Antônio César Mattos, Marcos Morais Soares e Paulo César Hilst, e aos estagiários Rubens Alves da Silva Júnior, Paulo Emídio Soriano e Hamilton Carvalho, pela ajuda na condução dos experimentos, companheirismo e amizade.

Ao laboratorista José Mauro Ferreira, pela ajuda na condução dos experimentos, companheirismo e amizade.

Ao laboratorista José Custódio e aos demais funcionários do Departamento de Fitotecnia, pelo apoio, amizade e agradável convívio.

Ao agricultor Paulo Afonso, por ter cedido a área em sua propriedade e as sementes para a execução do experimento.

A Antônio Carlos Milagres, Eva do Carmo Milagres e Ronaldo Izidoro Milagres, pelo apoio, incentivo, amizade e ajuda na coleta das sementes.

À minha esposa Carla do Carmo Milagres, pelo apoio, carinho, incentivo, compreensão e ajuda em todos os momentos.

A todos, que de alguma forma contribuíram para a execução desse trabalho.

Muito obrigado!

BIOGRAFIA

Laércio Junio da Silva, filho de Luiz Gonzaga da Silva e Maria Lúcia Fontes da Silva, nasceu no dia 6 de fevereiro de 1984, na cidade de Viçosa, MG.

Em 2003, iniciou o curso de graduação em Agronomia pela Universidade Federal de Viçosa, graduando-se em janeiro de 2008. Em agosto desse mesmo ano, iniciou o curso de Mestrado em Fitotecnia, concluindo-o em agosto de 2010, quando iniciou o curso de Doutorado em Fitotecnia, ambos na Universidade Federal de Viçosa, na área de Tecnologia e Produção de Sementes.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	vi
LISTA DE FIGURAS	viii
RESUMO	x
ABSTRACT	xii
INTRODUÇÃO GERAL	1
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	5
CAPÍTULO I - QUALIDADE FISIOLÓGICA E CONSERVAÇÃO DE SEMENTES DE <i>Jatropha curcas</i> L. OBTIDAS DE FRUTOS EM DIFERENTES ESTÁDIOS DE MATURAÇÃO	8
RESUMO	8
ABSTRACT	9
INTRODUÇÃO	9
MATERIAL E MÉTODOS	11
RESULTADOS E DISCUSSÃO	14
CONCLUSÕES	27
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	27
CAPÍTULO II - PEROXIDAÇÃO DE LIPÍDIOS E ATIVIDADE DE ENZIMAS ANTIOXIDATIVAS DURANTE O ARMAZENAMENTO DE SEMENTES DE <i>Jatropha curcas</i> L. OBTIDAS DE FRUTOS EM DIFERENTES ESTÁDIOS DE MATURAÇÃO	32
RESUMO	32
ABSTRACT	33
INTRODUÇÃO	33
MATERIAL E MÉTODOS	36
RESULTADOS E DISCUSSÃO	39
CONCLUSÕES	51
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	52

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I

Tabela 1. Grau de umidade (%) de sementes de <i>J. curcas</i> durante o armazenamento em função do estágio de maturação dos frutos.....	15
Tabela 2. Germinação (%) de sementes de <i>J. curcas</i> durante o armazenamento em função do estágio de maturação dos frutos.....	18
Tabela 3. Primeira contagem do teste de germinação (%) de sementes de <i>J. curcas</i> durante o armazenamento em função do estágio de maturação dos frutos. ...	18
Tabela 4. Germinação (%) de sementes de <i>J. curcas</i> no teste de envelhecimento acelerado durante o armazenamento em função do estágio de maturação dos frutos.....	19
Tabela 5. Germinação de sementes de <i>J. curcas</i> no teste de frio durante o armazenamento em função do estágio de maturação dos frutos.	21
Tabela 6. Condutividade elétrica ($\mu\text{S cm}^{-1} \text{ g}^{-1}$) de sementes de <i>J. curcas</i> durante o armazenamento em função do estágio de maturação dos frutos.	22
Tabela 7. Emergência (%) de plântulas oriundas de sementes de <i>J. curcas</i> durante o armazenamento em função do estágio de maturação dos frutos.	24
Tabela 8. Comprimento de plântulas (cm plântula^{-1}) de <i>J. curcas</i> oriundas de sementes submetidas ao armazenamento em função do estágio de maturação dos frutos.....	26
Tabela 9. Massa seca de plântulas (mg plântula^{-1}) de <i>J. curcas</i> oriundas de sementes submetidas ao armazenamento em função do estágio de maturação dos frutos.....	26

CAPÍTULO II

Tabela 1. Germinação (%) de sementes de <i>J. curcas</i> , durante o armazenamento, em função do estágio de maturação dos frutos.....	41
Tabela 2. Condutividade elétrica ($\mu\text{S cm}^{-1} \text{ g}^{-1}$) de sementes de <i>J. curcas</i> , durante o armazenamento, em função do estágio de maturação dos frutos.	42
Tabela 3. Conteúdo de malonaldeído (MDA) no embrião de sementes de <i>J. curcas</i> , durante o armazenamento, em função do estágio de maturação dos frutos. ..	43
Tabela 4. Conteúdo de proteína no embrião de sementes de <i>J. curcas</i> , durante o armazenamento, em função do estágio de maturação dos frutos.	45
Tabela 5. Atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) de eixos embrionários de sementes de <i>J. curcas</i> , durante o armazenamento, em função do estágio de maturação dos frutos.....	47
Tabela 6. Atividade da enzima peroxidase (POX) de eixos embrionários de sementes de <i>J. curcas</i> , em função do período de armazenamento, em função do estágio de maturação dos frutos.....	49
Tabela 7. Atividade da enzima peroxidase do ascorbato (APX) de eixos embrionários de sementes de <i>J. curcas</i> , durante o armazenamento, em função do estágio de maturação dos frutos.....	50

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I

- Figura 1.** Grau de umidade (%) de sementes de *J. curcas* colhidas em diferentes estádios de maturação dos frutos em função do período de armazenamento..... 14
- Figura 2.** Germinação de sementes de *J. curcas* colhidas em diferentes estádios de maturação dos frutos em função do período de armazenamento..... 17
- Figura 3.** Primeira contagem do teste de germinação de sementes de *J. curcas* colhidas em diferentes estádios de maturação dos frutos em função do período de armazenamento..... 17
- Figura 4.** Germinação de sementes de *J. curcas* no teste de envelhecimento acelerado colhidas em diferentes estádios de maturação dos frutos em função do período de armazenamento. 19
- Figura 5.** Germinação de sementes de *J. curcas* no teste de frio colhidas em diferentes estádios de maturação dos frutos durante o armazenamento..... 20
- Figura 6.** Condutividade elétrica de sementes de *J. curcas* colhidas em diferentes estádios de maturação dos frutos em função do período de armazenamento..... 22
- Figura 7.** Emergência de plântulas oriundas de sementes de *J. curcas* colhidas em diferentes estádios de maturação dos frutos em função do período de armazenamento..... 23
- Figura 8.** Comprimento de plântula de *J. curcas* oriundas de sementes colhidas em diferentes estádios de maturação dos frutos em função do período de armazenamento..... 25
- Figura 9.** Massa seca de plântulas de *J. curcas* oriundas de sementes colhidas em diferentes estádios de maturação dos frutos em função do período de armazenamento..... 25

CAPÍTULO II

- Figura 1.** Germinação de sementes de *J. curcas*, obtidas de frutos em diferentes estádios de maturação, em função do período de armazenamento..... 40
- Figura 2.** Condutividade elétrica de sementes de *J. curcas*, obtidas de frutos em diferentes estádios de maturação, em função do período de armazenamento..... 41
- Figura 3.** Conteúdo de malonaldeído (MDA) no embrião de sementes de *J. curcas*, obtidas de frutos em estádios de maturação, em função do período de armazenamento..... 43
- Figura 4.** Conteúdo de proteína no embrião de sementes de *J. curcas*, obtidas de frutos em diferentes estádios de maturação, em função do período de armazenamento..... 45
- Figura 5.** Atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) de eixos embrionários de sementes de *J. curcas*, obtidas de frutos em diferentes estádios de maturação, em função do período de armazenamento. 46
- Figura 6.** Atividade da enzima peroxidase (POX) de eixos embrionários de sementes de *J. curcas*, obtidas de frutos em diferentes estádios de maturação, em função do período de armazenamento..... 48
- Figura 7.** Atividade da enzima peroxidase do ascorbato (APX) de eixos embrionários de sementes de *J. curcas* obtidas de frutos em diferentes estádios de maturação, em função do período de armazenamento. 50

RESUMO

SILVA, Laércio Junio da, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, abril de 2014. **Alterações fisiológicas e bioquímicas em sementes de *Jatropha curcas* L. em função do estágio de maturação dos frutos e do armazenamento.** Orientadora: Denise Cunha Fernandes dos Santos Dias.

A espécie *Jatropha curcas* L. se destaca como promissora fonte de matéria-prima para a produção de biodiesel e bioquerosene. O sucesso para a exploração comercial dessa cultura depende da obtenção de sementes de elevada qualidade fisiológica. Todavia, esta espécie carece de pesquisas visando definir estratégias adequadas para a produção de sementes de alta qualidade. Nesse sentido, são escassas as informações referentes à conservação da qualidade fisiológica das sementes obtidas de frutos em diferentes estádios de maturação durante o armazenamento e também sobre a relação entre viabilidade das sementes, peroxidação de lipídios e atuação das enzimas do sistema de defesa antioxidativo. Dessa forma, o objetivo desse trabalho foi avaliar a qualidade fisiológica e investigar a atuação das enzimas do sistema de defesa antioxidativo e a peroxidação de lipídios durante o armazenamento de sementes de *J. curcas* obtidas de frutos em diferentes estádios de maturação. Durante a fase de florescimento das plantas, diariamente, flores femininas foram etiquetadas no dia da antese. Os frutos foram colhidos em diferentes estádios de maturação com base na coloração externa da casca, ou seja, amarelo, amarelo-marrom e marrom, aproximadamente aos 60, 70 e 80 dias após a antese, respectivamente. As sementes foram extraídas manualmente dos frutos e, após secagem natural, foram armazenadas por dezoito meses, em embalagem de papel Kraft em ambiente de laboratório ($23,2 \pm 2,7$ °C; $64 \pm 11\%$ de UR). Inicialmente e a cada três meses, as sementes foram avaliadas quanto ao grau de umidade, germinação, primeira contagem de germinação, envelhecimento acelerado, teste de frio, condutividade elétrica, emergência e crescimento de plântulas. Além disso, os embriões das sementes foram avaliados quanto à peroxidação de lipídios, conteúdo de proteínas e atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD), peroxidase (POX) e peroxidase do ascorbato (APX). Adotou-se o delineamento inteiramente casualizado, em esquema de parcelas subdivididas, com quatro repetições, comparando-se as médias obtidas para os estádios de maturação pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de significância. Os dados obtidos para cada época de avaliação foram submetidos à análise de regressão, com exceção dos dados bioquímicos, os quais foram expressos pela média \pm desvio padrão. Não foi observada diferença entre a germinação das sementes dos três estádios de maturação dos frutos durante todo o período de armazenamento. Houve redução da

qualidade fisiológica das sementes, com queda na germinação e no vigor, principalmente a partir de nove meses de armazenamento. As sementes extraídas de frutos com coloração da casca amarela e amarelo-marrom são mais vigorosas e mantêm por maior período de tempo a qualidade fisiológica. Além disso, houve redução no conteúdo de proteína e na atividade das enzimas do sistema de defesa antioxidativo no embrião das sementes dos três estádios de maturação, com exceção da SOD. Não foi observada relação entre a redução da viabilidade das sementes e a peroxidação de lipídios.

ABSTRACT

SILVA, Laércio Junio da, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, May, 2014. **Physiological and biochemical changes in *Jatropha curcas* L. seeds as a function of fruit maturation stage and storage.** Adviser: Denise Cunha Fernandes dos Santos Dias.

Jatropha curcas L. species has been listed as a promising source of raw material for biodiesel and bio-jet fuels production. The success of the commercial exploration of that culture depends on obtaining seeds with high physiological quality. However, this species lacks researches to define appropriate strategies for the production of high quality seeds. In this sense, there is little information relating to the conservation of the physiological quality of the seeds obtained from fruits at different maturation stages during storage and also about the relationship between seed viability, lipid peroxidation and activity of antioxidant enzymes. Thus, the aim of this study was to evaluate the physiological quality and investigate the activities of enzymes of the antioxidant defense system and the lipid peroxidation during storage of *J. curcas* seeds obtained from fruits at different maturation stages. At the flowering, daily, female flowers were tagged at anthesis. Fruits were collected at different maturity stages based on external color, i.e., yellow, yellow-brown and brown, about 60, 70 and 80 days after anthesis, respectively. The seeds were manually extracted from the fruits and after natural drying, were packing in Kraft paper bag and stored for 18 months at laboratory environment (23.2 ± 2.7 °C; $64 \pm 11\%$ of RH). Initially and every three months, the seeds were evaluated for moisture content, germination, first count of germination, accelerated aging, cold test, electrical conductivity, emergence and seedling growth. In addition, the embryos of the seeds were evaluated for lipid peroxidation, protein content, and activity of superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POX) and ascorbate peroxidase (APX). The experiment was conducted in a completely randomized design with four replications with the treatments arranged in split plots. The means obtained for the maturity stages were compared by Tukey test ($P < 0.05$). The data obtained for the period of storage were subjected to regression analysis, with the exception of biochemical data, which were expressed as mean \pm standard deviation. No difference between the germination of the three fruit maturation stages during the storage period was observed. There was reduction in seed physiological quality, with decrease in germination and vigor, especially after nine months of storage. The seeds extracted from yellow and yellow-brown fruits are the most vigorous and hold the physiological quality for a longer period. Furthermore, there was reduction in protein content and antioxidant

enzymes activity of the seed embryo of the three maturity stages, with the exception of SOD. No relationship between reduced seed viability and lipid peroxidation was observed.

INTRODUÇÃO GERAL

Existe uma grande diversidade de oleaginosas com potencial para serem utilizadas na produção de biodiesel e bioquerosene. Dentre estas, destaca-se a espécie *Jatropha curcas* L., popularmente conhecida como pinhão manso, que apresenta sementes com elevado teor de óleo, de excelente qualidade para ser usado na produção de biodiesel (Tiwari et al., 2007; Dias, 2011). A utilização do óleo obtido das sementes de *J. curcas* para a queima em motores de combustão interna, em substituição aos combustíveis fósseis, favorece a diminuição da emissão de gases do efeito estufa (Openshaw, 2000; Jongschaap et al., 2007).

A propagação de *J. curcas* pode ser feita por sementes ou estacas (Openshaw, 2000; Kumar e Sharma, 2008). A propagação por sementes resulta em maior longevidade das plantas e maior resistência às doenças e à seca, o que pode ser atribuído ao maior aprofundamento do sistema radicular das plantas quando propagadas por sementes (Kumar e Sharma, 2008).

A implantação de cultivos de *J. curcas*, como opção de desenvolvimento de novas áreas agrícolas, depende, principalmente, do desenvolvimento de tecnologias adequadas de produção, que envolvem o uso de insumos e a adoção de sistemas de produção eficientes. Um fator importante é o uso de sementes de materiais selecionados com elevada pureza, germinação e vigor, uma vez que atualmente a propagação da espécie é feita principalmente por sementes. Todavia, esta espécie carece de estudos básicos sobre o seu cultivo e, sobretudo, de pesquisas visando definir estratégias adequadas para a produção de sementes de alta qualidade.

Um dos problemas relacionados à obtenção de sementes de *J. curcas* de elevada qualidade refere-se à desuniformidade de maturação dos frutos (Silip et al., 2010). Geralmente são encontrados na mesma planta, ou até mesmo na mesma inflorescência, frutos em diferentes estádios de desenvolvimento, o que exige várias colheitas (Saturnino et al., 2005), dificultando e onerando a colheita das sementes no ponto de maturidade ideal (Silva et al., 2011).

Os resultados de pesquisas relacionados à maturação das sementes dessa espécie têm apontado a coloração dos frutos como parâmetro para determinação do ponto de colheita, sendo indicada a colheita das sementes quando os frutos apresentam coloração amarela (Kaushik, 2003; Sowmya et al, 2012; Pessoa et al., 2012; Silva et al., 2012); ou amarelo-marrom (Dantas et al., 2010; Silva et al., 2012).

As sementes podem ser semeadas logo após a colheita ou então armazenadas para posterior semeadura. A qualidade fisiológica das sementes logo após a colheita está entre os fatores que têm influência no seu potencial de armazenamento. No entanto, são escassas as informações sobre a relação entre estágio de maturação dos frutos por ocasião da colheita e a conservação da qualidade das sementes de *J. curcas* no armazenamento.

Durante o armazenamento, as sementes estão sujeitas ao processo de deterioração, que acarreta alterações degenerativas como a desestabilização da atividade de enzimas e a desestruturação e perda de integridade do sistema de membranas celulares (McDonald, 1999).

Assim, a perda de viabilidade das sementes é o resultado da soma de eventos deteriorativos que ocorrem nas sementes durante o armazenamento. O modelo proposto por Wilson e McDonald (1986) para o envelhecimento das sementes ortodoxas, destaca que a peroxidação de lipídios, resultante da formação de radicais livres, seria a causa primária do envelhecimento e da perda de viabilidade das sementes durante o armazenamento, o que explica a alta sensibilidade das sementes oleaginosas à deterioração.

O mecanismo exato da perda de viabilidade das sementes ainda não está definido (McDonald, 1999), porém a formação de radicais livres e a consequente peroxidação de lipídios são consideradas as principais causas da deterioração das sementes (Wilson e McDonald, 1986; Bailly, 2004; Bailly et al., 2008).

A formação de radicais livres nas células ocorre em diferentes compartimentos celulares, através da respiração e da atividade de enzimas oxidativas (Bailly, 2004). As mitocôndrias são uma das principais fontes de espécies reativas de oxigênio, que são moléculas resultantes da redução do oxigênio molecular com consequente formação de produtos tóxicos, como o radical superóxido (O_2^-), radical hidroxila (OH^\cdot) e o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (Bailly et al., 2008). A cadeia de transporte de elétrons pode gerar o ânion superóxido, que posteriormente dá origem ao H_2O_2 (Moller, 2001). Além disso, os peroxissomos são também possíveis fontes de espécies reativas de oxigênio, como o ânion superóxido (Corpas et al., 2001). Os glioxissomos, um tipo de peroxissomo, presentes em sementes oleaginosas, atuam na mobilização da reserva lipídica. É nessa organela que ocorre a β -oxidação e o ciclo de glioxilato, que convertem lipídios em açúcares, sendo que durante a β -oxidação é produzido H_2O_2 (Corpas et al., 2001).

As espécies reativas de oxigênio são moléculas altamente reativas e são responsáveis pela peroxidação dos lipídios. Essa reação é iniciada pelo ataque dessas

moléculas sobre uma dupla ligação de um ácido graxo e resulta na remoção de um átomo de hidrogênio (Bailly, 2004). Em condições aeróbicas, o radical de carbono, resultante da captação do hidrogênio, é estabilizado por oxigênio e produz um radical peróxido ($\text{ROO}\cdot$), que é capaz de remover um átomo de hidrogênio da cadeia de outro ácido graxo para formar um hidroperóxido de lipídio (LOOH). Esses compostos se decompõem em etano e vários aldeídos insaturados que são citotóxicos (Hendry, 1993).

Os lipídios, tanto os fosfolipídios de membranas quanto os triacilglicerídeos armazenados como reserva, se destacam como os componentes das sementes mais suscetíveis ao processo de degradação. Muitos ácidos graxos poli-insaturados encontrados nas sementes são altamente sensíveis à peroxidação, que resulta na degradação desses lipídios e na formação de produtos tóxicos (Bailly, 2004). A peroxidação de lipídios e os produtos resultantes desse processo, ou seja, peróxidos e aldeídos, levam à desnaturação do DNA, inibem os processos de tradução e transcrição e reagem com grupos amino terminais livres de proteínas (reação amino-carbonil) (Hendry, 1993). Essa reação inativa enzimas e reduz a disponibilidade da reserva proteica necessária para a germinação das sementes. Esses danos são responsáveis pela queda no vigor e na germinação e por consequência, pela perda da viabilidade das sementes.

O principal dano relacionado à degradação dos lipídios resulta na perda de integridade das membranas celulares (Apel e Hirt, 2004). As membranas são muito suscetíveis à peroxidação mediada pelo ataque de radicaes livres. A peroxidação dos lipídios que compõem as membranas exerce influência na viscosidade, permeabilidade e na sua função celular. Como exemplo, ocorre queda na atividade respiratória associada à peroxidação dos lipídios da membrana mitocondrial, o que leva à perda de vigor das sementes (Ferguson et al., 1990).

O produto final da peroxidação de lipídios é o hidroperóxido de lipídio (ROOH), do qual é formado aldeído, incluindo o malonaldeído (MDA). Assim, a determinação do conteúdo de MDA é um método comumente usado para determinação da peroxidação de lipídios (Goel e Sheoran, 2003).

A aquisição de um sistema antioxidativo eficiente contra as espécies reativas de oxigênio (ROS) está relacionada com o aumento na germinação e no potencial de armazenamento das sementes (Bailly, 2004). Dentre as enzimas removedoras de radicais livres presentes nas sementes, McDonald (1999) aponta como sendo as principais a catalase, a peroxidase e a superóxido dismutase.

A enzima superóxido dismutase, que pode ser mitocondrial, citosólica ou cloroplastídica, dismuta o radical superóxido a peróxido de hidrogênio e oxigênio (Bowler et al., 1992). O peróxido de hidrogênio é eliminado pela ação da catalase, que está presente em glioxissomos e peroxissomos (Willekens et al., 1995). O ciclo do ascorbato/glutationa também pode eliminar parte do H₂O₂. Nesse ciclo estão envolvidas as enzimas peroxidase do ascorbato (APX), monodehidroascorbato redutase (MDAR), dehidroascorbato redutase (DHAR) e glutaciona redutase (GR). As enzimas desse ciclo, que estão presentes nos cloroplastos, citoplasmas, mitocôndria, peroxissomos e no apoplasto (Mittler, 2002), participam da regeneração de poderosos antioxidantes, como o ácido ascórbico, a glutaciona reduzida e o α -tocoferol.

Existem poucos estudos referentes à peroxidação de lipídios e atuação das enzimas do sistema de defesa antioxidativo durante o armazenamento de sementes de *J. curcas* (Oliveira, 2013). Além disso, são escassas as informações referentes ao potencial de armazenamento das sementes obtidas de frutos em diferentes estádios de maturação (Santoso et al., 2012).

Assim, o objetivo do presente trabalho foi o de monitorar a qualidade fisiológica, a atividade de enzimas do sistema de defesa antioxidativo e a peroxidação de lipídios em sementes de *J. curcas*, recém-colhidas e armazenadas por 18 meses, obtidas de frutos em diferentes estádios de maturação.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- APEL, K.; HIRT, H. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. **Annual Review of Plant Biology**, v.55, p.373–399, 2004.
- BAILLY, C. Active oxygen species and antioxidants in seed biology. **Seed Science Research**, v.14, p.93–107, 2004.
- BAILLY, C.; EL-MAAROUF-BOUATEAU, H.; CORBINEAU, F. From intracellular signaling networks to cell death: the dual role of reactive oxygen species in seed physiology. **Comptes Rendus Biologies**, v.331, p.806–814, 2008.
- BOWLER, C.; VAN MONTAGU, M.; INZÉ, D. Superoxide dismutase and stress tolerance. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v.43, p.83–116, 1992.
- CORPAS, F.J.; BARROSO, J.B.; DEL RIO, L.A. Peroxisomes as a source of reactive oxygen species and nitric oxide signal molecules in plant cells. **Trends in Plant Science**, v.6, p.145–150, 2001.
- DANTAS, B.F.; SILVA, F.F.S.; LOPES, A.P.; ARAÚJO, M.N.; SOUZA, Y.A. **Maturação de frutos e sementes de pinhão-manso**. Embrapa Semiárido, v.1, p.1-4, 2010. (Comunicado Técnico).
- DIAS, L.A.S. Biofuel plant species and the contribution of genetic improvement. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v.1, p.16-26, 2011.
- FERGUSON, J.M.; TEKRONY, D.M.; EGLI, D.B. Changes during early soybean seed and axes deterioration: II. Lipids. **Crop Science**, v.30, p.179-182, 1990.
- GOEL, A; SHEORAN. Lipid peroxidation and peroxidescavenging enzymes in cotton seeds under natural ageing. **Biologia Plantarum**, v.46, n.3, p.429-434, 2003.
- HENDRY, G.A.F. Oxygen, free radical processes and seed longevity. **Seed Science Research**, v.3, n.3, p.141 153, 1993.
- JONGSCHAAP, R.E.E; CORRÉ, W.J.; BINDRABAN, P.S.; BRANDENBURG, W.A. **Claims and facts on *Jatropha curcas* L.** Global *Jatropha curcas* evaluation,

- breeding and propagation programme. Plant Research International, Report 158, 2007. 42p.
- KAUSHIK, N. Effect of capsule maturity on germination and seedling vigour in *Jatropha curcas*. **Seed Science and Technology**, v.31, p.449-454, 2003.
- KUMAR, A.; SHARMA, S. An evaluation of multipurpose oil seed crop for industrial uses (*Jatropha curcas* L.): A review. **Industrial crops and products**, v.28, p.1-10, 2008.
- MCDONALD, M.B. Seed deterioration: physiology, repair and assessment. **Seed Science and Technology**, v.27, p.177-237, 1999.
- MITTLER, R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. **Trends in Plant Science**, v.7, p.405–410, 2002.
- MOLLER, I.M. Plant mitochondria and oxidative stress: electron transport, NADPH turnover, and metabolism of reactive oxygen species. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v.52, p.561–591, 2001.
- OLIVEIRA, G. L. **Alterações fisiológicas e enzimáticas em sementes de *Jatropha curcas* L. durante o armazenamento**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2013. 58p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – UFV, 2013.
- OPENSHAW, K. A review of *Jatropha curcas*: an oil plant of unfulfilled promise. **Biomass and Bioenergy**, v.19, n. 1, p.1-15, 2000.
- PESSOA, A.M.S.; MANN, R.S.; SANTOS, A.G.; RIBEIRO, M.L.F. Influência da maturação de frutos na germinação, vigor e teor de óleo de sementes de pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.). **Scientia Plena**, v.8, n.7, p.1-11, 2012.
- 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.
- SATURNINO, H. M.; PACHECO, D. D.; AKIDA, J.; TOMINAGA, N.; GONÇALVES, N. P. Cultura do pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.). **Informativo Agropecuário**, v.6, p.44-78, 2005.

- SILIP, J.J.; TAMBUNAN, A.H.; HAMBALI, H.; SUTRISNO, S.; SURAHMAN, M. Lifecycle duration and maturity heterogeneity of *Jatropha curcas* Linn. **Journal of Sustainable Development**, v.3, n.2, p.291-295, 2010.
- SILVA, L.J.; DIAS, D.C.F.S.; DIAS, L.A.S.; HILST, P.C. Physiological quality of *Jatropha curcas* L. seeds harvested at different development stages. **Seed Science and Technology**, v.39, p.572-580, 2011.
- 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. **Ciência e Agrotecnologia**, v.36, n.1, p.39-44, 2012.
- SOWMYA K.J.; GOWDA, R.; BALAKRISHNA, P.; GURURAJA RAO M.R. Effect of fruit maturity stages on seed quality parameters in jatropha (*Jatropha curcas* L.). **Indian Journal of Plant Sciences**, v.1, n.1, p.85-90, 2012.
- TIWARI, A.K.; KUMAR, A.; RAHEMAN, H. Biodiesel production from jatropha oil (*Jatropha curcas*) with high free fatty acids: An optimized process. **Biomass and Bioenergy**, v.31, n.8, p.569–575, 2007.
- WILLEKENS, H.; INZÉ, D.; VAN MONTAGU, M.; VAN CAMP, W. Catalases in plants. **Molecular Breeding**, v.1, p.207–228, 1995.
- WILSON, D.O.; MCDONALD, M.B. The lipid peroxidation model of seed ageing. **Seed Science and Technology**, v.14, p.269-300, 1986.

CAPÍTULO I

QUALIDADE FISIOLÓGICA E CONSERVAÇÃO DE SEMENTES DE *Jatropha curcas* L. OBTIDAS DE FRUTOS EM DIFERENTES ESTÁDIOS DE MATURAÇÃO

RESUMO

A espécie *Jatropha curcas* L. se destaca como promissora fonte de matéria-prima para a produção de biodiesel e bioquerosene. O sucesso da exploração comercial dessa cultura depende da obtenção de sementes de elevada qualidade fisiológica, o que está associado à colheita em momento adequado. Porém, as informações referentes à qualidade fisiológica das sementes em função do estágio de maturação dos frutos durante o armazenamento ainda são escassas. Dessa forma, o objetivo desse trabalho foi avaliar o efeito do estágio de maturação dos frutos na qualidade fisiológica das sementes de *J. curcas* durante o armazenamento. Assim, sementes foram extraídas de frutos colhidos em três estágios de maturação com base na coloração externa da casca, ou seja, amarelo, amarelo-marrom e marrom (frutos secos). Em seguida, foram secas naturalmente até atingirem grau de umidade de aproximadamente 8%. As sementes foram então armazenadas por 18 meses, em sacos de papel Kraft, em ambiente de laboratório ($23,2 \pm 2,7$ °C; $64 \pm 11\%$ de UR). Inicialmente e a cada três meses, as sementes foram avaliadas quanto ao grau de umidade, germinação, primeira contagem de germinação, envelhecimento acelerado, teste de frio, condutividade elétrica, emergência e crescimento de plântulas. Houve redução da qualidade fisiológica das sementes durante o armazenamento, com queda na germinação e no vigor, principalmente a partir de nove meses de armazenamento. As sementes extraídas de frutos com coloração externa da casca amarela e amarelo-marrom são mais vigorosas e podem ser armazenadas por até nove meses sem perda da qualidade fisiológica.

ABSTRACT

Physiological quality and conservation of *Jatropha curcas* L. seeds obtained from fruits at different maturation stages

Jatropha curcas L. species has been listed as a promising source of raw material for the production of biodiesel and bio-jet fuels. The success of the commercial exploration of that culture depends on obtaining seeds with high physiological quality, which is associated with harvest at the appropriated time. However, the information related to seed physiological quality as a function of the fruit maturation stage during storage is scarce. Thus, the aim of this study was to evaluate the effect of fruit maturation stage in the physiological quality of *J. curcas* seeds during storage. Fruits were collected at different maturity stages based on external color, i.e., yellow, yellow-brown and brown (dry fruits). After extraction, the seeds were dried naturally until achieve moisture content of approximately 8%. The seeds were packed in Kraft paper bag and stored for 18 months at laboratory environment (23.2 ± 2.7 °C; $64 \pm 11\%$ of RH). Initially and every three months, the seeds were evaluated for moisture content, germination, first count of germination, accelerated aging, cold test, electrical conductivity, emergence and seedling growth. There was reduction in seed physiological quality, with decrease in germination and vigor, especially after nine months of storage. The seeds extracted from yellow and yellow-brown fruits are the most vigorous and maintain the physiological quality for a longer period.

INTRODUÇÃO

A espécie *Jatropha curcas* L., popularmente conhecida como pinhão manso, se destaca como promissora fonte de matéria-prima para a produção de biodiesel e apresenta sementes com elevado teor de óleo (cerca de 38%) (Tiwari et al., 2007; Dias, 2011). Além disso, a utilização do óleo obtido das sementes de *J. curcas* para a queima em motores de combustão interna favorece a diminuição da emissão de gases do efeito estufa, em substituição aos combustíveis fósseis (Openshaw, 2000; Jongschaap et al., 2007).

A planta de *J. curcas* possui crescimento indeterminado. Assim, o florescimento é irregular e são encontrados em uma mesma planta frutos em diferentes estádios de

maturação (Silip et al., 2010), sendo necessárias várias colheitas (Saturnino et al., 2005), o que dificulta e onera esse processo.

As sementes de *J. curcas* apresentam elevada qualidade quando atingem a maturidade fisiológica (Silva et al., 2011). No entanto, devido à dificuldade de monitorar o seu processo de maturação, a coloração externa dos frutos tem sido utilizada como parâmetro para determinação do ponto de colheita das sementes.

Em geral, a colheita dos frutos é realizada quando estes apresentam coloração externa da casca amarela (Kaushik, 2003; Pessoa et al., 2012; Silva et al., 2012; Sowmya et al., 2012) ou amarelo-marrom (Dantas et al., 2010; Silva et al., 2012). Estes dois estádios são os mais indicados para a obtenção de sementes de elevada qualidade fisiológica.

Após colhidas, as sementes podem ser semeadas ou então armazenadas para posterior semeadura. A qualidade fisiológica das sementes logo após a colheita está entre os fatores que têm influência na sua longevidade e no seu potencial de armazenamento. Segundo Morais (2008), as sementes de *J. curcas*, quando armazenadas com boa qualidade inicial, mantêm a viabilidade por até oito meses, porém a conservação das sementes também é afetada pelas condições de armazenamento. Assim, Pereira et al. (2013) recomendam que as sementes de *J. curcas* sejam armazenadas em câmara fria (5 °C), em sacos de papel Kraft ou polipropileno trançado; ou em tambor de papelão, em ambiente sem controle de temperatura e umidade. Segundo Oliveira (2013), o armazenamento das sementes de *J. curcas*, quando realizado em ambiente que possua controle térmico, como sala refrigerada (20 °C) e câmara fria (10 °C), em conjunto com embalagem adequada (saco plástico), propicia a manutenção da viabilidade e do vigor a níveis aceitáveis por um período mínimo de 12 meses.

No entanto, apesar de existirem alguns trabalhos definindo as melhores condições para o armazenamento das sementes de *J. curcas* (Worang et al., 2008; Guzman e Aquino, 2009; Pinto Jr, et al., 2012; Oliveira, 2013; Pereira et al., 2013), são escassas as informações sobre a relação entre estágio de maturação dos frutos por ocasião da colheita e conservação da qualidade das sementes durante o armazenamento. Nesse sentido, Santoso et al. (2012), avaliou a germinação de sementes de *J. curcas*, obtidas de frutos em diferentes estágios de maturação, durante seis meses e encontraram maior potencial de armazenamento para sementes obtidas de frutos colhidos nos estádios amarelo e amarelo-marrom, comparadas às sementes extraídas de frutos verdes e frutos secos.

Assim, o objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito do estágio de maturação dos frutos na qualidade fisiológica das sementes de *J. curcas* armazenadas por 18 meses.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Pesquisa em Sementes, do Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa. Para tanto, frutos de *J. curcas* foram colhidos em área de produção comercial localizada no município de Viçosa, Minas Gerais. Durante a fase de florescimento das plantas, diariamente, flores femininas foram etiquetadas no dia da antese até a obtenção de número suficiente de frutos.

Os frutos foram colhidos em diferentes estádios de maturação com base na coloração externa da casca, ou seja, amarelo, amarelo-marrom e completamente marrom (frutos secos), aproximadamente aos 60, 70 e 80 dias após a antese, respectivamente. As sementes de cada estágio de maturação foram extraídas manualmente dos frutos e colocadas para secar naturalmente em ambiente de laboratório até atingirem grau de umidade compatível com o armazenamento, em torno de 8%. Em seguida, as sementes foram acondicionadas em sacos de papel Kraft e permaneceram armazenadas em ambiente de laboratório ($23,2 \pm 2,7$ °C; $64 \pm 11\%$ de UR) pelos períodos de 0, 3, 6, 9, 12, 15 e 18 meses. Após cada período de armazenamento, foram conduzidos os seguintes testes e determinações:

Grau de umidade

Foi utilizado o método da estufa, a 105 ± 3 °C, por 24 h (Brasil, 2009). Foram utilizadas quatro repetições de aproximadamente 10g de sementes cada. Os resultados foram expressos em porcentagem.

Germinação

Foram utilizadas oito repetições de 25 sementes distribuídas em rolo de papel toalha umedecido com quantidade de água equivalente a 2,7 vezes o peso de substrato seco. Os rolos foram mantidos em germinador a 25 °C e as avaliações da porcentagem

de plântulas normais foram realizadas aos 7 e 12 dias após a semeadura (Oliveira, 2009).

Primeira contagem de germinação

Foi conduzido juntamente ao teste de germinação. O resultado consistiu na percentagem de plântulas normais obtidas aos sete dias após a semeadura.

Envelhecimento acelerado

Foram utilizadas quatro repetições de 50 sementes cada, que foram distribuídas em camada única sobre bandeja de tela metálica dentro de caixa tipo *gerbox*. Cada caixa continha ao fundo 40 mL de água destilada. As caixas foram tampadas, para se obter 100% de UR em seu interior, e mantidas em BOD a 42 °C por 48 horas (Oliveira et al., 2014). Após esse período, as sementes foram submetidas ao teste de germinação. O resultado consistiu na percentagem de plântulas normais aos sete dias após a semeadura.

Teste de frio

Foi conduzido com oito repetições de 25 sementes cada. As sementes foram distribuídas sobre duas folhas de papel toalha e cobertas com uma fina camada de terra. Em seguida, foram cobertas com uma terceira folha de papel, sendo confeccionados os rolos que foram mantidos em incubadora tipo BOD a 10 °C por nove dias. Após esse período, os rolos foram transferidos para germinador a 25 °C, por cinco dias, e, em seguida, determinou-se a percentagem de plântulas normais.

Condutividade elétrica

Quatro repetições de 25 sementes foram pesadas e colocadas em copos plásticos contendo 75 mL de água destilada (ISTA, 1995). Em seguida, o conjunto foi mantido em BOD a 25 °C, durante 24 horas. Após esse período, foi feita a determinação da condutividade elétrica em condutímetro modelo Digmed DM-31. Os resultados foram expressos em $\mu\text{S cm}^{-1} \text{ g}^{-1}$ de sementes.

Emergência de plântulas

Quatro repetições de 25 sementes foram semeadas em substrato composto por terra e areia, na proporção de 2:1, em bandejas de poliestireno com capacidade para 1,5 litro, em casa de vegetação. O substrato foi inicialmente umedecido até atingir 60% da capacidade de retenção de água e irrigado diariamente. Foram feitas avaliações diárias do número de plântulas emergidas até os 21 dias após a semeadura, ou seja, tempo suficiente para a estabilização da contagem. Nas contagens, foram consideradas emergidas as plântulas que se encontravam com os cotilédones acima da superfície do substrato. O resultado consistiu na porcentagem de plântulas emergidas aos 21 dias após a semeadura.

Crescimento de plântulas

Aos 21 dias após a semeadura no teste de emergência, as plântulas obtidas foram removidas do substrato e lavadas em água corrente. Em seguida, foi determinado o comprimento total de cada plântula com auxílio de régua graduada. Para determinação da massa seca, as plântulas foram levadas para estufa de circulação de ar forçada, regulada a 70 °C, onde permaneceram até atingirem peso constante. Em seguida, foram pesadas em balança analítica com precisão de 0,001g. Os dados de comprimento foram expressos em cm plântula⁻¹ e os de massa seca em mg plântula⁻¹.

Análise estatística

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado em esquema de parcelas subdivididas, com quatro repetições. Os estádios de maturação dos frutos foram alocados nas parcelas e as épocas de avaliação nas subparcelas. Os dados foram submetidos à análise de variância. As médias obtidas para os estádios de maturação dos frutos, em cada época de análise, foram comparadas pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). Para cada estágio de maturação, os dados obtidos nas épocas de avaliação foram submetidos à análise de regressão. As estimativas dos parâmetros da regressão foram analisadas pelo teste t ($P < 0,05$).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As sementes de *J. curcas* foram armazenadas com grau de umidade próximo de 8,0%, após o processo de secagem natural. Durante o armazenamento, houve pequena variação nos valores de teor de água das sementes dos três estádios de maturação dos frutos, sendo observado pequeno aumento até os doze meses de armazenamento, seguido de ligeira redução a partir dessa época (Figura 1).

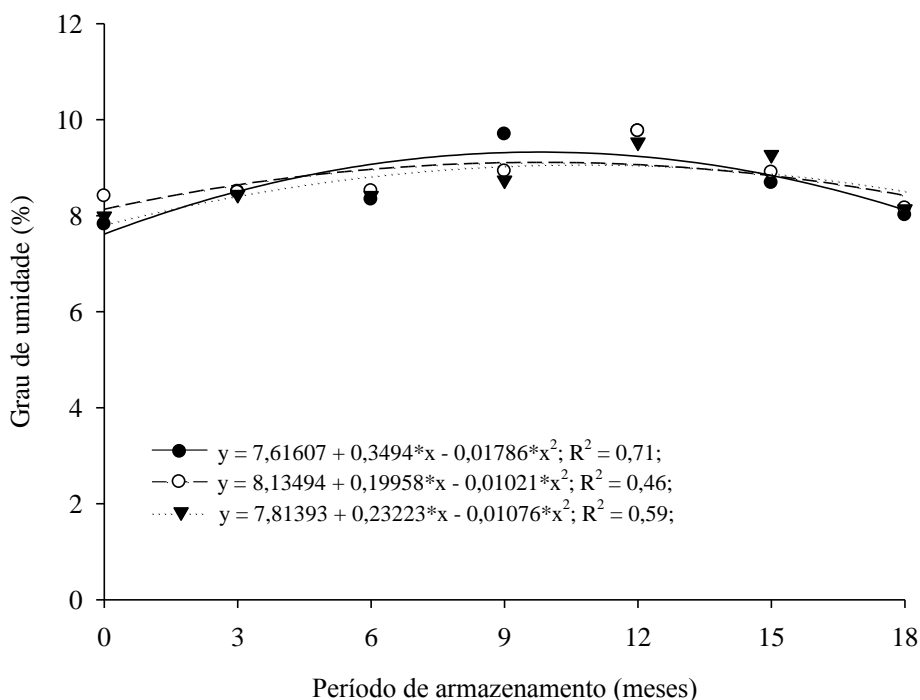


Figura 1. Grau de umidade de sementes de *J. curcas* colhidas em diferentes estádios de maturação dos frutos em função do período de armazenamento (—●—Marrom; —○—Amarelo-marrom; —▼—Amarelo).

A conservação das sementes durante o armazenamento está intimamente relacionada ao seu teor de água, sendo que este parâmetro interfere na composição química e na velocidade das atividades metabólicas das sementes (Almeida et al., 2002), sendo que elevados teores de água contribui para a rápida perda do vigor das sementes de *J. curcas*, dependendo das condições de armazenamento (Moncaleano-Escandon et al., 2013). Segundo Joker e Jepsen (2003), as sementes de *J. curcas* podem ser armazenadas por pelo menos um ano, desde que apresentem baixo grau de umidade, entre 5 a 10%. Resultados obtidos por Worang et al. (2008), sugerem que teores de água

entre 7,9 e 8,4% são considerados seguros para o armazenamento de sementes dessa espécie sob condição natural (média de 26,5 °C e 72% de UR).

De acordo com Joker e Jepsen (2003), as sementes de *J. curcas* apresentam comportamento ortodoxo, ou seja, são tolerantes à dessecação. Durante o armazenamento em condições não controladas, a umidade dessas sementes fica em equilíbrio com a umidade do ambiente, devido à sua higroscopicidade (Zonta et al., 2011), e sofre interferência da temperatura e da permeabilidade da embalagem (Pinto Jr, 2012). Assim, a ligeira variação no teor de água das sementes observada nesse experimento pode ser atribuída à variação das condições de umidade relativa e temperatura do ambiente. Contudo, os valores observados se mantiveram dentro dos limites considerados adequados para a conservação das sementes. Além disso, em geral, o grau de umidade das sementes não diferiu entre os estádios de maturação dos frutos (Tabela 1).

Tabela 1. Grau de umidade (%) de sementes de *J. curcas* durante o armazenamento em função do estágio de maturação dos frutos.

Estádio	Armazenamento (meses)							Médias
	0	3	6	9	12	15	18	
Marrom	7,82 a	8,50 a	8,34 a	9,59 a	9,76 a	8,68 a	8,01 a	8,67
Amarelo-marrom	8,41 a	8,49 a	8,52 a	8,93 b	9,76 a	8,90 a	8,16 a	8,74
Amarelo	7,99 a	8,44 a	8,42 a	8,74 b	9,53 a	9,27 a	8,14 a	8,64
Médias	8,07	8,48	8,42	9,09	9,68	8,95	8,10	
CV (%)	2,85							

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

Silva et al. (2012) não observaram diferença na germinação, avaliada logo após a colheita, de sementes obtidas de frutos nos estádios amarelo, amarelo-marrom e marrom. Porém, Dranski et al. (2010) observaram redução na germinação com o processo de senescência dos frutos, ou seja, a germinação das sementes de frutos colhidos secos foi menor do que a das sementes de frutos amarelos e amarelo-marrons.

No presente trabalho, observa-se que houve um ligeiro aumento nos valores de germinação (Figura 2) e de primeira contagem de germinação (Figura 3) das sementes obtidas de frutos marrom e amarelo-marrom até os nove primeiros meses de armazenamento, o que pode ser atribuído à redução da proporção de sementes duras até essa época de avaliação, que inicialmente era de 5% e 8%, e foi reduzida para 2% e 3%, para os estádios marrom e amarelo-marrom, respectivamente. Para as sementes de

frutos amarelos, os valores iniciais obtidos foram praticamente mantidos até o nono mês de armazenamento.

A partir do nono mês de armazenamento, observa-se redução tanto na germinação como na primeira contagem de germinação das sementes dos três estádios de maturação dos frutos (Figuras 1 e 2). Para Pereira et al. (2013), a partir de nove meses de armazenamento foi possível detectar, de modo mais evidente, diferenças entre a qualidade fisiológica de sementes de *J. curcas* armazenadas sob diferentes condições de ambiente e embalagens. Sementes de *J. curcas* apresentando 89% de germinação foram armazenadas em condição de ambiente (média de 26,5 °C e 72% de UR) em saco plástico, ocorrendo redução para 75% e 53%, após um e seis meses de armazenamento, respectivamente (Worang et al., 2008). Já Guzman e Aquino (2009) observaram perda total da germinação das sementes de *J. curcas* armazenadas por 12 meses em condições não controladas.

Aos 18 meses de armazenamento, observou-se redução de 25, 30 e 29 pontos percentuais na germinação das sementes dos estádios marrom, amarelo-marrom e amarelo, respectivamente, em relação aos valores observados no início do armazenamento (Figura 2).

Os dados de primeira contagem de germinação evidenciam a redução no vigor das sementes, com queda na velocidade de germinação ao longo do armazenamento. Esse processo está relacionado ao processo de deterioração relatado por Delouche e Baskin (1973).

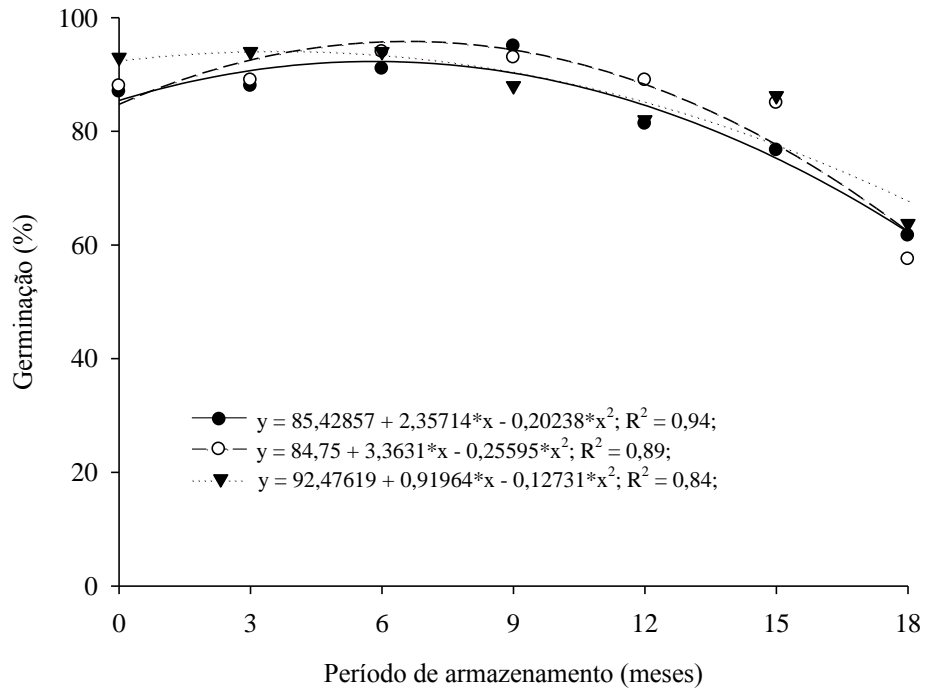


Figura 2. Germinação de sementes de *J. curcas* colhidas em diferentes estádios de maturação dos frutos em função do período de armazenamento (●—Marrom; ○—Amarelo-marrom; ▼—Amarelo).

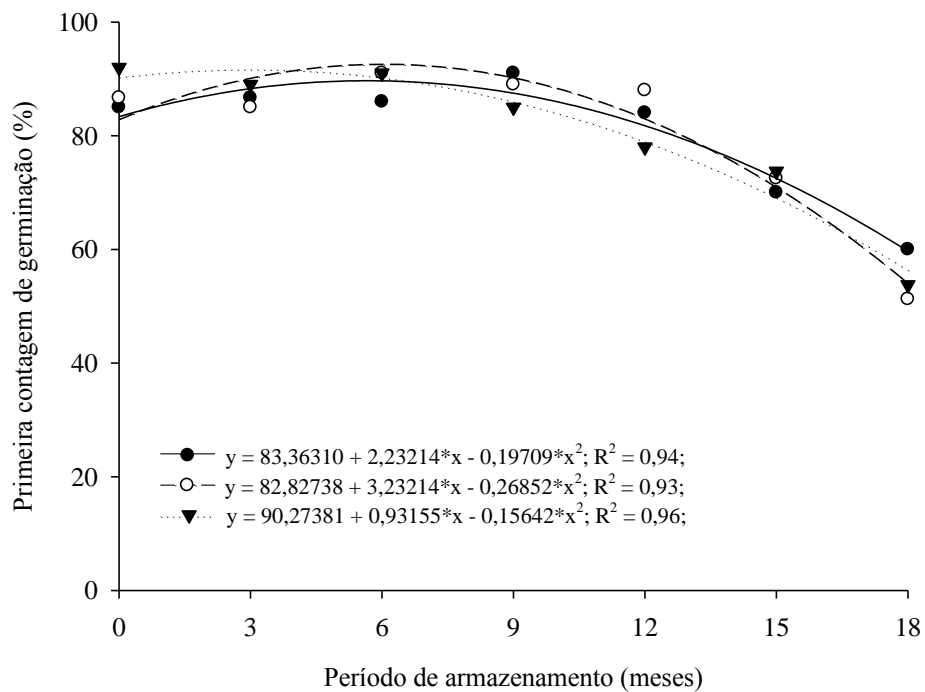


Figura 3. Primeira contagem do teste de germinação de sementes de *J. curcas* colhidas em diferentes estádios de maturação dos frutos em função do período de armazenamento (●—Marrom; ○—Amarelo-marrom; ▼—Amarelo).

Ao longo de todo o período de armazenamento, as sementes extraídas dos frutos nos três estádios de maturação não diferiram entre si quanto à germinação (Tabela 2) e primeira contagem de germinação (Tabela 3). Estes resultados diferiram dos obtidos por Santos et al. (2012), que observaram maior porcentagem de germinação para sementes de frutos amarelos e amarelo-marrons comparados àquelas obtidas de frutos marrons (secos), já a partir do primeiro mês de armazenamento, porém com as sementes armazenadas em sacos plásticos.

Tabela 2. Germinação (%) de sementes de *J. curcas* durante o armazenamento em função do estágio de maturação dos frutos.

Estádio	Armazenamento (meses)							Médias
	0	3	6	9	12	15	18	
Marrom	87 a	88 a	91 a	95 a	81 a	77 a	62 a	83
Amarelo-marrom	88 a	89 a	94 a	93 a	89 a	85 a	58 a	85
Amarelo	93 a	94 a	94 a	88 a	82 a	86 a	64 a	86
Médias	89	90	93	92	84	83	61	
CV (%)	6,59							

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

Tabela 3. Primeira contagem do teste de germinação (%) de sementes de *J. curcas* durante o armazenamento em função do estágio de maturação dos frutos.

Estádio	Armazenamento (meses)							Médias
	0	3	6	9	12	15	18	
Marrom	85 a	87 a	86 a	91 a	84 a	70 a	60 a	80
Amarelo-marrom	87 a	85 a	91 a	89 a	88 a	73 a	51 a	80
Amarelo	92 a	89 a	91 a	85 a	78 a	74 a	54 a	80
Médias	88	87	89	88	83	72	55	
CV (%)	7,93							

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

Também pelos resultados do teste de envelhecimento acelerado (Figura 4), verifica-se um ligeiro aumento nos valores obtidos até o terceiro mês de armazenamento, com redução mais expressiva do vigor a partir do 9º mês de armazenamento, independente do estágio de maturação do fruto, conforme também observado nos testes de germinação (Figura 2) e primeira contagem (Figura 3). Esses resultados estão de acordo com os obtidos por Oliveira (2013), que observou queda linear da germinação no teste de envelhecimento acelerado das sementes de *J. curcas* armazenadas por um ano em condições ambientes (média de 23 °C e 75% de UR).

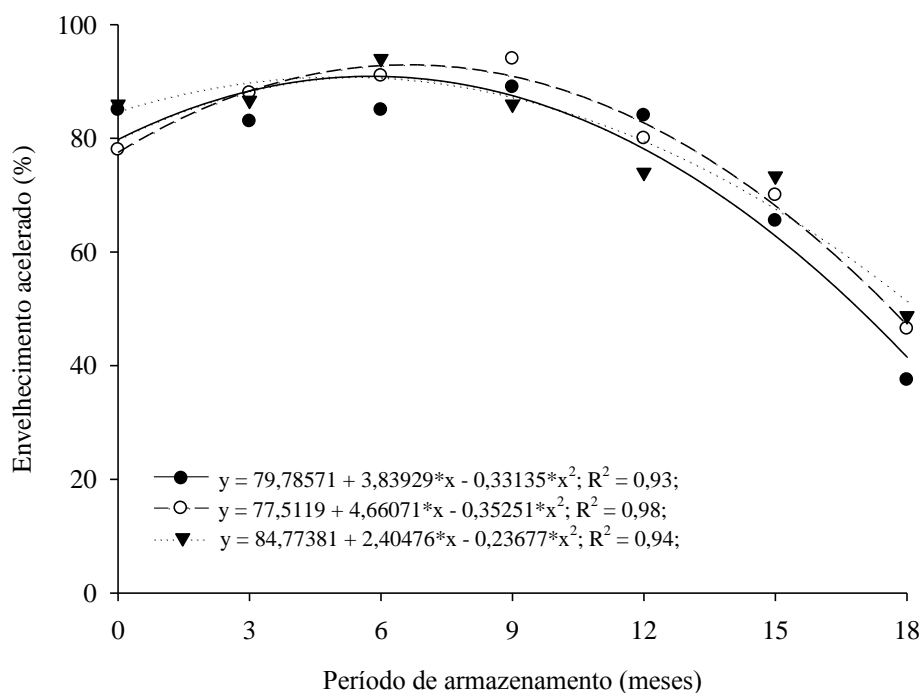


Figura 4. Germinação de sementes de *J. curcas* no teste de envelhecimento acelerado colhidas em diferentes estádios de maturação dos frutos em função do período de armazenamento (—●—Marrom; —○—Amarelo-marrom; —▼—Amarelo).

Ao comparar os estádios de maturação dos frutos (Tabela 4), diferença significativa foi observada apenas aos 18 meses de armazenamento, com maior vigor para as sementes extraídas de frutos amarelos em relação às obtidas de frutos marrons.

Tabela 4. Germinação (%) de sementes de *J. curcas* no teste de envelhecimento acelerado durante o armazenamento em função do estágio de maturação dos frutos.

Estádio	Armazenamento (meses)							Médias
	0	3	6	9	12	15	18	
Marrom	85 a	83 a	85 a	89 a	84 a	66 a	38 b	76
Amarelo-marrom	78 a	88 a	91 a	94 a	80 a	70 a	47 ab	78
Amarelo	86 a	87 a	94 a	86 a	76 a	73 a	49 a	79
Médias	83	86	90	90	80	70	44	
CV (%)	3,89							

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

Pelo teste de frio (Figura 5), houve redução linear do vigor das sementes obtidas de frutos amarelo e amarelo-marrom ao longo do armazenamento. Já para as sementes de frutos marrons, observa-se redução no vigor apenas a partir do nono mês de

armazenamento. Redução da germinação pelo teste de frio em sementes de *J. curcas* armazenadas nas mesmas condições do presente trabalho também foi observada por outros autores (Pereira et al., 2013; Oliveira, 2013), evidenciando a redução do vigor das sementes devido ao processo de deterioração durante o armazenamento.

Observa-se menor vigor para as sementes obtidas de frutos amarelos aos 9 e 12 meses de armazenamento (Tabela 5). Porém, com a queda expressiva no vigor das sementes essa diferença não foi mantida. No final do período de armazenamento, ou seja, aos 18 meses, foi observado maior valor de germinação no teste de frio para as sementes extraídas de frutos amarelo-marrons, valor que não diferiu do obtido para as sementes extraídas dos frutos amarelos.

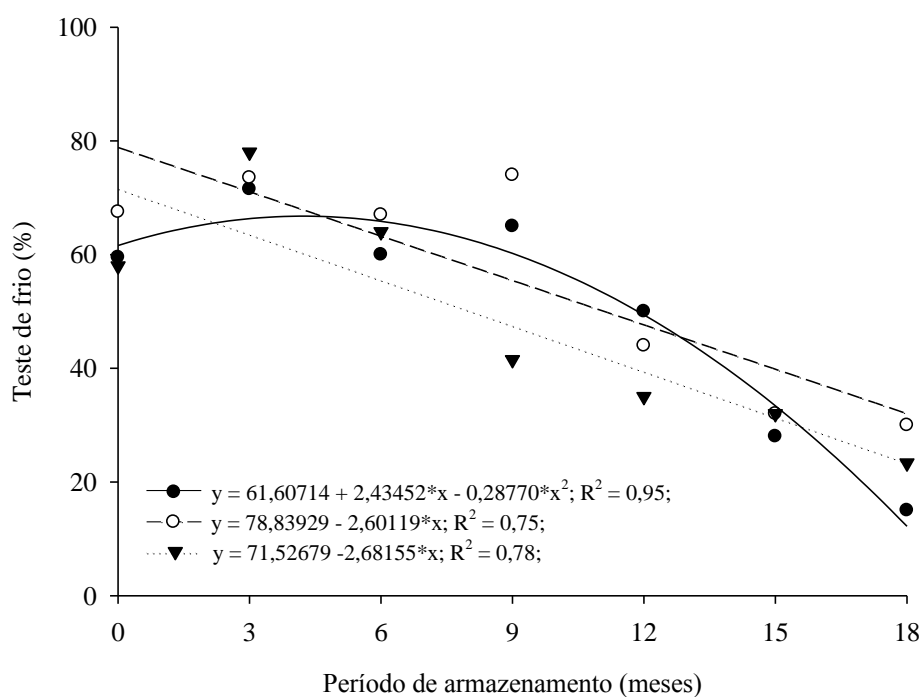


Figura 5. Germinação de sementes de *J. curcas* no teste de frio colhidas em diferentes estádios de maturação dos frutos durante o armazenamento (●—Marrom; ○—Amarelo-marron; ▼—Amarelo).

Tabela 5. Germinação (%) de sementes de *J. curcas* no teste de frio durante o armazenamento em função do estágio de maturação dos frutos.

Estádio	Armazenamento (meses)							Médias
	0	3	6	9	12	15	18	
Marrom	60 a	72 a	60 a	65 a	50 a	28 a	15 b	50
Amarelo-marrom	68 a	74 a	67 a	74 a	44 ab	32 a	30 a	55
Amarelo	58 a	78 a	64 a	42 b	35 b	32 a	23 ab	47
Médias	62	74	64	60	43	31	23	
CV (%)	9,28							

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

Houve aumento dos valores de condutividade elétrica com o aumento do período de armazenamento das sementes para os três estádios de maturação dos frutos (Figura 6). O aumento da condutividade elétrica está associado ao acúmulo de alterações deletérias nas membranas celulares decorrentes do processo de deterioração das sementes ao longo do armazenamento (Basra et al., 2000; Moncaleano-Escandon et al., 2013). Assim, o teste de condutividade elétrica pode identificar alterações fisiológicas e bioquímicas e está relacionado com alteração ou perda de integridade do sistema de membranas celulares (Delouche e Baskin, 1973). Baixos valores de condutividade elétrica estão relacionados à maior organização das membranas celulares e, conseqüentemente, ao maior vigor das sementes.

Aumento nos valores de condutividade elétrica das sementes de *J. curcas* com o armazenamento também foi observado por outros autores (Chaves et al., 2012; Oliveira, 2013), evidenciando a perda da integridade do sistema de membranas celulares devido ao processo de deterioração das sementes (Delouche e Baskin, 1973) e, em consequência, a perda da qualidade fisiológica. Assim, a redução na germinação (Figura 1) e no vigor das sementes de *J. curcas* (Figuras 2, 3 e 4) acompanhou o aumento nos valores de condutividade elétrica (Figura 6).

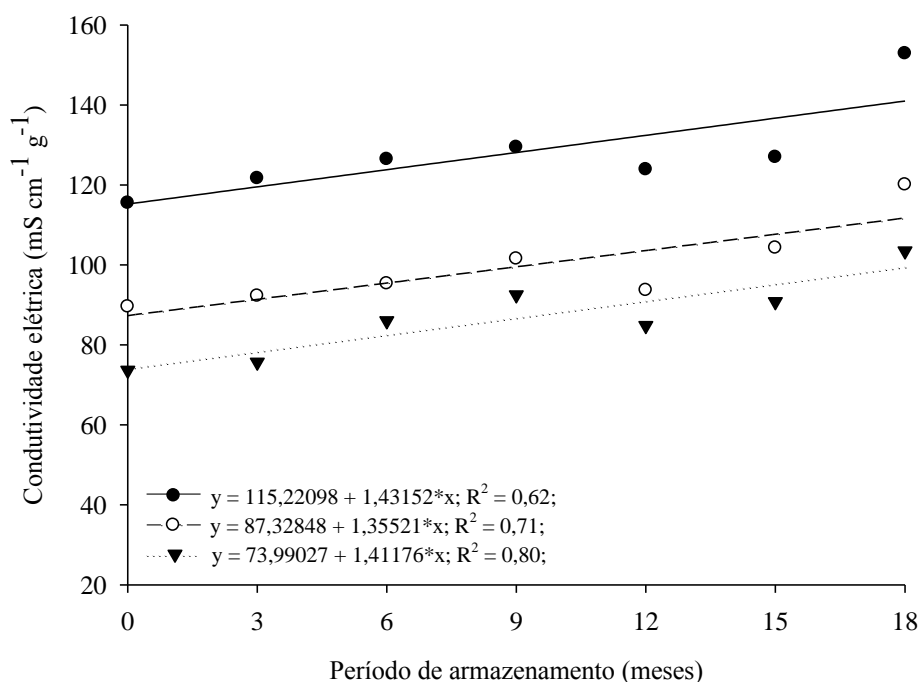


Figura 6. Condutividade elétrica de sementes de *J. curcas* colhidas em diferentes estádios de maturação dos frutos em função do período de armazenamento (●—Marrom; ○—Amarelo-marrom; ▼—Amarelo).

Como pode ser observado na Tabela 6, em todas as épocas de avaliação, menores valores de condutividade foram obtidos para sementes extraídas de frutos amarelos, indicando maior vigor em relação às demais, enquanto menor vigor foi observado nas sementes de frutos marrons. Silva et al. (2012) verificaram menor condutividade elétrica nas sementes recém-colhidas, obtidas de frutos amarelos, em comparação com as de frutos amarelo-marrons e marrons.

Tabela 6. Condutividade elétrica ($\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$) de sementes de *J. curcas* durante o armazenamento em função do estágio de maturação dos frutos.

Estádio	Armazenamento (meses)							Médias
	0	3	6	9	12	15	18	
Marrom	115,47 a	121,65 a	126,45 a	129,46 a	123,88 a	126,94 a	152,88 a	128,10
Amarelo-marrom	89,58 b	92,24 b	95,32 b	101,53 b	93,69 b	104,27 b	120,05 b	99,53
Amarelo	73,63 c	75,67 c	86,01 c	92,47 c	84,83 c	90,78 c	103,48 c	86,70
Médias	92,89	96,52	102,59	107,82	100,80	107,33	125,47	
CV (%)	2,07							

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

Houve redução na porcentagem de emergência de plântulas com o decorrer do período de armazenamento (Figura 7). Esta queda foi menos acentuada para as sementes extraídas de frutos amarelos, o que evidencia redução mais lenta no vigor dessas sementes em comparação com as sementes dos demais estádios de maturação.

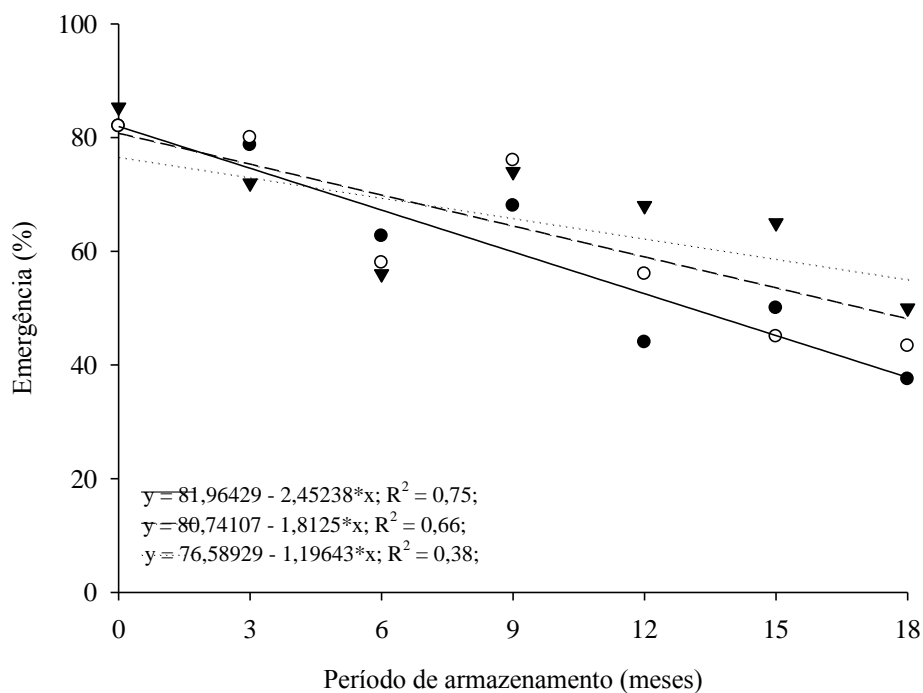


Figura 7. Emergência de plântulas oriundas de sementes de *J. curcas* colhidas em diferentes estádios de maturação dos frutos em função do período de armazenamento (—●—Marrom; —○—Amarelo-marrom; —▼—Amarelo).

Pela Tabela 7, ao se comparar os três estádios de maturação, observam-se diferenças na emergência das plântulas apenas aos três e 12 meses de armazenamento. Aos três meses de armazenamento, foram obtidos maiores valores de emergência para as sementes extraídas de frutos de coloração externa marrom e amarelo-marrom, enquanto aos 12 meses de armazenamento, as sementes extraídas de frutos amarelos apresentaram maior porcentagem de emergência de plântulas.

Tabela 7. Emergência (%) de plântulas oriundas de sementes de *J. curcas* durante o armazenamento em função do estágio de maturação dos frutos.

Estádio	Armazenamento (meses)							Médias
	0	3	6	9	12	15	18	
Marrom	84 a	76a	59 a	72 a	38 c	53 a	38 a	60
Amarelo-marrom	83 a	75ab	58 a	80 a	54 b	55 a	47 a	64
Amarelo	88 a	62 b	56 a	74 a	68 a	63 a	50 a	66
Médias	85	71	58	75	53	57	45	
CV (%)	7,58							

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

Segundo Windauer et al. (2012), a germinação das sementes de *J. curcas* reduz progressivamente em temperaturas acima e abaixo de 25 °C. Assim, os menores valores de emergência observados aos três e seis meses de armazenamento (Tabela 7) estão relacionados à redução da temperatura mínima dentro da casa de vegetação nessas épocas de avaliação, que foi em média 14,1 °C e 15,7 °C, aos três e seis meses, respectivamente (dados não apresentados). Esses valores estão próximos da temperatura basal estabelecida por Windauer et al. (2012) para a germinação das sementes de *J. curcas*, ou seja, 14,4 °C,

Os dados de comprimento e massa seca de plântulas em função do período de armazenamento estão apresentados nas Figuras 8 e 9, respectivamente. Apesar de terem sido observadas diferenças entre os valores obtidos para esses dados durante o período de armazenamento, não foi possível ajustar nenhum modelo. A redução do vigor das sementes, durante o armazenamento, geralmente provoca redução do comprimento e da massa seca das plântulas (Azevedo et al., 2003; Mohammadi et al., 2011). Porém, Fanan et al. (2009), durante o armazenamento de sementes de mamona, também não observaram redução do crescimento das plântulas, enquanto Machado et al. (2010) observaram aumento no comprimento e na massa seca das plântulas dessa espécie. Segundo esses autores, a obtenção de plântulas maiores durante o armazenamento é resultado da redução da dormência das sementes, propiciando uma germinação mais rápida e uniforme. No presente trabalho, a variação na massa seca e no comprimento das plântulas pode estar relacionada às diferenças de temperatura dentro da casa de vegetação em cada época de avaliação, como citado anteriormente.

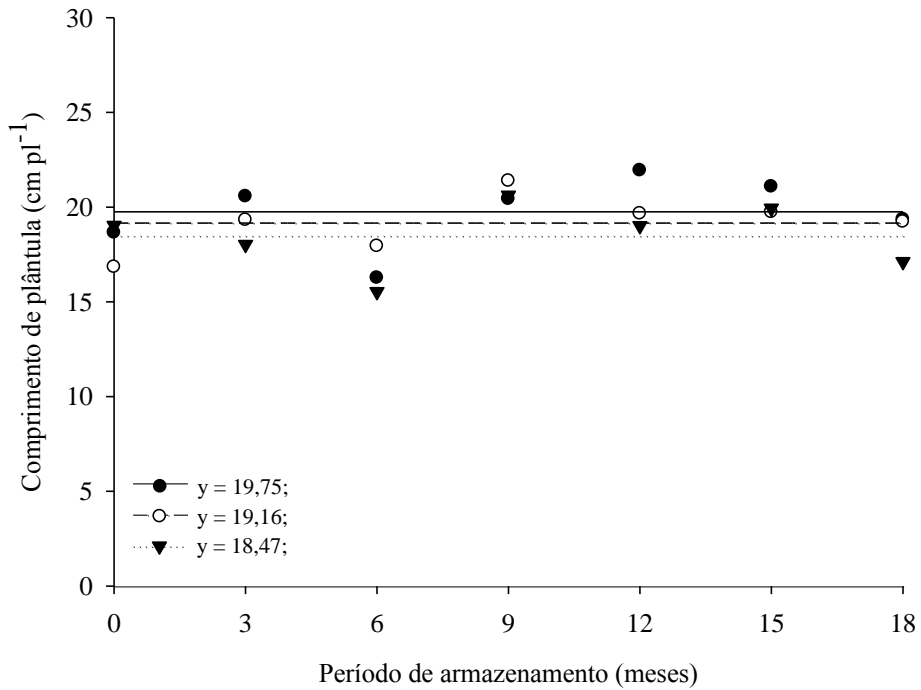


Figura 8. Comprimento de plântula de *J. curcas* oriundas de sementes colhidas em diferentes estádios de maturação dos frutos em função do período de armazenamento (—●—Marrom; —○—Amarelo-marrom; —▼—Amarelo).

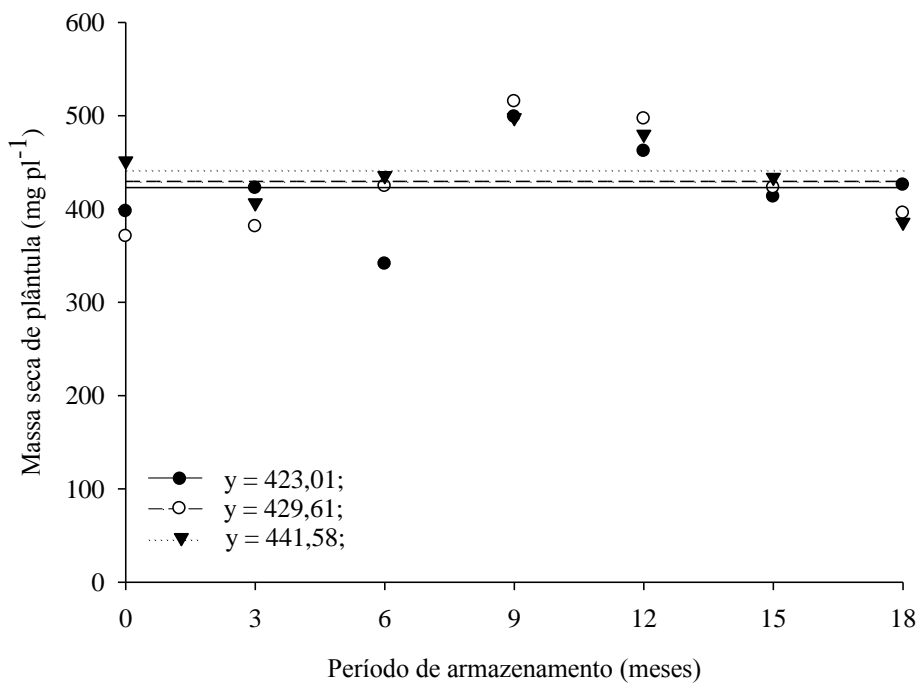


Figura 9. Massa seca de plântulas de *J. curcas* oriundas de sementes colhidas em diferentes estádios de maturação dos frutos em função do período de armazenamento (—●—Marrom; —○—Amarelo-marrom; —▼—Amarelo).

Quando comparados os estádios de maturação dos frutos (Tabelas 8 e 9), apesar de verificadas algumas diferenças entre os estádios, inicialmente as sementes extraídas de frutos amarelos apresentaram maior comprimento e maior massa seca de plântula, resultados que estão de acordo com os obtidos por Sowmya et al. (2012). Porém, com o decorrer do armazenamento, observou-se variação dos resultados, sendo que para as sementes de frutos no estágio amarelo houve tendência de menor comprimento de plântulas, o que não ocorreu para a massa seca de plântula.

Tabela 8. Comprimento de plântulas (cm plântula⁻¹) de *J. curcas* oriundas de sementes submetidas ao armazenamento em função do estágio de maturação dos frutos.

Estádio	Armazenamento (meses)							Médias
	0	3	6	9	12	15	18	
Marrom	18,65 ab	20,56 a	16,26 ab	20,42 a	21,93 a	21,08 a	19,35 a	19,75
Amarelo-marrom	16,83 b	19,32 ab	17,94 a	21,38 a	19,66 b	19,73 a	19,23 a	19,16
Amarelo	19,03 a	18,02 b	15,53 b	20,63 a	19,02 b	19,94 a	17,12 b	18,47
Médias	18,17	19,30	16,58	20,81	20,20	20,25	18,56	
CV (%)	3,68							

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

Tabela 9. Massa seca de plântulas (mg plântula⁻¹) de *J. curcas* oriundas de sementes submetidas ao armazenamento em função do estágio de maturação dos frutos.

Estádio	Armazenamento (meses)							Médias
	0	3	6	9	12	15	18	
Marrom	397,54 ab	422,47 a	341,07 b	498,81 a	462,13 a	413,18 a	425,88 a	423,01
Amarelo-marrom	370,87 b	381,31 a	424,39 a	515,20 a	496,78 a	422,99 a	395,74 a	429,61
Amarelo	451,42 a	406,55 a	435,60 a	497,86 a	480,09 a	433,78 a	385,76 a	441,58
Médias	406,61	403,44	400,35	503,96	479,67	423,31	402,46	
CV (%)	5,81							

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

Em síntese, verifica-se que houve redução na germinação das sementes de *J. curcas* a partir do nono mês de armazenamento, independente do estágio de maturação do fruto (Figura 2). Porém, não foi observada diferença significativa entre a germinação das sementes dos três estádios de maturação dos frutos ao longo de todo o período de armazenamento (Tabela 2). Ao se avaliar o vigor das sementes, verifica-se redução para todos os estádios de maturação dos frutos, principalmente a partir dos nove meses de armazenamento, como evidenciado pelos testes de primeira contagem de germinação

(Figura 3), envelhecimento acelerado (Figura 4) e teste de frio para sementes de frutos marrons (Figura 5).

Comparando-se os diferentes estádios de maturação, verifica-se que a queda no vigor foi menos intensa para as sementes extraídas de frutos amarelos e amarelo-marrons quando comparadas às sementes obtidas de frutos marrons, o que ficou bem evidente pelos testes de frio (Tabela 5), condutividade elétrica (Tabela 6) e emergência de plântulas (Tabela 7).

CONCLUSÕES

As sementes de *J. curcas* podem ser armazenadas por até nove meses sem perda significativa da germinação e do vigor, e por até 12 meses mantendo elevada porcentagem de germinação, porém com queda no vigor.

As sementes extraídas de frutos com coloração externa da casca amarela e amarelo-marrom são mais vigorosas e mantêm por maior período de tempo a qualidade fisiológica, comparadas às sementes extraídas de frutos marrons, ou seja, frutos secos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA, F.A.C.; MORAIS, A.M.; CARVALHO, J.M.F.C.; GOUVEIA, J.P.G. Crioconservação de sementes de mamona das variedades nordestina e pernambucana. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.6, n.2, p. 295-302, 2002.
- AZEVEDO, M.R.Q.A; GOUVEIA, J.P.G.; TROVÃO, D.M.M.; QUEIROGA, V.P. Influência das embalagens e condições de armazenamento no vigor de sementes de gergelim. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.7, n.3, p.519-524, 2003.
- BASRA, S.M.A.; REHMAN, K.U.; IQBAL, S. Cotton Seed deterioration: Assessment of some physiological and biochemical aspects. **International Journal of Agriculture & Biology**, v.1560, p.195–198, 2000.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Brasília: Secretaria de Defesa Agropecuária, 2009. 399p.

- CHAVES, T.H.; RESENDE, O.; SIQUEIRA, V.C.; ULLMANN, R. Qualidade fisiológica das sementes de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.) durante o armazenamento em três ambientes. **Semina: Ciências Agrárias**, v.33, n.5, p.1653-1662, 2012.
- DANTAS, B.F.; SILVA, F.F.S.; LOPES, A.P.; ARAÚJO, M.N.; SOUZA, Y.A. **Maturação de frutos e sementes de pinhão-manso**. Embrapa Semiárido, v.1, p.1-4, 2010. (Comunicado Técnico).
- DELOUCHE, J.C.; BASKIN, C.C. Accelerated aging techniques for predicting the relative storability of seeds lots. **Seed Science and Technology**, v.1, n.2, p.427-452, 1973.
- DIAS, L.A.S. Biofuel plant species and the contribution of genetic improvement. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v.1, p.16-26, 2011.
- DRANSKI, J.A.L.; PINTO JR., A.S.; STEINER, F.; ZOZ, T.; MALAVASI, U.C.; MALAVASI, M.M.; GUIMARÃES, V.F. Physiological maturity of seeds and colorimetry of fruits of *Jatropha curcas* L. **Revista Brasileira de Sementes**, v.32, n.4, p.158 - 165, 2010.
- FANAN, S.; MEDINA, P.F.; CAMARGO, M.B.P.; RAMOS, N.P. Influência da colheita e do armazenamento na qualidade fisiológica de sementes de mamona. **Revista Brasileira de Sementes**, v.31, n.1, p.150-159, 2009.
- GUZMAN, L.E.P; AQUINO, A.L. Seed characteristics and storage behavior of physic nut (*Jatropha curcas* L.). **Philippine Journal of Crop Science**, v.34, n.1, p.13-21, 2009.
- ISTA – International Seed Testing Association. **Handbook of vigour test methods**. 3.ed., ISTA, Zürich, 1995. 117p.
- JOKER, D.; JEPSEN, J. *Jatropha curcas* L. **Seed Leaflet**, n.83, p.1-2, 2003.
- JONGSCHAAP, R.E.E; CORRÉ, W.J.; BINDRABAN, P.S.; BRANDENBURG, W.A. **Claims and facts on *Jatropha curcas* L.** Global *Jatropha curcas* evaluation, breeding and propagation programme. Plant Research International, Report 158, 2007. 42p.

- KAUSHIK, N. Effect of capsule maturity on germination and seedling vigour in *Jatropha curcas*. **Seed Science and Technology**, v.31, p.449-454, 2003.
- MACHADO, C.G.; MARTINS, C.C.; CRUZ, S.C.S.; NAKAGAWA, J.; PEREIRA, F.R.S. Posição do racemo e do fruto na qualidade fisiológica de sementes de mamona durante o armazenamento. **Semina: Ciências Agrárias**, v.31, n.2, p. 301-312, 2010.
- MOHAMMADI, H.; SOLTANI, A.; SADEGHIPOUR, H.R.; ZEINALI, E. Effects of seed aging on subsequent seed reserve utilization and seedling growth in soybean. **International Journal of Plant Production**, v.5, n.1, p.65-70, 2011.
- MONCALEANO-ESCANDON, J.; SILVA, B.C.F.; SILVA, S.R.S.; GRANJA, J.A.A.; ALVES, M.C.J.L.; POMPELLI, M.F. Germination responses of *Jatropha curcas* L. seeds to storage and aging. **Industrial Crops and Products**, v.44, p.684-690, 2013.
- MORAIS, E.B.S.D. **Padronização de teste de germinação e qualidade de sementes de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.) durante o armazenamento**. 2008. 103f. Dissertação (Mestrado). Universidade Estadual de Montes Claros, Janaúba, MG.
- OLIVEIRA, G. L. **Alterações fisiológicas e enzimáticas em sementes de *Jatropha curcas* L. durante o armazenamento**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2013. 58p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – UFV, 2013.
- OLIVEIRA, G.L. **Testes para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.)**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2009. 60p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – UFV, 2009.
- OLIVEIRA, G.L.; DIAS, L.A.S.; DIAS, D.C.F.S.; SOARES, M.M.; SILVA, L.J. Accelerated ageing test to evaluate vigour in *Jatropha curcas* L. seeds. **Revista Ciência Agronômica**, v.45, n.1, p.120-127, 2014.
- OPENSHAW, K. A review of *Jatropha curcas*: an oil plant of unfulfilled promise. **Biomass and Bioenergy**, v.19, n. 1, p.1-15, 2000.
- 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.

- PESSOA, A.M.S.; MANN, R.S.; SANTOS, A.G.; RIBEIRO, M.L.F. Influência da maturação de frutos na germinação, vigor e teor de óleo de sementes de pinhão-mansão (*Jatropha curcas* L.). **Scientia Plena**, v.8, n.7, p.1-11, 2012.
- PINTO JÚNIOR, 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.
- 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.
- SATURNINO, H. M.; PACHECO, D. D.; AKIDA, J.; TOMINAGA, N.; GONÇALVES, N. P. Cultura do pinhão-mansão (*Jatropha curcas* L.). **Informativo Agropecuário**, v.6, p.44-78, 2005.
- SILIP, J.J.; TAMBUNAN, A.H.; HAMBALI, H.; SUTRISNO, S.; SURAHMAN, M. Lifecycle duration and maturity heterogeneity of *Jatropha curcas* Linn. **Journal of Sustainable Development**, v.3, n.2, p.291-295, 2010.
- SILVA, L.J., DIAS, D.C.F.S., DIAS, L.A.S.; HILST, P.C. Physiological quality of *Jatropha curcas* L. seeds harvested at different development stages. **Seed Science and Technology**, 39, 572-580, 2011.
- 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. **Ciência e agrotecnologia**, v.36, n.1, p.39-44, 2012.
- SOWMYA, K.J.; GOWDA, R.; BALAKRISHNA, P.; RAO, M.R.G. Effect of fruit maturity stages on seed quality parameters in jatropha (*Jatropha curcas* L.). **Indian Journal of Plant Sciences**, v.1, n.1, p.85-90, 2012.
- TIWARI, A.K.; KUMAR, A.; RAHEMAN, H. Biodiesel production from jatropha oil (*Jatropha curcas*) with high free fatty acids: An optimized process. **Biomass and Bioenergy**, v.31, .8, p.569–575, 2007.
- WINDAUER, L.B.; MARTINEZ, J.; RAPOPORT, D.; WASSNER, D.; BENECH-ARNOLD, R. Germination responses to temperature and water potential in *Jatropha*

curcas seeds: a hydrotime model explains the difference between dormancy expression and dormancy induction at different incubation temperatures. **Annals of Botany**, v.109, p.265–273, 2012.

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

ZONTA, J.B.; ARAÚJO, E.F.; ARAÚJO, R.F.; DIAS, L.A.S. Diferentes tipos de secagem: efeitos na qualidade fisiológica de sementes de pinhão manso. **Revista Brasileira de Sementes**, v.33, n.4, p.721 - 731, 2011.

CAPÍTULO II

PEROXIDAÇÃO DE LIPÍDIOS E ATIVIDADE DE ENZIMAS ANTIOXIDATIVAS DURANTE O ARMAZENAMENTO DE SEMENTES DE *Jatropha curcas* L. OBTIDAS DE FRUTOS EM DIFERENTES ESTÁDIOS DE MATURAÇÃO

RESUMO

São escassas as informações referentes ao potencial de armazenamento das sementes de *Jatropha curcas* L. obtidas de frutos em diferentes estádios de maturação e referentes à relação entre viabilidade das sementes, peroxidação de lipídios e atuação das enzimas do sistema de defesa antioxidativo durante o armazenamento. Assim, o objetivo desse trabalho foi investigar a atuação das enzimas do sistema de defesa antioxidativo e a peroxidação de lipídios durante o armazenamento de sementes de *J. curcas* obtidas de frutos em diferentes estádios de maturação. Foram utilizadas sementes extraídas de frutos colhidos em três estádios de maturação com base na coloração externa da casca, ou seja, amarelo, amarelo-marrom e marrom (frutos secos). Em seguida, as sementes foram armazenadas por dezoito meses, em sacos de papel Kraft em ambiente de laboratório ($23,2 \pm 2,7$ °C; $64 \pm 11\%$ de UR). Inicialmente e a cada três meses, as sementes foram avaliadas quanto à germinação, condutividade elétrica, peroxidação de lipídios, conteúdo de proteínas e atividade das enzimas SOD, POX e APX no embrião das sementes. As sementes dos três estádios de maturação dos frutos não diferiram quanto à germinação durante todo o período de armazenamento, sendo observada redução da germinação a partir de nove meses de armazenamento. A condutividade elétrica foi maior para as sementes obtidas de frutos marrons e menor para sementes de frutos amarelos, e esses valores aumentaram durante o armazenamento para todos os estádios de maturação. Houve redução no conteúdo de proteína e na atividade das enzimas do sistema de defesa antioxidativo no embrião das sementes dos três estádios de maturação, com exceção da SOD. Não foi observada relação entre a redução da viabilidade das sementes e a peroxidação de lipídios.

ABSTRACT

Lipid peroxidation and antioxidative enzymes activity during storage of *Jatropha curcas* L. seeds obtained from fruits at different maturation stages

Information relating to the storage potential of *Jatropha curcas* L. seeds from fruits at different maturation stages and on the relationship between seed viability, lipid peroxidation and activity of antioxidant enzymes during storage are scarce. Thus, the aim of this study was to investigate the role of antioxidant enzymes during storage and lipid peroxidation of *J. curcas* seeds from fruits at different maturation stages. Seeds extracted from fruits harvested at three maturation stages, i.e., yellow, yellow-brown and brown (dried fruit), were used. Then the seeds were packed in Kraft paper bag and stored at laboratory environment (23.2 ± 2.7 °C, $64 \pm 11\%$ of RH) for 18 months. Initially and every three months, the seeds were evaluated for germination, electric conductivity and lipid peroxidation, protein content, and SOD, POX and APX enzymes activity in the seed embryo. The seeds of the three fruit maturation stages did not differ in germination throughout the storage period. Reduction in germination was observed after nine months of storage. The electrical conductivity was higher for seeds from brown fruits and lower for seeds from yellow fruits, and these values increased during storage for all fruit maturation stages. There was reduction in protein content and in antioxidant enzymes activity in the embryo of seeds of the three maturation stages, with the exception for SOD. No relationship between reduction of seed viability and lipid peroxidation was observed.

INTRODUÇÃO

As sementes de *Jatropha curcas* L., popularmente conhecido como pinhão manso, possuem elevado teor de óleo, cerca de 38%. Essa espécie é considerada promissora fonte de matéria prima para a produção de biodiesel, já que o óleo presente em suas sementes apresenta elevada qualidade e é adequado para ser utilizado na produção desse biocombustível (Tiwari et al., 2007; Dias, 2011). Assim, a espécie *J. curcas* se apresenta como uma alternativa sustentável ao substituir os combustíveis fósseis e contribuir para a redução da emissão de gases do efeito estufa (Openshaw, 2000; Jongschaap et al., 2007).

A planta de *J. curcas* possui crescimento indeterminado, apresentando desuniformidade de florescimento, sendo encontrados na mesma planta, ou até mesmo na mesma inflorescência, frutos em diferentes estádios de maturação (Silip et al., 2010). Assim, a indicação do momento de colheita dos frutos visando a obtenção de sementes com elevada qualidade fisiológica tem sido feita de acordo com a coloração externa dos frutos, sendo mais indicados para a colheita das sementes, os frutos com coloração da casca amarela ou amarelo-marrom (Kaushik, 2003; Pessoa et al., 2012; Silva et al., 2012; Sowmya et al., 2012).

Sementes oleaginosas, como as de *J. curcas*, são mais propensas à deterioração durante o armazenamento (McDonald, 1999), o que reduz a sua longevidade. Existem vários mecanismos envolvidos na perda da viabilidade das sementes durante o armazenamento, entre eles, a peroxidação de lipídios, a inativação de enzimas ou degradação de proteínas, o rompimento de membranas celulares e a perda da integridade do DNA (Smith e Berjak, 1995; Walters, 1998; McDonald, 1999).

Apesar de o mecanismo exato responsável pela perda de viabilidade das sementes ainda não estar completamente entendido (McDonald, 1999), a formação de radicais livres e a consequente peroxidação de lipídios, aliadas à habilidade das sementes em remover esses radicais, são consideradas as principais causas da deterioração das sementes (Wilson e McDonald, 1986; Hendry, 1993; Bailly, 2004).

A peroxidação de lipídios é um processo que ocorre em cadeia, sendo desencadeada pelo ataque de radicais livres às duplas ligações de ácidos graxos insaturados (Wilson e McDonald, 1986), sendo responsável pela degradação dos lipídios presentes nas membranas celulares ou armazenados como reserva pelas sementes. Em função desse processo, há redução da sua disponibilidade como reserva mobilizável para o crescimento das plântulas e também pode levar ao acúmulo de derivados tóxicos nas sementes, o que gera estresse oxidativo e leva à perda de viabilidade das sementes (Hendry, 1993; McDonald, 1999).

O produto final da peroxidação de lipídios é o hidroperóxido de lipídio (ROOH), a partir do qual é formado aldeído, incluindo o malonaldeído (MDA). Assim, a determinação do conteúdo de MDA é um método comumente usado para a determinação da peroxidação de lipídios (Sung e Jeng, 1994), sendo observado acúmulo desse composto com a redução da viabilidade das sementes devido ao processo de deterioração em várias espécies como amendoim (Sung e Jeng, 1994), soja (Sharma et al., 2013), girassol (Kibinza et al., 2006), algodão (Goel et al., 2003) e trigo (Lehner et al., 2008).

Os radicais livres, responsáveis pela peroxidação de lipídios, são moléculas resultantes da redução do oxigênio molecular com consequente formação de produtos tóxicos (Bailly et al., 2008). Várias formas de radicais livres são encontradas em tecidos vivos, entre eles, o ânion superóxido ($O_2^{\bullet-}$), o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e o radical hidroxila ($\bullet OH$), cada um com capacidade diferente em causar danos às células (McDonald, 1999; Mittler, 2002). As reações de estresse oxidativo que ocorrem nas células das plantas estão ligadas à formação desses radicais.

Assim, a aquisição de um sistema antioxidativo eficiente contra as espécies reativas de oxigênio, durante o desenvolvimento das sementes, está relacionado com o aumento na sua germinação e no seu potencial de armazenamento (Bailly, 2004). Dentre as enzimas removedoras de radicais livres presentes nas sementes, destacam-se a superóxido dismutase (SOD), peroxidase do ascorbato (APX), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPX) e peroxiredoxina (PrxR) (Mittler, 2004).

A superóxido dismutase, que pode ser mitocondrial, citosólica ou cloroplastídica, dismuta o radical superóxido a peróxido de hidrogênio e oxigênio (Bowler et al., 1992). O peróxido de hidrogênio é eliminado pela ação da catalase, que está presente em glioxissomos e peroxissomos (Willekens et al., 1995). O ciclo do ascorbato/glutathione também pode eliminar parte do H_2O_2 . Nesse ciclo estão envolvidas as enzimas peroxidase do ascorbato (APX), monodehidroascorbato redutase (MDAR), dehidroascorbato redutase (DHAR) e glutathione redutase (GR). As enzimas desse ciclo, que estão presentes nos cloroplastos, citoplasmas, mitocôndria, peroxissomos e no apoplasto (Mittler, 2002), participam da regeneração de poderosos antioxidantes, como o ácido ascórbico, a glutathione reduzida e o α -tocoferol. Em alguns trabalhos com sementes oleaginosas, como exemplo algodão (Goel et al., 2003; Goel e Sheoran, 2003; Freitas et al., 2004), soja (Sung e Chiu, 1995), amendoim (Sung, 1996) e girassol (Kibinza et al., 2006) é observada redução na atividade dessas enzimas durante o processo de deterioração das sementes. Esse fato contribui para o decréscimo no vigor e na germinação, devido à ineficiência na eliminação dos radicais livres, o que leva à peroxidação dos lipídios e, por fim, à perda da viabilidade das sementes.

Os estudos referentes à peroxidação de lipídios e atuação das enzimas do sistema de defesa antioxidativo durante o armazenamento de sementes de *J. curcas* ainda são escassos (Oliveira, 2013). Há também poucas informações referentes ao potencial de armazenamento das sementes obtidas de frutos em diferentes estádios de maturação (Santoso et al., 2012).

Assim, o objetivo do presente trabalho foi investigar a atuação das enzimas do sistema de defesa antioxidativo, SOD, POX e APX, e a peroxidação de lipídios, avaliada pelo conteúdo de MDA no embrião, durante o armazenamento de sementes de *J. curcas* obtidas de frutos em diferentes estádios de maturação.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Pesquisa em Sementes, pertencente ao Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa. Para tanto, frutos de *J. curcas* foram colhidos em área de produção comercial localizada no município de Viçosa, Minas Gerais. Durante a fase de florescimento das plantas, diariamente, flores femininas foram etiquetadas no dia da antese até a obtenção de número suficiente de frutos.

Os frutos foram colhidos em diferentes estádios de maturação com base na coloração externa da casca, ou seja, amarelo, amarelo-marrom e completamente marrom (frutos secos), o que correspondeu à aproximadamente 60, 70 e 80 dias após a antese, respectivamente. As sementes de cada estágio de maturação foram extraídas manualmente dos frutos e colocadas para secar naturalmente até atingirem grau de umidade compatível com o armazenamento, em torno de 8%. Em seguida, as sementes foram acondicionadas em sacos de papel Kraft e permaneceram armazenadas em ambiente de laboratório ($23,2 \pm 2,7$ °C; $64 \pm 11\%$ de UR) pelos períodos de 0, 3, 6, 9, 12, 15 e 18 meses. Em cada época foram realizados os seguintes testes e determinações:

Germinação

Foram utilizadas oito repetições de 25 sementes distribuídas em rolo de papel toalha umedecido com quantidade de água equivalente a 2,7 vezes o peso de substrato seco. Os rolos foram mantidos em germinador a 25 °C e as avaliações da porcentagem de plântulas normais foram realizadas aos 7 e 12 dias após a semeadura.

Condutividade elétrica

A condutividade elétrica foi determinada pelo método da condutividade de massa (ISTA, 1995). Assim, quatro repetições de 25 sementes foram pesadas e colocadas em copos plásticos contendo 75 mL de água destilada. Em seguida, o conjunto foi mantido em BOD a 25 °C, durante 24 horas. Após esse período, foi feita a determinação da condutividade elétrica em condutímetro modelo Digimed DM-31. Os resultados foram expressos em $\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$ de sementes.

Avaliação da peroxidação de lipídios

O conteúdo de MDA foi determinado pela reação do ácido tiobarbitúrico (TBA) (Heath e Packer, 1968). Amostras de 0,2 g de embriões isolados foram homogeneizadas com 2 mL de ácido tricloroacético (TCA) 0,1% (p/v) e o homogeneizado foi centrifugado a 12.000 xg por 15 min. Uma alíquota de 0,5 mL do sobrenadante foi adicionada a 1,5mL de TBA 0,5% (p/v) e TCA 20%. A mistura foi incubada em água fervente por 30 min. e, então, imediatamente resfriada em banho de gelo. Em seguida, as amostras foram centrifugadas a 10.000 xg durante 10 min. A absorbância da amostra foi lida nos comprimentos de onda de 532 nm e 600 nm em espectrofotômetro modelo Thermo Scientific™ UV-Vis Genesys 105. A peroxidação de lipídios foi expressa como conteúdo de MDA em nmol g^{-1} de massa fresca, utilizando-se coeficiente de extinção molar de $155 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$.

Extração e determinação da atividade enzimática

Os extratos enzimáticos brutos foram obtidos pela homogeneização de quatro repetições de 300 mg de eixos embrionários em nitrogênio líquido, seguida da adição de 2 mL do meio de extração, constituído de 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) (Peixoto et al., 1999). O homogeneizado foi centrifugado a 12.000 g, por 15 min, a 4 °C.

Determinação da atividade da enzima superóxido dismutase (SOD, EC 1.15.1.1)

A atividade SOD foi determinada 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 medida pela absorbância a 560 nm. O valor da absorvância de um meio de reação exatamente igual ao anterior, mas mantido no escuro por igual período, serviu como branco e foi subtraído da leitura da amostra que recebeu iluminação (Giannopolitis e Ries, 1977). A leitura da absorbância foi realizada em espectrofotômetro modelo Thermo Scientific™ UV-Vis Genesys 105. Uma unidade de SOD foi definida como a quantidade de enzima necessária para inibir em 50% a fotorredução do NBT (Beauchamp e Fridovich, 1971).

Determinação da atividade da enzima peroxidase (POX, EC 1.11.1.7)

A atividade da peroxidase foi determinada pela adição de 100 μL do extrato enzimático bruto a 2,9 mL de meio de reação, constituído de tampão fosfato de potássio 25 mM, pH 6,8, guaiacol 20 mM e H_2O_2 20 mM (Kar e Mishra, 1976). A produção de purpurogalina foi determinada pelo incremento da absorbância a 420 nm, a 25 °C, durante o primeiro minuto de reação. A leitura da absorbância foi realizada em espectrofotômetro modelo Thermo Scientific™ UV-Vis Genesys 105. A atividade enzimática foi calculada utilizando-se o coeficiente de extinção molar de 2,47 $\text{mM}^{-1} \text{cm}^{-1}$ (Chance e Maehley, 1955) e expressa em $\mu\text{mol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ proteína.

Determinação da atividade da enzima peroxidase do ascorbato (APX, EC1.11.1.11)

A atividade da APX foi determinada pela adição de 100 μL do extrato enzimático bruto a 2,9 mL de meio de reação constituído de tampão fosfato de potássio 50 mM, pH 7,8, ácido ascórbico 0,25 mM, EDTA 0,1 mM e H_2O_2 0,3 mM. O decréscimo na absorbância a 210 nm, a 25 °C, foi determinado durante o primeiro

minuto de reação. A leitura da absorbância foi realizada em espectrofotômetro modelo Thermo Scientific™ UV-Vis Genesys 105. A atividade enzimática foi calculada utilizando-se o coeficiente de extinção molar $2,8 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$ (Nakano e Asada, 1981), e o resultado foi expresso em $\mu\text{mol min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$ proteína.

Determinação de proteínas

Os teores de proteínas dos extratos enzimáticos foram determinados pelo método de Bradford (1976), utilizando BSA como padrão. 100 μL do extrato enzimático foram adicionados a 1 mL do reagente de Bradford, seguido de agitação. Após 20 minutos, foi realizada a leitura da absorbância da amostra em espectrofotômetro modelo Thermo Scientific™ UV-Vis Genesys 105 no comprimento de onda de 595 nm.

Análise estatística

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado em esquema de parcelas subdivididas, com quatro repetições. Os estádios de maturação dos frutos foram alocados nas parcelas e as épocas de avaliação nas subparcelas. Os dados foram submetidos à análise de variância. Os dados obtidos para os períodos de armazenamento foram apresentados pelas médias \pm desvio padrão. As médias obtidas para os estádios de maturação dos frutos, em cada época de análise, foram comparadas pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No início do armazenamento, as sementes de *J. curcas*, dos três estádios de maturação, apresentaram valores de germinação maiores que 87% (Figura 1). As sementes obtidas de frutos marrons e amarelo-marrons apresentaram ligeiro aumento na porcentagem de germinação até os nove meses de armazenamento, o que está associado à redução da dormência dessas sementes nos primeiros meses de armazenamento. Principalmente a partir dos nove meses de armazenamento, foi observada redução nos valores de germinação das sementes dos três estádios de maturação dos frutos.

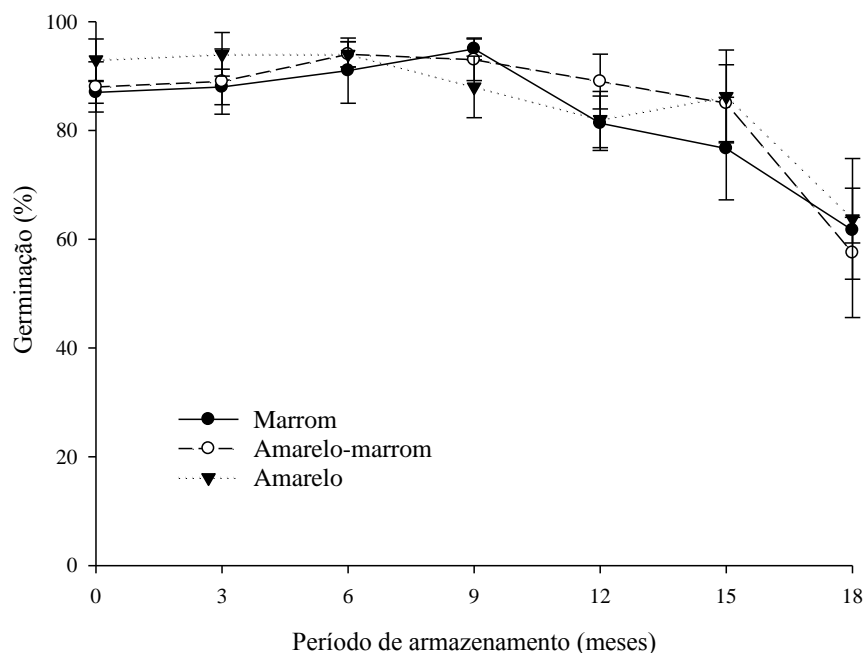


Figura 1. Germinação de sementes de *J. curcas*, obtidas de frutos em diferentes estádios de maturação, em função do período de armazenamento.

Apesar da redução da viabilidade das sementes observada a partir de nove meses de armazenamento, os valores de germinação obtidos no presente trabalho foram superiores aos obtidos em outros trabalhos para períodos menores de armazenamento, o que pode ser atribuído à qualidade inicial dessas sementes, que foram armazenadas após serem colhidas e apresentando germinação acima de 87% (Figura1). Assim, para sementes de *J. curcas*, inicialmente com 80% de germinação, armazenadas em condições ambientais (26 ± 3 °C; 55 ± 12 % UR), Chaves et al. (2012) concluíram que a qualidade fisiológica das sementes é comprometida a partir do sexto mês de armazenamento. Pereira et al. (2013) verificaram que sementes com germinação inicial de 86%, apresentaram 76% de germinação no 6º mês de armazenamento, enquanto Guzman e Aquino (2009) observaram perda total da germinação de dois lotes, com germinação inicial de 94% e 80%, após 12 meses de armazenamento.

Inicialmente e ao longo de todo o período de armazenamento, as sementes extraídas dos frutos nos três estádios de maturação não diferiram entre si quanto à porcentagem de germinação (Tabela 1).

Tabela 1. Germinação (%) de sementes de *J. curcas*, durante o armazenamento, em função do estágio de maturação dos frutos.

Estádio	Armazenamento (meses)							Médias
	0	3	6	9	12	15	18	
Marrom	87 a	88 a	91 a	95 a	81 a	77 a	62 a	83
Amarelo-marrom	88 a	89 a	94 a	93 a	89 a	85 a	58 a	85
Amarelo	93 a	94 a	94 a	88 a	82 a	86 a	64 a	86
Médias	89	90	93	92	84	83	61	
CV (%)	6,59							

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

Houve aumento dos valores de condutividade elétrica com o aumento do período de armazenamento das sementes para os três estádios de maturação dos frutos (Figura 2). Este aumento foi mais evidente aos 18 meses de armazenamento, em todos os estádios de maturação. Esse período coincidiu com a redução mais acentuada da germinação das sementes, ou seja, aos 18 meses de armazenamento houve queda de 15, 27 e 22 pontos percentuais na germinação das sementes, dos frutos nos estádios marrom, amarelo-marrom e amarelo, respectivamente, em relação ao período anterior (Tabela 1). Esses resultados estão de acordo com a teoria proposta por Delouche e Baskin (1973), de que a redução da viabilidade das sementes está associada à perda da integridade do sistema de membranas celulares.

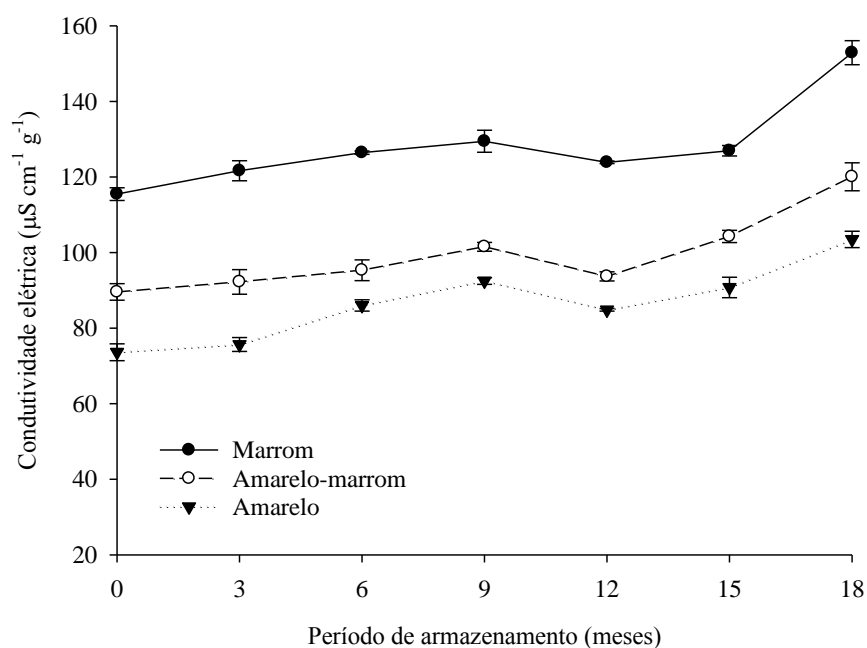


Figura 2. Condutividade elétrica de sementes de *J. curcas*, obtidas de frutos em diferentes estádios de maturação, em função do período de armazenamento.

Aumento nos valores de condutividade elétrica das sementes de *J. curcas* com o armazenamento também foi observado por outros autores (Chaves et al., 2012; Oliveira, 2013), o que evidencia a perda da integridade do sistema de membranas celulares, associado ao acúmulo de alterações deletérias decorrentes do processo de deterioração das sementes ao longo do armazenamento (Basra et al., 2000; Moncaleano-Escandon et al., 2013).

Como pode ser observado na Tabela 2, ao longo de todo o período de armazenamento, menores valores de condutividade foram obtidos para sementes extraídas de frutos amarelos, enquanto os maiores valores foram observados nas sementes obtidas de frutos marrons. Esses dados sugerem que nas sementes obtidas de frutos marrons (secos) já houve início o processo de deterioração. Segundo Delouche e Baskin (1973), o evento inicial que caracteriza o processo de deterioração das sementes, que se instala a partir da maturidade fisiológica, é a degeneração das membranas celulares.

Tabela 2. Condutividade elétrica ($\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$) de sementes de *J. curcas*, durante o armazenamento, em função do estágio de maturação dos frutos.

Estádio	Armazenamento (meses)							Médias
	0	3	6	9	12	15	18	
Marrom	115,47 a	121,65 a	126,45 a	129,46 a	123,88 a	126,94 a	152,88 a	128,10
Amarelo-marrom	89,58 b	92,24 b	95,32 b	101,53 b	93,69 b	104,27 b	120,05 b	99,53
Amarelo	73,63 c	75,67 c	86,01 c	92,47 c	84,83 c	90,78 c	103,48 c	86,70
Médias	92,89	96,52	102,59	107,82	100,80	107,33	125,47	
CV (%)	2,07							

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

Na Figura 3, observa-se redução dos valores iniciais do conteúdo de malonaldeído (MDA) no embrião das sementes de *J. curcas* durante o armazenamento, independente do estágio de maturação dos frutos, até os nove meses de armazenamento. Aos 12 meses houve aumento no conteúdo de MDA, porém, após esse período, houve redução dos valores. Não houve diferença no conteúdo de MDA das sementes dos três estádios, tanto no início como no decorrer de todo o período de armazenamento (Tabela 3).

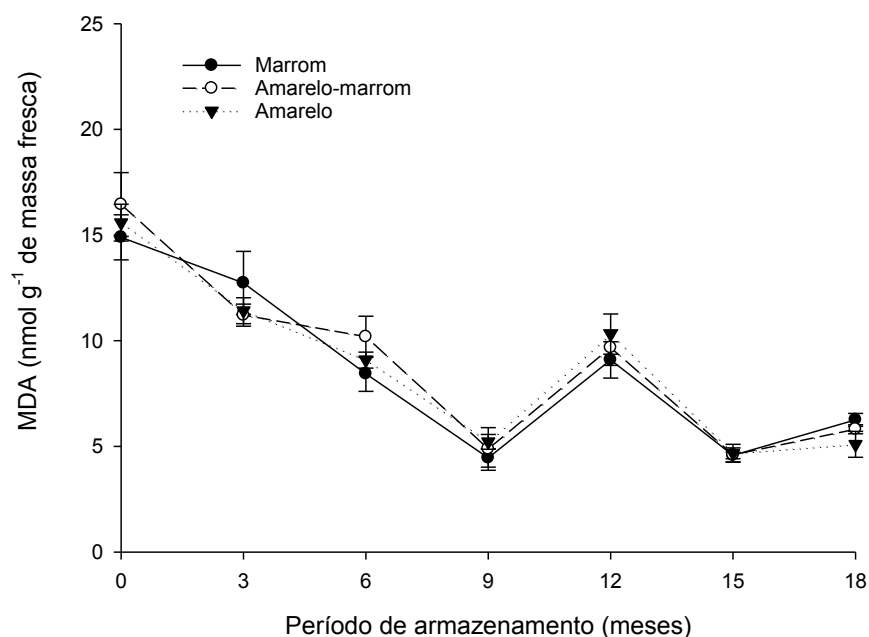


Figura 3. Conteúdo de malonaldeído (MDA) no embrião de sementes de *J. curcas*, obtidas de frutos em estádios de maturação, em função do período de armazenamento.

Tabela 3. Conteúdo de malonaldeído (MDA) (nmol g⁻¹ massa fresca) no embrião de sementes de *J. curcas*, durante o armazenamento, em função do estágio de maturação dos frutos.

Estádio	Armazenamento (meses)							Médias
	0	3	6	9	12	15	18	
Marrom	14,89 a	12,73 a	8,43 a	4,46 a	9,09 a	4,57 a	6,26 a	8,63
Amarelo-marrom	16,44 a	11,21 a	10,19 a	4,88 a	9,67 a	4,60 a	5,81 a	8,97
Amarelo	15,59 a	11,42 a	9,08 a	5,21 a	10,31 a	4,67 a	5,10 a	8,77
Médias	15,64	11,79	9,23	4,85	9,69	4,61	5,72	
CV (%)	8,65							

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

O acúmulo de MDA está associado à peroxidação de lipídios e ao processo de deterioração das sementes, sendo observado em sementes de amendoim (Sung e Jeng, 1994), girassol (Kibinza et al., 2006), soja (Sung, 1996), trigo (Lehner et al., 2008) e algodão (Goel et al., 2003) envelhecidas artificialmente, ou seja, em condições de umidade e temperatura elevadas; e em sementes de soja (Sharma et al., 2013), com o envelhecimento natural. No entanto, Kibinza et al. (2006) também observaram redução no conteúdo de MDA em sementes de girassol armazenadas com baixo teor de água. Esses autores demonstraram que durante o envelhecimento acelerado das sementes com

grau de umidade abaixo de 17,6% e temperatura de 35 °C, a deterioração das sementes ocorreu sem que ocorresse a peroxidação de lipídios. Por outro lado, nas sementes com teores de água acima de 19,9%, nessa mesma temperatura, foi observada redução da viabilidade das sementes aliada ao acúmulo de H₂O₂ e de MDA.

No presente trabalho, as sementes de *J. curcas* foram armazenadas com grau de umidade próximo de 8,0%. Durante o armazenamento os teores de água das sementes variaram entre 7,5% e 9,6% (dados não apresentados). Segundo McDonald (1999) e Walters (1998), a peroxidação de lipídios é um processo dependente do teor de umidade das sementes, ou seja, ocorre por autooxidação em valores de umidade abaixo de 6%, enquanto a produção de radicais livres por enzimas oxidativas é responsável pela peroxidação de lipídios em teores de água acima de 14%; entre esses valores de umidade é provável que a peroxidação de lipídios seja mínima porque há conteúdo de água suficiente para servir como proteção contra a autooxidação ocasionada pelo ataque de radicais livres, mas não suficiente para ativar enzimas oxidativas.

Assim, mesmo ocorrendo aumento da condutividade elétrica das sementes ao longo do período de armazenamento (Figura 2) e redução da germinação (Figura 1), os dados obtidos para o conteúdo de MDA no embrião, sugerem que nas condições em que as sementes foram armazenadas, ou seja, baixo teor de umidade (cerca de 8%) e em condições ambientais (23,2 ± 2,7 °C; 64 ± 11% de UR), a peroxidação de lipídios, avaliada pelo acúmulo de MDA, não ocorreu.

De acordo com os resultados obtidos por Lehner et al. (2008), a redução da viabilidade de sementes de trigo com baixo teor de água, submetidas ao envelhecimento artificial (30 °C, 75% de UR), ocorreu sem o acúmulo de MDA ou de H₂O₂. No entanto, os autores não excluíram a possibilidade do papel de produtos secundários, como os radicais livres, aldeídos e hidroperóxidos, produzidos pelas reações de autooxidação na deterioração das sementes. Assim, no presente trabalho, essa possibilidade também não pode ser descartada.

Na Figura 4 e na Tabela 4 estão apresentados os dados de proteínas totais no eixo embrionário das sementes de *J. curcas*. No início do armazenamento foram observados menores conteúdos de proteínas no eixo embrionário das sementes obtidas de frutos nos estádios de maturação amarelo-marrom e marrom, comparadas às sementes obtidas de frutos no estágio amarelo. Em seguida, houve ligeiro aumento nesses valores aos seis meses de armazenamento, sendo que a partir dessa época houve redução no conteúdo de proteínas para esses dois estádios. As sementes obtidas de frutos amarelos apresentaram maior conteúdo de proteína no eixo embrionário em

relação aos demais estádios de maturação dos frutos no início do armazenamento (Tabela 4). Em seguida, houve ligeira redução nos valores obtidos até os 12 meses de armazenamento para esse estádio. Em todos os estádios de maturação foi observada redução mais expressiva do conteúdo de proteínas do eixo embrionário das sementes a partir de 12 meses de armazenamento, período que coincidiu com a redução mais acentuada da germinação das sementes, como observado na Figura 1.

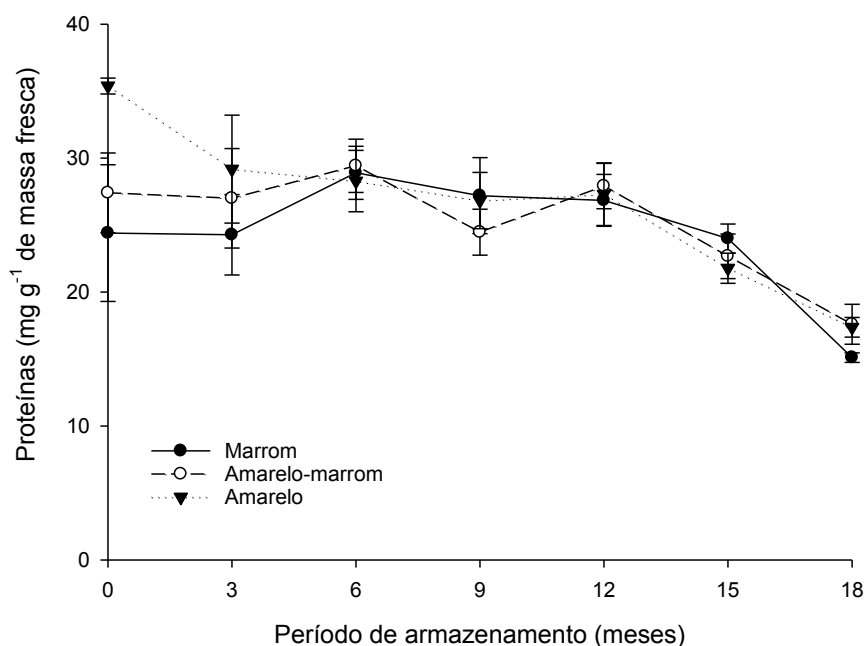


Figura 4. Conteúdo de proteína no embrião de sementes de *J. curcas*, obtidas de frutos em diferentes estádios de maturação, em função do período de armazenamento.

Tabela 4. Conteúdo de proteína (mg g^{-1} de massa fresca) no embrião de sementes de *J. curcas*, durante o armazenamento, em função do estádio de maturação dos frutos.

Estádio	Armazenamento (meses)							Médias
	0	3	6	9	12	15	18	
Marrom	24,40 b	24,28 a	28,90 a	27,20 a	26,85 a	24,00 a	15,11 a	24,39
Amarelo-marrom	27,41 b	27,00 a	29,43 a	24,47 a	27,92 a	22,67 a	17,60 a	25,21
Amarelo	35,38 a	29,18 a	28,28 a	26,83 a	27,31 a	21,78 a	17,37 a	26,59
Médias	29,07	26,82	28,87	26,16	27,36	22,82	16,69	
CV (%)	9,30							

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

Redução no conteúdo de proteínas do eixo embrionário também foi observada por Oliveira (2013) em sementes de *J. curcas* armazenadas em condições semelhantes a

do presente trabalho. A degradação de proteínas é um dos mecanismos apontados como a causa da perda da viabilidade das sementes (Walters, 1998; McDonald, 1999), e tem como consequência a redução ou perda da atividade de enzimas importantes para o processo germinativo, como as enzimas do sistema de defesa antioxidativo. Além disso, pode haver redução da atividade das enzimas relacionadas à mobilização de reservas, o que afeta a germinação e o vigor das sementes (Sun e Leopold, 1995).

Comparando-se os estádios de maturação dos frutos (Tabela 4), observa-se maior conteúdo de proteínas totais no eixo embrionário das sementes obtidas de frutos amarelos logo após a colheita. Com o armazenamento os valores obtidos para esse estágio de maturação não diferiram dos observados nos demais estádios.

Durante o armazenamento das sementes houve aumento da atividade da enzima SOD para os três estádios de maturação dos frutos (Figura 5). O aumento na atividade dessa enzima foi mais acentuado até os nove meses de armazenamento, principalmente para as sementes extraídas de frutos marrons, seguido por ligeiro decréscimo até os 15 meses de armazenamento e novo aumento após esse período. Estes resultados estão de acordo com os obtidos por Oliveira (2013) que observou aumento na atividade da SOD em sementes de *J. curcas* após nove meses de armazenamento em condições similares às do presente trabalho.

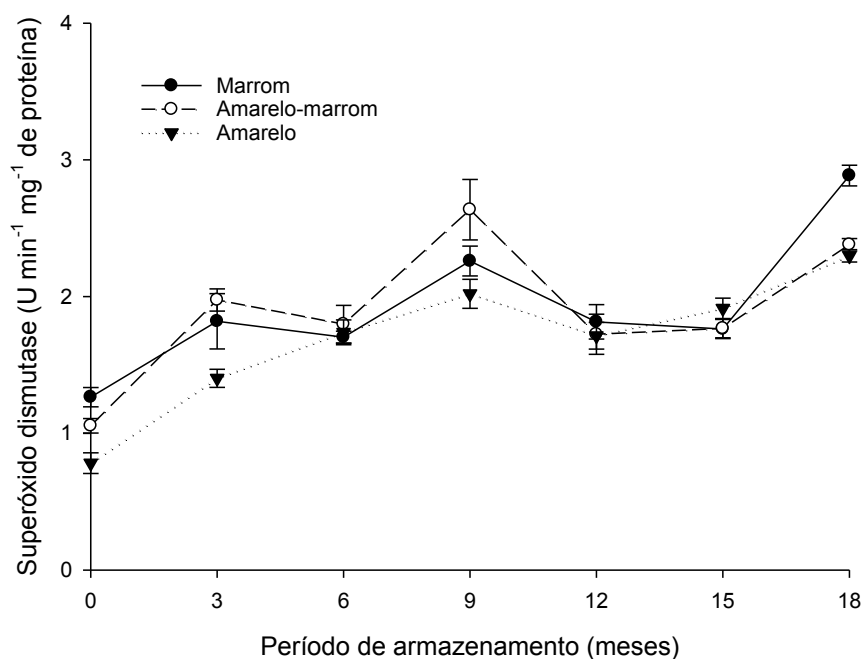


Figura 5. Atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) de eixos embrionários de sementes de *J. curcas*, obtidas de frutos em diferentes estádios de maturação, em função do período de armazenamento.

Cai et al. (2011) observaram aumento da atividade da enzima SOD durante a germinação de sementes de *J. curcas*. Segundo esses autores, o aumento na atividade dessa enzima pode ser desencadeado pelo aumento da produção de espécies reativas de oxigênio (EROS) ou pode ser uma medida de proteção adotada pela espécie contra danos oxidativos. No presente trabalho, houve aumento da atividade da SOD ao longo do armazenamento das sementes (Figura 5). Esses dados sugerem que esta enzima foi eficiente na proteção das células contra as espécies reativas de oxigênio, pois os dados obtidos para o conteúdo de MDA (Figura 3) descartam a peroxidação de lipídios como responsável pela redução da viabilidade das sementes. Além disso, foram observados valores elevados de germinação até os 12 meses de armazenamento (Figura 1), ou seja, as sementes se mantiveram viáveis por período prolongado, associado ao aumento na atividade da SOD.

Antes do armazenamento, a atividade da enzima SOD foi de 1,26, 1,05 e 0,78 U min⁻¹ mg proteína⁻¹, para os estádios marrom, amarelo-marrom e amarelo, respectivamente (Tabela 5). Assim, verifica-se maior atividade dessa enzima no estágio mais avançado de maturação dos frutos, ou seja, frutos marrons (secos) e menor valor para o estágio amarelo, ou seja, próximo do ponto de maturidade fisiológica das sementes, definido por Silva et al. (2011).

Tabela 5. Atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) (U min⁻¹ mg⁻¹ de proteína) de eixos embrionários de sementes de *J. curcas*, durante o armazenamento, em função do estágio de maturação dos frutos.

Estádio	Armazenamento (meses)							Médias
	0	3	6	9	12	15	18	
Marrom	1,26 a	1,82 a	1,70 a	2,26 b	1,82 a	1,76 a	2,88 a	1,93
Amarelo-marrom	1,05 ab	1,97 a	1,80 a	2,64 a	1,72 a	1,77 a	2,38 b	1,91
Amarelo	0,78 b	1,40 b	1,74 a	2,02 b	1,71 a	1,91 a	2,30 b	1,70
Médias	1,03	1,73	1,75	2,31	1,75	1,81	2,52	
CV (%)	5,77							

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

Segundo Martins et al. (2012), a atividade mais intensa da SOD é requerida no início e no final do processo de maturação das sementes. Isso é um indicativo de que sua ação na defesa contra a formação de radicais livres é principalmente requerida nos estádios em que as sementes não estão completamente formadas, porém apresentando

intenso metabolismo e atividade respiratória, com conseqüente formação de radicais livres, e quando já se iniciou o processo de deterioração. Assim, o aumento na atividade dessa enzima com a senescência dos frutos está associado ao início do processo de deterioração das sementes, relatado por Delouche e Baskin (1973), afetando a integridade do sistema de membranas celulares, como demonstrado pelo teste de condutividade elétrica (Tabela 2), no qual os maiores valores foram obtidos para sementes extraídas de frutos marrons e os menores para sementes extraídas de frutos amarelos.

Houve redução na atividade da enzima peroxidase (POX) durante o armazenamento das sementes de *J. curcas* dos três estádios de maturação dos frutos, sendo que após nove meses de armazenamento não foi detectada a atividade dessa enzima, devido à redução da atividade a níveis não detectáveis ou à perda total da atividade da enzima com o processo de deterioração (Figura 6). Redução na atividade da POX também foi observada por Pallavi et al. (2003) durante o armazenamento de sementes de girassol e por Goel et al. (2003) em sementes de algodão envelhecidas artificialmente.

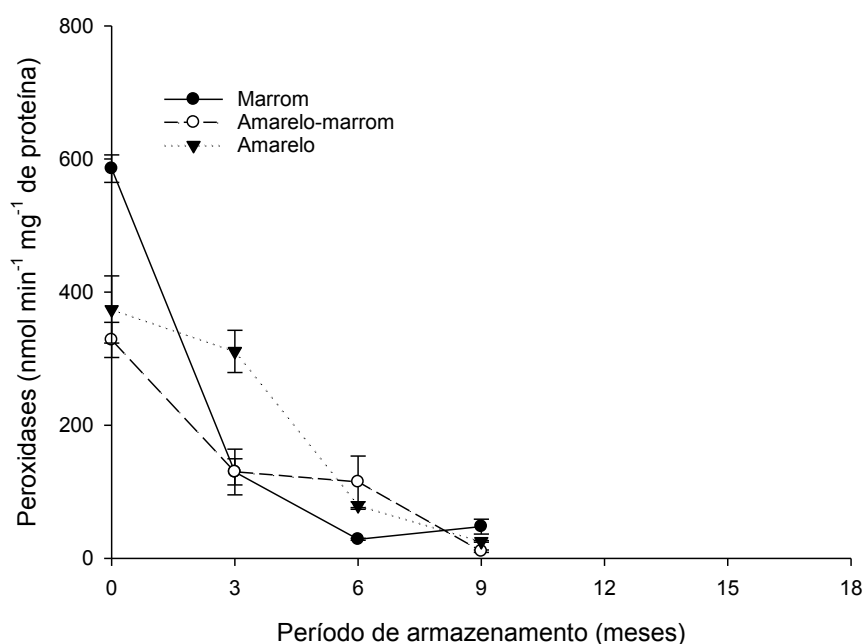


Figura 6. Atividade da enzima peroxidase (POX) de eixos embrionários de sementes de *J. curcas*, obtidas de frutos em diferentes estádios de maturação, em função do período de armazenamento.

Comparando-se os estádios de maturação dos frutos (Tabela 6), foi observado maior atividade da POX nas sementes extraídas de frutos marrons no início do armazenamento, assim como constatado para a enzima SOD (Tabela 5). Porém, aos três meses de armazenamento houve queda acentuada na atividade dessa enzima nas sementes extraídas dos frutos marrom e amarelo-marrom, observando-se maior atividade nas sementes obtidas de frutos amarelos. A partir daí, houve redução na atividade da POX em todos os estádios de maturação e aos nove meses de armazenamento, última época em que foi possível detectar a atividade dessa enzima, não ocorreu diferença entre os estádios de maturação dos frutos (Tabela 6).

Tabela 6. Atividade da enzima peroxidase (POX) ($\text{nmol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ de proteína) de eixos embrionários de sementes de *J. curcas*, em função do período de armazenamento, em função do estágio de maturação dos frutos.

Estádio	Armazenamento (meses)							Médias
	0	3	6	9	12	15	18	
Marrom	585,54 a	129,72 b	28,65 b	47,71 a	-	-	-	197,90
Amarelo-marrom	328,16 b	129,97 b	114,92 a	10,77 a	-	-	-	145,95
Amarelo	373,87 b	310,94 a	79,36 ab	25,42 a	-	-	-	197,40
Médias	429,19	190,21	74,31	27,96	-	-	-	
CV (%)	13,60							

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

Houve redução da atividade da enzima peroxidase do ascorbato (APX) durante o período de armazenamento das sementes de *J. curcas* (Figura 7). Comparando-se os estádios de maturação dos frutos, observa-se maior atividade da APX nas sementes obtidas de frutos marrons, seguidas pelas obtidas de frutos amarelo-marrons até os três meses de armazenamento (Tabela 7). Aos seis meses de armazenamento, houve queda acentuada na atividade da APX para as sementes obtidas de frutos marrons e amarelo-marrons, enquanto a atividade dessa enzima nas sementes extraídas de frutos amarelos apresentou queda gradual até os 12 meses de armazenamento, quando foi reduzida drasticamente (Figura 7, Tabela 7). Nas sementes dos três estádios de maturação não foi detectada a atividade da APX aos 18 meses de armazenamento, devido à redução da atividade dessa enzima a níveis não detectáveis ou à perda total da atividade devido ao processo de deterioração das sementes. Redução na atividade dessa enzima também foi observada com o envelhecimento natural de sementes de algodão (Goel e Sheoran, 2003) e soja (Sung e Chiu, 1995).

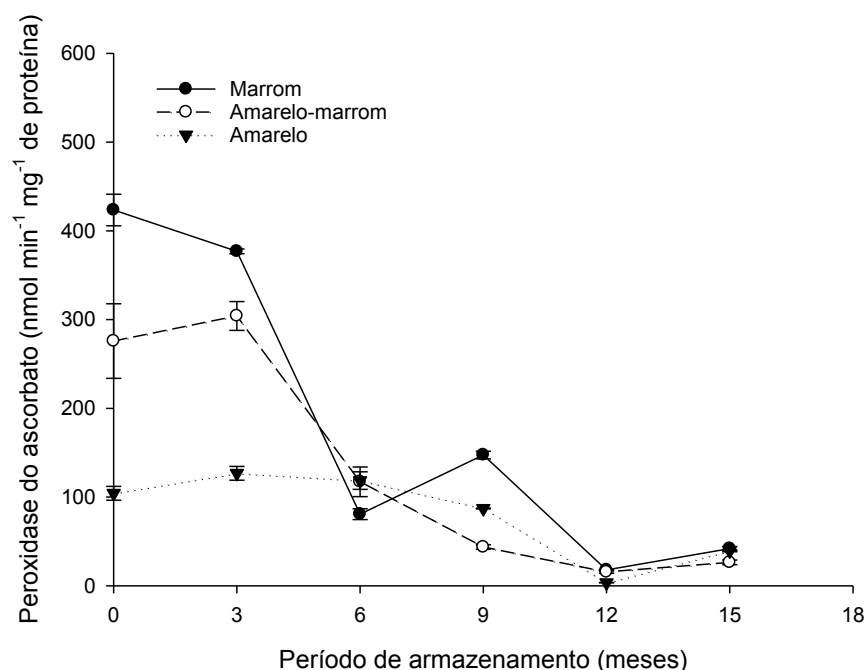


Figura 7. Atividade da enzima peroxidase do ascorbato (APX) de eixos embrionários de sementes de *J. curcas* obtidas de frutos em diferentes estádios de maturação, em função do período de armazenamento.

Tabela 7. Atividade da enzima peroxidase do ascorbato (APX) (nmol min⁻¹ mg⁻¹ de proteína) de eixos embrionários de sementes de *J. curcas*, durante o armazenamento, em função do estágio de maturação dos frutos.

Estádio	Armazenamento (meses)							Médias
	0	3	6	9	12	15	18	
Marrom	423,42 a	376,87 a	80,62 b	147,39 a	17,93 a	41,83 a	-	181,35
Amarelo-marrom	275,82 b	304,10 b	117,24 a	43,66 c	15,50 a	26,38 a	-	130,45
Amarelo	104,25 c	126,75 c	118,51 a	87,08 b	3,51 a	39,42 a	-	79,92
Médias	267,83	269,24	105,46	92,71	12,31	35,87	-	
CV (%)	9,57							

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

A redução na atividade das enzimas relacionadas ao sistema de defesa antioxidativo está relacionada ao processo de deterioração das sementes, tendo sido observada para sementes de soja (Sung e Chiu, 1995), algodão (Goel et al., 2003), amendoim (Sung, 1996) e girassol (Kibinza et al., 2006). No presente trabalho, houve redução na atividade das enzimas POX (Figura 6) e APX (Figura 7). De acordo com Walters (1998) e McDonald (1999), a redução da atividade enzimática durante o envelhecimento das sementes é um dos eventos causadores e indicadores da

deterioração. Entretanto, essas enzimas exibem diferentes sensibilidades ao envelhecimento das sementes dependendo da espécie e das condições de armazenamento (Lehner et al., 2008), como observado para a enzima SOD, no presente trabalho, para a qual foi observado aumento na atividade enzimática.

As atividades das enzimas SOD (Tabela 5), POX (Tabela 6) e APX (Tabela 7) foram maiores nas sementes obtidas de frutos marrons e menores nas sementes extraídas de frutos amarelos e amarelo-marrons logo após a colheita das sementes. Em *J. curcas*, o estágio amarelo-marrom corresponde ao ponto de maturidade fisiológica das sementes, sendo que estas sementes apresentam elevado teor de água (52%) (Silva et al., 2011). As sementes extraídas de frutos no estágio marrom (secos) apresentaram teor de água próximo de 18% antes de serem submetidas à secagem natural.

Segundo Leprince et al. (1993), a capacidade das sementes em resistir à dessecação pode estar relacionada com a sua capacidade de eliminar as espécies reativas de oxigênio, a fim de evitar eventos deletérios, tais como a peroxidação de lipídios induzida por aqueles compostos. Assim, a maior atividade das enzimas relacionadas ao sistema de defesa antioxidativo nas sementes obtidas de frutos marrons, ou seja, frutos secos, pode estar relacionado à produção de espécies reativas de oxigênio durante o processo de dessecação natural dessas sementes. Além disso, pode estar também relacionado à proteção adquirida por essas sementes no final da fase de maturação, garantindo a redução dos efeitos causados pelo ataque dos radicais livres sobre compostos essenciais para o metabolismo durante a germinação. O que foi comprovado pelo conteúdo de MDA no eixo embrionário das sementes deste estágio de maturação, que não diferiu dos demais (Tabela 3).

CONCLUSÕES

Sementes de *J. curcas* com elevada qualidade inicial podem ser armazenadas sob condições ambientais por até 12 meses, sem redução significativa da germinação, independente do estágio de maturação em que os frutos foram colhidos.

A deterioração das sementes de *J. curcas* durante o armazenamento em condições ambientais ocorre sem que haja peroxidação de lipídios.

A deterioração de sementes de *J. curcas* está associada a alterações na atividade das enzimas do sistema de defesa antioxidativo no embrião das sementes durante o armazenamento, sendo que ocorre aumento da atividade da SOD e redução na atividade das enzimas POX e APX.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BAILLY, C. Active oxygen species and antioxidants in seed biology. **Seed Science Research**, v.14, p.93–107, 2004.
- BAILLY, C.; BENAMAR, A.; CORBINEAU, F.; CÔME, D. Free radical scavenging as affected by accelerated ageing and subsequent priming in sunflower seeds. **Physiologia Plantarum**, v.104, p.646–652, 1998.
- BAILLY, C.; EL-MAAROUF-BOUTEAU, H.; CORBINEAU, F. From intracellular signaling networks to cell death: the dual role of reactive oxygen species in seed physiology. **Comptes Rendus Biologies**, v.331, p.806–814, 2008.
- BASRA, S.M.A.; REHMAN, K.U.; IQBAL, S. Cotton seed deterioration: assessment of some physiological and biochemical aspects. **International Journal of Agriculture & Biology**, v.1560, p.195–198, 2000.
- BEAUCHAMP, C.; FRIDOVICH, I. Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. **Analytical Biochemistry**, v.44, p.276-287, 1971.
- BOWLER, C.; VAN MONTAGU, M.; INZÉ, D. Superoxide dismutase and stress tolerance. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v.43, p.83–116, 1992.
- 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.
- 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, p.25-30, 2011.
- CHANCE, B.; MAEHLEY, A.C. Assay of catalases and peroxidases. **Methods Enzymology**, v.2, p.764-775, 1955.

- CHAVES, T.H.; RESENDE, O.; SIQUEIRA, V.C.; ULLMANN, R. Qualidade fisiológica das sementes de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.) durante o armazenamento em três ambientes. **Semina: Ciências Agrárias**, v.33, n.5, p.1653-1662, 2012.
- DEL LONGO, O.T.; GONZÁLEZ, A.; PASTORI, G.M.; TRIPPI, V. Antioxidant defenses under hyperoxygenic and hyperosmotic conditions in leaves of two lines of maize with differential sensitivity to drought. **Plant Cell Physiology**, v.34, p.1023-1028, 1993.
- DELOUCHE, J.C.; BASKIN, C.C. Accelerated aging techniques for predicting the relative storability of seeds lots. **Seed Science and Technology**, v.1, n.2, p.427-452, 1973.
- DIAS, L.A.S. Biofuel plant species and the contribution of genetic improvement. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v.1, p.16-26, 2011.
- 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. **Revista Brasileira de Sementes**, v.26, n.1, p.84-91, 2004.
- GIANNOPOLITIS C.N.; RIES, S.K. Superoxide dismutases. **Plant Physiology**, v.59, p.309-314, 1977.
- GOEL, A.; GOEL, A.K.; SHEORAN, I.S. Changes in oxidative stress enzymes during artificial aging in cotton (*Gossypium hirsutum* L.) seeds. **Journal of Plant Physiology**, v.160, p.1093–1100, 2003.
- GOEL, A.; SHEORAN, I.S. Lipid peroxidation and peroxide-scavenging enzymes in cotton seeds under natural ageing. **Biologia Plantarum**, v.46, n.3, p.429-434, 2003.
- GUZMAN, L.E.P; AQUINO, A.L. Seed characteristics and storage behavior of physic nut (*Jatropha curcas* L.). **Philippine Journal of Crop Science**, v.34, n.1, p.13-21, 2009.

- HEATH, R.L.; PACKER, L. Photo peroxidation in isolated chloroplast. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v.125, n.1, p.189-198, 1968.
- HENDRY, G.A.F. Oxygen, free radical processes and seed longevity. **Seed Science Research**, v.3, n.3, p.141-153, 1993.
- ISTA – International Seed Testing Association. **Handbook of vigour test methods**. 3.ed., ISTA, Zürich, 1995. 117p.
- JONGSCHAAP, R.E.E.; CORRÉ, W.J.; BINDRABAN, P.S.; BRANDENBURG, W.A. **Claims and facts on *Jatropha curcas* L.** Global *Jatropha curcas* evaluation, breeding and propagation programme. Plant Research International, Report 158, 2007. 42p.
- KAR, M.; MISHRA, D. Catalase, peroxidase, and polyphenoloxidase activities during rice leaf senescence. **Plant Physiology**, v.57, p.315-319, 1976.
- KAUSHIK, N. Effect of capsule maturity on germination and seedling vigour in *Jatropha curcas*. **Seed Science and Technology**, v.31, p.449-454, 2003.
- KIBINZA, S.; VINEL, D.; CÔME, D.; BAILLY, C.; CORBINEAU, F. Sunflower seed deterioration as related to moisture content during ageing, energy metabolism and active oxygen species scavenging. **Physiologia Plantarum**, v.128, p.496–506, 2006.
- LEHNER, A.; MAMADOU, N.; POELS, P.; CÔME, D.; BAILLY, C.; CORBINEAU, F. Changes in soluble carbohydrates, lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities in the embryo during ageing in wheat grains. **Journal of Cereal Science**, v.47, n.3, p.555–565, 2008.
- LEPRINCE, O.; HENDRY, G.A.F.; MCKERSIE, B.D. The mechanisms of desiccation tolerance in developing seeds. **Seed Science Research**, v.3, n.4 p.231-246, 1993.
- MARTINS, D.C.; VILELA, F.K.J.; GUIMARÃES, R.M.; GOMES, L.A.A.; SILVA, P.A. Physiological maturity of eggplant seeds. **Revista Brasileira de Sementes**, v.34, n.4, p.534 - 540, 2012.

- MCDONALD, M.B. Seed deterioration: physiology, repair and assessment. **Seed Science and Technology**, v.27, p.177-237, 1999.
- MITTLER, R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. **Trends in Plant Science**, v.7, p.405–410, 2002.
- MONCALEANO-ESCANDON, J.; SILVA, B.C.F.; SILVA, S.R.S.; GRANJA, J.A.A.; ALVES, M.C.J.L.; POMPELLI, M.F. Germination responses of *Jatropha curcas* L. seeds to storage and aging. **Industrial Crops and Products**, v.44, p.684-690, 2013.
- NAKANO, Y.; ASADA, K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. **Plant Cell Physiology**, v.22, p.867-880, 1981.
- OLIVEIRA, G. L. **Alterações fisiológicas e enzimáticas em sementes de *Jatropha curcas* L. durante o armazenamento**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2013. 58p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – UFV, 2013.
- OPENSHAW, K. A review of *Jatropha curcas*: an oil plant of unfulfilled promise. **Biomass and Bioenergy**, v.19, p.1-15, 2000.
- PALLAVI, M.; SUDHEER, S.K.; DANGI, K.S.; REDDY, A.V. Effect of seed ageing on physiological, biochemical and yield attributes in sunflower (*Helianthus annuus* L.) cv. Morden. **Seed Research**, v.31, n.2, p.161–168, 2003.
- 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.
- PESSOA, A.M.S.; MANN, R.S.; SANTOS, A.G.; RIBEIRO, M.L.F. Influência da maturação de frutos na germinação, vigor e teor de óleo de sementes de pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.). **Scientia Plena**, v.8, n.7, p.1-11, 2012.

- SHARMA, S.; KAUR, A.; BANSAL, A.; GILL, B.S. Positional effects on soybean seed composition during storage. **Journal of Food Science and Technology**, v.50, n.2, p.353-359, 2013.
- SILIP, J.J.; TAMBUNAN, A.H.; HAMBALI, H.; SUTRISNO, S.; SURAHMAN, M. Lifecycle duration and maturity heterogeneity of *Jatropha curcas* Linn. **Journal of Sustainable Development**, v.3, n.2, p.291-295, 2010.
- SILVA, L.J., DIAS, D.C.F.S., DIAS, L.A.S.; HILST, P.C. Physiological quality of *Jatropha curcas* L. seeds harvested at different development stages. **Seed Science and Technology**, v.39, p.572-580, 2011.
- 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. **Ciência e agrotecnologia**, v.36, n.1, p.39-44, 2012.
- SMITH, M.T.; BERJAK, P. Deteriorative changes associated with the loss of viability of stored desiccation tolerant and desiccation sensitive seeds. In: KIGEL, J.; GALIBI, G. (Ed.). **Seed Development and Germination**, New York: Marcel Dekker, 1995, p.701–746.
- SOWMYA, K.J.; GOWDA, R.; BALAKRISHNA, P.; RAO, M.R.G. Effect of fruit maturity stages on seed quality parameters in jatropha (*Jatropha curcas* L.). **Indian Journal of Plant Sciences**, v.1, n.1, p.85-90, 2012.
- SUN, W.Q.; LEOPOLD, A.C. The Maillard reaction and oxidative stress during aging of soybean seeds. **Physiologia Plantarum**, v.94, p.94-104, 1995.
- SUNG, J.M. Lipid peroxidation and peroxide-scavenging in soybean seeds during aging. **Physiologia Plantarum**, v.97, p.85–89, 1996.
- SUNG, J.M.; CHIU, C.C. Lipid peroxidation and peroxide-scavenging enzymes of naturally aged soybean seed. **Plant Science**, v.110, p.45-52, 1995.
- SUNG, J.M.; JENG, T.L. Lipid peroxidation and peroxide-scavenging enzymes associated with accelerated aging of peanut seed. **Physiologia Plantarum**, v.91, p.51–55, 1994.

- TIWARI, A.K.; KUMAR, A.; RAHEMAN, H. Biodiesel production from jatropha oil (*Jatropha curcas*) with high free fatty acids: an optimized process. **Biomass and Bioenergy**, v.31, .8, p.569–575, 2007.
- WALTERS, C. Understanding the mechanisms and kinetics of seed aging. **Seed Science Research**, v.8, p.223-244, 1998.
- WILLEKENS, H.; INZÉ, D.; VAN MONTAGU, M.; VAN CAMP, W. Catalases in plants. **Molecular Breeding**, v.1, p.207–228, 1995.
- WILSON, D.O.; MCDONALD, M.B. The lipid peroxidation model of seed ageing. **Seed Science and Technology**, v.14, p.269-300, 1986.