

UNIVERSIDADE FEDERAL DOS VALES DO JEQUITINHONHA E
MUCURI – UFVJM

SARA MICHELLY CRUZ

**TESTES DE VIGOR PARA AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DE SEMENTES DE
CRAMBE (*Crambe abyssinica* Hochst)**

DIAMANTINA - MG
2013

SARA MICHELLY CRUZ

**TESTES DE VIGOR PARA AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DE SEMENTES DE
CRAMBE (*Crambe abyssinica* Hochst)**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Produção Vegetal da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, área de concentração Produção Vegetal, para obtenção do título de “Mestre”.

Orientador

Profa. Dra. Marcela Carlota Nery

Coorientador

Profa. Dra. Édila Vilela Resende Von Pinho

DIAMANTINA - MG

2013

Ficha Catalográfica - Serviço de Bibliotecas/UFVJM
Bibliotecária Viviane Pedrosa
CRB6-2641

C957t Cruz, Sara Michelly
2013 Testes de vigor para avaliação da qualidade de sementes de Crambe (*Crambe abyssinica* Hochst). – Diamantina: UFVJM, 2013.
64f.

Orientadora: Marcela Carlota Nery
Coorientadora:Édila Vilela Resende Von Pinho

Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) - Faculdade de Ciências Agrárias, Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri.

1. FMS Brilhante 2. Envelhecimento acelerado 3. Condutividade elétrica 4. Isoenzimas I. Título.

CDD 631.521

Elaborada de acordo com dados fornecidos pelo (a) autor (a)

SARA MICHELLY CRUZ

**TESTES DE VIGOR PARA AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DE SEMENTES DE
CRAMBE (*Crambe abyssinica* Hochst)**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação *Stricto sensu* em Produção Vegetal da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, área de concentração Produção Vegetal, para obtenção do título de “Mestre”.

APROVADA em 19 de fevereiro de 2013

Profa. Dra. Nísia Andrade Villela Dessi-Moni Pinto – UFVJM

Prof. Dr. Marcelo Luiz de Laia– UFVJM

Profa. Dra. Marcela Carlota Nery – UFVJM
Presidente

DIAMANTINA - MG
2013

“A grande finalidade do conhecimento não é conhecer, mas agir.”
Thomas Henry Huxley

AGRADECIMENTOS

A Deus. É Dele toda vitória.

Aos meus pais e irmãs, pelo incentivo;

A todos os meus familiares, pelo interesse nas minhas conquistas;

À Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri (UFVJM), pela oportunidade de realização do curso;

À Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais (FAPEMIG) e Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão de bolsa de estudo e recurso financeiro;

À professora Marcela (UFVJM), por ter me escolhido como aluna, acreditando no meu potencial, depositando em mim sua confiança, pela sua paciência e compreensão. Por ter me convidado a enfrentar novos desafios e valorizado meus esforços, me fazendo superar limites o que me permitiu concluir essa etapa com grande crescimento pessoal;

À professora Édila (UFLA), pela disposição, sugestões, ensinamentos, paciência, e generosidade em compartilhar seus conhecimentos;

À professora Denise (UFV), por tornar possível a realização de parte do experimento e por ter prontamente atendido ao convite de participação da banca de defesa;

Ao professor Paulo César (UFVJM), pelas sugestões e auxílio com a estatística;

Aos professores Marcelo Laia (UFVJM) e Nísia (UFVJM), por aceitarem participar da banca de avaliação.;

Aos professores do programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal e professores do Departamento de Sementes da UFLA, pela contribuição à minha formação acadêmica;

À “safra” 2011/2012 do Laboratório de Sementes da UFLA e ao Núcleo de Estudos em Sementes (UFVJM) 2011/2013, sem dúvidas foram nas centenas de horas no laboratório com pessoas tão diferentes e em estádios diferentes do seu desenvolvimento acadêmico que mais aprendi;

À Adriana, não apenas pela sua competência, prestatividade, compromisso e inestimável ajuda a qualquer dia e horário, mas principalmente pelo sorriso constante e contagiante;

Aos colegas do mestrado, pela consideração e amizade compartilhando as alegrias e dificuldades;

Aos novos e velhos amigos que me apoiaram e entenderam minha ausência, tantas vezes necessária, nesses anos. É também de todos vocês o mérito para que essa etapa fosse concluída com sucesso, fica aqui o meu eterno agradecimento.

RESUMO

CRUZ, SARA MICHELLY. **TESTES DE VIGOR PARA AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DE SEMENTES DE CRAMBE** (*Crambe abyssinica* Hochst). 2013. 64p. (Dissertação - Mestrado em Produção Vegetal) – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina, 2013.

A cultura do crambe (*Crambe abyssinica* Hochst) tem se destacado no cenário nacional pelo seu potencial para produção de biodiesel devido à facilidade de cultivo, qualidade do óleo e possibilidades de uso dos subprodutos da extração do óleo. Para o estabelecimento da cultura no país é necessário que sejam usadas sementes de qualidade. No entanto, as informações sobre metodologias para avaliação da qualidade de sementes dessa cultura são escassas. Dessa forma, objetivou-se adequar as metodologias dos testes de envelhecimento acelerado e condutividade elétrica para avaliação do vigor de sementes de crambe e investigar a atividade enzimática em relação às diferenças de vigor. Foram utilizados cinco lotes de sementes da cultivar FMS Brilhante das safras 2008, 2009, 2010 e 2011. Foram realizadas a caracterização morfológica de sementes e plântulas e a composição centesimal da semente de crambe. Para caracterização do perfil dos lotes realizou-se a determinação do grau de umidade e os testes de primeira contagem de germinação, germinação, índice de velocidade de germinação, emergência, estande inicial, índice de velocidade de emergência e sanidade. Foi também realizada a análise eletroforética das isoenzimas superóxido dismutase, esterase, catalase, álcool desidrogenase e malato desidrogenase. Para o teste de envelhecimento acelerado, as sementes foram submetidas ao método tradicional e com solução saturada de NaCl, pelos períodos de envelhecimento de 0; 24; 48; 72 e 96 horas. No teste de condutividade elétrica, as sementes foram submetidas aos períodos de 2; 4; 6; 8; 10; 12; 14; 16 e 18 horas de embebição utilizando-se 25 sementes em 25 mL e 50 mL e 50 sementes em 50 mL e 75 mL. Concluiu-se que é possível avaliar o vigor de sementes de crambe pelo método tradicional do teste de envelhecimento acelerado a 42 °C por 96 horas. O teste de condutividade elétrica não foi adequado para avaliação da qualidade fisiológica de crambe. Quando associado à atividade das isoenzimas observou-se que o lote de maior vigor teve maior atividade dos grupos enzimáticos superóxido dismutase, catalase e esterase. O lote de menor vigor não teve atividade das enzimas isocitrato liase e álcool desidrogenase. Não houve alteração na atividade da isoenzima malato desidrogenase.

Palavras-chave: FMS Brilhante, envelhecimento acelerado, condutividade elétrica, isoenzimas.

ABSTRACT

CRUZ, SARA MICHELLY. **VIGOR TESTS ASSESSING THE QUALITY OF CRAMBE SEEDS**. 2013, 64p. (Thesis – Master in Plant Production) - Federal University of Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina, 2013.

Crambe (*Crambe abyssinica* Hochst) has been highlighted in the national scenery for its potential in producing biodiesel due to its ease of cultivation, quality of the oil and possibilities of use of the oil extraction byproducts. In order to establish the culture in the Country, the use of quality seeds is necessary. However, the information on methodologies for seed quality evaluation for this culture is scarce. Thus, we aimed at adapting the methodologies to the accelerated aging and electric conductivity tests to evaluate the vigor of crambe seeds and investigate the enzymatic activity in relation to the vigor differences. Five seed lots of cultivar FMS Brilhante of the 2008, 2009, 2010 and 2011 harvests were used. We performed the morphologic characterization of seeds and seedlings and the centesimal composition of crambe seeds. For the profile characterization of the lots, we performed the determination of the humidity degree and the tests for first germination count, germination, germination speed index, emergence, initial stand, emergence speed index and sanity. We also performed the electrophoretic analysis of the superoxide dismutase, esterase, catalase, alcohol dehydrogenase and malate dehydrogenase isoenzymes. For the accelerated aging test, the seeds were submitted to the traditional method and with NaCl saturated solution, for the aging periods of 0; 24; 48; 72 and 96 hours. In the electrical conductivity test, the seeds were submitted to the periods of 2; 4; 6; 8; 10; 12; 14; 16 and 18 hours of soaking using 25 seeds in 25 mL and 50 mL, and 50 seeds in 50 mL and 75 mL. We concluded that it is possible to evaluate crambe seed vigor by the traditional method of the accelerated aging test at 42 °C for 96 hours. The electric conductivity test was not adequate for evaluating crambe physiological quality. When associated with isoenzymes activity, we observed that the lot with highest vigor presented the highest activity of the superoxide dismutase, catalase and esterase isoenzymes groups. The lot of lowest vigor did not present activity of the isocitrate liase and alcohol dehydrogenase enzymes. There was no interaction of the activity of the malate dehydrogenase isoenzymes.

Keywords: FMS Brilhante, accelerated aging, electric conductivity, isoenzymes.

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
FIGURA 1 - Frutos inteiros de crambe (A), semente dentro do fruto (B), pericarpo (C), semente recoberta pela película (D), película (E), semente seca (F), semente embebida (G), detalhes dos cotilédones e eixo embrionário (H).	26
FIGURA 2 - Plântula normal de crambe. Diamantina, MG, 2012.....	28
FIGURA 3 - Padrões enzimáticos de cinco lotes de sementes de crambe revelados para superóxido dismutase (SOD) e catalase (CAT). UFVJM, Diamantina - MG, 2012.	32
FIGURA 4 -Padrões enzimáticos de cinco lotes de sementes de crambe revelados para esterase. UFVJM, Diamantina - MG, 2012.....	33
FIGURA 5 - Padrões enzimáticos de cinco lotes de sementes de crambe revelados para malato desidrogenase (MDH). UFVJM, Diamantina - MG, 2012.	33
FIGURA 6 -Padrões enzimáticos de cinco lotes de sementes de crambe revelados para álcool desidrogenase (ADH). UFVJM, Diamantina - MG, 2012.....	34
FIGURA 7 - Padrões enzimáticos de cinco lotes de sementes de crambe revelados para isocitrato liase. UFVJM, Diamantina - MG, 2012.....	35
FIGURA 8: Desenvolvimento de fungos em sementes de crambe submetidas ao teste de envelhecimento acelerado. Visão geral do gerbox no tratamento tradicional (A) e com solução salina (B).UFVJM, Diamantina , MG - 2012.	36
FIGURA 9 - A curva de embebição dos lotes de crambe lote 1, lote 2 , lote 3 , lote 4 e lote 5. Setas indicam o início da protrusão radicular. Diamantina, MG. 2012	39

LISTA DE TABELAS

	Pág.
TABELA 1. Valores médios e desvio padrão da média do peso de mil sementes (g), diâmetro (mm) e peneira correspondente a cinco lotes de crambe cultivar FMS Brillhante. Diamantina, MG, 2012.....	27
TABELA 2. Teor de água – U (%), plântulas normais na primeira contagem – PC (%); germinação –IVG, estande inicial - G (%); índice de velocidade de germinação – EI (%); emergência – E (%) e índice de velocidade de emergência – IVE obtidos para cinco lotes de sementes de crambe. UFVJM, Diamantina, MG. 2012.	29
TABELA 3. Porcentagem de incidência de fungos nos lotes de sementes de crambe em estudo. UFVJM, Diamantina , MG, 2012.	30
TABELA 4. Teor de água (%) de sementes de crambe submetidas a teste de envelhecimento acelerado pelo método tradicional e pelo método com solução saturada de cloreto de sódio. UFVJM, Diamantina - MG, 2012.....	36
TABELA 5. Porcentagem de plântulas normais (%) obtidos no teste de germinação de sementes de crambe submetidas aos diferentes períodos de envelhecimento acelerado tradicional e com solução saturada de NaCl. UFVJM, Diamantina, MG. 2012.	37
TABELA 6. Resultados de condutividade elétrica ($\mu\text{S}/\text{cm}/\text{g}$) para os diferentes períodos de embebição de sementes de crambe. UFVJM, Diamantina, MG. 2012.	40
TABELA 7. Resultados de condutividade elétrica ($\mu\text{S}/\text{cm}/\text{g}$) de sementes de crambe submetidas aos diferentes tratamentos; 25 sementes (stes) em 25 mL de água deionizada; 25 sementes em 50 mL de água deionizada; 50 sementes em 50 mL de água deionizada e 50 sementes em 75 mL de água deionizada. UFVJM, Diamantina, MG.....	41

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ADH – Álcool desidrogenase

AOAC – Association of Official Analytical Chemists

AOSA – Association of Official Seed Analysts

CAT - Catalase

DICRA - *Diversification withcrambe*

E – Emergência

EI – Estande Inicial

EST – Esterase

G - Germinação

ISTA – International Seed Testing Association

IVE – Índice de Velocidade de Emergência

IVG – Índice de Velocidade de Germinação

MDH - Malato desidrogenase

PC – Primeira Contagem

PNA - Plano Nacional de Agroenergia

PNPB - Programa Nacional de Produção e Uso do Biodiesel

ROS - Espécies Reativas de Oxigênio

SOD – Superóxido dismutase

U - Teor de água

UFLA – Universidade Federal de Lavras

UFVJM – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha E Mucuri

SUMÁRIO

	Pág.
RESUMO.....	i
ABSTRACT.....	ii
LISTA DE FIGURAS	iii
LISTA DE TABELAS	iv
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS.....	v
INTRODUÇÃO GERAL.....	1
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	10
ARTIGO CIENTÍFICO	18
1 Resumo.....	19
2 Abstract.....	20
3 Introdução.....	21
4 Material e métodos.....	22
5 Resultados e discussão.....	26
6 Conclusão.....	42
7 Agradecimentos.....	43
8 Referências.....	43

INTRODUÇÃO GERAL

As culturas agroenergéticas para produção de biodiesel são de grande importância no Brasil, existindo programas voltados especificamente para desenvolver seu uso e produção, como o Plano Nacional de Agroenergia (PNA) e Programa Nacional de Produção e Uso do Biodiesel (PNPB). Após o Programa de Produção e Uso de Biodiesel houve um aumento de 127% de produção dessas culturas, saindo de uma produção de 55 milhões de toneladas, safra 2004/2005, para 70 milhões de toneladas na safra 2011/2012 (ANP e SRP, 2012). Estima-se que a demanda continue crescendo.

Devido a isso existe uma demanda atual de pesquisas com espécies oleaginosas que sejam economicamente viáveis na produção de combustível alternativo, como o biodiesel. Várias são as espécies com proposta de utilização para produção do biodiesel, dentre estas, o crambe por ser competitivo com as principais culturas bioenergéticas, possuindo 40% de óleo, produtividade de 750l/ha (Trzeciak et al., 2008) e produção de biodiesel segundo as normas brasileiras (Jasper, 2009), podendo se tornar matéria prima de substancial interesse aos produtores rurais para produção de óleo no Programa do Biodiesel.

Planta originária da região quente e seca da Etiópia (Oplinger et al., 1991), foi domesticada na região fria e seca da ex-União Soviética, havendo relatos de campos experimentais na Rússia, Suécia e Polônia. Após a segunda guerra mundial as pesquisas com a cultura foram estendidas a outros países (Zimmermann, 1962; Mastebroek et al., 1994).

A cultura ganhou maior expressividade nos anos 90 com a preocupação em criar fontes de energia renováveis que pudessem substituir o óleo mineral e petróleo (Mastebroek et al., 1994). Nessa época foram criados os projetos “Crambe”, pelo Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA), programa DICRA (*Diversification withcrambe*; an industrial oil crop) na Europa e foi introduzido no Brasil. O DICRA realizou estudos que mostraram ser possível a produção de crambe em ampla área da Europa com rendimentos médios de 2553 kg de grãos/ha que equivalem a 846 kg de óleo contendo 57,8% de ácido erúico (DICRA, 1999). Nos EUA a cultura do crambe tem sido cultivada em diversas áreas principalmente na Dakota do Norte (Knights, 2002).

Apesar dos esforços, a área plantada com crambe nesses países não teve grandes avanços devido à competição do crambe por área com as principais culturas como, soja, milho e trigo, o que não ocorre em outros países como a Argentina (Falasca et al., 2010), África do Sul, Paraguai, Austrália e Brasil (Pitol et al., 2010).

No Brasil, as pesquisas com crambe tiveram início na década de 90 pela Fundação MS. A Fundação MS para a Pesquisa e Difusão de Tecnologias Agropecuárias é uma empresa privada, sem fins lucrativos e de Utilidade Pública Federal. Foi fundada em 1992 por produtores rurais, com o objetivo de gerar e adaptar tecnologias e variedades para apoiar o crescimento na área cultivada no Mato Grosso do Sul. Realiza pesquisas sobre culturas de inverno, agroenergia, produção de milho e soja, fertilidade e manejo do solo, fitossanidade e sistemas integrados de produção. A difusão do conhecimento é feita por meio de anuários, dias de campo, seminários e o Showtec, um dos 10 maiores eventos de tecnologias para o setor agropecuário no Brasil.

Inicialmente o crambe foi introduzido com objetivo de cultivo como cobertura do solo para plantio direto, no entanto, não teve grande aceitação devido à falta de mercado para os grãos (Pitol, 2008). Com a busca de novas culturas como fonte de óleo para biodiesel a Fundação MS retomou as pesquisas visando desenvolver uma cultivar adaptada às condições brasileiras e, desses esforços, foi desenvolvida e registrada em 2007 a cultivar FMS Brilhante (MAPA, 2012) a primeira e, até o momento, única cultivar brasileira. Atualmente é cultivada no Mato Grosso do Sul, Goiás, Minas Gerais, Mato Grosso e Paraná, somando 8 mil hectares plantados (GRANOL, 2012). Havendo a possibilidade de expansão da cultura como alternativa de rotação de cultura em boa parte do cerrado brasileiro (Pitol, 2008).

O *Crambe abyssinica* é uma espécie da família Brassicaceae, conhecida popularmente como crambe, couve etíope, abyssinian, couve abissínia, colewort/colewort e katran. O gênero, no entanto, é pouco conhecido no Brasil, compreendendo mais de 40 espécies nativas de uma ampla faixa geográfica que abrange o oeste da Micronésia (Ilhas Canárias e Ilha Madeira), norte e centro da Europa, Turquia, Ásia central e leste da África (Ortega et al., 2002; Prina, 2009). Algumas espécies são amplamente utilizadas na Europa, com destaque para *Crambe cardifolia* que é utilizado como planta ornamental; *Crambe tataria* que é usada como forrageira e melífera; *Crambe marítima* que tem uso ornamental e gastronômico na Inglaterra e Rússia há vários séculos (Rudloff & Wang, 2011).

É uma planta herbácea, anual com altura da planta variando de 60 a 90 cm, dependendo da época e densidade de plantio. A haste ramifica-se próxima ao solo formando trinta ou mais galhos, que novamente se ramificam, formando galhos terciários (Desai et al., 1997). A floração é indeterminada, as flores são pequenas e esbranquiçadas (Duke, 1983; Oplinger et al., 1991; Desai et al., 1997). É uma espécie autógama aloexaploide ($2n = 6x = 90$) (Warwick & Gugel; 2003).

Na espécie são formados numerosos frutos por ramo, podendo formar de 530 a 1840 frutos por planta (Duke, 1983; Oplinger et al., 1991; Desai et al., 1997). O fruto é esférico, verde e se torna amarelo com a maturação. Os frutos maduros permanecem aderidos á planta após maturação e cada fruto contém uma única semente. O tamanho da semente é influenciado pelo número de sementes por planta, fertilidade do solo e regime hídrico (Desai et al., 1997; Oplinger et al., 1991). A semente tolera baixas temperaturas e em ambiente com temperatura de 10 °C e 50% UR ou 1°C e 40% UR permanecem viáveis por até oito anos (Desai et al., 1997).

É uma cultura de inverno, de ciclo curto (90 a 100 dias) (Pitol, 2008), tolerante ao déficit hídrico o que possibilita o seu cultivo em épocas mais secas, ocupando assim áreas que passam por períodos ociosos, uma vez que as principais culturas produzidas apresentam elevada necessidade hídrica.

É tolerante a salinidade do solo durante a germinação em uma faixa de 10 °C a 30 °C (Endres & Schatz 1993; François & Kleiman, 1990). Na fase vegetativa desenvolve bem em temperaturas de 15 °C a 25 °C, tolerando temperaturas de até -4 °C e acima de 25 °C, exceto na floração (Pitol et al., 2010).

A cultura do crambe adapta-se bem a solos neutros, necessita de boa umidade no solo apenas para germinação e estabelecimento da cultura, sendo tolerante a seca, devido ao sistema radicular profundo, e a geada moderada (Duke, 1983; Oplinger et al., 1991; Desai et al., 1997; Pitol, 2008; Falasca et al., 2010). É tolerante a metais pesados e acumula níveis significativamente mais elevados de arsénio, em relação a outras brássicas (Paulose et al., 2010), podendo ser usada para fitorremediação do solo (Paulose et al., 2010, Rudolff & Wang; 2012) .

Os grãos de crambe possuem óleo com diversas propriedades industriais além do uso para a produção de biodiesel. O óleo pode ser utilizado como lubrificante industrial, inibidor de corrosão, sendo mais biodegradável do que óleos minerais comumente usados (Wang et al. 2000). É ingrediente da fabricação de borracha, produção de plástico, nylon, plastificantes, adesivos e isolantes elétricos (Oplinger et al., 1991; Glaser, 1996; Gomes Junior, 2010). Pode substituir o óleo mineral, como adjuvante em herbicidas (Pitol et al., 2010). O óleo possui erucamida e ômega 9, que são utilizados na produção de cosméticos. O ácido erúico é o principal produto comercializado do crambe atualmente, sendo, juntamente com a colza, as únicas plantas cultivadas a fornecerem o ácido (Glaser, 1996; Pitol et al., 2010).

Apesar do potencial da cultura do crambe para produção de biodiesel, as pesquisa no Brasil ainda são incipientes. Na literatura os trabalhos se restringem a avaliação dos aspectos

agronômicos como respostas à adubação, sistemas de plantio, aumento do teor de óleo e ácido erúrico, diminuição do teor de glucosinolatos, resistência da planta a patógenos, características do óleo e produção de biodiesel, sendo escassas as pesquisas sobre as características de produção e qualidade das sementes.

O uso de sementes de alta qualidade é de suma importância para o sucesso e estabelecimento da cultura. A qualidade das sementes é dada pela interação dos fatores físico, genético, sanitário e fisiológico. O atributo físico diz respeito à ausência de material estranho, inerte ou sementes de outras espécies e/ou cultivares. A qualidade genética se refere às características intrínsecas da cultivar. O componente sanitário refere-se ao efeito causado por patógenos e pragas que podem estar associados às sementes desde o campo de produção até o armazenamento (Popinigis, 1985). A qualidade fisiológica das sementes é tradicionalmente avaliada pelos testes de germinação, no entanto, não reflete a real capacidade das sementes de produzirem estandes uniformes e de serem armazenadas. Isso ocorre por que o teste é realizado em condições ideais e em campo há variações no ambiente de luminosidade, temperatura e umidade que interferem no desenvolvimento da semente. Outros problemas são que, diferenças entre a qualidade de lotes de germinação semelhante não são perceptíveis e a redução dos índices de germinação ocorre quando os índices de degradação já estão bastante avançados (Krzyzanowski et al., 1999), não sendo possível apenas por esse teste tomar decisões quanto à possibilidade de armazenamento e comercialização/semeadura dos lotes pelas empresas produtoras de sementes.

No final do século XIX e início do século XX começou a ser desenvolvido o termo vigor, hoje entendido como o “conjunto de características da semente que determinam o potencial para a emergência e o rápido desenvolvimento de plântulas normais sob ampla diversidade de condições de ambiente” (AOSA, 1983). A avaliação do vigor de sementes complementa as informações do teste de germinação, sendo, portanto, fundamental para garantir o sucesso da produção de sementes dentro dos programas de controle de qualidade, permitindo agilidade nas tomadas de decisões no que se refere às operações de colheita, destino de determinado lote quanto à região de comercialização ou à conveniência de armazená-lo ou vendê-lo em curto espaço de tempo (Krzyzanowski et al., 1999).

Os testes de vigor são de difícil padronização, e envolvem diversas variáveis, existe certa dificuldade na interpretação em relação ao alcance dos resultados uma vez que não existem valores considerados bons ou ruins, são determinações feitas por comparação. Na pesquisa alguns fatores contribuem para obtenção de informação pouco consistente como o uso de correlação, que leva a informações incompletas ou incorretas, sendo os testes de

comparação de medias mais adequado. Outro fator são os estudos de lotes com germinação alta e inclusão de lotes com germinação mínima, o que tendência a uma correlação alta entre germinação e o teste de vigor (Kryzanowski et al., 1999).

Para o crambe não existem metodologias adequadas para avaliação da qualidade de sementes e investigação do comportamento enzimático. A adequação e verificação possibilitarão o controle de qualidade de sementes produzidas e o estabelecimento de lavouras produtivas, garantindo a viabilidade da cultura como fonte de energia, maximizando seus usos e benefícios.

Dentre os testes de vigor, o teste de envelhecimento acelerado e condutividade elétrica estão entre os testes de vigor considerados tanto pela AOSA (Association of Official Seed Analysts) quanto pela ISTA (International Seed Testing Association) como apropriadas para testar o vigor das sementes sendo considerados os mais promissores (Kryzanowski et al., 1999). Estes testes têm sido amplamente testados em grandes culturas e culturas olerícolas. O teste de condutividade elétrica é internacionalmente aceito e recomendado para ser usado em sementes de ervilha pela ISTA (2006) e para sementes de ervilha e soja pela AOSA (AOSA,1983; Hampton & Tekrony, 1995). O teste de envelhecimento acelerado é recomendado para milho e ervilha pela AOSA (2002).

O teste de envelhecimento foi desenvolvido para estimar o potencial de armazenamento das sementes. O teste considera que sementes de alto vigor mantêm a viabilidade quando submetidas a condições de estresse. Os principais fatores de estresse em sementes são a alta umidade e temperatura que causam danos estruturais em organelas celulares e proteínas, alteração na permeabilidade de membranas (Mc Donald,1999), aumento da taxa respiratória e consumo de reservas acelerando o processo de degradação metabólica (Marcos Filho, 1999).

O método tradicional de realização do teste consiste em expor as sementes a umidade relativa de 100% e em altas temperaturas, geralmente 41 °C ou 42° C. Por exemplo, para sementes oleaginosas como algodão e nabo forrageiro recomenda-se 41 °C (Freitas, 2000; Nery et al., 2009); 42 °C para as brássicas como canola (Ávila et al. 2005), repolho e brócolis (Costa et al., 2008). Por esse método as sementes sofrem influência do grau de umidade inicial das sementes e do período de exposição á essas condições (Marcos Filho, 1999).

Em sementes de menor tamanho é observada inconsistência dos resultados pelo método tradicional onde as sementes atingem altos graus de umidade após o teste, degradando excessivamente (Powell, 1995). Isso ocorre uma vez que sementes pequenas absorvem água de forma mais rápida e desuniforme em relação a sementes maiores, o que pode acelerar a deterioração ou apresentar diferença entre dados de uma mesma amostra interferindo na

precisão dos resultados (Jianhua e McDonald, 1999, Torres & Marcos Filho, 2001, Ramos et al., 2004, Bhering et al., 2006; Tunes et al., 2012).

Alternativas de modificação do teste de envelhecimento acelerado foram estudadas de forma a causar danos menos severo às sementes mantendo a sensibilidade do teste. Uma dessas alternativas é substituição de água por soluções salinas que diminuiriam a umidade relativa como NaCl (76/% UR), ou KCl (87%UR), ou NaBr (55%UR) (Jianhua e McDonald, 1996) . Recentemente tem surgidos trabalhos com solução diluída de NaCl (Costa et al., 2008; Santos et al., 2011). Essa alteração permite redução na absorção de água, diminuindo a intensidade de deterioração e resultados menos drásticos e mais uniformes gerando dados mais consistentes (Torres, 2004; Ramos et al. 2004; Tunes et al., 2012). Costa et al. (2008) em estudos com couve observou que os melhores resultados foram atingidos com solução diluída de cloreto de sódio. Para repolho e brócolis, o mesmo autor, não observou diferença entre as soluções utilizadas.

Já o teste de condutividade elétrica avalia indiretamente a estrutura molecular das sementes. Esse teste avalia o estado atual das sementes, podendo ser realizado em uma amostra de sementes ou em sementes individuais. O vigor é estimado por meio da comparação entre condutividade elétrica da água de embebição de lotes de sementes, uma vez que a menor velocidade de reestruturação de membranas das sementes menos vigorosas faz com que tenham maior valor de condutividade (Marcos Filho, 2005).

A semente quando imersa em água libera para a solução potássio, fosfato, açúcar, aminoácidos e proteínas devido à perda gradativa da integridade das membranas (Vanzolini & Nakagawa, 2003). A desorganização das membranas e perda de solutos afeta a qualidade uma vez que diminui a permeabilidade seletiva, ocorre perda da compartimentalização celular, desorganização do metabolismo celular, ineficiência dos mecanismos de reparo e de síntese. Os componentes lixiviados são constituintes essenciais para a germinação, são importantes para a manutenção do potencial osmótico interno e podem estimular o desenvolvimento de microorganismos devido ao atraso da germinação quando em solo (Bewley e Black, 1994).

Estudos têm mostrado que o teor inicial de água da semente pode interferir na condutividade, sendo recomendada para amendoim, a realização do teste com sementes entre 9% a 15% e que não sejam usadas sementes de 5% a 7%, a estabilização dos resultados ocorre com teor de água de 10% e 14% (Barbosa et al., 2012). A influência do teor de água da semente no resultado pode ser explicada pela maior desorganização da membrana celular em sementes com menor teor de água que gera maior perda de eletrólitos e necessidade de período mais longo para reestruturação das membranas (Bewley & Black, 1994).

A relação entre o número de sementes e o volume de água ideal varia entre as espécies. Em testes com variações da relação quantidade de semente e volume de água para brássicas, como couve-flor, considerou-se como ideal 50 sementes em 75 ml de água (Kikutti & Marcos Filho, 2012), rúcula 50 sementes em 50 ml (Alves e Sá, 2009), brócolis 50 sementes em 25 ml (Martins et al., 2002), já para canola 50 sementes em 25 ml de água (Milani et al., 2012). Oleaginosas como mamona o número de sementes é reduzido, 25 sementes em 75 ml (Souza et al., 2009) e para pinhão manso o número de sementes é ainda menor 15 sementes em 75ml de água (Araújo et al.,2011). Para outras oleaginosas têm se a mesma relação de 50 sementes em 75 ml de água, como é o caso do girassol (Oliveira et al., 2012), da soja (Krzyzanowski et al., 1999) e do algodão (AOSA,1983).

É recomendado para grandes culturas o período de 24 horas para leitura da condutividade, na busca por resultados mais rápidos têm sido testados menores tempos para realização do teste. Em sementes pequenas já foi possível a diferenciação da qualidade dos lotes em períodos bem reduzidos é o caso da couve-flor e rúcula que possibilitaram obter os resultados em 4 horas (Kikutti & Marcos Filho, 2012; Alves e Sá, 2009). Algumas oleaginosas também permitem resultados em pouco tempo como a mamona em 6 horas (Souza et al.,2009), canola 8 horas (Milani et al., 2012) e o girassol 18 horas (Oliveira et al., 2012).

Para determinação do intervalo de tempo ideal para realização do teste pode ser utilizada a curva de embebição das sementes, como realizado por Nery et al. (2009), considerando que a integridade das membranas tem reflexos diretos sobre a eficiência metabólica da fase II (Dias & Marcos Filho, 1996). A germinação é dividida em três fases teóricas (Bewley e Black, 1994) podendo o período para realização do teste de condutividade ser determinado dentro do intervalo das fases I (absorção de água e maior perda de sais) e fase II (equilíbrio hídrico, menor perda de sais) com limite no início da fase III (fase de protrusão).

Outro objeto de pesquisa em fisiologia e qualidade de sementes tem sido a busca por indicadores moleculares do vigor (Ventura et al., 2012). A integridade do metabolismo celular está relacionada com grande variedade de enzimas e proteínas estruturais de cada espécie. O comportamento das isoenzimas pode ajudar a desenvolver e analisar os testes de vigor, e na associação entre eventos da deterioração e manifestações fisiológicas (Basu, 1995).

A máxima qualidade fisiológica ocorre na maturidade, a partir desse momento começa a deterioração. Os estádios iniciais de deterioração podem ser entendidos por meio da comparação da atividade de enzimas associadas à degradação, respiração, germinação e metabolismo de reservas e os resultados dos testes de germinação e vigor em sementes de alto

e baixo vigor. Sendo importante que se conheça a composição química das sementes para determinação dos protocolos a serem utilizados e interpretação dos resultados.

As variações da composição química estão relacionadas, também, do ponto de vista fisiológico, ao desempenho das sementes, ao potencial de armazenamento e a determinação dos procedimentos a serem adotados durante a secagem artificial pós-colheita (Marcos Filho, 2005).

Quanto ao processo deteriorativo, uma consequência da deterioração é a produção de radicais livres que causam danos às membranas pela peroxidação de lipídios e geração de subprodutos tóxicos (Schwember & Bradford 2010). Sementes, muitas vezes contêm maior concentração de ácidos graxos poli-insaturados do que qualquer outro tecido de planta (Mansfield & Briarty, 1992). A peroxidação dos ácidos graxos gera o acúmulo de espécies reativas de oxigênio (ROS) (Hendry, 1993; Bailly, 2004), que agem sobre a célula causando disfunção mitocondrial, inativação de enzimas, perturbação da membrana e lesões genéticas (Coolbear, 1995).

A intensidade dos danos é determinada pela capacidade das sementes para eliminar o ROS por meio de sistemas antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos. Para atenuar o efeito dos radicais livres há o sistema enzimático de proteção no qual atuam as enzimas superóxido dismutase e catalase, duas das mais importantes enzimas com essa função (Bailly, 2004).

A superóxido dismutase (SOD) consiste em um grupo de enzimas que catalisam a formação de peróxido de hidrogênio a partir de radicais superóxidos reduzindo os danos por oxidação na célula (Kliebensteen et al., 1998). O peróxido de hidrogênio produzido é prejudicial a muitos processos metabólicos por isso deve ser convertido em outras substâncias (Eaton, 1991).

As isoenzimas do grupo da catalase (CAT) são capazes de decompor o peróxido de hidrogênio em oxigênio gasoso e moléculas de água. As CATs são as enzimas mais estudadas, diversas funções são associadas a elas como a desintoxicação por peróxido de hidrogênio, resposta a estresse, participação no sistema de defesa de plantas, estando também relacionadas ao envelhecimento de plantas, amadurecimento de frutos e senescência (Andrea, 1998; Mura et al., 2007).

Bailly et al. (1996) em estudos com sementes de girassol observou redução da atividade da catalase e superóxido dismutase com o período de armazenamento e a perda da viabilidade.

As esterases (EST) são outro grupo de enzimas relacionadas com a perda de viabilidade de sementes, ela está envolvida em reações de hidrólise de ésteres. Este grupo de

enzimas hidrolíticas libera ácido graxo dos lipídios que são usados na β -oxidação como fonte de energia no metabolismo germinativo (Faria et al., 2003). As EST atuam nos lipídios de armazenamento e nos lipídios de membranas tendo uma ação positiva, em sementes cujas reservas são lipídios (Taiz & Zeiger, 2004).

Com o progresso da deterioração, foi observado em sementes de amendoim, secas e embebidas, decréscimo na atividade total de esterase (Aung & Mc Donald, 1995).

A malato desidrogenase (MDH) é uma enzima importante na respiração, atuando no ciclo de Krebs. O aumento do número de bandas ou da intensidade de coloração das suas bandas em sementes pode ser atribuído ao aumento da respiração que ocorre em sementes de qualidade reduzida (Shatters et al., 1994).

No metabolismo anaeróbico produtos tóxicos às células, como acetaldeído e etanol, são acumulados, deteriorando as células. A álcool desidrogenase (ADH) participa do processo de conversão de acetaldeído a etanol, quando a atividade desse grupo de isoenzimas diminui a semente e fica mais exposta à ação deletéria do acetaldeído, o que acelera a deterioração das sementes (Zhang et al., 1994).

Em sementes oleaginosas a isocitrato-liase é de grande importância por ser uma das enzimas chaves na regulação do ciclo do glioxilato e está envolvida no metabolismo dos lipídios armazenados. A atividade dessa enzima aumenta com a germinação quando ocorre a degradação dos lipídios e síntese de sacarose (Bewley & Black, 1994). Martin et al. (2000) observou que há aumento da atividade dessa enzima em sementes mais vigorosas de soja.

O aumento da peroxidação lipídica, declínio da atividade das enzimas do sistema de proteção causando estresse oxidativo têm sido relacionados ao envelhecimento de sementes de amendoim (Sung & Jeng, 1994), soja (Sung, 1996) e girassol (Kibinza et al., 2006). Sementes sujeitas ao estresse oxidativo desencadeiam a carbonilação de proteínas (Rojjou et al., 2008) o que os torna propenso á degradação com perda da sua funcionalidade (Yao et al., 2012).

Devido ao exposto, objetivou-se com essa pesquisa adequar metodologias dos testes de envelhecimento acelerado e condutividade elétrica para avaliação da qualidade de sementes de crambe e investigar a atividade enzimática em relação às diferenças de vigor.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVES, C. Z.; SÁ, M. E. Teste de condutividade elétrica na avaliação do vigor de sementes de rúcula. **Rev. bras. Sementes**, Londrina, v.31, n.1, p.203-215, 2009.
- ANDREA, M. Superoxide dismutase and catalase activities in apple fruit during ripening and postharvest and with special reference to ethylene. **Physiol. Plant.**, Copenhagen, v.104, n.4, p.668-672, dec., 1998.
- ARAÚJO, R. F.; ZANTA, J.B.; ARAÚJO, E.F.; DONZELES, S.M.L.; COSTA, G.M. Teste de condutividade elétrica para sementes de pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.). **Idesia**, Arica, v. 29, n. 2, ago. 2011.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL SEED ANALYSTS [AOSA] 2002. **Seed Vigor Testing Handbook**. AOSA, Lincoln, NE, USA. (Contribution, 32).
- AUNG, U.T.; McDONALD, M.B. Changes in esterase activity associated with peanut (*Arachis hypogaea* L.) seed deterioration. **Seed Sci. Technol.**, Zurich, v.23, n.1, p.101-111, 1995.
- ÁVILA, M. R.; BRACINI, A. L.; SCAPIM, C.A.; MARTORELLI, D.T.; ALBRECHT, L. P. Testes de laboratório em sementes de canola e a correlação com a emergência das plântulas em campo. **Rev. bras. Sementes**, Pelotas, v.27, n.1, p.62-76, jun., 2005.
- BAILLY, C.; BENAMAR, A.; COBINEAU, F.; CÔME, D. Changes in malondialdehyde content and in superoxide dismutase, catalase and glutathione reductase activities in sunflower seeds as related to deterioration during accelerated aging. **Physiol. Plant.**, Copenhagen, v. 97, n. 1, p.104-110, maio 1996.
- BAILLY, C. Active oxygen species and antioxidants in seed biology. **Seed Sci. Res.**, Wallingford, v.14, n.1, p. 93–107, mar., 2004.
- BARBOSA, R.M.; SILVA, C.B.; MEDEIROS, M.A.; CENTURION, M.A.P.C.; VIEIRA, R.D. Condutividade elétrica em função do teor de água inicial de sementes de amendoim. **Cienc. Rural**, Santa Maria, v.42, n.1, p.45-51, jan. 2012.
- BASU, R. N. Seed viability. In: BASRA, A.S. **Seed quality: basic mechanisms and agricultural implications**. New York, p.1-42, 1995.

BEWLEY, J.D. & BLACK, M. **Seeds physiology of development and germination.** New York: Plenum Press, 1994. 445 p.

BHERING, M.C. DIAS, D. C. F. DOS S.; VIDIGAL, D. DE S.; NAVIEIRA, D. DOS S. P.. Teste de envelhecimento acelerado em sementes de pimenta. **Rev. Bras. Sementes**, Pelotas, v.28, n.3, p.64-71, dec., 2006.

BOLETIM MENSAL DO BIODIESEL. AGÊNCIA NACIONAL DO PETRÓLEO, GÁS NATURAL E BIOCOMBUSTÍVEIS (ANP), SUPERINTENDÊNCIA DE REFINO E PROCESSAMENTO DE GÁS NATURAL (SRP). Dezembro, 2012. Disponível em: <<http://www.anp.gov.br/?pg=9205>>. Acesso em: 5 jan. 2012.

COSTA, C.J.; TRZECIAK, M.B.; VILLELA, F.A. Potencial fisiológico de sementes de brássicas com ênfase no teste de envelhecimento acelerado. **Hortic. Bras.**, Brasília, v.26, n.2, p.144-148, abr./jun., 2008.

DESAI, B. B.; KOTECHA, P M.; SALUNKHE, D. K. **Seeds handbook: biology, production processing and storage.** New York: Marcel Dekker, 1997.p. 627.

DIAS, D.C.F.S.; MARCOS FILHO, J. Testes de condutividade elétrica para avaliação do vigor de sementes de soja (*Glycine max* (L.) Merrill). **Sci. Agr.**, Piracicaba, v.53, n.1, p.31-42, jan./abr., 1996.

DICRA: Diversification with crambe; an industrial oil crop. Disponível em: <<http://ec.europa.eu/research/agro/fair/en/fr4333.html>>. Acesso em: mar. 2012.

DUKE, J.A. Handbook of Energy Crops. 1983. Disponível em: <http://www.hort.purdue.edu/newcrop/duke_energy/Crambe_abyssinica.html > Acesso em: mar. 2012

EATON, J. W. Catalases and peroxidases and glutathione and hydrogen peroxide: mysteries of the bestiary. **J. Lab. Cli. Med.**, St. Paul, v. 118, n. 1, p. 3-4, jul. 1991.

ENDRES, G.; SCHATZ, B. **Crambe Production**, 1993. Disponível em: <<http://www.ag.ndsu.edu/pubs/plantsci/crops/a1010w.htm#weed>>. Acesso em: mar. 2012

FALASCA, S.L.; LAMAS, M.C.; CARBALLO, S.M.; ANSCHAU, A. *Crambe abyssinica*: An almost unknown crop with a promissory future to produce biodiesel in Argentina. **Int. J. Hydrogen Energy**, Miami, v.35, p.5808-5812, jun., 2010.

FARIA, M.A.V de R.; PINHO, R.G. ; VON PINHO, E.V. de R.; GUIMARAES, R.M. . **Marcadores moleculares da qualidade fisiológica de sementes**. Lavras: UFLA/FAPE, 2003.

FRANCOIS, L.E.; KLEIMAN, R. Salinity effects on vegetative growth, seed yield and fatty acid composition of crambe. **Agron. J.**, v.82, p.1110–1114, 1990.

FREITAS, R.A; DIAS, D. C. F. S.; REIS, M. S.; CECON, P. R. Correlação entre testes para avaliação da qualidade de sementes de algodão e a emergência das plântulas em campo. **Revi. Bras. Sementes**, Brasília, v.22, n.1, p.97-103, 2000.

GLASER, L. K. **Crambe: an economic assessment of the feasibility of providing multiple-peril crop insurance**. Estados Unidos, nov.1996. Disponível em: <<http://www.rma.usda.gov/pilots/feasible/pdf/crambe.pdf>> Acesso em: 23 mar. 2012.

GOMES JUNIOR, S. B. **Avaliação técnica e econômica da aplicação de óleo vegetal de crambe como isolante elétrico em comparação com óleo de soja**. 2010. 138f. Trabalho de conclusão de curso (Mestrado Profissional em Desenvolvimento de Tecnologia) – Instituto de tecnologia para o desenvolvimento e Instituto de Engenharia do Paraná. Curitiba. 2010.

GRANOL. Crambe: nova alternativa para os biocombustíveis. 2012. Disponível em:<<http://www.granol.com.br/Crambe%3A+nova+alternativa+para+os+biocombust%C3%ADveis/noticias/172>>. Acesso em: 23 out. 2012.

HAMPTON, J. G.; TEKRONY, D. M. (Ed.). **Handbook of vigour test methods**. 3rd. ed. Zurich: International Seed Testing Association, 1995. 117 p.

HENDRY, G. A. F. Oxygen, free radical processes and seed longevity. **Seed Sci. Res.**, Wallingford, n.3, v.3, p.141–153, set., 1993.

ISTA. International Seed Testing Association. International Rules for Testing Seeds, 2004. **Seed Sci. Technol.**, Zurich, v. 32, n. 2, p. 403, 2006.

JASPER, S. P. **Cultura do crambe (*Crambe abyssinica* Hochst): avaliação energética, de custo de produção e produtividade em sistema de plantio direto**. 2009. 103p. Tese (Doutorado em Agronomia) – Faculdade de Ciências Agrônomicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu. 2009.

JIANHUA, Z; McDONALD, M. B. The saturated salt accelerated aging test for small-seeded crops. **Seed Sci. Technol.**, Zurich, v.25, n.1, p.123-131, 1996.

KIBINZA, S.; VINEL, D.; CÔME, D.; CORBINEAU, F. Sunflower seed deterioration as related to moisture content during ageing, energy metabolism and active oxygen species scavenging.. **Physiol. Plant.**, Copenhagen, v.128, n.3, p.496-506, 2006.

KIKUTI, A. L. P; MARCOS FILHO, J. Testes de vigor em sementes de alface. **Hortic. Bras.**, Brasília, v. 30, n. 1, p.44-50, jan./mar., 2012

KLIEBENSTEIN, D.J.; MONDE, R.A.; LAST, R.L. Superoxide dismutase in Arabidopsis: an eclectic enzyme family with disparate regulation and protein localization. **Plant Physiol.**, Rockville, v.118, p.637-650, 1998.

KNIGHTS, E.G. Crambe: A North Dakota case study. **A Report for the Rural Industries Research and Development Corporation**. Kingston, 2002, n.W02/005, 25p.

KRZYZANOWSKI, F.; VIEIRA, R. D.; FRANCA NETO, J. B. (Ed.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999. 218p.

MANSFIELD, S.G.; BRIARTY, L.G. Cotyledon cell development in Arabidopsis thaliana during reserve deposition. **Can. J.Bot.**, Ottawa, v. 70, p.151–16, 1992.

MAPA, REGISTRO NACIONAL DE CULTIVARES. Disponível em: <http://extranet.agricultura.gov.br/php/snpc/cultivarweb/cultivares_registradas.php>.

Acessado em: 5 de outubro de 2012.

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

MARCOS FILHO, J. Teste de Envelhecimento Acelerado. In.: KRYZANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA NETO, J. DE B. (Ed.) **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999. Cap.3, p.1-24.

MARTIN, C. A. O.; SEDIYAMA, C. S. S.; OLIVEIRA, M. G. A.; JOSÉ, I. C.; MOREIRA, M. A.; REIS, M.; ROCHA, V. S. Atividade da isocitrato-liase durante a germinação de sementes de soja. **Rev. bras. Sementes**, Londrina, v.22, n.1, p.42-46, 2000.

MARTINS, C.C.; MARTINELLI-SENEME, A.; CASTRO, M.M.; NAKAGAWA J.; CAVARIANI, C. Comparação entre métodos para a avaliação do vigor de lotes de sementes de couve-brócolos (*Brassica oleracea* var. *italica* plenk). **Rev. bras. Sementes**, Londrina, v.24, p. 96-101, 2002.

MASTEBROEK, H.D.; WALLENBURG, S.C.; VAN SOEST, L.J.M. Variation for agronomic characteristics in crambe (*Crambe abyssinica* Hochst. ex Fries). **Ind. Crop. Prod.**, v.2, p.129-136, 1994.

McDONALD, M. B. Seed deterioration: physiology, repair and assessments. **Seed Sci. Technol.**, Zurich, v. 27, n. 1, p.177-237, mar. 1999.

MILANI, M.; MENEZES, N. DE L.; LOPES, S. J.. Teste de condutividade elétrica para avaliação do potencial fisiológico de sementes de canola. **Rev. Ceres**, Viçosa, v.59, n.3, jun. 2012.

MURA A, PINTUS F, MEDDA R, FLORIS G, RINALDI AC, PADIGLIA A. Catalase and antiquitin from *Euphorbia characias*: Two proteins involved in plant defense. **Biochemistry**, Moscow, v.72, p. 501-508, fev. 2007.

NERY, M.C.; CARVALHO, M.L.M.; GUIMARÃES, R. M. Testes de vigor para avaliação da qualidade de sementes de nabo forrageiro. **Informativo Abrates**, Londrina, v.19, n.1, p.9-20, 2009.

OLIVEIRA, F. N.; TORRES, S.B; VIEIRA, F. E. R.; PAIVA, E. P. DE; DUTRA, A. S. Qualidade fisiológica de sementes de girassol avaliadas por condutividade elétrica. **Pesq. Agropec. Trop.**, Goiânia, v. 42, n.3, set. 2012.

OPLINGER, E. S.; OELKE, E. A.; KAMINSKI, A. R.; PUTNAMAM, D. H.; TEYNOR, T. M.; DOLL, J. D.; KELLING, K.A.; DURGAN, B. R.; NOETZEL, D. M. **Alternative Field Crops Manual: Crambe**. 1991. Disponível em: <<http://www.hort.purdue.edu/newcrop/afcm/crambe.html>>. Acessado em: 1 março 2012.

ORTEGA, F. J.; FUERTES-AGUILAR, J.; KIM, S.C.; SANTOS-GUERRA, A.; CRAWFORD, D.J.; JANSEN, R.K. Phylogeny of the Macaronesian endemic *Crambe* section *Dendrocrambe* (Brassicaceae) based on internal transcribed spacer sequences of nuclear ribosomal DNA. **Am. J. Bot.**, v. 89, n.12, p.1984–1990, dec. 2002.

PAULOSE, B.; KANDASAMY, S.; DHANKHER, O. P. Expression profiling of *Crambe abyssinica* under arsenate stress identifies genes and gene networks involved in arsenic metabolism and detoxification. **BMC Plant Biology**, v.10,p.108, 2010. Disponível em: <<http://www.biomedcentral.com/1471-2229/10/108>> Acessado em: 12 novembro 2012.

PITOL, C.; BROCH, D.L.; ROSCOE, R. **Tecnologia e produção: crambe 2010**. Maracaju. Fundação MS. 1ed. 2010.

PITOL, C.; Cultura do Crambe. In: **Tecnologia e Produção: Milho Safrinha e Culturas de Inverno – 2008**. 1. ed. Maracajú: Fundação MS, 2008. v.1. c.11, p.85-88. Disponível em: <<http://www.fundacaoms.org.br/page.php?21>> Acesso em: 16 de agosto 2011.

POPINIGIS, F. **Fisiologia da Semente**. 2. ed. Brasília, [s.n.], 1985. 289 p.

POWELL, A. A. The controlled deterioration test. In: VAN de VENTER, H. A. Seed Vigour Testing Seminar. Zurich: International Seed Testing Association, 1995. p.73-87. TEKRONY, D.M. Accelerated aging. In: VAN DE VENTER, H.A. (Ed.). **Seed vigour testing seminar**. Copenhagen: ISTA, 1995. p.53-72.

PRINA, A. 2009. Taxonomic review of the genus *Crambe* sect. *Crambe* (Brassicaceae, Brassicaceae). **Anais Jard. Bot.** Madrid, v. 66, n1, p. 7-24, 2009.

RAJJOU, L., LOVIGNY, Y., GROOT, S.P.C., BELGHAZI, M., JOB, C., JOB, D. Proteome-wide characterization of seed aging in *Arabidopsis*: a comparison between artificial and natural aging protocols. **Plant Physiol.**, Madison, v.148, p.620–641, 2008.

RAMOS, N.P.; FLOR, E.P.O.; MENDONÇA, E.A.F.; MINAMI, K. Envelhecimento acelerado em sementes de rúcula (*Eruca sativa* L.). **Rev. Bras. Sementes**, Pelotas, v.26, n.1, p.98-103, 2004.

RUDLOFF, E.; WANG, Y. Oilseeds -Crambe. In: Wild Crop Relatives: Genomic and Breeding Resources. p.97-116. 2011. Disponível em: <http://rd.springer.com/chapter/10.1007/978-3-642-14871-2_5>. Acesso em: 20 mar. 2012.

SANTOS, F. DOS; TRANI, P. E.; MEDINA, P. F.; PARISI, J. J. D. Teste de envelhecimento acelerado para avaliação da qualidade de sementes de alface e almeirão **Rev. bras. Sementes**, Londrina, v.33, n.2, p.322-330, 2011.

SCHWEMBER, A.; BRADFORD, K. J. Quantitative trait loci associated with longevity of lettuce seeds under conventional and controlled deterioration storage conditions. **J. Exp. Bot.**, Oxford, v. 61, n. 15, p. 4423-4436, 2010.

SHATTERS JR, R. G.; ABDELGHANY, A.; ELBAGOURY, O.; WEST, S. H. Soybean seed deterioration and response to osmotic priming: in specific enzyme activities in extracts from dry and germination seeds. **Seed Sci. Res.**, v.4, n. 1, p.33-41, mar. 1994.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA. **Anais eletrônicos...** Florianópolis – SC. 2011. Disponível em: < <http://www.s bq.org.br/34ra/cdrom.php> >. Acesso em: 20 nov. 2012.

SOUZA, L. A. DE; CARVALHO, M. L. M. DE; KATAOKA, V. Y.; OLIVEIRA, J. A. DE. Teste de condutividade elétrica para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de mamona. **Rev. bras. Sementes**, Londrina, vol.31, n.1, p.60-67, 2009.

SUNG, J. M. Lipid peroxidation and peroxide-scavenging in soybean seeds during aging. **Physiol. Plantarum**, Copenhagen, v. 9, n.1, p. 85-89, maio 1996

SUNG, J. M.; JENG, T. L. Lipid peroxidation and peroxide-scavenging enzymes associated with accelerated ageing of peanut seed. **Physiol. Plantarum**, Copenhagen, v. 90, p. 51-55, jan. 1994.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Plant Physiol.** Califórnia: Cummings, 2004. 565p.

TORRES, S. B.. Teste de envelhecimento acelerado em sementes de erva-doce. **Rev. bras. Sementes**, Pelotas, v. 26, n. 2, p. 20-24, dec. 2004.

TORRES, S. B.; MARCOS FILHO, J. Teste de envelhecimento acelerado em sementes de maxixe (*Cucumis anguria* L.). **Rev. Bras. Sementes**, Brasília, v. 23, n. 2, p. 108-112, 2001.

TRZECIAK, M. B.; NEVES, M. B.; VINHOLES, P. S.; VILLELA, F. A. **Utilização de sementes de espécies oleaginosas para produção de biodiesel**: Informativo ABRATES, v.18, n.1,2,3 p.30-38, 2008.

TUNES, L. M. DE; TAVARES, L. C.; BARROS, A. C. S. A. Accelerated aging as test of vigor for rice seeds. **Rev. Ciên. Agrá.**, Lisboa, v. 35, n. 1, p.120-127, 2012.

TUNES, L.M DE; TAVARES, L. C.; RUFINO, C. DE A.; BARROS, A.C.S.A., MUNIZ, N.F.B., DUARTE, V. B. Envelhecimento acelerado em sementes de brócolis (*Brassica oleracea* l. Var. *Italica* plenk). **Biosci. J.**, Uberlândia, v.28, n.2, p.173-179, mar./abr. 2012.

VANZOLINI, S.; NAKAGAWA, J. Teste de condutividade elétrica em sementes de amendoim. **Rev. bras. Sementes**, Londrina, v. 27, n. 2, p. 151-158, dec. 2005.

VENTURA, L.; DONÀ, M.; MACOVEI, A.; CARBONERA, D.; BUTTAFAVA, A.; MONDONI, A.; ROSSI, G.; BALESTRAZZI, A. Understanding the molecular pathways associated with seed vigor. **Plant Physiol. Biochem.**, Paris, v.60, p.196-206, nov. 2012.

WANG, Y.P. et al. A preliminary study on the introduction and cultivation of *Crambe abyssinica* in China, an oil plant for industrial uses. **Ind. Crop. Prod.**, Amsteram, v. 12, n.1, p.47-52, 2000.

WARWICK, S. I.; GUGEL, R. K. Genetic variation in the *Crambe abyssinica*-*C.hispanica*-*C glabrata* complex. **Genet. Resour. Crop Ev.**, Dordrecht, v. 50, p.291-305, 2003.

YAO, Z.; LIU, L.; GAO, F.; RAMPITSCH, C.; REINECKE, D.M.; OZGA, J.A.; AYELE, B.T. Developmental and seed aging mediated regulation of antioxidative genes and differential expression of proteins during pre- and post-germinative phases in pea. **J. Plant Physiol.**, Jena, v. 169, n.15, p.1477-1488, out. 2012.

ZHANG, M.; MAEDA, Y.; FURIHATA, Y.; NAKAMURU, Y.; ESASHI, Y. Mechanism of seed deterioration in relation to the compounds evolved by dry seeds themselves. **Seed Sci. Res.**, v. 4, n. 1, p.49-56, mar. 1994.

ZIMMERMANN, H.G. Une nouvelle plante oleagineuse de printemps *Crambe abyssinica* Hochst. **Olagineux**, v.17, n.6, p.527-530, 1962.

ARTIGO CIENTÍFICO

**TESTES DE VIGOR PARA AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DE SEMENTES DE
CRAMBE (*Crambe abyssinica* Hochst)**

RESUMO

CRUZ, SARA MICHELLY. **TESTES DE VIGOR PARA AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DE SEMENTES DE CRAMBE (*Crambe abyssinica* Hochst)**. 2013.64p. (Dissertação - Mestrado em Produção Vegetal) – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina, 2013.

A cultura do crambe, *Crambe abyssinica*, tem sido considerada como promissora para uso na produção de biodiesel, no entanto, as informações sobre a avaliação do vigor das sementes dessa cultura são escassas. A adequação dos testes de vigor é importante por permitir a controle de qualidade mais rápido e eficiente. Objetivou-se com esse trabalho adequar as metodologias dos testes de envelhecimento acelerado e condutividade elétrica para avaliar a qualidade de sementes de crambe e investigar a atividade enzimática em relação às diferenças de vigor. Foram utilizados cinco lotes de sementes da cultivar FMS Brilhante. Foi realizada caracterização da semente e plântula e composição centesimal da semente. Para o teste de envelhecimento acelerado as sementes foram submetidas ao método tradicional e com solução saturada de NaCl, pelos períodos de envelhecimento de 0; 24; 48; 72 e 96 horas. No teste de condutividade elétrica, as sementes foram submetidas aos períodos de 2; 4; 6; 8; 10; 12; 14; 16; 18 horas de embebição, utilizando-se 25 sementes em 25 mL e 50 mL, 50 sementes em 50 mL e 75 mL. Foi realizada avaliação de isoenzimas relacionadas ao sistema de proteção, ciclo do glioxilato e a respiração. Sendo usados os testes de germinação e emergência das plântulas para a comparação e análise dos resultados. Conclui-se que o teste de envelhecimento acelerado a 42 °C por 96 horas pelo método tradicional foi eficiente para classificar os lotes em diferentes níveis de qualidade. O teste de condutividade elétrica não foi adequado para avaliação da qualidade fisiológica de crambe. O lote de maior vigor teve maior atividade dos grupos enzimáticos esterase, superóxido dismutase e catalase. O lote de menor vigor não teve atividade das enzimas isocitrato liase e álcool desidrogenase. Não houve alteração na atividade da isoenzima malato desidrogenase.

Palavras-chave: FMS Brilhante, envelhecimento acelerado, condutividade elétrica, isoenzimas.

ABSTRACT

CRUZ, SARA MICHELLY. **VIGOR TESTS ASSESSING THE QUALITY OF CRAMBE (*Crambe abyssinica* Hochst) SEEDS**. 2013. 64p. (Dissertation – Masters in Plant Production) – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina, 2013.

Crambe (*Crambe abyssinica*) culture has been considered as promising for its use in the production of biodiesel. However, the information on seed vigor evaluation for this culture is scarce. The adaptation of the vigor tests is important for allowing a faster and more efficient quality control. This work aimed at adapting the methodologies of the accelerated aging and electric conductivity tests in order to evaluate crambe seed quality and investigate enzyme activity in relation to the differences in vigor. Five seed lots of cultivar FMS Brilhante were used. We performed the characterization of the seeds and seedlings, and the centesimal composition of the seeds. For the accelerated aging test the seeds were submitted to the traditional method and with NaCl saturated solution, for the aging periods of 0; 24; 48; 72 and 96 hours. In the electric conductivity test the seeds were submitted to the periods of 2; 4; 6; 8; 10; 12; 14; 16 and 18 hours of soaking, using 25 seeds in 25 mL and 50 mL, and 50 seeds in 50 mL and 75 mL. We also performed the evaluation of the isoenzymes related to the protection system, glyoxylate cycle and respiration. We used the germination and seedling emergence tests for comparison and analysis of the results. We concluded that the accelerated aging test at 42 °C for 96 hours by using the traditional method was efficient to classify the lots in different quality levels. The electric conductivity test was not adequate for the evaluation of crambe physiological quality. The lot of highest vigor presented highest activity for the esterase, superoxide dismutase and catalase isoenzymes groups. The lot of lowest vigor did not present activity of the enzymes isocitrate liase and alcohol dehydrogenase. There was no alteration in the activity of enzyme malate dehydrogenase.

Keywords: FMS Brilhante, accelerated aging, electric conductivity, isoenzymes.

INTRODUÇÃO

O crambe (*Crambe Abyssinica*) é uma brássica, originária da Etiópia, herbácea, de ciclo curto e cultivo anual (Lazzeri et al., 1995). Existe uma cultivar brasileira, a FMS Brilhante, que foi registrada em 2007 pela Fundação MS. A cultura tem sido apontada como fonte promissora para produção de biodiesel no Brasil (Pitol et al., 2010).

Para sucesso e estabelecimento do sistema produtivo da cultura no país é fundamental o uso de sementes de alta qualidade que permitirão que as características desenvolvidas para a cultivar sejam transferidas aos agricultores. Porém, não existem testes padronizados para avaliação do vigor da cultura.

É importante à padronização dos testes de vigor por estes serem mais sensíveis às diferenças de potencial fisiológico do que testes de germinação. Dentre os testes de vigor, os testes de condutividade elétrica e envelhecimento acelerado têm sido intensamente pesquisados para a maioria das espécies, inclusive brássicas, pelo potencial de padronização, reprodutibilidade (AOSA, 1983; Krzyzanowski et al., 1999) e por serem objetivos, rápidos, econômicos não necessitando de muitos equipamentos e treinamento pessoal (Krzyzanowski, 1999).

As condições ideais para o teste de envelhecimento variam com a espécie, temperatura e período de exposição. Para sementes pequenas é avaliada também a umidade relativa, uma vez que altas umidades causam alta deterioração comprometendo os resultados e possibilitando desenvolvimento de fungos. Uma das alternativas de reduzir a umidade relativa é o uso de solução concentrada de sais, como NaCl, que retém parte da umidade (Jianhua & McDonald, 1997). O método tradicional, que submete as sementes à umidade relativa de 100%, é recomendado para repolho e brócolis a 42 °C por 48, 72 ou 96 horas (Costa et al., 2008) e para canola a 42 °C por 24 horas (Ávila et al., 2005). Já para brócolis foi recomendado, também, o método alternativo com uso de solução NaCl, umidade relativa de 76%, a 42 °C por 48 horas (Martins et al., 2002; Tunes et al., 2012).

Quanto ao teste de condutividade elétrica da água de embebição das sementes a metodologia tem sido adequada para cada espécie de acordo com a relação número de sementes, volume de água e tempo de embebição. Sendo frequentemente utilizadas amostras de 50 ou 25 sementes e volume de água de 75 mL, 50 mL ou 25 mL (Souza et al. 2009 Alves e Sá, 2009; Kikutti & Marcos Filho, 2012; Milani et al., 2012; Oliveira et al., 2012). O período mais frequente é de 24 horas sendo possível obter resultados em períodos menores de 18 a 4 horas para algumas culturas (Kikutti & Marcos Filho, 2012; Milani et al., 2012).

Para o entendimento do processo deteriorativo têm sido realizadas pesquisas envolvendo a técnica da eletroforese de isoenzimas. Essas análises permitem detectar mudanças bioquímicas relacionadas ao processo deteriorativo através da atividade de enzimas associadas á degradação de membranas celulares, respiração, germinação e metabolismo de reservas (Chauhan, 1985; Basu, 1985; Ventura et al., 2012).

Considerando-se a importância dos testes de vigor e do entendimento do processo deteriorativo, objetivou-se com esse trabalho adequar as metodologias dos testes de envelhecimento acelerado e condutividade elétrica, para avaliar a qualidade de sementes de crambe e investigar a atividade enzimática em relação às diferenças de vigor.

MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Sementes da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri - UFVJM, Diamantina, MG, Laboratório de Química, Bioquímica e Análise de Alimentos e Laboratório Central de Análise de Sementes da Universidade Federal de Lavras – UFLA, Lavras, MG. Foram utilizados cinco lotes de sementes de crambe, cultivar FMS Brilhante, fornecidos pela Fundação MS, sendo os lotes 1 e 2 da safra de 2011, o lote 3 da safra de 2009, o lote 4 da safra de 2010 e o lote 5 da safra de 2008.

Foram realizados as seguintes determinações e testes:

Para a **caracterização morfológica das sementes** foram observadas as estruturas e características visuais das sementes. Foi estimado o peso de mil sementes segundo Brasil (2009). As sementes foram classificadas quanto ao seu formato e calculadas suas dimensões em milímetros por meio de paquímetro digital. Para isso foram medidas quatro repetições de 25 sementes de cada lote e calculada a média e desvio padrão. Foram classificadas quanto ao tamanho por peneiras de crivo circular 2,36 mm (ABNT 8) e 2,8 mm (ABNT 7).

A **caracterização morfológica de plântulas** foi realizada utilizando-se quatro repetições de 50 sementes de cada amostra. As sementes foram postas a germinar sobre papel e acondicionados em BOD a 25 °C por 10 dias. Após a obtenção das plântulas foram analisados, o comprimento do hipocótilo, a cor do hipocótilo, o comprimento da radícula e as características da plúmula.

Para determinação da **composição centesimal** foi feito uma amostra composta dos cinco lotes de sementes. As análises foram realizadas em triplicata para cada uma das

seguintes determinações: extrato etéreo, proteína bruta ou nitrogênio total, amido, fenóis totais, fibra bruta, açúcares solúveis, redutores e não redutores.

Para **extrato etéreo** a determinação foi feita com solvente orgânico (éter etílico) segundo método da AOAC (2005) e os resultados expressos em percentagem.

Na determinação da **proteína bruta (N total)**, foi baseada na determinação de nitrogênio total, pelo método de micro-Kjeldahl (AOAC, 2005), aplicando-se o fator 6,25 para o cálculo do teor de proteína bruta.

A determinação do **amido** foi realizada segundo metodologia descrita por Somogy (1945). As amostras foram imersas em solução de NaOH 0,2% (p/v) e de metabissulfito de sódio 200 ppm. As fibras e o amido foram separados por hidrociclone e deixados decantar sendo o líquido sobrenadante descartado. O sedimento foi, a seguir, filtrado por meio de peneiras de 24 a 100 mesh. As impurezas retidas nas peneiras foram descartadas e o filtrado lavado com água destilada até se obter um sedimento branco. O amido, assim obtido, foi seco em estufa com circulação forçada de ar à temperatura de 40 °C.

A determinação de **compostos fenólicos totais** foi realizada segundo o método Follin-Denis, descrito pela AOAC (2005).

Para **fibra bruta**, a determinação foi feita por hidrólise ácida, pelo método gravimétrico segundo descrito por Vande Kamer & Van Ginkel (1952).

Os **açúcares solúveis totais, redutores e não redutores** foram extraídos pelo método de Lane-Enyon (AOAC, 2005) e determinados pela técnica de Somogyi- Nelson (1944).

A caracterização dos lotes e avaliação da qualidade fisiológica foram definidas pelos seguintes testes e determinações:

O **teor de água (U)** foi determinado pelo método de estufa a 105 °C por 24 horas (Brasil, 2009), com 2 repetições de 4,5 g de sementes.

O **teste de germinação (G)** foi realizado entre areia lavada e autoclavada, em caixas acrílicas do tipo *gerbox*, umedecidas a 60% da capacidade de campo, acondicionadas em câmara de germinação do tipo B.O.D., regulada à temperatura de 25 °C, com fotoperíodo de 12 horas (Brasil, 2009). Foram utilizadas 4 repetições de 50 sementes e os resultados expressos em porcentagem de plântulas normais ao 4º dia (**primeira contagem (PC)**). Foram realizadas avaliações pelos critérios das Regras pra Análise de Sementes (BRASIL, 2009). O teste foi encerrado ao 7º dia, computando-se a porcentagem de plântulas normais, anormais infeccionadas, anormais deformadas, sementes dormentes e mortas (BRASIL, 2009). O **índice de velocidade de germinação (IVG)** foi calculado segundo a fórmula proposta por Maguire (1962).

Para o teste de **emergência (E)** foi realizada semeadura de 4 repetições de 50 sementes em substrato solo e areia na proporção 1:2 em bandejas plásticas. A umidade do substrato foi ajustada para 60% da capacidade de retenção. Após a semeadura, as bandejas foram mantidas à temperatura ambiente. A partir do início da emergência foram realizadas avaliações diárias, computando-se o **estande inicial (EI)** ao 4º dia e o número de plântulas emergidas até a estabilização do estande que ocorreu ao 10º dia. O **índice de velocidade de emergência (IVE)** foi determinado segundo fórmula proposta por Maguire (1962).

O **teste de sanidade** foi realizado pelo método do papel de filtro ou *blotter test* modificado, com o uso de 2,4-D (5ppm) e congelamento. Utilizou-se 200 sementes, divididas em 4 repetições de 50 sementes dispostas em placas de Petri sobre três folhas de papel de filtro embebidas com água destilada, 2,4-D e ágar. As placas foram mantidas a temperatura de -8 °C por 24 horas e depois incubadas em câmara tipo B.O.D. a 25 °C, com fotoperíodo de 12 horas, por 10 dias. A presença de fungos e sua identificação foram realizadas com auxílio de lupa e microscópico estereoscópico (Brasil, 2009).

Para a **avaliação isoenzimática** foram utilizadas duas amostras de 3 g de sementes de cada lote. As sementes foram maceradas na presença de antioxidante PVP (Polivinilpirrolidona) e nitrogênio líquido manualmente em almofariz e, posteriormente, armazenadas à temperatura de -86 °C.

Para a extração das isoenzimas foi utilizado o tampão fosfato de sódio e DTT na proporção de 400 µL por 100 mg de sementes maceradas. O material foi centrifugado a 16000 xg a 4 °C por 25 minutos e, em seguida, aplicado em gel de poliacrilamida.

A corrida eletroforética foi realizada em sistema descontínuo de géis de poliacrilamida a 7,5% (gel separador) e 4,5% (gel concentrador). O sistema gel/eletrodo utilizado foi o Tris-glicina pH 8,9. Foram aplicados na canaleta do gel 50 µL do sobrenadante da amostra e a corrida efetuada a 150 V por 4 horas em geladeira.

Os géis foram revelados para as enzimas superóxido dismutase (SOD) catalase (CAT), esterase (EST), malato desidrogenase (MDH), álcool desidrogenase (ADH), segundo protocolos de Alfenas et al.(2006). Isocitrato liase foi revelada com dl-ácido isocitríco, 20 mg NADP, 20 mg MTT, 2 mg PMS, 20 mg cloreto de magnésio, 100 mL Tris 0,2 M pH 8,0; 0,1 µL de Phenylhydrazine.

Para o **teste de envelhecimento acelerado** foi feita uma camada uniforme de sementes sobre uma tela metálica acoplada a uma caixa plástica tipo *gerbox* contendo 40 ml de água destilada ou de solução saturada de cloreto de sódio (NaCl) na proporção de 40 g de NaCl para 100 ml de água, o qual proporciona umidade relativa de 76% (Jianhua & Mcdonald,

1996). Os *gerboxes* foram levados a câmaras de germinação do tipo B.O.D., à temperatura de 42 °C, pelos períodos de 0h (testemunha), 24 h, 48 h, 72 h, 96 horas. Após cada período foi determinados o teor de água e realizado o teste de germinação conforme descrito anteriormente. Foram avaliadas as plântulas normais após o sétimo dia de semeadura (Brasil, 2009).

Para o **teste de condutividade elétrica** foram selecionadas as sementes com pericarpo intacto. Foram avaliados os períodos de embebição (2 h, 4 h, 6 h, 8 h, 10 h, 12 h, 14 h, 16 h e 18 h) e as combinações número de sementes/volume de água deionizada (25/25 mL; 25/50 mL; 50/50 mL; 50/75 mL). As sementes foram pesadas e colocadas em recipientes plásticos contendo água destilada e deionizada e mantidas em câmara de germinação durante cada período de embebição, a 25 °C no escuro. As leituras da condutividade elétrica foram realizadas em condutímetro MSTecnopon®, modelo mcA-150 e os valores médios, para cada lote, expressos em $\mu\text{S}/\text{cm}/\text{g}$ de sementes. Os períodos de embebição das sementes foram definidos de acordo com a curva de embebição das sementes.

Para construção da **curva de embebição** foram colocadas para embeber 4 repetições de 50 sementes de cada lote em caixas acrílicas tipo *gerbox* sobre papel umedecido com água destilada 2,5 vezes o peso do substrato. Esse conjunto foi acondicionado à temperatura de 25 °C, com luz constante em câmara do tipo B.O.D. Durante a avaliação as sementes foram retiradas do *gerbox*, cuidadosamente secas em papel toalha, e pesadas. As sementes foram pesadas em intervalos de 10 em 10 minutos sendo dobrado o tempo depois de percebida à estabilização. Foi calculado o incremento porcentual de massa ao longo do tempo, em função da massa inicial das sementes (Justo, 2007).

O **delineamento experimental** foi inteiramente casualizado. Para o teste de envelhecimento acelerado os dados foram analisados em esquema fatorial 5x5 (5 lotes, 5 períodos) sendo os métodos (soluções) avaliados separadamente. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas entre si pelo teste de Scott-knott, a 5% de probabilidade e transformados em $\text{arcsen } \sqrt{x}/100$. Os dados de condutividade elétrica não permitiram normalização sendo avaliados pelo teste de análise de variância por postos de Kruskal-Wallis e quando houve diferença significativa foi complementado pelo teste de comparações múltiplas (Hollander e Wolfe, 1973). As análises estatísticas foram realizadas com o auxílio do programa estatístico SISVAR® (Ferreira, 2000) e Action®.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os frutos de crambe foram caracterizados como esféricos, com pericarpo liso, fosco, de coloração amarela ou amarela com mosqueados pretos (Figura 1A), contendo uma semente (Figura 1B). O pericarpo (Figura 1C) permanece aderido às sementes após maturação e colheita segundo Lazzeri et al. (1995) e segundo Gastaldi et al.(1998) representa de 25% a 30% do peso total dos frutos e tem alto conteúdo de lignina (40%) e celulose (41%).

As sementes de crambe são menores que o fruto, redondas, recobertas por película translúcida de coloração cinza (Figura 1D, 1E) e têm coloração branco amarelada (Figura 1F, 1G). São compostas por tegumento de superfície lisa, dois cotilédones iguais e opostos, lisos, carnosos (Figura 1H). O eixo embrionário é curvo, localizado lateralmente e de coloração igualmente branco amarelado (Figura 1G, 1H) apresenta a plúmula protegida por uma fina cobertura mucilaginosa (Cruciferae, 1985), que não é possível observar a olho nu.

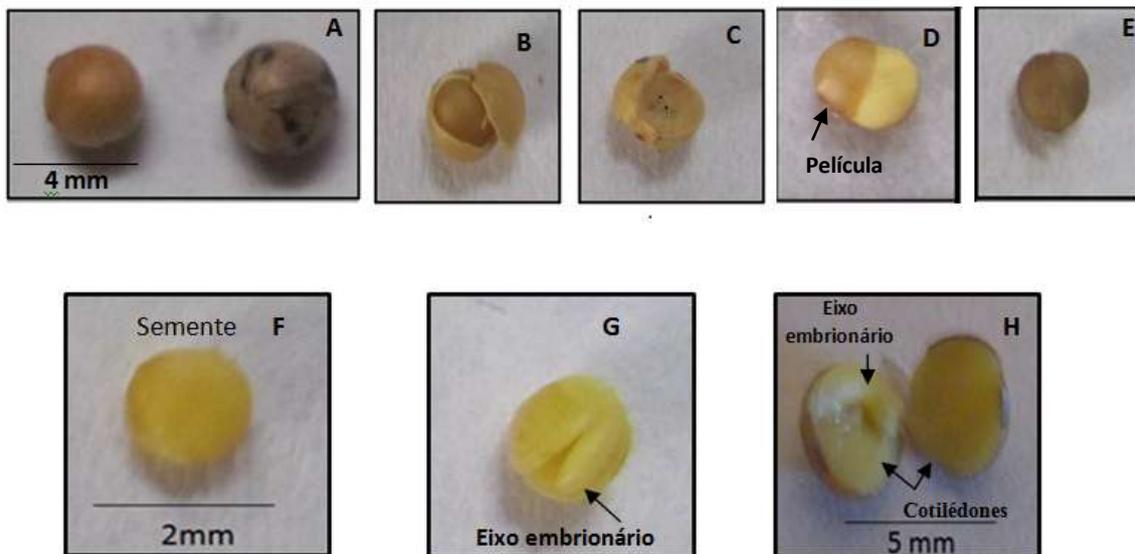


FIGURA 1- Frutos inteiros de crambe (A), semente dentro do fruto (B), pericarpo (C), semente recoberta pela película (D), película (E), semente seca (F), semente embebida (G), detalhes dos cotilédones e eixo embrionário (H).

O peso de mil sementes foi inferior a 200 g (Tabela 1) o que classifica as sementes como pequenas, segundo Brasil (2009). As sementes dos diferentes lotes diferiram quanto ao peso de mil sementes. As sementes do lote 1, 2 e 5 apresentaram maior peso de mil sementes

em relação aos lotes 3 e 4, o que indica necessidade de uma classificação para comercialização, uma vez que o peso de mil sementes é utilizado para calcular a densidade de semeadura e o número de sementes por embalagem, oferecendo, também, informações do estado de maturidade e de sanidade (Brasil, 2009).

Quanto ao diâmetro das sementes esses não tiveram diferença significativa tendo em média $2,56 \text{ mm} \pm 0,25 \text{ mm}$ (Tabela 1). Observa-se que o lote 4 diferiu quanto ao teste de peneira correspondendo a peneira 8. O teste de peneiras oferece informação sobre a uniformidade dos lotes, favorecendo a precisão da semeadura mecânica. O conhecimento das peneiras que se adéquam á cultura pode servir de subsídio para definições no maquinário de beneficiamento das sementes e semeio, e no desenvolvimento de padrões para comercialização que não existem ainda para a cultura crambe.

TABELA 1. Valores médios e desvio padrão da média do peso de mil sementes (g), diâmetro (mm) e peneira correspondente a cinco lotes de crambe cultivar FMS Brilhante. Diamantina, MG, 2012.

Lote	Peso de mil sementes (g)	Diâmetro (mm)	Peneira (n° ABNT)
1	$7,9 \pm 0,33 \text{ A}$	$2,66 \pm 0,22 \text{ A}$	7
2	$7,4 \pm 0,74 \text{ A}$	$2,65 \pm 0,28 \text{ A}$	7
3	$6,4 \pm 0,43 \text{ B}$	$2,44 \pm 0,28 \text{ A}$	7
4	$6,6 \pm 0,48 \text{ B}$	$2,58 \pm 0,20 \text{ A}$	8
5	$7,4 \pm 0,62 \text{ A}$	$2,64 \pm 0,28 \text{ A}$	7
CV (%)	7,6	9,9	-

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott e teste de F a 5%.

As plântulas de crambe consideradas normais apresentam as folhas cotiledonares carnosas com coloração verde, com $6,22 \text{ mm} \pm 0,9 \text{ mm}$ de comprimento (Figura 2). Abaixo das folhas está o hipocótilo verde esbranquiçado, cilíndrico e glabro com comprimento variando entre $15,8 \pm 9 \text{ cm}$. A raiz principal apresenta variações de tamanho de $23,2 \pm 15 \text{ cm}$, é esbranquiçada e apresenta diversas raízes secundárias de coloração igualmente branca.

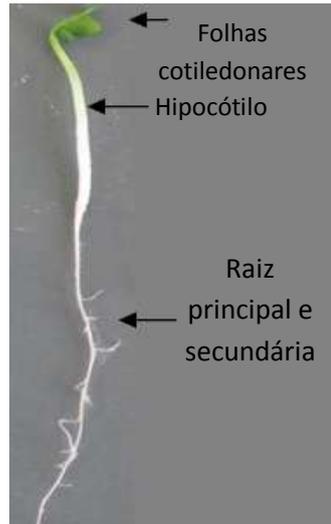


FIGURA 2 - Plântula normal de crambe. Diamantina, MG, 2012

Na caracterização dos constituintes químicos teve média de 28,0% de extrato etéreo, 22,9% proteína e 3,8% amido. Na literatura há relatos de teor de óleo variando entre 30,0% quando utilizada a extração mecânica e 38,0 % na extração com solvente (Fundação MS, 2010), esses dados confirmam a espécie ser descrita como oleaginosa.

O teor de compostos fenólicos foi de 343,2 mg 100 g⁻¹ na semente. Compostos fenólicos correspondem à classe de metabólitos secundários com maior número de compostos apontados como tendo atividade alelopática (Souto et al.,1994; Ferreira e Aquila, 2000). Nas sementes, os compostos fenólicos interferem no balanço entre substâncias promotoras e inibidoras da germinação e representam obstáculo na difusão de gases em sementes umedecidas (Marcos Filho, 2005).

As sementes de crambe continham 22,9% de proteína, valor próximo ao encontrado por Souza et al. (2009) que foi de 21,3%, valores que apontam a cultura como potencial fonte proteica na dieta de animais (Abdalla et al., 2008).

A porcentagem de fibras foi de 29,8% nos grãos inteiros, nessa porcentagem está incluída a celulose, hemicelulose e lignina, esse valor foi superior ao encontrado por Carlson & Tookey (1983) que foi de 22,1% de fibras na casca e 3,6% no grão descascado.

Os açúcares totais representaram 3,5%, sendo que 0,9% são açúcares redutores e 2,6% açúcares não redutores. A sacarose (açúcares não redutores) é usada em sementes oleaginosas na síntese de triglicerídeos e proteínas (Belwey & Black, 1994).

Na Tabela 2 observam-se os dados obtidos na caracterização do perfil dos lotes de sementes de crambe. O teor de água das sementes variou de 7,4% a 8,6%, valor dentro da

faixa ótima de armazenamento para oleaginosas que está entre 6,0% e 10,0% (Brooker et al., 1992). O teor de água entre os lotes deve ser semelhante para realização do teste de envelhecimento acelerado e condutividade elétrica (Hampton & TeKrony, 1995; Krzyzanowski, 1999). Sementes com teores de água diferente podem gerar interpretação errôneas, uma vez que sementes com teores de água superiores tendem a degradar mais rapidamente nas condições de envelhecimento acelerado (Marcos Filho, 2005). Barbosa et al. (2012) em estudos com amendoim constatou que o teor inicial de água da semente pode interferir na condutividade elétrica.

Pela porcentagem de plântulas normais obtidas no teste de primeira contagem de germinação e IVG observou-se o lote 3 como de qualidade superior, 1 e 5 como intermediários e os lotes 2 e 4 como de qualidade inferior (Tabela 2).

Já o teste de germinação foi menos sensível às diferenças entre os lotes diferenciando apenas o lote 3 como de qualidade superior aos demais (Tabela 2). A baixa qualidade dos lotes 1, 2, 4 e 5 foi devido a maior porcentagem de plântulas anormais deformadas (dados não apresentados).

Observa-se para os testes de estande inicial e emergência a superioridade do lote 3 em relação aos demais, sendo o lote 5 de qualidade inferior. O IVE diferenciou apenas o lote 5 como inferior em relação aos demais (Tabela 2).

TABELA 2. Teor de água – U (%), plântulas normais na primeira contagem – PC (%); germinação –IVG, estande inicial - G (%); índice de velocidade de germinação – EI (%); emergência – E (%) e índice de velocidade de emergência – IVE obtidos para cinco lotes de sementes de crambe. UFVJM, Diamantina, MG. 2012.

Lotes	Testes						
	U	PC	IVG	G	EI	E	IVE
1	7,7 A	67 B	25,845 B	71 B	57 B	86 A	10,652 A
2	8,1 A	48 C	20,520 C	68 B	49 B	76 B	9,340 A
3	8,6 A	89 A	41,450 A	92 A	74 A	97 A	11,837 A
4	8,0 A	49 C	20,282 C	58 B	55 B	74 B	9,484 A
5	7,4 A	64 B	25,937 B	67 B	21 C	45 C	5,152 B
CV(%)	1,20	12,03	6,00	15,22	23,10	11,00	7,58

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5%.

Foi detectado a maior incidência do fungo *Cladosporium* sp. e em menor incidência os fungos *Fusarium* sp., *Penicillium* sp. e *Alternaria* sp. (Tabela 3).

O lote 3 de maior germinação (Tabela 2) foi também o de menor incidência de fungos, com 4% de contaminação apenas pelos gêneros *Cladosporium* e *Fusarium* (Tabela 3). Entretanto, todos os lotes tiveram baixo índice de sementes e plântulas infeccionadas (dados não apresentados) mesmo com a presença dos fungos de diversos gêneros, o que indica que estes fungos podem não ter efeito fitopatogênico a esta espécie ou a cultivar ser resistente aos mesmos. Logo os fungos exerceram pouca ou nenhuma interferência na germinação. Masseto et al. (2009) relata a presença de *Penicillium* sp., *Phomopsis* sp. e *Alternaria brassicicola* em lotes de sementes de crambe comercializados no estado do Mato Grosso, também não tendo influência no potencial germinativo.

TABELA 3. Porcentagem de incidência de fungos nos lotes de sementes de crambe em estudo. UFVJM, Diamantina, MG, 2012.

Lote	<i>Cladosporium</i> sp	<i>Fusarium</i> sp	<i>Penicillium</i> sp	<i>Alternaria</i> sp
1	34	4	78	20
2	15	1	5	1
3	2	2	0	0
4	39	2	0	1
5	8	2	2	23

A incidência de fungos, no entanto, é preocupante, uma vez que esses fungos são altamente fitopatogênicos, podendo tornar as sementes potencial fonte de disseminação de patógenos entre regiões, causar danos nas plântulas e plantas e doenças em plantas subsequentes na rotação de cultura. Moers et al. (2012) relatam a ocorrência de *Fusarium* spp. em plantas de crambe no campo causando tombamento nas plantas jovens e manchas de *Alternaria brassicae* em plantas adultas.

O gênero *Alternaria* foi apontado por Majchrzak et al. (2002) como mais comum em sementes de crambe, sendo relatado na cultura de crambe no Brasil por Carneiro et al. (2009) e Moers et al. (2012) no Paraná, por Macagnan et al. (2010) no estado de Goiás e por Pitol et al. (2010) no Mato Grosso do Sul.

Não há relatos de ocorrência do gênero *Cladosporium* em crambe. Este fungo tem efeitos antagônicos sendo considerado endofítico em café, vivendo no interior de grãos sem causar danos, sendo associado ao café de melhor qualidade (Pereira et al., 2001), é entomopatogênico sendo usado para controle biológico de mosca branca e pulgão (Farias & Santos Filho 1996; Faria & Magalhães, 2001) e fitopatogênico para maracujazeiro (NEGREIROS et al., 2004).

Quanto a avaliação da atividade das enzimas nas sementes secas houve atividade proporcional das enzimas superóxido dismutase (SOD) e catalase (CAT) para todos os lotes exceto o lote 5. No lote 5 há alta atividade da enzima SOD e baixa da CAT (Figura 3).

Essas enzimas estão relacionadas ao sistema de proteção contra formas reativas de oxigênio. Em sementes secas espécies reativas de oxigênio (ROS) resultam de reações de peroxidação lipídica. Durante a hidratação todos os compartimentos da célula serão capazes de produzir ROS devido à degradação de lipídios em glioxissomos, catabolismo de purinas e peroxissomos, e reações respiratórias. Enzimas podem produzir ROS específicos como o NADPH oxidase na membrana plasmática e peroxidase da parede celular (Muller et al.; 2009).

As isoenzimas SOD e CAT estão relacionadas à proteção das sementes aos danos causados pelos superóxidos. As SODs são encontradas no citoplasma celular e matriz mitocondrial, sendo a primeira enzima a trabalhar na defesa contra formas reativas de oxigênio, anulando a ação dos superóxidos (O_2^-) ao catalisar reações de transferência de dois elétrons para produzir peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (McDonald, 1999; Alscher et al., 2002). O peróxido de hidrogênio é tóxico às sementes e para que a célula não sofra efeitos deste composto as catalases agem sobre ele neutralizando e formando oxigênio molecular e água (Tayefi-Nasrabadi, 2011). A catalase é o antioxidante mais poderoso da natureza, também utiliza peróxido de hidrogênio para oxidar toxinas, tais como fenóis, ácido fórmico, formaldeído e alcoóis (Tayefi-Nasrabadi, 2011). O que explica a menor emergência do lote 5 que apresenta sistema de proteção aparentemente desregulado.

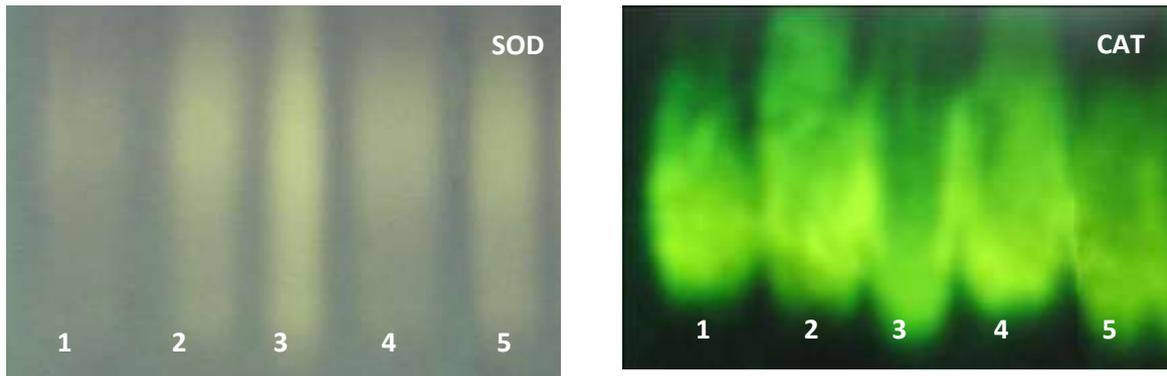


FIGURA 3 - Padrões enzimáticos de cinco lotes de sementes de crambe revelados para superóxido dismutase (SOD) e catalase (CAT). UFVJM, Diamantina - MG, 2012.

Estudos indicam que a germinação é regulada pelo nível de formas reativas de oxigênio nas sementes, “oxidative window for germination” (Bazin et al., 2011; Leymare et al., 2012; Ventura et al., 2012) sendo ativa quando esses estão no nível mínimo. Diante disso, para o mecanismo estar de acordo e em ótima funcionalidade, essas duas enzimas devem possuir comportamentos equivalentes. Assim, pode ser atribuída a menor qualidade do lote 5 pela CAT provavelmente não estar removendo os produtos tóxicos produzidos pela SOD. Em sementes de *Pterogyne nitens* Tull observou-se decréscimo na atividade da catalase em sementes com redução do poder germinativo (Ataide et al., 2012).

O lote 1 apresentou baixa atividade da SOD e CAT, o que pode ser interpretado como a baixa necessidade de uso dessas enzimas, já que apresentou qualidade semelhante ao lote de maior vigor ou intermediária a este pelos demais testes (Tabela 3, Tabela 5). Observa-se, portanto, que para crambe a atividade das enzimas deve ser avaliada em conjunto.

A atividade da enzima esterase foi maior nos lotes 2, 3 e 4 (Figura 4). Em sementes oleaginosas observa-se maior atividade nas sementes de melhor qualidade, sendo colocadas por Aung e McDonald (1995) como o principal grupo de isoenzima responsável pela germinação em amendoim. A enzima esterase (EST) atua na deterioração e germinação de sementes. Realiza a hidrólise de ésteres liberando ácido graxo dos lipídios que serão utilizados na β - oxidação como fonte de energia no metabolismo germinativo sendo, também, acumulada antes do processo oxidativo para preveni-lo e promove a desestabilização da bicamada lipídica, acentuando o processo de deterioração (Vieira et al., 2006).

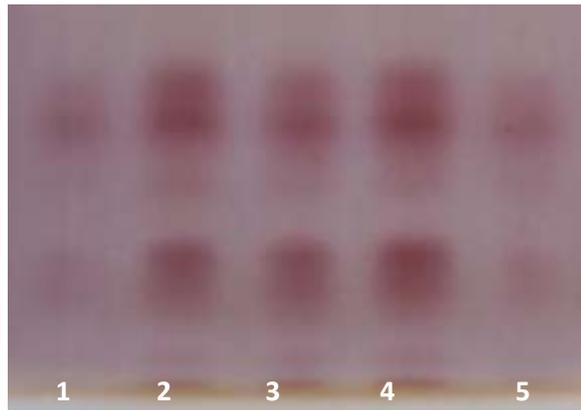


FIGURA 4-Padrões enzimáticos de cinco lotes de sementes de crambe revelados para esterase. UFVJM, Diamantina - MG, 2012.

A atividade da enzima malato desidrogenase (MDH) foi evidente e semelhante em todos os lotes (Figura 5). Essa enzima é utilizada na avaliação da qualidade das sementes por fazer parte do processo respiratório celular, atuando no ciclo de Krebs transforma malato em oxaloacetato, produzindo um NADH, que será utilizado para gerar energia (Taiz e Zeiger, 2004).

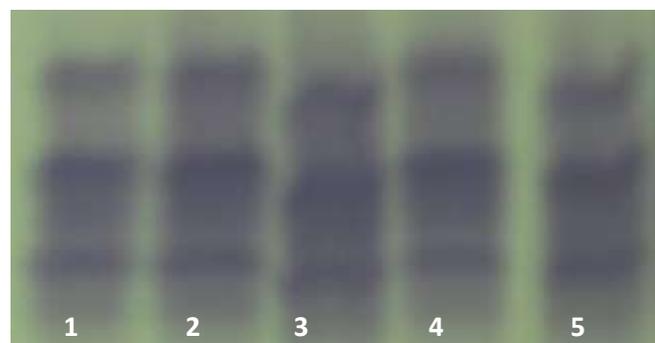


FIGURA 5 - Padrões enzimáticos de cinco lotes de sementes de crambe revelados para malato desidrogenase (MDH). UFVJM, Diamantina - MG, 2012.

A atividade da enzima álcool desidrogenase foi semelhante nos lotes 2, 3 e 4; baixa no lote 1 e ausente no lote 5 (Figura 6). A respiração anaeróbica ativa a enzima álcool desidrogenase (ADH) que atua produzindo acetaldeído a partir do etanol produzido pela respiração anaeróbica e atua na reciclagem de NAD^+ (Faria et al., 2003; Taiz e Zeiger, 2004). A atividade dessa enzima representa, portanto, proteção às células. As sementes armazenadas

estavam expostas a baixos níveis de oxigênio o que favorece a respiração anaeróbica. Em estudos com café (Brandão Junior et al., 2002) e com pimenta (Vidigal et al., 2009) foi observado que frutos maduros e com maior potencial germinativo apresentam maior atividade desse grupo de enzimas. Os resultados concordam, portanto, com os testes que demonstram a inferioridade do lote 5.

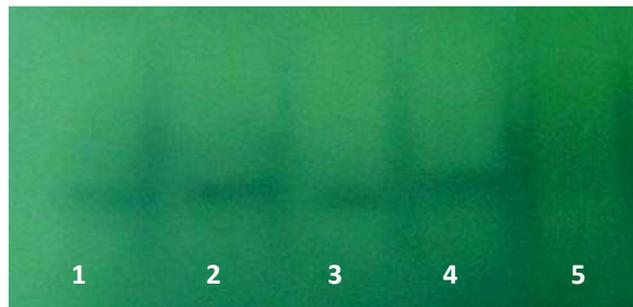


FIGURA 6 -Padrões enzimáticos de cinco lotes de sementes de crambe revelados para álcool desidrogenase (ADH). UFVJM, Diamantina - MG, 2012.

A atividade da enzima isocitrato liase foi maior no lote 2 e praticamente ausente nos lotes 1 e 5 (Figura 7). Essa enzima pertence ao ciclo do glicoxilato, estando, portanto, envolvida no metabolismo de lipídios armazenados. O perfil de expressão da isocitrato liase tem sido sugerido como importante indicador do vigor de sementes. Isocitrato liase fornece fontes de carbono necessárias para a germinação e desenvolvimento de plântulas a alteração na sua transcrição e níveis de expressão podem refletir a qualidade das sementes (Ventura et al., 2012).

A atividade desse grupo de enzimas aumenta com a germinação quando ocorre a degradação dos lipídios para a síntese de sacarose (Bewley e Black, 1994). Martin et al. (2000) observou que há aumento da atividade dessas enzimas com a germinação e ocorre a estabilidade da atividade em lotes de sementes de soja que resistem ao estresse causado pelo teste de frio e envelhecimento acelerado. Essa enzima é sintetizada *de novo* durante o processo germinativo, o que explica ausência dela nas sementes secas do lote 5 e altos índices de germinação após o envelhecimento acelerado (Tabela 5).

Em sementes secas, como foi testado, a baixa atividade pode indicar dano deteriorativo uma vez que o lote 5 apresenta alta respiração aeróbica (Figura 5), ou seja gasto de reservas sem que esteja havendo a disponibilização das mesmas.

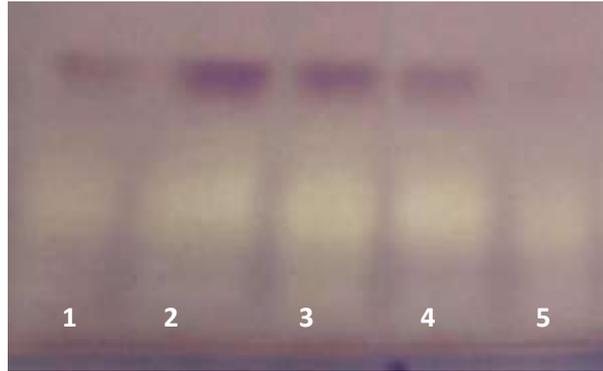


FIGURA 7- Padrões enzimáticos de cinco lotes de sementes de crambe revelados para isocitrato liase. UFVJM, Diamantina - MG, 2012.

Foi observada menor atividade de todas as enzimas no lote 1, a menor atividade das enzimas pode estar associada a maturidade das sementes. Em testes com a enzima catalase em diferentes estádios de desenvolvimento observou-se a menor atividade dessa enzima para soja (Silva, 2006) e pimentão (Albuquerque et al., 2009). Outro fator que pode justificar é o fato de que as sementes estão em estado quiescente dessa forma o metabolismo está funcionando a baixos níveis apenas o necessário para a respiração celular, de forma a manterem as sementes vivas e prontas para germinar quando tiverem o estímulo externo adequado, retomando a atividade metabólica utilizando a estrutura e os componentes enzimáticos pré-existent nas sementes, que foram conservados durante o período de quiescência (Bewley et al., 2000).

Quanto à atividade enzimática em sementes secas de crambe é possível observar, portanto, que a análise da atividade das enzimas SOD e CAT deve ser realizada em conjunto observando padrão proporcional em lotes de alta qualidade. A isoenzima isocitrato liase está em maior atividade nos lotes de melhor qualidade. Sementes de baixa qualidade não há atividade da enzima ADH. E não há diferença quanto à atividade da enzima MDH em lotes de diferente vigor.

Na Tabela 4 pode-se observar o teor de água inicial e após os testes de envelhecimento acelerado pelo método tradicional e com uso de solução saturada de cloreto de sódio. Pelo método tradicional houve um aumento de 463% no teor de água em relação ao método com solução de NaCl. Pelo método com solução saturada de NaCl, que ajusta a umidade relativa para 76%, não houve diferença entre os teores de água que permaneceram na faixa ótima de armazenamento para oleaginosas concordando com o observado em outras brássicas por Costa et al. (2008) e Tunes et al. (2012). Essa diferença é explicada pela capacidade das sementes entrarem em equilíbrio higroscópico com a umidade do ambiente, alcançando

equilíbrio em teores de água mais elevados conforme a umidade aumenta (Marcos Filho, 1999).

TABELA 4. Teor de água (%) de sementes de crambe submetidas a teste de envelhecimento acelerado pelo método tradicional e pelo método com solução saturada de cloreto de sódio. UFVJM, Diamantina - MG, 2012.

Lote	TRATAMENTOS/ PERIODOS DE ENVELHECIMENTO									
	Tradicional					Solução saturada NaCl				
	0 h	24 h	48 h	72 h	96 h	0 h	24 h	48 h	72 h	96 h
1	6,7 Ac	23,0 Ab	22,2Ab	20,2 Ab	27,1Aa	6,7 Aa	6,7 Aa	6,4 Aa	6,8 Aa	7,2 Aa
2	7,4 Ac	21,8 Ab	23,1Ab	20,2 Ab	28,4Aa	7,4 Aa	5,6 Aa	7,7 Aa	6,8 Aa	7,8 Aa
3	6,2 Ad	14,7 Bc	18,3Bb	13,0 Bc	26,4Aa	6,2 Aa	5,1 Aa	6,6 Aa	6,0 Aa	6,0 Aa
4	7,2 Ad	17,8 Ac	24,6Ab	20,8 Ac	27,8Aa	7,2 Aa	6,3 Aa	5,8 Aa	6,3 Aa	7,4 Aa
5	6,9 Ad	10,6 Bc	18,0Bb	17,5Bb	27,2Aa	6,9 Aa	5,3 Aa	5,8 Aa	7,3 Aa	7,1 Aa
CV (%)	11,9					16,9				

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5%.

Além de provocar alta absorção de água, o método tradicional favoreceu o desenvolvimento de fungos (Figura 8) em todos os períodos testados o que não ocorreu no método com solução saturada. Não há outros trabalhos com crambe, porém, na literatura há relatos que o mesmo ocorreu com sementes de outras brássicas (Costa et al., 2008), de jiló (Alves et al., 2012), coentro (Pereira et al., 2011), alface-cravo (Lima et al., 2011), alface e almeirão (Santos et al., 2011), e cenoura (Rodo et al., 2000).

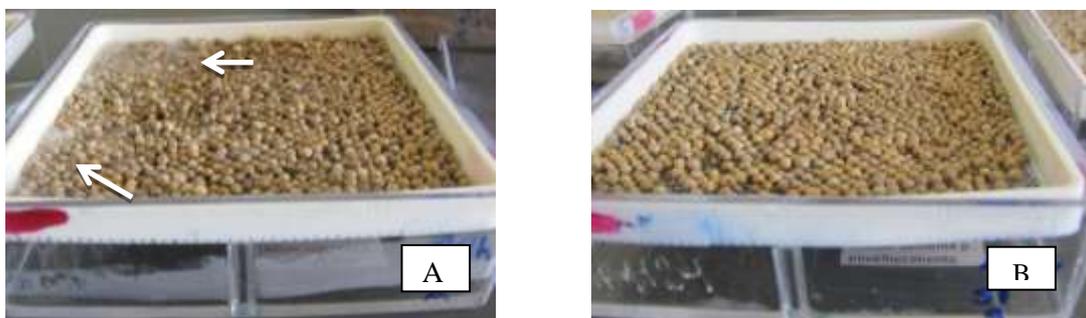


FIGURA 8: Desenvolvimento de fungos em sementes de crambe submetidas ao teste de envelhecimento acelerado. Visão geral do gerbox no tratamento tradicional (A) e com solução salina (B). UFVJM, Diamantina - MG, 2012.

Observa-se na tabela 5, os resultados da germinação das sementes de crambe submetidas ao teste de envelhecimento acelerado. De maneira geral, somente o período de 72 horas de envelhecimento acelerado pelo método tradicional obteve resultados semelhantes de superioridade do lote 3 em relação aos demais lotes, coincidindo com o observado nos testes de primeira contagem, germinação, IVG e estande inicial (Tabela 2).

Em alguns períodos de envelhecimento houve o revigoramento das sementes de crambe. Mello et al. (1999) em trabalho com brócolis observaram incremento na porcentagem de plântulas normais durante os períodos testados para o lote de maior vigor. Ward & Powell (1983) em trabalho com cebola observaram que as sementes ao atingirem entre 20% e 25% de umidade a altas temperaturas têm sua deterioração retardada e é observado aumento da taxa de germinação.

TABELA 5. Porcentagem de plântulas normais (%) obtidos no teste de germinação de sementes de crambe submetidas aos diferentes períodos de envelhecimento acelerado tradicional e com solução saturada de NaCl. UFVJM, Diamantina, MG. 2012.

LOTE	TRATAMENTO									
	TRADICIONAL					NaCl				
	0 h	24 h	48 h	72 h	96 h	0 h	24 h	48 h	72 h	96 h
1	72 Bb	95Aa	83Ab	81Bb	85Ab	72Bb	84Aa	85Aa	86Aa	88Aa
2	75 Bb	69Bb	89Aa	81Ba	68 Bb	75Ba	91Aa	85Aa	80Aa	84Aa
3	87 Aa	95Aa	92Aa	91Aa	89 Aa	87Aa	93Aa	85Aa	88Aa	85Aa
4	77 Ba	80 Ba	63Bb	55Cb	20 Cc	77Ba	87Aa	76Aa	59Bb	62Bb
5	68 Ba	84 Ba	79Aa	75 Ba	76 Ba	68Ba	73 Ba	75Aa	56Bb	55Bb
CV(%)	10,32					9,87				

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na linha e maiúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott e teste de F a 5%.

Pelo método tradicional a partir do período de 72 horas houve declínio no potencial germinativo permitindo distinção dos lotes. No período de 72 horas os resultados foram semelhantes ao observado no teste de estande inicial (Tabela 2) onde foi classificado o lote 3 como de maior vigor, lotes 1, 2 e 5 como intermediários e inferioridade do lote 4, ressaltando a superioridade do lote 3 já observado no teste de germinação. O período de 96 horas os resultados foram semelhantes ao teste de emergência (Tabela 2) sendo os lotes 1 e 3 como de vigor superior, o lote 2 e 5 como intermediários e lote 4 como inferior.

As condições do teste de envelhecimento acelerado com solução salina pelo período de até 72 horas interferiram positivamente na germinação dos lotes, não permitindo

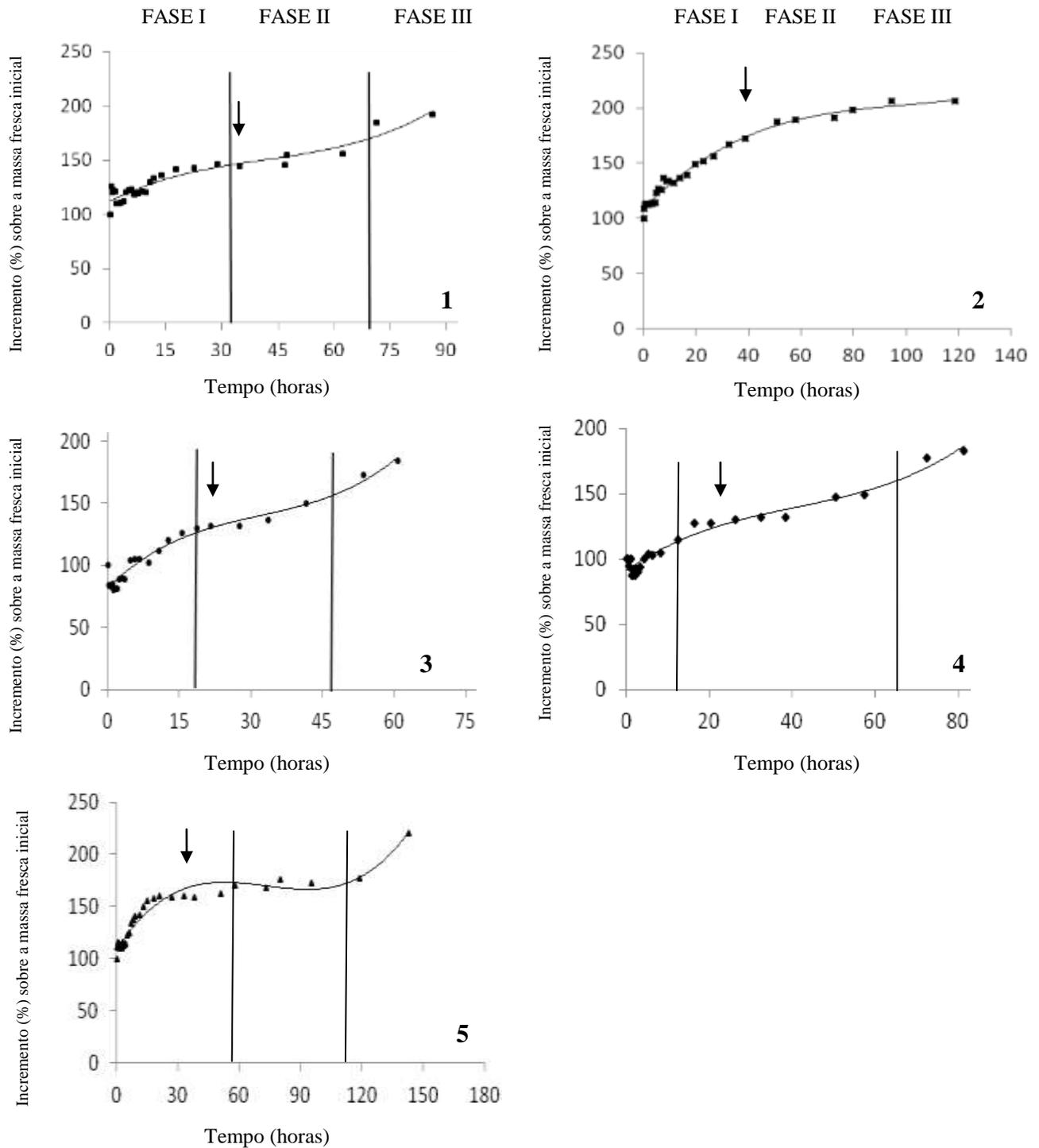
diferenciá-los (Tabela 5). Os lotes 4 e 5 apresentaram estresse nos períodos de 72 horas e 96 horas diferindo estatisticamente dos demais que não apresentaram estresse e não diferiram entre si.

O tratamento pelo método tradicional por 96 horas apresentou melhores resultados, mantendo a umidade dentro dos valores aceitáveis e reproduzindo a classificação dos lotes em três níveis semelhantes à classificação do teste de emergência. Considera-se que estudos complementares testando temperaturas mais elevadas possam diminuir o tempo de execução do teste.

Para determinar o período máximo de pré-condicionamento das sementes para o teste de condutividade elétrica foi construída a curva de embebição (Figura 9). Observa-se na Figura 8 que as curvas tenderam ao padrão trifásico proposto por Bewley e Black (1994) para todos os lotes, exceto, para o lote 2. As setas indicam quando foi observada a primeira protrusão radicular, sendo o teste conduzido até que 50% mais uma semente de cada lote tivessem protrundido, o que caracteriza o início da fase III. A diferença entre o período para ocorrer a protrusão é devido o crambe possuir uma maturação desuniforme (Desai et al., 1997; Oplinger et al., 1991) sendo o lote constituído por sementes de diferentes níveis de maturação.

Para o lote 1 a primeira protrusão ocorreu em 28 horas, lote 2 em 50 horas, lote 3 em 21 horas, lote 4 em 32 horas e lote 5 em 27 horas. A fase I teve duração de 32 horas para o lote 1, 18 horas para o lote 3 e 4, e 51 horas para o lote 5. A fase II foi mais lenta, tendo duração de 37 horas para o lote 1, 32 horas para o lote 3, 51 horas para o lote 4 e 46 horas para o lote 5. O lote 2 não teve distinção clara entre as três fases tendo comportamento intermediário em relação ao tempo total e incremento de massa.

Como ocorrem protrusões anteriores ao período definido como de protrusão radicular, fase III (Figura 9), o período para realização do teste de condutividade foi determinado pelo ponto de inflexão entre as fases I e II da germinação do lote mais rápido, por corresponder a um período de início da estabilização de lixiviação. Bewley & Black (1994) destacaram que a taxa de liberação de eletrólitos é muito elevada no início do processo de embebição, contudo, com o decorrer do tempo esta situação se altera, chegando próximo à estabilidade à medida que ocorre a reorganização das membranas celulares. Dessa forma foi determinado o período de 18 horas como período máximo para realização do teste de condutividade por ser o período em que finaliza a fase I dos lotes 3 e 4.



$$\text{Lote 1: } y = 0,0002x^3 - 0,0307x^2 + 1,7695x + 112,04 ; R^2 = 0,9085$$

$$\text{Lote 2: } y = 8E-05x^3 - 0,0225x^2 + 2,4337x + 108,71; R^2 = 0,9864$$

$$\text{Lote 3: } y = 0,0009x^3 - 0,0903x^2 + 3,7479x + 81,817; R^2 = 0,9611$$

$$\text{Lote 4: } y = 0,0003x^3 - 0,0384x^2 + 2,2346x + 91,034; R^2 = 0,9638$$

$$\text{Lote 5: } y = 0,0002x^3 - 0,0447x^2 + 3,0161x + 108,6; R^2 = 0,9547$$

Figura 9: A curva de embebição dos lotes de crambe lote 1, lote 2 , lote 3 , lote 4 e lote 5. Setas indicam o início da protrusão radicular. Diamantina, MG. 2012

Observa-se na Tabela 6, os resultados de condutividade elétrica, onde foi possível diferenciar os lotes em dois níveis para todos os períodos testados. O período de 2, 4, 6, 8, 10, 12 e 14 horas classificou os lotes seguindo a mesma ordem sendo os lotes 3 e 5 como os de maior vigor e os lotes 1, 2 e 4 os de menor vigor. Os períodos de 16 e 18 horas houve uma divergência com os outros períodos ao não classificar o lote 4 como semelhante tanto aos de maior vigor (3,5) quanto de menor vigor (1,2).

Nos diferentes períodos, analisando um mesmo lote, houve aumento linear no valor da condutividade, não havendo diferença estatística, fato também observado por Vanzolini e Nakagawa (2005) em trabalho com amendoim.

TABELA 6. Resultados de condutividade elétrica ($\mu\text{S}/\text{cm}/\text{g}$) para os diferentes períodos de embebição de sementes de crambe. UFVJM, Diamantina, MG. 2012.

Períodos de embebição	Lotes				
	1	2	3	4	5
2	665 b A	717 b A	58 a A	446 b A	157 a A
4	701 b A	747 b A	77 a A	470 b A	181 a A
6	702 b A	753 b A	89 a A	479 b A	199 a A
8	724 b A	772 b A	101 a A	488 b A	225 a A
10	731 b A	792 b A	114 a A	504 b A	239 a A
12	742 b A	797 b A	124 a A	511 b A	258 a A
14	758 b A	819 b A	130 a A	522 b A	266 a A
16	785 b A	851 b A	138 a A	522 ab A	271 a A
18	807 b A	877 b A	140 a A	533 ab A	276 a A

Médias seguidas pela mesma letra e minúscula na linha e maiúscula na coluna, não diferem entre si, no nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Kruskal-Wallis e comparações múltiplas.

O uso de 25sementes/25 ml classificou os lotes em 4 níveis classificando, em ordem decrescente de vigor, lote 3, 5, 4 e 1 e 2. Os tratamentos utilizando 25 sementes/50 ml; 50 sementes/50 ml; e 50 sementes/75 ml foram menos eficientes na distinção quanto ao valor de condutividade, igualando o lote 5 ao lote 3 (Tabela 7).

TABELA 7. Resultados de condutividade elétrica ($\mu\text{S}/\text{cm}/\text{g}$) de sementes de crambe submetidas aos diferentes tratamentos; 25 sementes (stes) em 25 mL de água deionizada; 25 sementes em 50 mL de água deionizada; 50 sementes em 50 mL de água deionizada e 50 sementes em 75 mL de água deionizada. UFVJM, Diamantina, MG.

Lotes	25stes/25 mL	25stes/50 mL	50stes/50 mL	50stes/75 mL
1	1223 CD b	647 C ab	629 BCab	442 B a
2	1358 D b	692 C ab	658 C ab	460 B a
3	178 A b	97 A ab	93 A a	64 A b
4	859 C b	413 B a	415 B a	302 B a
5	410 B a	211 A a	180 A a	121 A a

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na linha e maiúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste de Kruskal-Wallis e comparações múltiplas para 5% de probabilidade.

O teste de condutividade baseia-se na premissa de que sementes menos vigorosas perdem mais solutos (açúcares, aminoácidos, ácidos graxos, enzimas, íons inorgânicos) (Vanzolini & Nakagawa, 2003), durante o processo de embebição, por gastarem mais tempo reestruturando as membranas e ativando o metabolismo.

Dessa forma, a tendência de classificação do lote 3 como de qualidade superior foi mantida em todos os tratamentos (Tabela 7). Porém os resultados diferem dos testes de vigor por igualarem o lote 5 ao lote 3 (Tabela 2)

Os lotes 1 e 2 foram classificados pela condutividade como de menor vigor, por serem lotes da safra de 2011, podem estar imaturos ou com algum dano mecânico latente que só refletirá em redução da germinação após armazenamento. Os altos valores de condutividade podem estar relacionados a características do pericarpo, uma vez que foram utilizados os frutos inteiros, e essa é uma estrutura lignificada portadora de substâncias capazes de produzir um aumento da condutividade, acumular substâncias e apresentar diferenças de permeabilidade que dificultariam a avaliação do estado de membranas das sementes induzindo a erros de interpretação. A influência do pericarpo foi observada em sementes de girassol por Longo et al. (1999) e Albuquerque et al. (2001).

Devido à incoerência dos resultados do teste de condutividade elétrica, considera-se que nas condições avaliadas não estão refletindo a qualidade fisiológica dos lotes. Apesar de ser muito recomendado para leguminosas o teste não se adequou a metodologias testadas para outras espécies como berinjela (Lopes et al., 2012), mamona (Mendes et al.; 2010), girassol

(Albuquerque et al., 2001), pimentão (Torres, 1996), tomate (Novembre et al.; 1995), cebola (Lima, 1993) e couve de bruxelas (Thornton, 1990).

Diversos fatores interferem no teste de condutividade elétrica: estágio de desenvolvimento da semente (Powell, 1986); mudanças na estrutura e composição da semente durante o desenvolvimento (Styer & Cantliffe, 1983); desestruturação das membranas (Powell, 1986); temperatura de embebição (Murphy & Noland, 1982); volume de água utilizado (Tao, 1978), período de embebição (Wang et al., 1994), teor de água inicial das sementes, tamanho da semente (Tao, 1978; Vanzolini & Nakagawa, 2005), presença de sementes danificadas fisicamente, tempo de avaliação, características do tegumento como integridade e permeabilidade.

Não houve relação entre o tamanho da semente e condutividade elétrica, sendo altos valores de condutividade tanto na peneira 7 quanto 8 (Tabela 1, 6 e 7). Contrário ao que ocorre com sementes de soja, onde Tao (1978) observou que sementes maiores apresentam maior condutividade elétrica, Vanzolini & Nakagawa (2005) observou que as sementes de amendoim de menor tamanho apresentam maior quantidade de lixiviados.

As sementes testadas apresentaram teor de água inferior a 10% o que pode ter interferido na interpretação clara do resultado. Quando o teor de água das sementes de ervilha e soja foi de 10%, verificou-se aumento significativo nos resultados do teste sem necessariamente ter redução do vigor (Vieira et al., 2002). Para amendoim é recomendado realizar o teste com sementes entre 9-15% e que não sejam usadas sementes de 5-7%, a estabilização dos resultados ocorre com teor de água de 10 e 14% (Barbosa et al., 2012).

Para o teste de condutividade elétrica são, por tanto, necessários maiores estudos quanto as variáveis relacionadas à liberação de solutos para determinar metodologia adequada.

CONCLUSÃO

O teste de envelhecimento acelerado pelo método tradicional a 42 °C pelo período de 96 horas é eficiente para avaliar a qualidade de sementes de crambe.

O teste de condutividade elétrica, nas condições testadas, não foi adequado para avaliação do vigor das sementes de crambe.

Quando associado às atividades das isoenzimas observa-se que o lote de maior vigor teve maior atividade dos grupos enzimáticos SOD, CAT, EST. O lote de menor vigor não teve atividade das enzimas isocitrato liase e ADH. Não houve alteração na atividade da isoenzima MDH.

AGRADECIMENTOS

À Fundação MS pela doação das sementes e á FAPEMIG e CAPES, pelo suporte financeiro.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDALLA, A.L.; SILVA FILHO, J.C. da; GODOI, A.R. de; CARMO, C. de A.; EDUARDO, J.L. de P. Utilização de subprodutos da indústria de biodiesel na alimentação de ruminantes. **R. Bras. Zootec.**, Viçosa, v. 37, n. esp., jul. 2008

ALBUQUERQUE, K. S.; GUIMARÃES, R.M.; GOMES, L. A. A; VIEIRA, A. R.; JÁCOME, M. F. Condicionamento osmótico e giberelina na qualidade fisiológica de sementes de pimentão colhidas em diferentes estádios de maturação. **Rev. bras. Sementes**, Londrina, v.31, n.4, p.100-109, 2009.

ALFENAS, A.C. (Ed.) **Eletroforese e marcadores bioquímicos em plantas e microorganismos**. 2ª ed. Viçosa, MG: UFV, 2006. 627 p.

ALSCHER, RG; ERTURK, N; HEALTH, LS. Role of superoxide dismutases (SODs) in controlling oxidative stress in plants. **J. Exp. Bot.**, Lancaster, v.53, n.372, p.1331-1341, maio 2002.

ALVES, C. Z.; GODOY, A. R.; CANDIDO, A. C. DA S.; OLIVEIRA, N. C. DE. Qualidade fisiológica de sementes de jiló pelo teste de envelhecimento acelerado. **Cienc. Rural**, Santa Maria, v.42, n.1, p.58-63, jan. 2012.

ALVES, C. Z.; SÁ, M. E. Teste de condutividade elétrica na avaliação do vigor de sementes de rúcula. **Rev. bras. Sementes**, Londrina, v.31, n.1, p.203-215, 2009.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALITICAL CHEMISTS - AOAC . **Official methods of analysis of the association analytical chemists**. 18. ed. Maryland: AOAC, 2005. 684 p.

ASSOCIATION OF OFFICIAL SEED ANALISTS. **Seed vigour testing handbook**. Washington, 1983. 88p. (AOSA. Handbook on Seed Testing. Contribución, 32).

ATAIDE, Glauciana da Mata; FLORES, Andressa Vasconcelos; LIMA E BORGES, Eduardo Euclides de. Alterações fisiológicas e bioquímicas em sementes de *Pterogyne nitens* tull.

Durante o envelhecimento artificial. **Pesq. Agropec. Trop.**, Goiânia, v.42, n.1, jan./mar. 2012.

AUNG, U.T.; McDONALD, M.B. Changes in esterase activity associated with peanut (*Arachis hypogaea* L.) seed deterioration. **Seed Sci. Technol.**, Zurich, v.23, n.1, p.101-111, 1995.

ÁVILA, M. R.; BRACINI, A. L.; SCAPIM, C.A.; MARTORELLI, D.T.; ALBRECHT, L. P. Testes de laboratório em sementes de canola e a correlação com a emergência das plântulas em campo. **Rev. bras. Sementes**, Pelotas, v.27, n.1, p.62-76, jun. 2005.

BARBOSA, R.M.; SILVA, C.B.; MEDEIROS, M.A.; CENTURION, M.A.P.C.; VIEIRA, R.D. Condutividade elétrica em função do teor de água inicial de sementes de amendoim. **Cienc. Rural**, Santa Maria, v.42, n.1, p.45-51, jan. 2012.

BASU, R. N. Seed viability. In: BASRA, A.S. **Seed quality: basic mechanisms and agricultural implications**. New York, p.1-42, 1995.

BAZIN, J.; LANGLADE, N.; VINCOURT, P.; ARRIBAT, S.; BALZERGUE, S.; EL-MAAROUF-BOUTEAU, H.; BAILLY, C. Targeted mRNA oxidation regulates sunflower seed dormancy alleviation during dry after-ripening. **The Plant Cell**. Waterbury, v.23, n.6, p.2196-2208, jun. 2011.

BEWLEY, J. D. & BLACK, M. **Seeds physiology of development and germination**. New York: Plenum Press, 1994. 445 p.

BRANDÃO JR, D. S.; VIEIRA, M. G. G. C.; GUIMARÃES, R. M.; HILHORST, H. W. M. Tolerância à dessecação de sementes de cafeeiro (*Coffea arabica* L.). **Rev. bras. Sementes**, Londrina, v. 24, n. 2, p.17-23, 2002.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Manual de Análise Sanitária de Sementes / Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**. Secretaria de Defesa Agropecuária. – 1. ed., 1. reimpr. rev. e atual. – Brasília : Mapa/ACS, 2009. 200 p.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília, DF: MAPA/ACS, 2009. 365p.

BROOKER, D.B.; BAKKER-ARKEMA, F.W.; HALL, C.W. Theory and simulation of grain drying. In: BROOKER, D.B.; BAKKER-ARKEMA, F.W.; HALL, C.W. **Drying and storage of grains and oilseeds**. New York: Van Nostrand Reinholdy, 1992. p.205-240

CARLSON, K.D.; TOOKEY, H.L. Crambe meal as a protein source for feeds. **J. Am. Oil Chem. Soc.**, v.60, p.1979-1985, dec.1983.

CARNEIRO, S. M. T. G. ; ROMANO, E. ; MARIANOWSKI, T. ; OLIVEIRA, J. P. ; GARBIN, T. H. S. ; ARAÚJO, P. M.Ocorrência de *Alternaria brassicicola* em crambe (*Crambe abyssinica*) no estado do Paraná. **Summa Phytopathol.**,v.35, n. 2, p. 154, jun. 2009.

CHAUHAN, K.P.S. Electrophoretic variations of proteins and enzymes in relation to seed quality. **Seed Sci. Technol.**, Zurich, v.13, p. 629-641, 1985.

COSTA, C.J.; TRZECIAK, M.B.; VILLELA, F.A. Potencial fisiológico de sementes de brássicas com ênfase no teste de envelhecimento acelerado. **Hortic. Bras.**, Brasília, v.26, n.2, p.144-148, abr./jun. 2008.

CRUCIFERAE. **Handbook of seed technology for genebanks** . Vol. II. Compendium of Specific Germination Information and Text Recommendations. 1985. Chap. 32. Disponível em: <http://www2.bioversityinternational.org/publications/Web_version/52/>. Acessado em: 15 maio 2012

DESAI, B. B.; KOTECHA, P M.; SALUNKHE, D. K. **Seeds handbook: biology, production processing and storage**. New York: Marcel Dekker, 1997. p. 627.

FARIA, M. R.; MAGALHÃES, B. P.O uso de fungos entomopatogênicos no Brasil. **Biociencia Cienc. Desenvolv.**, Brasília, v. 22, p.18-44,set./out. 2001.

FARIA, M.A.V de R.; PINHO, R.G. ; PINHO, E.V. de R.; GUIMARAES, R.M. . **Marcadores moleculares da qualidade fisiológica de sementes**. Lavras: UFLA/FAPE, 2003.

FARIAS, A.R.N.; SANTOS FILHO, H.P. Controle biológico da mosca branca da mandioca com o fungo *Cladosporium cladosporioides*. **Embrapa-CNPMF**, Cruz das Almas. 20p. 1996.

FERREIRA, A. G.; AQUILA, M. E. A. Alelopatia: uma área emergente da ecofisiologia. **Rev. Bras. Fisiol. Veg.**, Campinas, v. 12 (ed. esp.), p. 175-204, 2000.

FERREIRA, D. F. **SISVAR- Sistema de análise de variância para dados balanceados:** programa de análises estatísticas e planejamento de experimentos, versão 4.1. Lavras: UFLA, 2000.

FUNDAÇÃO MATO GROSSO DO SUL – FUNDAÇÃO MS. Maracaju – MS. Disponível em:< <http://www.fundacaoms.org.br/produto/crambe>>. Acessado em: 23 março 2012

GASTALDI, G.; CAPRETTI, G.; FOCHER, B.; COSENTINO, C. Characterization and properties of cellulose isolated from the *Crambe abyssinica* hull. **Industrial Crops and Products**, v. 8, n. 3, p.205-218, 1998.

HAMPTON, J. G.; TEKRONY, D. M. (Ed.). **Handbook of vigour test methods**. 3rd. ed. Zurich: International Seed Testing Association, 1995. 117 p.

HOLLANDER, M. R.; WOLFE, D. A. **Nonparametric statistical methods**. New York, John Willey & Sons, 1973. 503p.

JIANHUA, Z; McDONALD, M. B. The saturated salt accelerated aging test for small-seeded crops. **Seed Sci. Technol., Zurich**, v.25, n.1, p.123-131, 1996.

JUSTO, C. F.; ALVARENGA, A. A.; NERY, F. C.; DELU FILHO, N. Composição química, curva de embebição e efeito da temperatura sobre a germinação de sementes de *Eugenia pyriformis* Camb. (Myrtaceae). **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 5, n.2, p.510-512, jul. 2007.

KIKUTI, A. L. P; MARCOS FILHO, J. Testes de vigor em sementes de alface. **Hortic. Bras.**, Brasília, v. 30, n. 1, p.44-50, jan./mar. 2012

KRZYZANOWSKI, F.; VIEIRA, R. D.; FRANCA NETO, J. B. (Ed.). **Vigor de sementes:** conceitos e testes. Londrina: ABRATES, 1999. 218p.

LAZZERI, L.; LAPENTA, E.; SANTANGELO, E.; MALAGUTI, L.; VENTRELLA, D.; PINHEIRO, M. *Crambe abyssinica* Hochst ex R.E. Fries: agronomic performance and oil quality in three locations in Italy. **Agr. Med.**, Pisa, v.125, p.251-266, 1995.

LEYMARIE, J.; VITKANSKAITE, G.; HOANG, H. H.; GENDREAU, E.; CHAZOULE, V.; MEIMOUN, P.; CORBINEAU, F.; EL-MAAROUF-BOUATEAU, H.; BAILLY, C. Role of reactive oxygen species in the regulation of Arabidopsis seed dormancy, **Plant Cell. Physiol.**, Kyoto, v.53, p. 96-106, dec. 2012.

LIMA, C. B. DE; COSSA, C. A. C.; NEGRELLE, R. R. B.; BUENO, J. T.; LOURENÇO, C. C. DE; BATISTA, N. DE A. B.; JANANI, J. K. Germinação e envelhecimento acelerado na análise da qualidade fisiológica de sementes de alfavaca-cravo. **Semina ciênc. agrar.**, Londrina, v. 32, n. 3, p. 865-874, jul./set. 2011.

LIMA, D. Avaliação da viabilidade e vigor de sementes de cebola (*Allium cepa* L.). Pelotas, 1993, 61p. Dissertação (M.S.) – Universidade Federal de Pelotas.

LONGO, O.; PÉREZ, A. H.; MURCIA, M. Efecto de la presencia de pericarpio sobre los valores de conductividad en semillas de girasol (*Helianthus annuus* L.) com diferentes niveles de deterioro. **Informativo ABRATES**, Brasília, v.9, n.1/2, p.149, 1999.

LOPES, M. M.; BARBOSA, R. M.; VIEIRA, R. D. Methods for evaluating the physiological potential of scarlet eggplant (*Solanum aethiopicum*) seeds. **Seed Sci. Technol**, Zurich, v. 40, n.1, p.86-94, 2012.

MACAGNAN, D.; CHAVES, Z. M.; CAFÉ-FILHO, A.C. First report of *Alternaria brassicicola* on *Crambe abyssinica* in Goiás state, Brazil. **Summa phytopathol.**, Jaguariuna, v.36, n. 3, p. 260, jun. 2010.

MAGUIRE, J.D. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigour. **Crop Science**, Madison, v.2, n. 1, p.176-177, mar./abr. 1962.

MAJCHRZAK, B.; KUROWSKI, T. P.; TOMAZ, P.; KARPINSKA, Z. The health condition of spring oilseed crops in relation to the fungi colonizing these seeds. **Acta Agrobot.**, v. 55, Lublin, n.1, p. 199- 210, 2002.

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

MARCOS FILHO, J. Teste de Envelhecimento Acelerado. In.: KRYZANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA NETO, J. DE B. (Ed.) **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, p.3.1-3.24, 1999.

MARTIN, C. A. O.; SEDIYAMA, C. S. S.; OLIVEIRA, M. G. A.; JOSÉ, I. C.; MOREIRA, M. A.; REIS, M.; ROCHA, V. S. Atividade da isocitrato-liase durante a germinação de sementes de soja. **Rev. bras. Sementes**, Londrina, v.22, n.1, p.42-46, 2000.

MARTINS, C.C.; MARTINELLI-SENEME, A.; CASTRO, M.M.; NAKAGAWA J.; CAVARIANI, C. Comparação entre métodos para a avaliação do vigor de lotes de sementes de couve-brócolos (*Brassica oleracea* var. *italica* plenk). **Rev. bras. Sementes**, Londrina, v.24, p. 96-101, 2002.

MASSETO, T. E.; QUADROS, J. B.; MOREIRA, F. H.; RIBEIRO D. M.; BENITES JUNIOR, I.; RESENDE, R. K. S. Qualidade fisiológica e sanitária de sementes de crambe produzidas no estado do Mato Grosso do Sul. **Rev. Bras. Ol. Fibros.**, Campia Grande, v.13, n.3., p.107- 113, set./dez. 2009.

McDONALD, M. B. Seed deterioration: physiology, repair and assessments. **Seed Sci. Technol.**, Zurich, v. 27, n. 1, p.177-237, mar. 1999.

MELLO, S. DA C.; SPINOLA, M. C. M.; MINAMI, K. Métodos de avaliação da qualidade fisiológica de sementes de brócolos. **Sci. Agr.**, Piracicaba, v. 56, n. 4, oct./dec. 1999.

MENDES, R. C.; DIAS, D. C. F. C; PEREIRA, M. D.; DIAS, L. A. S. Testes de vigor para avaliação do potencial fisiológico de sementes de mamona (*Ricinus communis* L.).**Ciênc. Agrotec.**, Lavras, v.34, n.1, p.114-120, jan./fev. 2010.

MILANI, M.; MENEZES, N. DE L.; LOPES, S. J.. Teste de condutividade elétrica para avaliação do potencial fisiológico de sementes de canola. **Rev. Ceres**, Viçosa, v.59, n.3, jun. 2012.

MOERS, E. M.; KUHN, O. J.; GONÇALVES JR., A. C.; FRANZENER, G.; STANGARLIN, J. R. Levantamento de doenças na cultura do crambe (*Crambe abyssinica* Hochst) na região oeste do Paraná.**Scientia Agraria Paranaensis**, Cascavel, v.11, n.1, p.35-48, 2012.

MULLER, K.; CARSTENS, A.C.; LINKIES, A.; TORRES, M.A.; LEUBNER-METZGER, G. The NADPH-oxidase AtrbohB plays a role in Arabidopsis seed after ripening. **New Phytol.** v.184, p. 885-897, dez. 2009.

MURPHY, J. B.; NOLAND, T. L. Temperature effects on seed imbibitions and leakage mediated by viscosity and membranes. **Plant Physiol.**, Madison, v.69, n.2, p.428-431, fev. 1982.

NEGREIROS, Jacson Rondinelli da Silva et al . Seleção de progênies de maracujazeiro-amarelo vigorosas e resistentes à verrugose (*Cladosporium cladosporioides*). **Rev. Bras. Frutic.**, Jaboticabal, v. 26, n. 2, Ago. 2004.

NELSON, N. A. Photometric adaptation of somogy method for the determination of glucose. **J. Biol. Chem.**, Baltimore, v. 153, n.1, p. 375-384, jul.1944.

NOVEMBRE, A. D. L. C.; DIAS, D. C. F. S.; CHAMMA, H. M. C. P.; MARCOS FILHO, J. Estudo da metodologia dos testes de envelhecimento acelerado e de condutividade elétrica para sementes de tomate. **Informativo ABRATES**, Brasília, v.3, n.3, p.140, 1995.

OLIVEIRA, F. N.; TORRES, S.B; VIEIRA, F. E. R.; PAIVA, E. P. DE; DUTRA, A. S. Qualidade fisiológica de sementes de girassol avaliadas por condutividade elétrica. **Pesq. Agropec. Trop.**, Goiânia, v. 42, n.3, set. 2012.

OPLINGER, E. S.; OELKE, E. A.; KAMINSKI, A. R.; PUTNAMAM, D. H.; TEYNOR, T. M.; DOLL, J. D.; KELLING, K.A.; DURGAN, B. R.; NOETZEL, D. M. **Alternative Field Crops Manual: Crambe**. 1991. Disponível em: <<http://www.hort.purdue.edu/newcrop/afcm/crambe.html>>. Acessado em: 1 março 2012.

PEREIRA, M. F. S.; TORRES, S. B.; LINHARES, P. C. F.; PAIVA, A. C. C.; PAZ, A. E. S.; DANTAS, A. H. Qualidade fisiológica de sementes de coentro [*Coriandrum sativum* (L.)]. **Rev. bras. plantas med.**, Botucatu, v. 13, n. especial, p.518-522, 2011.

PEREIRA, R. G.; BORÉM, F. M.; VILELA, T. Caracterização microbiológica e qualidade da bebida de cafés (*Coffea arabica* L.) da região Alto Rio Grande – Sul de Minas Gerais. In: SIMPÓSIO DE PESQUISAS DO CAFÉ DO BRASIL, 2001, Vitória, ES. *Resumos...* Brasília, Embrapa Café, 2001.

- PITOL, C.; BROCH, D. L.; ROSCOE, R. **Tecnologia e produção: crambe 2010**. Maracajau. Fundação MS. 1ª ed. 2010.
- POWELL, A. A. Cell membranes and seed leachate conductivity in relation the quality of seed for sowing. **J. Seed Technol.**, Lincoln, v10, n.2, p.81-100,1986.
- RODO, A. B.; PANOBIANCO, M.; MARCOS FILHO, J. Metodologia alternativa do teste de envelhecimento acelerado para sementes de cenoura. **Sci. Agr.**, Piracicaba, v. 57, n. 2, p.289-292, abr./jun. 2000.
- SANTOS, F. DOS; TRANI, P. E.; MEDINA, P. F.; PARISI, J. J. D. Teste de envelhecimento acelerado para avaliação da qualidade de sementes de alface e almeirão **Rev. bras. Sementes**, Londrina, v.33, n.2, p.322-330, 2011.
- SILVA, D. J.; QUEIROZ, A. C. **Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos**. 3ed. Viçosa, MG: UFV, 2002. 235 p.
- SILVA, P. A. **Estudo da qualidade fisiológica, bioquímica e ultra-estrutural durante o desenvolvimento e a secagem de sementes de soja**. 2006. 55f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2006.
- SOMOGY, M. A. New reagent for the determination of sugars. **J. Biol. Chem.**, Baltimore, v. 160, n. 1, p. 601-668, jan. 1945.
- SOUTO, X.C.; GONZALEZ, L. & REIGOSA, M.J. Comparative analysis of allelopathic effects produced by four forestry species during decomposition process in their soils in Galicia (NW. Spain). **J. Chem. Ecol.**, New York, v.20, n.11, p. 3005-3015, 1994.
- SOUZA, A. D. V. de; FÁVARO, S. P.; ÍTAVO, L. C. V.; ROSCOE, R. Caracterização química de sementes e tortas de pinhão-mansão, nabo-forrageiro e crambe. **Pesq. agropec. bras.**, Brasília, v.44, n.10, p.1328-1335, out. 2009.
- SOUZA, L. A. DE; CARVALHO, M. L. M. DE; KATAOKA, V. Y.; OLIVEIRA, J. A. DE. Teste de condutividade elétrica para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de mamona. **Rev. bras. Sementes**, Londrina, vol.31, n.1, p.60-67, 2009.

STYER, R. C.; CANTLIFE, D. J. Changes in seed structure and composition during development and their effects on leakage in two endosperm mutants of sweet corn. **J. Am. Soc. Hortic. Sci.**, Alexandria, v.108, n.5, p.721-728, 1983.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Plant physiology**. Califórnia: Cummings, 2004. 565p.

TAO, J. K. Factors causing variations in the conductivity test for soybean seeds. **J. Seed Technol.**, Lincoln, v.3, n.1, p.10-18, 1978.

TAYEFI-NASRABADI, H.; DEGHAN, G.; DAEIHASSANI, B.; MOVAFEGI, A.; SAMADI, A. Some biochemical properties of catalase from safflower (*Carthamus tinctorius* L. cv. M-CC-190). **Afr. J. Agric. Res.** ano 6, v.23, p. 5221-5226, out. 2011.

THORNTON, J. M.; POWELL, A. A.; MATTHEWS, S. Investigation of the relationship between seed leachate conductivity and the germination of *Brassica* seed. **Ann. appl. biol.**, London, v. 117, n.1, p. 129-135, ago.1990.

TORRES, S. B.. Teste de envelhecimento acelerado em sementes de erva-doce. **Rev. bras. Sementes**, Londrina, v. 26, n. 2, p. 20-24, 2004.

TORRES, S.B. Qualidade fisiológica de pimentão (*Capsicum annum* L.) por meio do teste de estresse hídrico. **Rev. bras. Sementes**, Londrina, v.18, n.2, p.246-250, 1996.

TUNES, L.M DE; TAVARES, L. C.; RUFINO, C. DE A.; BARROS, A.C.S.A., MUNIZ, N.F.B., DUARTE, V. B. Envelhecimento acelerado em sementes de brócolis (*Brassica oleracea* l. Var. *Italica* plenk). **Biosci. J.**, Uberlândia, v.28, n.2, p.173-179, mar./abr. 2012.

VANDE KAMER, S. B.; VAN GINKEL, L. Rapid determination of crude fiber in cereals. **Cereal Chem.**, St. Paul, v.19, n.4, p. 239-251, jul./ago. 1952.

VANZOLINI, S.; NAKAGAWA, J. Teste de condutividade elétrica em sementes de amendoim. **Rev. bras. Sementes**, Londrina, v. 27, n. 2, p. 151-158, dec. 2005.

VENTURA, L.; DONÀ, M.; MACOVEI, A.; CARBONERA, D.; BUTTAFAVA, A.; MONDONI, A.; ROSSI, G.; BALESTRAZZI, A. Understanding the molecular pathways associated with seed vigor. **Plant Physiol. Biochem.** , Paris, v.60, p.196-206, nov. 2012.

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

VIEIRA, M.G.G.C.; VON PINHO, E.V.R.; SALGADO, K.C.P.C. Técnicas moleculares em sementes. **Informe Agropecuário**, v.27, n.232, p.88-96, maio/jun. 2006.

VIEIRA, R. D.; PENARIOL, A. L.; PERECIN, D.; M. PANOBIANCO. Condutividade elétrica e teor de água inicial das sementes de soja. **Pesq. Agropec. Trop.**, Goiânia, v.37, n. 9, p.1333-1338, set. 2002.

WANG, Y. R.; HAMPTON, J. G.; HILL, M. J. Red clover vigour testing: effects of three test variables. **Seed Sci. Technol**, Zurich, v. 22, n.1, p.99-105, 1994.

WARD, F. H.; POWELL, A. A. Evidence for repair processes in onion seeds during storage at high seed moisture contents. **J Exp. Bot.**, v.34, n.140, p.277-282, 1983.