



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
CENTRO DE TECNOLOGIA E RECURSOS NATURAIS
COORDENAÇÃO DE PÓS-GRADUAÇÃO
EM ENGENHARIA AGRÍCOLA**



DISSERTAÇÃO

**ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: ARMAZENAMENTO E PROCESSAMENTO DE
PRODUTOS AGRÍCOLAS**

PROTÓCOLOS DE CRIOPRESERVAÇÃO DE SEMENTES DE ROMÃ E JUÁ

LUZIA MARCIA DE MELO SILVA

**CAMPINA GRANDE - PARAÍBA
FEVEREIRO, 2013**

LUZIA MARCIA DE MELO SILVA

PROTOCOLOS DE CRIOPRESERVAÇÃO DE SEMENTES DE ROMÃ E JUÁ

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola da Universidade Federal de Campina Grande, em cumprimento as exigências para obtenção do Título de Mestre em Engenharia Agrícola na Área de Concentração em Armazenamento e Processamento de Produtos Agrícolas.

ORIENTADORES:

Prof. Dr. Mario Eduardo Rangel Moreira Cavalcanti Mata

Prof^ª. Dra. Maria Elita Martins Duarte

CAMPINA GRANDE – PARAÍBA

FEVEREIRO, 2013



5725p Silva, Luzia Márcia de Melo.
Protocolos de criopreservação de sementes de romã e juá
/ Luzia Márcia de Melo Silva. - Campina Grande, 2013.
144 f.

Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) -
Universidade Federal de Campina Grande, Centro de
Tecnologia e Recursos Naturais, 2013.

"Orientação: Prof. Dr. Mario Eduardo Rangel Moreira
Cavalcanti Mata, Profa. Dra. Maria Elita Martins Duarte".
Referências.

1. Sementes. 2. Ziziphus Joazeiro Mart. 3. Punica
Granatum L. 4. Crioconservação. 5. Dissertação - Engenharia
Agrícola. I. Mata, Mario Eduardo Rangel Moreira Cavalcanti.
II. Duarte, Maria Elita Martins. III. Universidade Federal
de Campina Grande - Campina Grande (PB). IV. Título

CDU 631.53.02(043)



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE TECNOLOGIA E RECURSOS NATURAIS
COORDENAÇÃO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA AGRÍCOLA

CTRN
CENTRO DE TECNOLOGIA E RECURSOS NATURAIS

PARECER FINAL DO JULGAMENTO DA DISSERTAÇÃO

LUZIA MARCIA DE MELO SILVA

PROTOCOLOS DE CRIOPRESERVAÇÃO DE SEMENTES DE ROMÃ E JUÁ

BANCA EXAMINADORA

PARECER

Mario E R M Mata

Dr. Mario Eduardo R. M. Cavalcanti Mata
Orientador (UAEA/CTRN/UFPG)

APROVADA

Maria Elita Martins Duarte

Dr. Maria Elita Martins Duarte
Orientadora (UAEA/CTRN/UFPG)

APROVADA

Renato F. A. S.

Dr. Renato Fonseca Aragão
Examinador (UAEA/CTRN/UFPG)

APROVADA

Ailton Melo de Moraes

Dr. Ailton Melo de Moraes
Examinador (EMEP/PA/PB)

APROVADA

FEVEREIRO DE 2013

“Prefiram o conhecimento em lugar do ouro, por que a sabedoria vale mais do que as pérolas, e nenhuma jóia se compara a ela.”
Provérbios, capítulo 8, versículo 10-11.

*Aos meus Pais (Terezinha e Marcondes)
e ao Professor Doutor George Pimentel Fernandes,
por confiarem em mim e fazer eu acreditar que posso ir mais além.*

Dedico

Agradecimentos

“Por vezes sentimos que aquilo que fazemos não é senão uma gota de água no mar. Mas o mar seria menor se lhe faltasse uma gota.” Madre Teresa de Calcutá

A prévia citada é a forma que encontrei para expressar minha mais profunda gratidão a todos que serviram de inspiração para o advento da presente dissertação. Pessoas fundamentais no meu desenvolvimento pessoal e acadêmico, que acreditaram em mim e apoiaram-me qualquer que fosse a circunstancia. A ver:

*Devoto inicialmente meu agradecimento a **Deus** por me emprestar diariamente o coração que pulsa, o oxigênio que preciso e milhões de itens que fazem possível a minha existência. Obrigado por me inspirar a cada dia, dando-me a força e a coragem que muitas vezes necessitei (que necessito sempre) para continuar trilhando os caminhos do conhecimento.*

*De forma igualmente especial, agradeço a **meus pais** (Terezinha e Marcondes) por terem sido meu contínuo apoio em todos estes anos, ensinando-me, principalmente, a importância da formação e a coerência de meus próprios valores. Meus pais, com sua paciência infinita e sua crença absoluta em minha capacidade de realização foram, indubitavelmente, os elementos propulsores dessa dissertação.*

*Aos meus familiares em geral, em especial aos **meus irmãos** Márcio, Marcos e Millena, obrigado por entender a minha ausência e falta de contato por todo esse período, e por estender uma mão amiga sempre que necessitei.*

*A Pós-Graduação em Engenharia Agrícola da **Universidade Federal de Campina Grande** (UFCG), pelo acolhimento e oportunidade de realização deste curso e ao **Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico** (CNPq), pela concessão da bolsa de estudo.*

*A **Fazenda Águas do Tamanduá**, especificamente à pessoa do Sr. Pierre Landolt, pela disponibilidade em contribuir com o desenvolvimento desta e de outras pesquisas aqui realizadas; a toda a equipe da fazenda meu muito obrigado.*

*No âmbito acadêmico, inicio meus agradecimentos expressando minha profunda admiração e apreço pelo amigo e Professor Dr. **George Pimentel Fernandes**, cuja excelência profissional conferiu prestígio e valor inestimáveis na minha admissão no mestrado. Seus conselhos e sua força foram de grande valia para que eu galgasse essa conquista em minha vida.*

*Agradeço ao Professor Dr. **Mário Eduardo Rangel Moreira Cavalcanti Mata** por ter aceito a orientação de minha dissertação e oferecido seu apoio sempre que necessário. Por último, mas não menos importante, agradeço a Professora Dr^a **Maria Elita Martins Duarte** por suas constantes e pertinentes sugestões, que tanto enriqueceram a forma final deste trabalho. A vocês, obrigado pela inestimável contribuição à minha vida acadêmica influenciando decisivamente, também, no meu crescimento humano e profissional.*

*À Coordenação do Curso de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola da UFCG e aos professores, em especial, Dr. **Francisco de Assis Cardoso Almeida** pelos ensinamentos e experiências transmitidas e a Dr^a **Josivanda Palmeira Gomes**, a quem tenho profunda admiração, gratidão e respeito. Da mesma maneira agradeço ao Dr. **Patrício Borges Maracajá**, amigo este que transmitiu ensinamentos valiosíssimos, que acreditou na minha capacidade, atendendo meus anseios e contribuindo significativamente na minha formação profissional.*

*Aos Drs. **Hans Raj Gheyi** e **João Batista dos Santos** por disponibilizarem o espaço para a execução da parte experimental desse trabalho.*

*Aos secretários do curso de pós-graduação em Engenharia Agrícola, nas pessoas de **Cida, Gilson e Aldaniza**, assim como aos funcionários do Laboratório de Armazenamento e Processamento de Produtos Agrícolas (LAPPA) em nome de **Severina e Rildo** pelo auxílio prestado; **Gustavo** e **Silas** pelas suas infindáveis contribuições; e **Salomé** por me ensinar a repensar a vida, mostrando que não podemos deixar os sonhos morrerem, pois são eles que nos impulsionam, fortalecem e nos permitem crescer.*

*Incluo, de forma especial, minha querida amiga Francinalva Cordeiro - "**Nalva**" que dedicou seu tempo e trabalho a ajudar nas minhas pesquisas e, em consequência, esta dissertação. Este trabalho não se tornaria realidade sem seu apoio em todas as horas. Seria impossível expressar através de simples palavras a gratidão que sinto por sua dedicação e profissionalismo infindáveis. Horas, dias, noites acordadas, dividindo o árduo e cansativo trabalho da pesquisa. Obrigado por sua paciência infinita e pelo recorrente incentivo. "A glória da amizade não é a mão estendida, nem o sorriso fraternal, nem a alegria da companhia; é, na verdade, a inspiração espiritual que surge quando se descobre que alguém acredita em seu potencial e está disposto a lhe confiar sua amizade" -Ralph Waldo Emerson-*

*Devo, ainda, mencionar um grande amigo, **Daniel Gonçalves**. Este, que esteve sempre comigo desde a época da seleção do mestrado, escutando meus anseios, apoiando meus*

sonhos, aturando meus estresses e conversas inacabáveis. A Ele, devoto profunda admiração e carinho.

*Ainda, aos meus colegas de curso (em ordem alfabética), **Aline Oliveira, Bruno Adelino, Christopher Stallone, Elisabete Piancó, Francinalva Cordeiro e Joabis Nobre**, obrigado pelo companheirismo que a mim devotaram.*

*Aos companheiros de caminhada: **Elisabete Piancó, Flávio Gurjão, Denise Amaral, Taciano Pessoa, Regina Garcia, Silvana Nazareth, Anny Kelly Vasconcelos e Vagner Sales** pelo convívio e contribuições valiosas para o sucesso do trabalho.*

*A **Evaldo Marcos, José Vieira e João Paulo**, pessoas incríveis que tive o privilégio de conhecer e conviver e sem dúvidas, foram peças fundamentais no meu crescimento dentro e fora da universidade.*

Divido com todos vocês minha felicidade e minhas conquistas porque certamente não seriam possíveis sem sua presença em minha vida. Deus abençoe a todos.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	xiii
LISTA DE TABELAS	xv
NOMENCLATURA	xvi
INTRODUÇÃO GERAL	1
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	5
CAPÍTULO I: CARACTERÍSTICAS FÍSICAS DAS SEMENTES DE ROMÃ E JUÁ ..	8
RESUMO	8
ABSTRACT	8
I.1. INTRODUÇÃO	9
I.2. REVISÃO DE LITERATURA	10
I.2.1. Características físicas das sementes.....	10
I.2.1.1 Dimensões.....	11
I.2.1.2 Massa e volume.....	12
I.2.1.3 Massa específica real e aparente.....	12
I.2.1.4 Porosidade.....	12
I.2.1.5 Esfericidade.....	13
I.3. MATERIAL E MÉTODOS	13
I.3.1. Características físicas das sementes.....	14
I.3.1.1 Massa de mil sementes.....	14
I.3.1.2 Dimensões mutuamente perpendiculares.....	14
I.3.1.3 Volume por deslocamento de massa (V_R).....	14
I.3.1.4 Massa específica real (ρ_r).....	15
I.3.1.5 Massa específica aparente (ρ_a).....	15
I.3.1.6 Porosidade (ϵ).....	15
I.3.1.7 Esfericidade (ϕ).....	16
I.3.1.8 Análise estatística.....	16
I.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	17
I.5. CONCLUSÕES	25
I.6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	25

CAPÍTULO II: CINÉTICA DE CONGELAMENTO CRIOGÊNICO DE SEMENTES DE ROMÃ E JUÁ.....	30
RESUMO.....	30
ABSTRACT	30
II.1. INTRODUÇÃO	31
II.2. REVISÃO DE LITERATURA.....	32
II.3. MATERIAL E MÉTODOS	33
II.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	37
II.5. CONCLUSÕES.....	48
II.6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	48
CAPÍTULO III: TRATAMENTOS PRÉ-GERMINATIVOS EM SEMENTES DE JUÁ REVESTIDAS DE ENDOCARPO	53
RESUMO.....	53
ABSTRACT	53
III.1. INTRODUÇÃO	54
III.2. REVISÃO DE LITERATURA	55
III.2.1. Características do Ziziphus joazeiro Mart.	55
III.2.2. A importância do estudo morfológico em sementes.....	56
III.2.3. Dormência.....	56
III.3. MATERIAL E MÉTODOS	58
III.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	61
III.5. CONCLUSÕES	66
III.6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	66
CAPÍTULO IV: TEOR DE ÁGUA LIMITE PARA CRIOCONSERVAÇÃO DAS SEMENTES DE ROMÃ E JUÁ.....	72
RESUMO.....	72
ABSTRACT	72
IV.1. INTRODUÇÃO	73

IV.2. REVISÃO DE LITERATURA	74
IV.2.1. <i>Punica granatum</i> L.	74
IV.2.2. <i>Ziziphus joazeiro</i> Mart.....	75
IV.2.2.1 O bioma caatinga	75
IV.2.2.2 A família <i>Rhamaceae</i> e o gênero <i>Ziziphus</i>	76
IV.2.2.3 A espécie <i>Ziziphus joazeiro</i> Mart.....	76
IV.2.3. Generalidades sobre sementes	77
IV.2.3.1 Teor de água.....	77
IV.2.3.2 Teor de Água Limite para Crioconservação	78
IV.2.3.3 Sementes ortodoxas, intermediárias e recalcitrantes.....	79
IV.2.3.4 Germinação e vigor	80
IV.3. MATERIAL E MÉTODOS	81
IV.3.1 Determinação do teor de água inicial das sementes	82
IV.3.2 Teor de Água Limite para Crioconservação (TALC).....	83
IV.3.3 Análise da qualidade fisiológica após a crioconservação	84
IV.3.4 Análise estatística	85
IV.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	85
IV.4.1 Teor de Água Limite para Crioconservação da romã.....	85
IV.4.2 Teor de Água Limite para Crioconservação do juá	88
IV.5. CONCLUSÕES	90
IV.6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	91
CAPÍTULO V: ASPECTOS FISIOLÓGICOS DAS SEMENTES DE ROMÃ E JUÁ DURANTE O ARMAZENAMENTO CRIOGÊNICO	99
RESUMO	99
ABSTRACT	99
V.1. INTRODUÇÃO	100
V.2. REVISÃO DE LITERATURA	101
V.3. MATERIAL E MÉTODOS	102
V.3.1 Crioconservação das sementes.....	103
V.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	103

V.5. CONCLUSÕES.....	107
V.6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	108
APÊNDICE A.I.....	111
APÊNDICE A.II	120
APÊNDICE A.III.....	135
APÊNDICE A.IV	137
APÊNDICE A.V.....	141

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I: CARACTERÍSTICAS FÍSICAS DAS SEMENTES DE ROMÃ (*Punica granatum* L.) E JUÁ (*Ziziphus joazeiro* Mart)

Figura I.1 - Esquema das três projeções feitas para uma semente de milho nos três planos mutuamente perpendiculares 11

Figura I.2 - Características referentes ao comprimento, largura e espessura das sementes de romã (I.2A) e sementes de juá revestidas de endocarpo (I.2B) em função do teor de água.... 18

Figura I.3 - Massa individual das sementes de romã (I.3A) e sementes de juá revestidas de endocarpo (I.3B) em função do teor de água..... 19

Figura I.4 - Volume individual das sementes de romã (I.4A) e sementes de juá revestidas de endocarpo (I.4B) em função do teor de água..... 20

Figura I.5 - Massa específica real das sementes de romã (I.5A) e sementes de juá revestidas de endocarpo (I.5B) em função do teor de água..... 22

Figura I.6 - Porosidade das sementes de romã (I.6A) e sementes de juá revestidas de endocarpo (I.6B) em função do teor de água 23

Figura I.7 - Esfericidade das sementes de romã (I.7A) e sementes de juá revestidas de endocarpo (I.7B) em função do teor de água..... 24

CAPÍTULO II: CINÉTICA DE CONGELAMENTO CRIOGÊNICO DE SEMENTES DE ROMÃ (*Punica granatum* L.) E JUÁ (*Ziziphus joazeiro* Mart)

Figura II.1 - Dados experimentais e calculados pelo Modelo de Fourier com o 1º termo da série, das curvas de congelamento de sementes de romã nas temperaturas de -170 °C e -196 °C 38

Figura II.2 - Dados experimentais e calculados pelo Modelo I de Cavalcanti Mata, das curvas de congelamento de sementes de romã nas temperaturas de -170 °C e -196 °C 39

Figura II.3 - Dados experimentais e calculados pelo Modelo II de Cavalcanti Mata, das curvas de congelamento de sementes de romã nas temperaturas de -170 °C e -196 °C..... 40

Figura II.4 - Dados experimentais e calculados pelo Modelo de Fourier com o 1º termo da série, das curvas de congelamento de sementes de juá revestidas de endocarpo nas temperaturas de -170 °C e -196 °C 41

Figura II.5 - Dados experimentais e calculados pelo Modelo I de Cavalcanti Mata, das curvas de congelamento de sementes de juá revestidas de endocarpo nas temperaturas de -170 °C e -196 °C 42

Figura II.6 - Dados experimentais e calculados pelo Modelo II de Cavalcanti Mata, das curvas de congelamento de sementes de juá revestidas de endocarpo nas temperaturas de -170 °C e -196 °C..... 43

CAPÍTULO III: TRATAMENTOS PRÉ-GERMINATIVOS EM SEMENTES DE JUÁ (*Ziziphus joazeiro* Mart.) REVESTIDAS DE ENDOCARPO

Figura III.1 - Frutos e folhas do *Ziziphus joazeiro* Mart. (A); Endocarpos (B); Tratamentos pré-germinativos aplicados nos endocarpos (C) 58

Figura III.2 – Plântulas de juá de um mesmo endocarpo (A); Endocarpo com desenvolvimento de uma única semente (B); Plântulas normais de juá (C) 60

Figura III.3 - Valores médios da porcentagem de germinação de sementes de juá revestidas de endocarpo em função de diferentes tratamentos pré-germinativos, aos 120 dias após a semeadura. Valor de “F” para tratamentos = 267,93** (P < 0,01); CV(%) = 5,58. Médias seguidas por uma mesma letra, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott (P<0,05) 62

Figura III.4 - Valores médios de comprimento de plântulas de juá originadas de sementes revestidas de endocarpo submetidas a diferentes tratamentos pré-germinativos, aos 120 dias após a semeadura. Valor de “F” para tratamentos = 40,79** (P < 0,01); CV(%) = 1,55. Médias seguidas por uma mesma letra, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott (P<0,05) 64

Figura III.5 - Valores médios de matéria seca de plântulas de juá originadas de sementes revestidas de endocarpo submetidas a diferentes tratamentos pré-germinativos, aos 120 dias após a semeadura. Valor de “F” para tratamentos = 267,93** (P < 0,01); CV(%) = 5,58. Médias seguidas por uma mesma letra, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott (P<0,05) 65

CAPÍTULO IV: TEOR DE ÁGUA LIMITE PARA CRIOPRESERVAÇÃO DAS SEMENTES DE ROMÃ (*Punica granatum* L.) E JUÁ (*Ziziphus joazeiro* Mart)

Figura IV.1 - Fruta (A); Processamento (B); Sementes (C)..... 81

Figura IV.2 - Fruto (A); Queda espontânea dos frutos (B); Sementes revestidas de endocarpo (C)..... 82

Figura IV.3 - Botijão criogênico com vapor de nitrogênio a -170 °C (A); Canister em aço inoxidável (B); Botijão criogênico com nitrogênio líquido a -196 °C (C)..... 83

Figura IV.4 - Valores experimentais do umedecimento das sementes de romã em função do tempo (minutos)..... 85

Figura IV.5 - Valores experimentais da secagem das sementes de romã em função do tempo (minutos)..... 86

Figura IV.6 - Valores experimentais da secagem das sementes de juá revestidas de endocarpo em função do tempo (minutos)..... 88

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I: CARACTERÍSTICAS FÍSICAS DAS SEMENTES DE ROMÃ (*Punica granatum* L.) E JUÁ (*Ziziphus joazeiro* Mart)

Tabela I.1 - Teor de água das sementes de romã e juá em base úmida (X_{bu}) e massa de mil sementes nos quatro níveis avaliados 17

CAPÍTULO II: CINÉTICA DE CONGELAMENTO CRIOGÊNICO DE SEMENTES DE ROMÃ (*Punica granatum* L.) E JUÁ (*Ziziphus joazeiro* Mart)

Tabela II.1 - Parâmetros das sementes de romã e coeficientes dos modelos da cinética de congelamento a temperaturas criogênicas 45

Tabela II.2 - Parâmetros das sementes de juá revestidas de endocarpo e coeficientes dos modelos da cinética de congelamento a temperaturas criogênicas..... 46

CAPÍTULO III: TRATAMENTOS PRÉ-GERMINATIVOS EM SEMENTES DE JUÁ (*Ziziphus joazeiro* Mart.) REVESTIDAS DE ENDOCARPO

Tabela III.1 - Tratamentos pré-germinativos aplicados para superação da dormência de sementes de *Ziziphus joazeiro* Mart. 59

CAPÍTULO IV: TEOR DE ÁGUA LIMITE PARA CRIOCONSERVAÇÃO DAS SEMENTES DE ROMÃ (*Punica granatum* L.) E JUÁ (*Ziziphus joazeiro* Mart)

Tabela IV.1 - Valores médios da germinação e vigor em função do teor de água das sementes de romã, crioconservadas a (-170 °C e -196 °C) e à temperatura ambiente (25 °C), por um período de cinco dias 87

Tabela IV.2 - Valores médios da germinação e vigor em função do teor de água das sementes de juá revestidas de endocarpo, crioconservadas a (-170 °C e -196 °C) e à temperatura ambiente (25 °C), por um período de cinco dias 89

CAPÍTULO V: ASPECTOS FISIOLÓGICOS DAS SEMENTES DE ROMÃ (*Punica granatum* L.) E JUÁ (*Ziziphus joazeiro* Mart) DURANTE O ARMAZENAMENTO CRIOGÊNICO

Tabela V.1 - Valores experimentais da germinação e vigor em função do tempo de armazenamento das sementes de romã, crioconservadas a (-170°C e -196°C), por um período de 0, 30, 60 e 90 dias. 104

Tabela V.2 - Valores médios da germinação e vigor em função do tempo de armazenamento das sementes de romã, crioconservadas a (-170 °C e -196 °C), por um período de 0, 30, 60 e 90 dias..... 105

Tabela V.3 - Valores médios da germinação e vigor em função do tempo de armazenamento das sementes de juá revestidas de endocarpo, crioconservadas a (-170 °C e -196 °C), por um período de 0, 30, 60 e 90 dias 106

NOMENCLATURA

a, b e c	eixos de figuras geométricas	cm
m	massa	kg
P	erro médio relativo	%
r^2	raio da esfera equivalente	mm
T	temperatura em cada momento	°C
T_∞	temperatura do meio de congelamento	°C
T_o	temperatura inicial do produto	°C
V_R	volume	m^{-3}
X	teor de água (b.u.)	%
α	difusividade térmica efetiva	$mm^2 \cdot s^{-1}$
ε	porosidade	%
ρ_a	massa específica aparente	$kg \cdot m^{-3}$
ρ_r	massa específica real	$kg \cdot m^{-3}$
φ	esfericidade	%
λ	raiz da equação transcendental	-

PROTOCOLOS DE CRIOPRESERVAÇÃO DE SEMENTES DE ROMÃ E JUÁ

INTRODUÇÃO GERAL

INTRODUÇÃO GERAL

O Brasil possui uma das maiores diversidades vegetal do mundo e inúmeras experiências vinculadas ao conhecimento de plantas medicinais e tecnologia para correlacionar o saber popular e científico (ALBUQUERQUE & HANAZAKI, 2006). No entanto, a extinção ainda é uma preocupação dos conservacionistas, pois representa o desaparecimento de linhagens evolutivas. A atividade humana, através da redução e fragmentação de habitats, da introdução de novas espécies e da super-exploração dos recursos naturais, é a principal responsável pela atual taxa de extinção das espécies e consequente perda de biodiversidade (PRIMACK & RODRIGUES, 2006).

Conservar uma espécie não significa apenas garantir sua sobrevivência, esse papel seria mínimo e poderia ser desempenhado mantendo poucos indivíduos de cada espécie em jardins botânicos, zoológicos e outros tipos de coleções de seres vivos. Essa conservação das espécies também deve implicar na manutenção de sua variabilidade genética intraespecífica (ROCHA, 2004). Tradicionalmente, a determinação das condições ideais para a conservação de sementes é obtida através de experimentos que estudam a combinação dos fatores teor de água e temperatura de armazenamento, monitorando a viabilidade das sementes ao longo do tempo (ESPINDOLA, 2007).

A conservação, em seu conceito mais amplo, representa a preservação, manejo e uso de recursos genéticos conhecidos, de forma que eles possam produzir o máximo de benefícios sustentáveis para a geração presente, enquanto mantém seu potencial para usos futuros (BIOVERSITY INTERNATIONAL, 2006). Nesse enfoque vale salientar a importância do tema em estudo, haja vista a importância da preservação dos recursos genéticos das espécies de romã (*Punica granatum* L.) e juá (*Ziziphus joazeiro* Mart.) na busca do seu melhoramento genético e manutenção de estoques das sementes.

A *Punica granatum* L. é um arbusto ou pequena árvore nativa da Ásia e tem sido usada como adstringente, hemostática, antidiabética, anti-helmíntica e antidiarréica. É popularmente conhecida no Brasil como “romã” e seus frutos são usados no tratamento de infecções de garganta, rouquidão e febre. Pode também ser utilizada como anti-séptico e antiviral em processos inflamatórios da mucosa oral e contra herpes genital. Além disso, a casca do caule é também usada como vermífugo. O fruto (pericarpo) é rico em taninos hidrolisáveis, como a punicalagina, punicalina e ácido elágico. Também contém antocianosídeos, como 3-glucosídeos e 3-5, digluconosídeos de delfinidina, cianidina e

pelargonidina. Além disso, contém ácidos orgânicos, incluindo ácido ascórbico e cítrico (CATÃO et al., 2006).

O juá é uma das espécies endêmicas do bioma caatinga utilizada na medicina popular como expectorante, no tratamento de bronquites e de úlceras gástricas, na fabricação de cosméticos, xampus anticaspa e creme dental, na alimentação de animais principalmente nos períodos de seca além de apresentar importância ecológica (CARVALHO, 2007). Suas flores são importantes fontes de recurso alimentar para abelhas indígenas sem ferrão da tribo *Meliponini*, as quais são utilizadas na meliponicultura, sendo atividade alternativa de renda para produtores de algumas áreas de Caatinga (NADIA et al., 2007). Segundo MONIZ-BRITO & OSUNA (2008) encontrar plântulas dessa espécie próximas às plantas matrizes é extremamente raro. Além disso, saponinas estão presentes na planta sendo responsáveis por seu uso em xampus, dentifrícios e sabonetes (CARVALHO, 2007).

BARROSO (2006) relata que “a importância dos recursos genéticos como fonte de alimentos é enorme, constituindo a sua perda uma séria ameaça para a segurança alimentar no mundo”. A conservação dos recursos genéticos significa algo mais que o impedimento de extinção das espécies. Significa antes, a conservação de espécies, populações e genótipos, potencialmente úteis hoje ou no futuro com o propósito de preservar numa amostra tão ampla quanto científica e economicamente possível, a diversidade genética de espécies consideradas alvo.

Os especialistas em conservação têm recomendado como estratégias básicas, tanto a conservação *in situ* quanto a *ex situ*. A conservação *in situ* consiste na manutenção das espécies em seu local de origem, onde o material genético a ser preservado é garantido em evolução na comunidade onde ocorre. Já a conservação *ex situ* consiste na manutenção dos organismos fora ou longe do seu local de origem, tal como em jardins botânicos e em bancos ativos de germoplasma, sob a forma controlada de armazenamento de sementes, pólen, propágulos vegetativos, cultura de células e tecidos (ENGELMANN & ENGELS, 2002).

A técnica de crioconservação consiste em conservar o material biológico em temperaturas ultra-baixas, em nitrogênio líquido, a -196°C, ou em seu vapor, em torno de -170°C. A esta temperatura, a divisão celular e os processos metabólicos cessam ou são paralisados e mantidos em estado latente, podendo o material permanecer armazenado por tempo indefinido sem alterações em sua estrutura (COELHO, 2006).

Sem dúvida alguma as sementes constituem a parte mais interessante das plantas para o armazenamento. Além de pequenas, são órgãos que possuem um "depósito natural de germoplasma" (ESPINDOLA, 2007).

Diante do exposto, este trabalho experimental visa determinar protocolos para criopreservação de sementes de romã (*Punica granatum* L.) e juá (*Ziziphus joazeiro* Mart.). Para tanto, o mesmo será composto pelos seguintes capítulos:

O primeiro capítulo faz referência à determinação das características físicas das sementes de romã e juá, uma vez que possuem relevância em diversas etapas do processo de beneficiamento, conservação e armazenamento.

O segundo capítulo se refere à cinética de congelamento criogênico das sementes de romã e juá nas temperaturas de -170°C (vapor de nitrogênio) e -196°C (nitrogênio líquido), respectivamente. A finalidade da cinética de congelamento é conhecer a influência que estas temperaturas provocam na estrutura física da semente.

O terceiro capítulo visa à determinação da qualidade fisiológica de sementes de juá revestidas de endocarpo, através de tratamentos pré-germinativos que viabilizem a superação da dormência, podendo ser definida como um fenômeno pelo qual sementes de uma determinada espécie, mesmo estando viáveis e tendo as condições favoráveis (luz, temperatura e oxigênio), não germinam.

O quarto capítulo trata da determinação do Teor de Água Limite para viabilizar o processo de crioconservação das sementes da romã e juá, tendo em vista que se este teor de água ideal não for determinado, as sementes podem perder sua viabilidade durante a crioarmazenagem. Esses estudos são de fundamental importância para a exploração de forma racional dos recursos genéticos.

O último capítulo é com relação ao período de crioconservação, ou seja, o armazenamento das sementes por um período de tempo prolongado. Os períodos estudados foram de 0, 30, 60 e 90 dias em nitrogênio a -170 e -196°C ; analisaram-se a qualidade fisiológica (germinação e vigor), para só então permitir avaliar a viabilidade do armazenamento criogênico.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBUQUERQUE, U. P.; HANAZAKI, N. As pesquisas etnodirigidas na descoberta de novos fármacos de interesse médico e farmacêutico: fragilidades e perspectivas. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.16, suppl.0, p.678-689, 2006.

BARROSO, M. **Importância dos recursos genéticos vegetais e sua conservação**. Livro de comunicações do Seminário - Recursos genéticos vegetais: sua utilização no desenvolvimento sustentável. DRATM. Mirandela, p.7-11, 2006.

BIOVERSITY INTERNATIONAL (2006). Descriptors lists available at: <http://www.Bioversityinternational.org/Themes/GermplasmDocumentation/CropDescripto/index.asp>. Acesso em: 28 nov. 2011.

CARVALHO, P. E. R. **Juazeiro: *Ziziphus joazeiro***. Embrapa, Novembro, 2007. 8p. (Circular Técnica, 139).

CATÃO, R. M. R.; ANTUNES, R. M. P; ARRUDA, T. A.; PEREIRA, M. S. V; HIGINO, J. S.; ALVES, J. A.; PASSOS, M. G. V. M.; SANTOS, V. L. Atividade antimicrobiana “in vitro” do extrato etanólico de *Punica granatum* Linn. (romã) sobre isolados ambulatoriais de *Staphylococcus aureus*. **Revista Brasileira de Análises Clínicas - RBAC**, v.38, n.2, p.111-114, 2006.

COELHO, R. R. P. **Protocolo de crioconservação de sementes de algodão (*Gossypium hirsutum* L. raça *Latifolium* Hutch.) cultivares BRS 200 marrom e BRS verde**. Tese (Doutorado em Agronomia). Universidade Federal da Paraíba, Centro de Ciências Agrárias, Areia - PB, 2006. 90p.

ENGELMANN, F.; ENGELS, J. M. M. Technologies and strategies for *ex situ* conservation. In: ENGELS, J. M. M.; RAO, V. R.; BROWN, A. H. D.; JACKSON, M. T. (Eds.) **Managing plant genetic diversity**, Cap. 9, International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy, p.89-103, 2002.

ESPINDOLA, L. F. **Determinação do teor de água ideal para o armazenamento de sementes de quatro espécies arbóreas ameaçadas da flora brasileira.** Dissertação (Mestrado em Botânica) – Escola Nacional de Botânica Tropical, do Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro – RJ, 2007. 68p.

MONIZ-BRITO, K. L.; OSUNA, J. T. A. Influência dos tratamentos físicos e químicos na germinação de *Ziziphus joazeiro* Mart. (RHAMNACEAE). **Revista Magistra**, v.20, n.1, p. 16-21, 2008.

NADIA, T.L.; MACHADO, I.C. & LOPES, A.V. Fenologia reprodutiva e sistema de polinização de *Ziziphus joazeiro* Mart. (Rhamnaceae): atuação de *Apis mellifera* e de visitantes florais autóctones como polinizadores. **Acta Botânica Brasílica**, v.21, n.4, p.835-845, 2007.

PRIMACK, R. B.; RODRIGUES, E. **Biologia da Conservação.** Londrina: Ed. Planta, 2006.

ROCHA, Y. T. **Ibirapitanga: história, distribuição geográfica e conservação do pau brasil (*Caesalpinia echinata* Lam., Leguminosae) do descobrimento à atualidade.** Tese (Doutorado) – Faculdade de Filosofia, Letras e Ciências Humanas. Universidade de São Paulo, São Paulo – SP, 2004. 398p.

PROCOLOS DE CRIOPRESERVAÇÃO DE SEMENTES DE ROMÃ E JUÁ

CAPÍTULO I

CARACTERÍSTICAS FÍSICAS DAS SEMENTES DE ROMÃ E JUÁ

PROTOCOLOS DE CRIOPRESERVAÇÃO DE SEMENTES DE ROMÃ E JUÁ

CAPÍTULO I: CARACTERÍSTICAS FÍSICAS DAS SEMENTES DE ROMÃ E JUÁ

RESUMO

A qualidade da semente é definida como sendo o somatório de todos os atributos genéticos, físicos, fisiológicos e sanitários, os quais influenciam a capacidade de originar plantas de alta capacidade produtiva. Dessa forma as características físicas tais como tamanho e forma são de grande interesse para o controle e automação de equipamentos visando melhorar a qualidade do produto, agregando valor econômico e conseqüentemente reduzindo custos com mão de obra e tempo de operação no processamento e pós-colheita. O presente trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar o efeito da variação do teor de água nas propriedades físicas das sementes de romã e sementes de juá revestidas de endocarpo, ajustando o modelo matemático linear aos valores experimentais em função do teor de água. Os resultados permitiram concluir que o comprimento, a largura e a espessura das sementes de romã e sementes de juá revestidas de endocarpo aumentam com o acréscimo do teor de água; o modelo linear representa satisfatoriamente as propriedades físicas das sementes de romã e sementes de juá revestidas de endocarpo; a porosidade da massa de sementes de juá revestidas de endocarpo apresenta um aumento linear dos seus valores com a diminuição do teor de água, enquanto que a porosidade das sementes de romã diminui com a redução do teor de água e os valores da esfericidade aumentam linearmente com o acréscimo teor de água.

Palavras-chave: *Punica granatum* L., *Ziziphus joazeiro* Mart., forma, tamanho, modelo matemático.

ABSTRACT

Seed quality is defined as the sum of all genetic, physical, physiological and health attributes, which influence the ability of plants to originate high production capacity. This way the physical characteristics such as size and shape are of great interest for the control and automation of equipment aiming to improve product quality, adding economic value and thus reducing costs of labor, operating time in processing and post-harvest. The present study was conducted with the objective to evaluate the effect of varying the water content in the physical properties of pomegranate seeds and *juá* seeds coated with endocarp, by adjusting the linear mathematical model to the experimental values in function of water content. The results showed that the length, width and thickness of pomegranate seeds and *juá* seeds coated with endocarp increased with the increase of water content; the linear model represents successfully the physical properties of pomegranate seeds and *juá* seeds coated with endocarp; the porosity of the mass of *juá* seeds coated with of endocarp shows a linear increase in its values with the decrease of water content, while the porosity of pomegranate seeds declined with the decrease of water content and sphericity values increased linearly with the increase of water content.

Keywords: *Punica granatum* L., *Ziziphus joazeiro* Mart., shape, size, mathematical model.

I.1. INTRODUÇÃO

A determinação de propriedades físicas das sementes possui relevância em diversas etapas do processo de beneficiamento, como o dimensionamento de equipamentos e sistemas para colheita, manuseio, transporte, secagem e armazenamento (NIKOOBIN et al., 2009; ISIK & ISIK, 2008; KARABABA, 2006). Tal importância é evidenciada ao se analisar os trabalhos desenvolvidos na literatura recente, para diversos produtos agrícolas, como grão-de-bico (NIKOOBIN et al., 2009), trigo (KARIMI et al., 2009) sementes de niger (SOLOMON & ZEWDU, 2009).

A romã (*Punica granatum* L.) (Punicaceae) é considerada uma excelente árvore para o cultivo em zonas áridas ou semi-áridas, devido à sua resistência à seca (ERCISLI, 2004). É uma fruta antiga com uma história rica em lendas, símbolos, arte, medicina e religião. É cultivada principalmente em toda região Mediterrânea da Ásia, incluindo Espanha, Turquia, Marrocos, Egito, Israel, Tunísia, Arábia Saudita, Irã, Paquistão, Afeganistão, Índia e China. Entre estes países, Índia, Irã, China e Turquia são os principais produtores (ERCISLI et al., 2007).

O juazeiro (*Ziziphus joazeiro* Mart.) (Rhamnaceae) é uma árvore frutífera que ocorre naturalmente em diversas áreas do bioma Caatinga e é plantada como árvore de sombra na região Nordeste do Brasil (LORENZI et al., 2006). Esta espécie é bastante importante no Sertão Nordestino, pois pode ser utilizada como forrageira, já que se mantém sempre verde, mesmo em época de seca (planta xerófila), e seus frutos também podem ser consumidos na alimentação humana (CARVALHO, 2007).

As características físicas dos produtos agrícolas têm valores específicos para as condições que são obtidas e para cada espécie de semente. De modo geral, as sementes possuem peculiaridades, espécies-específicas, que limitam a utilização de suas características físicas sob condições diferentes daquelas para as quais foram determinadas. A maioria dos estudos, relativos ao beneficiamento e conservação de sementes, leva em consideração características como: tamanho, forma, porosidade e outras, que estão intimamente ligadas ao teor de água da semente, que por sua vez depende das condições do ambiente e de sua composição química (GAMA, 2011).

A diminuição no teor de água em se tratando de secagem, também chamado de dessorção, ao qual ocorre de dentro para fora, pode também ocorrer no sentido inverso, ou seja, de fora para dentro no caso do umedecimento, chamado de adsorção. Esses processos

influenciam diretamente nas propriedades físicas das sementes, sendo dependentes da pressão de vapor de água no ar e no produto, fator este que se deve a propriedade higroscópica da mesma. É a característica higroscópica que confere as sementes à propriedade de ganhar umidade do ar e a de ceder ou perder umidade para o ar (ELIAS, 2007).

Considerando a importância do assunto, a variabilidade existente nas características físicas e a ausência de dados na literatura especializada referente a sementes, o trabalho apresentado neste capítulo, tem como objetivo analisar a forma, volume, massa específica real, massa específica aparente, porosidade e esfericidade de sementes de romã e sementes de juá revestidas de endocarpo ao longo do processo de umedecimento e secagem bem como, ajustar modelos matemáticos aos valores experimentais, de maneira que representem com fidelidade as características físicas das sementes estudadas em função do teor de água.

I.2. REVISÃO DE LITERATURA

I.2.1. Características físicas das sementes

O tamanho e a forma são características específicas de cada produto, definidas geneticamente, podendo ser influenciada pelo ambiente durante e após o período de sua formação, determinando assim as demais propriedades físicas do produto. São características intrinsecamente ligadas e por este motivo, difícil de estudá-las separadamente, visto que para os cálculos de fatores de forma utilizam-se suas medidas de tamanho. Costuma-se definir formas de sementes por semelhança com formas geométricas conhecidas. São muitos os métodos utilizados para caracterizar uma semente quanto a sua forma (DUARTE et al., 2006). Por exemplo, o grão é comparado visualmente com formas esférica, cilíndrica, oval, cônica, etc.

São vários os métodos utilizados para caracterizar uma semente quanto à sua forma. Os métodos descritivos, que apenas nomeiam as sementes conforme um diagrama padrão, pré-determinado, ajudam na escolha de equações adequadas para se fazer aproximações de volume, área superficial, área projetada e demais características relativas à forma, porém os métodos de maior utilidade nos projetos de beneficiamento e conservação de sementes são aqueles que fornecem um fator de forma. Os fatores de forma, na maioria dos projetos, são usados como fatores de correção do processo segundo um modelo empregado, funcionam como incremento de equações para uma melhor aproximação do fenômeno estudado, como

exemplo pode-se citar o caso de transporte de partículas sólidas em um fluido (DUARTE et al., 2006).

I.2.1.1 Dimensões

Segundo DUARTE et al. (2006), as dimensões referentes ao comprimento, largura e espessura podem ser determinadas com um paquímetro, no entanto, nos casos de certas sementes de tamanhos diminutos estas medidas não são tão simples de se obter com precisão. Para certificar-se de que os diâmetros medidos são os máximos, em cada direção, costuma-se, também, fazer a projeção da semente em três planos, procedendo-se da seguinte forma: utilizando um retro projetor e uma escala milimétrica transparente, projeta-se a semente em papel milimetrado, inicialmente em repouso, e dessa forma obtém-se as duas maiores dimensões da semente, correspondentes ao maior diâmetro (a) e o diâmetro intermediário (b). Em seguida gira-se a semente 90° , horizontalmente, e obtém-se a nova projeção de onde pode se retirar o menor diâmetro (c) e, novamente, maior diâmetro (a). Por fim, gira-se a semente 90° , verticalmente, e obtém-se a terceira projeção que permite medir, novamente, diâmetro intermediário (b) e menor diâmetro (c). Desse modo cada dimensão pode ser medida duas vezes, o que permite uma boa aferição dessas medidas. A escala projetada, simultaneamente, com a semente permite a transformação para o tamanho real das medidas. A Figura I.1 contém um esquema de como seriam estas 3 (três) projeções para uma semente de milho.

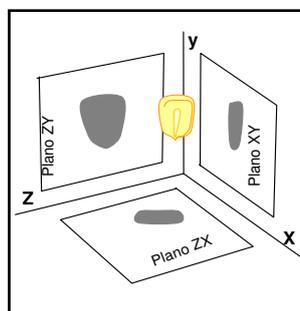


Figura I.1 - Esquema das três projeções feitas para uma semente de milho nos três planos mutuamente perpendiculares (DUARTE et al., 2006).

I.2.1.2 Massa e volume

A massa consiste na pesagem da semente em balança analítica de precisão 0,0001g, podendo ser expressa em (mg, g ou kg). Já o volume da semente pode ser obtido por semelhança geométrica e daí se utiliza uma equação matemática que melhor represente a forma da semente ou, ainda, por deslocamento de massa de fluido (DUARTE et al., 2006).

I.2.1.3 Massa específica real e aparente

A massa específica real (ρ_r) é definida como a relação entre a massa de uma unidade do produto e seu volume, ou seja, neste cálculo não é considerada a porosidade (DUARTE et al., 2006).

A massa específica aparente (ρ_a), uma das propriedades físicas de produtos agrícolas granulares, é definida como a relação entre a massa de determinada amostra e o volume por ela ocupado. Nesse caso, a massa total é representada pela soma das massas de matéria seca, ar intra e inter-granular e da água contida tanto no ar quanto nos grãos. O conhecimento da massa específica aparente de sementes é essencial no dimensionamento de componentes e planejamento de unidades de beneficiamento; em aplicações como a calibração de medidores indiretos do teor de água; na separação de material indesejável; na determinação da pureza de um lote de sementes; na separação e classificação das sementes e na determinação de suas propriedades dielétricas (CARLESSO et al., 2005).

I.2.1.4 Porosidade

Porosidade é a relação entre o volume ocupado pelo ar intergranular de determinado produto e o volume total ocupado por esta massa granular. O teor de água dos produtos agrícolas é um importante fator que determina a variação da porosidade dos grãos, pois grãos com maiores teores de água apresentam uma tensão superficial maior que grãos mais secos (SIQUEIRA et al., 2012).

De acordo com CAVALCANTI MATA & DUARTE (2002), o conhecimento da porosidade intergranular de um produto, entendido como uma das suas características físicas é de suma importância, pois ela está inserida no dimensionamento de várias estruturas como silos, containeres, caixas, embalagens, unidades transportadoras, além de estar presente dentro

dos estudos da transferência de calor e de massa, nos processos hidrodinâmicos, aerodinâmicos e termoelétricos, dentre outros não citados.

I.2.1.5 Esfericidade

A esfericidade é um fator que indica o quão próximo está a semente de uma esfera. É considerada um dos principais parâmetros a ser definido, ou seja, quanto mais próximos da unidade estiverem esses valores, mais próximo de uma esfera estará o grão em estudo. A esfericidade é a razão entre o diâmetro do maior círculo inscrito (d_i) e o diâmetro do menor círculo circunscrito (d_c) (DUARTE et al., 2006).

I.3. MATERIAL E MÉTODOS

O estudo das características físicas das sementes de romã e juá foram conduzidos nos Laboratórios de Propriedades Físicas e de Sementes do Laboratório de Armazenamento e Processamento de Produtos Agrícolas (LAPPA) da Unidade Acadêmica de Engenharia Agrícola, da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG – PB).

Utilizaram-se sementes (material ainda não padronizado pelas Regras para Análise de Sementes) de romã oriundas de frutos fisiologicamente maduros, adquiridos na Fazenda Águas do Tamanduá, no sertão paraibano de Sousa, PB (cidade que está a uma altitude média de 220 metros, com latitude – 06 ° 45' 33'', longitude 38° 13' 41'' e uma área que abrange 765,0 km²), coletadas no período de janeiro de 2012. Já as sementes de juá revestidas de endocarpo são oriundas de frutos de juá coletados no Campus da UFCG na cidade de Campina Grande, PB (cidade que está a uma altitude média de 551 metros, com latitude – 07 ° 13' 50'', longitude 35° 52' 52'' e uma área que abrange 599,6 km²), entre maio e julho de 2012, sendo coletados diretamente da árvore quando iniciaram a queda espontânea.

O teor de água inicial das sementes foi determinado a partir do método padrão da estufa a 105 ± 3 °C, utilizando quatro sub-amostras de 5g de sementes acondicionadas em recipientes metálicos, onde permaneceram durante 24 h. Após esse período, foram retirados da estufa, tampados rapidamente, resfriados em dessecador durante 15 minutos e pesados em balança analítica com precisão de 0,0001g, como prescrito nas Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009).

Após a determinação do teor de água inicial, sementes de romã e juá foram secas ou umedecidas até que atingissem os teores de água estabelecidos para os diferentes ensaios das características físicas (6, 9, 12, e 15% b.u. \pm 0,2%). Como as sementes de romã tinham um teor de água inicial de aproximadamente 10,6% b.u., foi feita uma secagem para a obtenção dos teores de 6 e 9% b.u. e um umedecimento para a obtenção dos teores de 12 e 15% b.u. As sementes de juá foram extraídas dos frutos com teor de água elevado (15,86% b.u.) e em seguida, foram submetidas à dessorção na temperatura de 40 °C até atingirem os teores de água desejados.

I.3.1. Características físicas das sementes

I.3.1.1 Massa de mil sementes

Essa determinação foi realizada através da pesagem de lotes de 1000 unidades de sementes de romã e sementes de juá revestidas de endocarpo, as quais tiveram a biomassa fresca determinada através da pesagem em balança semi-analítica (Mod. BS 3000A).

I.3.1.2 Dimensões mutuamente perpendiculares

Para cada nível de teor de água avaliado realizaram-se determinações das dimensões referentes ao comprimento (a), largura (b) e espessura (c) de 30 sementes de romã e sementes de juá revestidas de endocarpo escolhidas aleatoriamente, as quais foram determinadas com o auxílio de um paquímetro digital, marca Mitutuyo com resolução de 0,01mm.

I.3.1.3 Volume por deslocamento de massa (V_R)

A determinação do volume individual das sementes foi realizada pelo método do deslocamento de água, em balança analítica, e calculado utilizando a Equação I-1:

$$V_R = \frac{\text{massa de fluido deslocado (kg)}}{\text{massa específica do fluido (kg.m}^{-3}\text{)}} \quad (I - 1)$$

Onde:

V_R – volume, m⁻³.

I.3.1.4 Massa específica real (ρ_r)

A massa específica real das sementes foi determinada pelo método do deslocamento de líquidos. Conhecendo-se o volume, de acordo com metodologia descrita no item I.3.1.3, a massa específica foi obtida diretamente pela Equação I-2:

$$\rho_r = \frac{m}{V_r} \quad (I - 2)$$

Onde:

ρ_r - massa específica real, kg.m⁻³

m - massa, kg

V_r - volume (volume real, sem considerar a porosidade intergranular), m³.

I.3.1.5 Massa específica aparente (ρ_a)

A massa específica aparente foi determinada pela relação entre a massa de certa quantidade do produto e o volume que esta quantidade ocupa (volume do recipiente), sendo calculada pela Equação I-3:

$$\rho_a = \frac{m}{V_a} \quad (I - 3)$$

Onde:

ρ_a - massa específica aparente, kg.m⁻³

m - massa das sementes que ocupam um certo recipiente, kg

V_a - volume do recipiente que contém a amostra de sementes, m³.

I.3.1.6 Porosidade (ε)

A porosidade dos grãos foi determinada para cada repetição, nos quatro níveis de teor de água, utilizando-se a relação apresentada na Equação I-4:

$$\varepsilon = \left[1 - \left(\frac{\rho_a}{\rho_r} \right) \right] \times 100 \quad (I - 4)$$

Onde:

ε - porosidade da massa granular, %

ρ_a - massa específica aparente, kg.m^{-3}

ρ_r - massa específica real ou unitária, kg.m^{-3} .

I.3.1.7 Esfericidade (φ)

A esfericidade das sementes foi determinada com base na média geométrica dos três eixos perpendiculares (comprimento, largura e espessura) ao corpo em relação ao maior eixo (comprimento), de acordo com a Equação I-5:

$$\varphi = \frac{[(a \cdot b \cdot c)^{\frac{1}{3}}]}{a} \times 100 \quad (\text{I} - 5)$$

Onde:

φ - esfericidade, %

a - maior eixo da semente, cm

b - eixo intermediário da semente, cm

c - menor eixo da semente, cm.

I.3.1.8 Análise estatística

Os dados obtidos nos procedimentos experimentais foram submetidos à análise de regressão, sendo selecionado o modelo matemático mais adequado para expressar a relação entre as características físicas e o teor de água das sementes de romã e sementes de juá revestidas de endocarpo. Aos dados experimentais de dimensões mutuamente perpendiculares, massa individual, volume individual, massa específica real, porosidade e esfericidade foi ajustado o modelo matemático linear, utilizando o programa computacional STATISTICA, versão 7.0. Utilizou-se como critério para a determinação do melhor ajuste das equações aos dados experimentais o coeficiente de determinação (R^2).

I.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela I.1 encontram-se os quatro níveis de teor de água utilizados no trabalho, expressos em base úmida (X_{bu}) e a massa de mil sementes correspondente a cada nível, expresso em gramas. Nota-se que houve uma diminuição da massa de mil sementes (32,57 a 29,80g) para as sementes de romã e de (542,70 a 495,30g) para as sementes de juá revestidas de endocarpo à medida que foi diminuído o teor de água das mesmas. A relação linear da massa de mil sementes com os teores de água analisados apresentaram coeficiente de determinação (R^2) variando de 99,91 a 99,98%, respectivamente. Estes resultados encontram concordância com RESENDE et al. (2008) que estudando o efeito da variação do teor de água na massa de 1000 grãos de feijão da cultivar Vermelho Coimbra, verificaram que com a redução do teor de água de 0,45 a 0,11 (b.s.), a massa de 1000 grãos variou de 0,31 a 0,23 kg.

Tabela I.1 - Teor de água das sementes de romã e sementes de juá revestidas de endocarpo em base úmida (X_{bu}) e massa de mil sementes nos quatro níveis avaliados.

Romã		Juá	
Teor de água - X_{bu} (%)	1000 Sementes (g)	Teor de água - X_{bu} (%)	1000 Sementes (g)
6,17	29,80	6,09	495,30
9,03	30,79	9,11	510,60
12,10	31,63	12,30	526,40
15,09	32,57	15,00	542,70

Nas Figuras I.2 (A;B) encontram-se os valores médios dos eixos ortogonais característicos (a, b e c) para as sementes de romã e sementes de juá revestidas de endocarpo nos teores de água estudados. Verifica-se a existência de uma redução do tamanho das sementes com a diminuição do teor de água. A redução do tamanho deve-se ao processo de secagem, no qual ocorre a contração das sementes.

Ainda, nota-se à relação linear entre o comprimento, a largura e a espessura das sementes com os teores de água que apresentam coeficientes de determinação (R^2) de 99,98%, 99,92% e 99,97% para as sementes de romã e 99,99%, 99,97% e 99,96% respectivamente, para as sementes de juá revestidas de endocarpo. Resultados semelhantes foram encontrados por OLIVEIRA NETO et al. (2010) que estudando as propriedades físicas de sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) variedade “emgopa 201 - Ouro” verificaram que as três dimensões axiais (a, b e c) reduziram proporcionalmente com a diminuição do teor de água, confirmando os valores obtidos nesse trabalho.

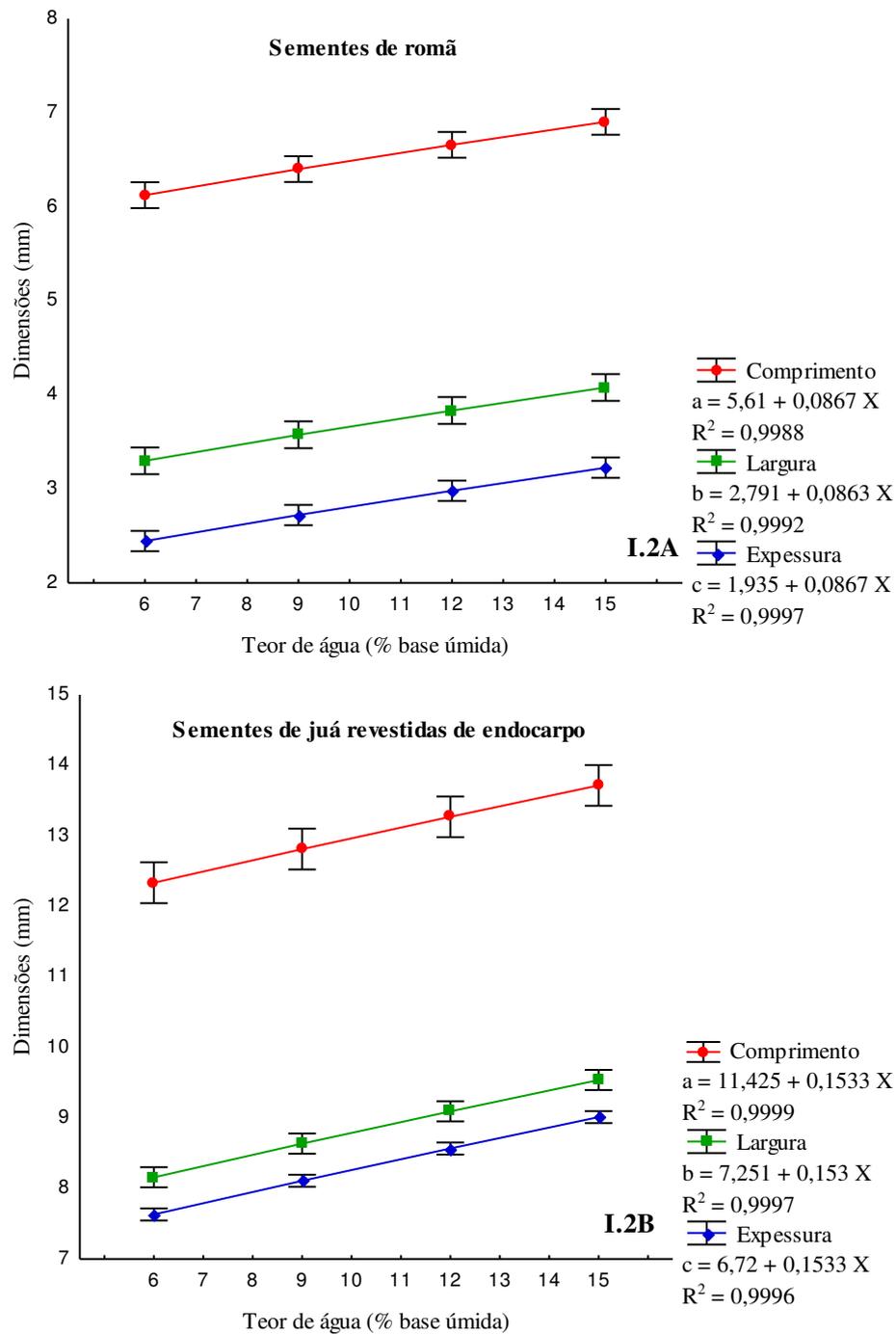


Figura I.2 - Características referentes ao comprimento, largura e espessura das sementes de romã (I.2A) e sementes de juá revestidas de endocarpo (I.2B) em função do teor de água.

Os valores experimentais da massa individual das sementes de romã e sementes de juá revestidas de endocarpo nos teores de água estudados são apresentados nas Figuras I.3 (A;B). Os valores variaram entre 0,0262 a 0,0286g na faixa de teor de água de 6,17 a 15,09% (b.u.) para as sementes de romã e 0,5346 a 0,5857g na mesma faixa de teor de água para as

sementes de juá revestidas de endocarpo. Observa-se ainda que a massa individual das sementes aumenta com a elevação do teor de água, comportamento já esperado.

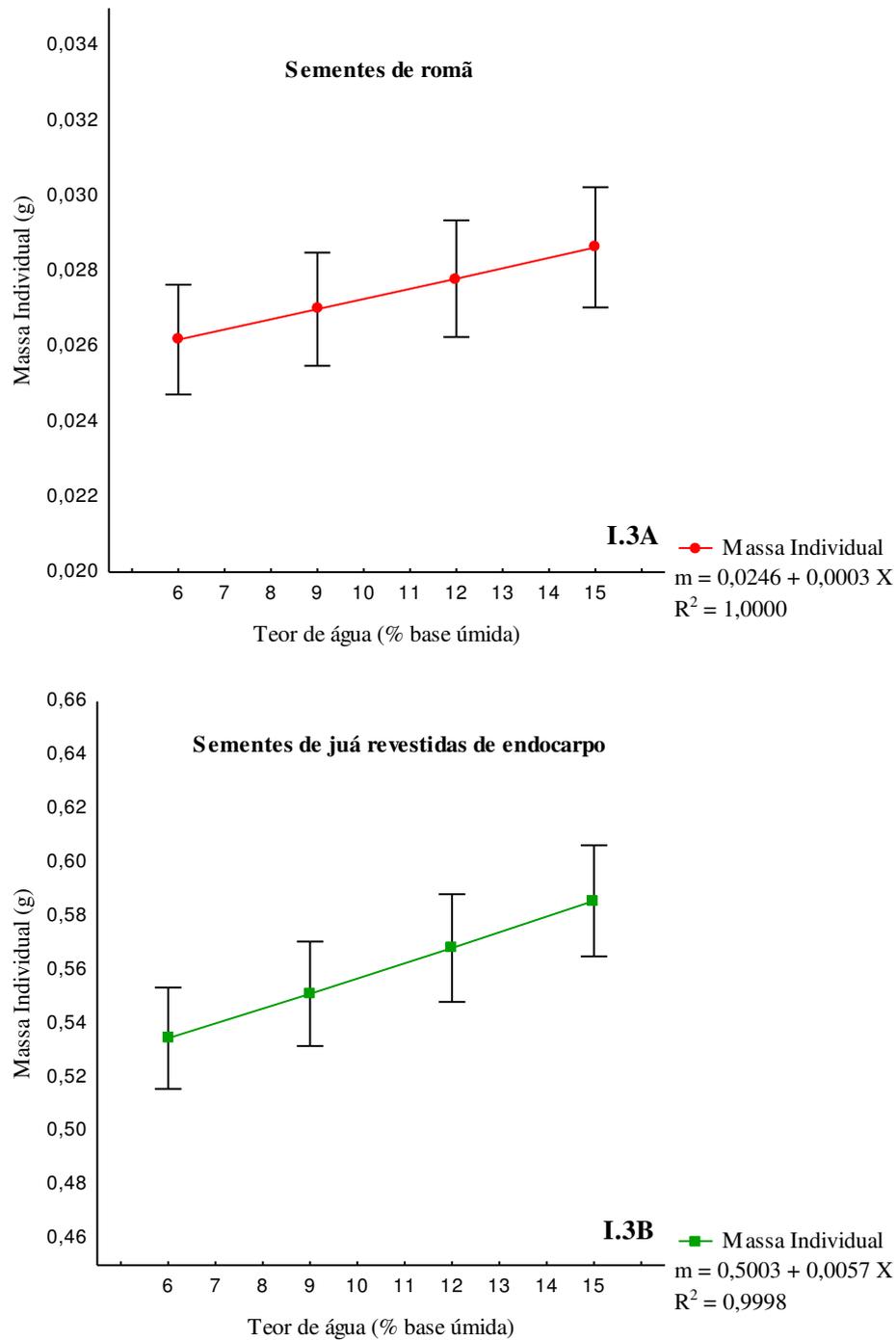


Figura I.3 - Massa individual das sementes de romã (I.3A) e sementes de juá revestidas de endocarpo (I.3B) em função do teor de água.

Encontram-se, nas Figuras I.4 (A;B), os valores referentes ao volume individual das sementes em função do teor de água.

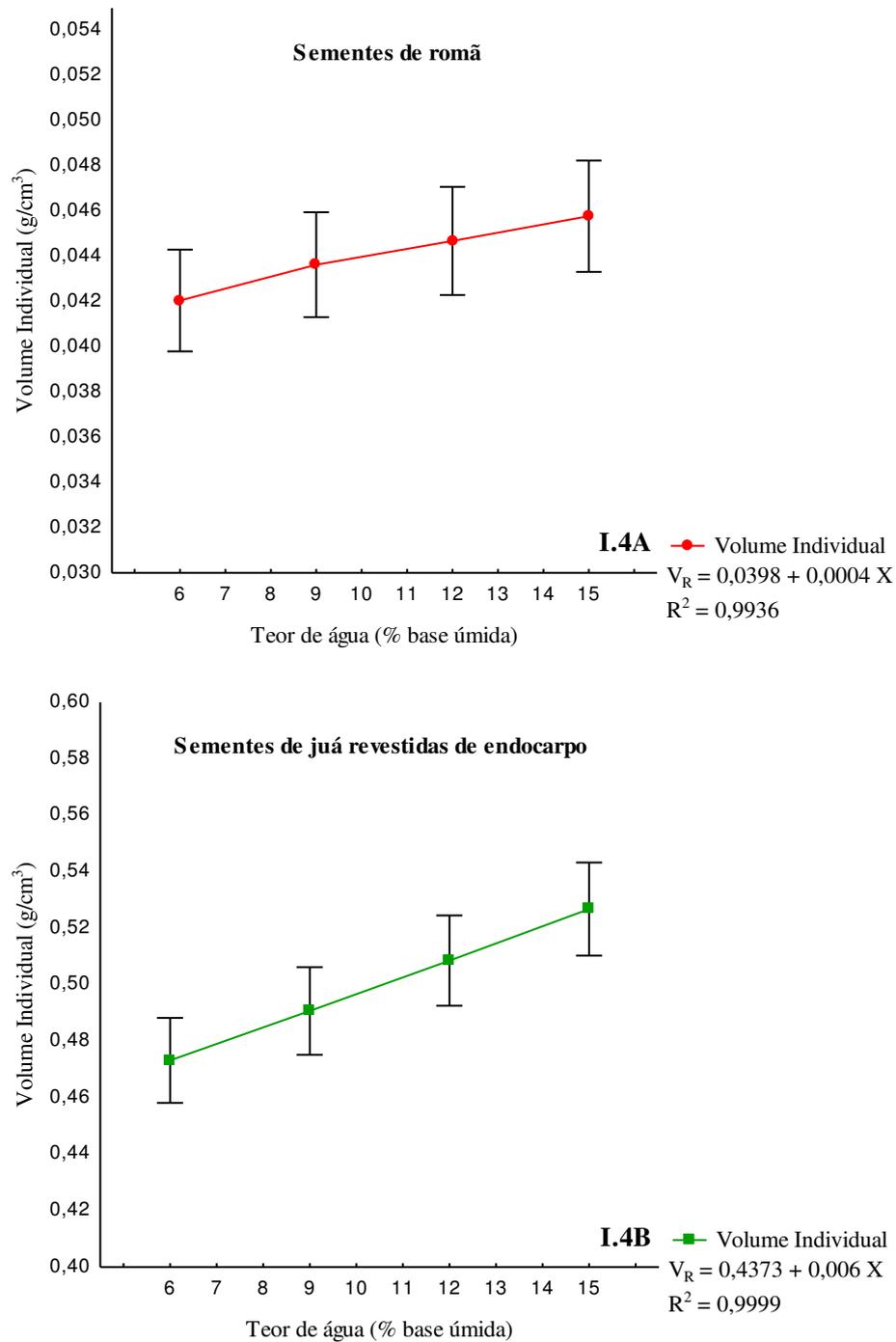


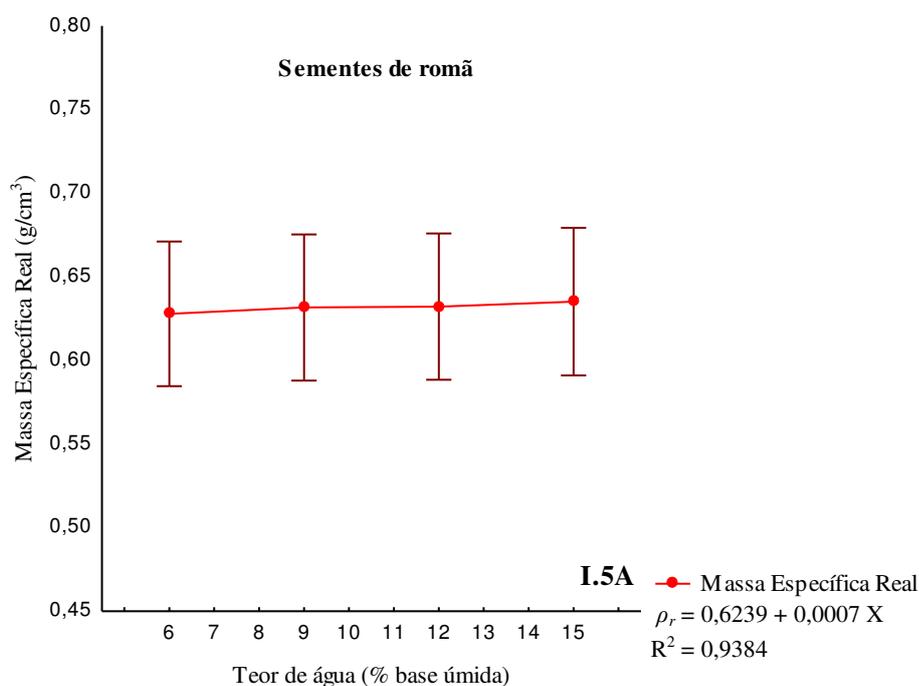
Figura I.4 - Volume individual das sementes de romã (I.4A) e sementes de juá revestidas de endocarpo (I.4B) em função do teor de água.

Pode-se observar que o volume individual aumenta linearmente com aumento do teor de água, com valores variando entre 0,0421 a 0,0458 g.cm³ para as sementes de romã e 0,4732 a 0,5268 g.cm³ para sementes de juá revestidas de endocarpo, comportamento este

semelhante ao encontrado por GAMA (2011) ao estudar as propriedades físicas de sementes de frutas tropicais.

MARCOS FILHO (2005) relata que as partes das sementes embebem-se em velocidades distintas, ocorrendo maior absorção pelo eixo embrionário, onde acontecem intensas divisões celulares. O volume do eixo embrionário e a composição química dos tecidos de reserva determinam maior ou menor proporção de absorção de água pela semente.

Os valores de massa específica aparente das sementes de romã variaram de 0,4134 a 0,4175g.cm⁻³ e os de massa específica real (Figura I.5A) de 0,6279 a 0,6351g.cm⁻³ para uma faixa de teor de água entre 6,17 e 15,09%. Observa-se um decréscimo da massa específica aparente e real e com a diminuição do teor de água cujos coeficientes de determinação foram de 98,27 e 93,84%. Já as sementes de juá revestidas de endocarpo apresentaram valores de massa específica aparente variando de 0,5358 a 0,5412g.cm⁻³ e massa específica real (Figura I.5B) variando de 1,1295 a 1,1116g.cm⁻³ para a faixa de teor de água entre 6,05 a 15%, observando um aumento da massa específica real com a diminuição do teor de água, com coeficientes de determinação de 94,67 e 99,80%. Em estudos realizados por GONELI et al. (2008), utilizando sementes de mamona (*Ricinus communis* L.) verificou-se um decréscimo da massa específica aparente com a redução do teor de água, os quais encontram concordância com os resultados obtidos nesse trabalho.



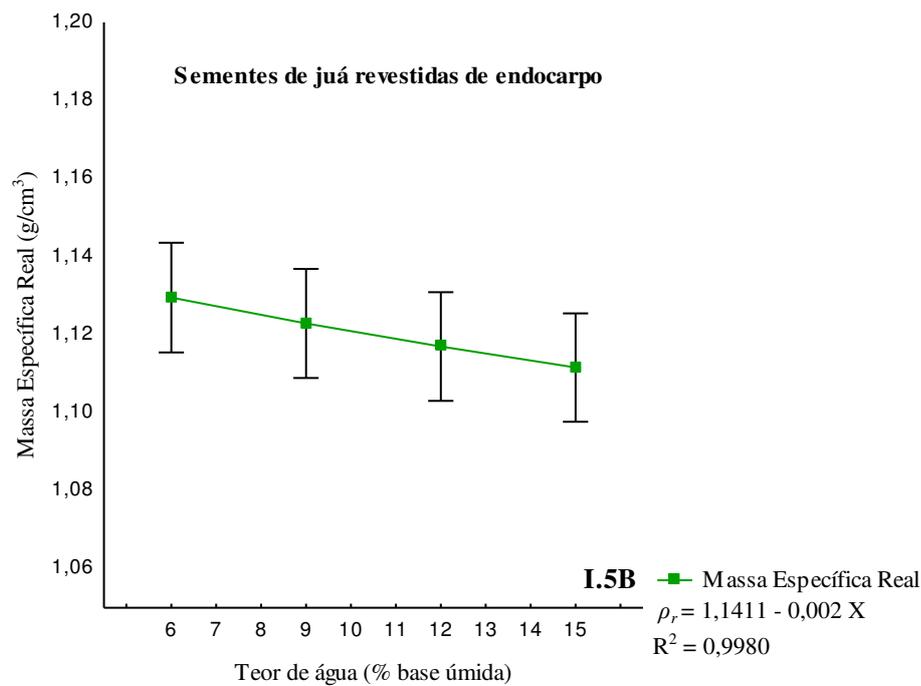


Figura I.5 - Massa específica real das sementes de romã (I.5A) e sementes de juá revestidas de endocarpo (I.5B) em função do teor de água.

Os valores médios da porosidade em função do teor de água estão expressos nas Figuras I.6 (A;B). A porosidade apresentou, para as sementes de romã, valores entre 31,87 a 32,59% na faixa de teor de água estudada (Figura I.6A). GAMA (2011) também constatou o mesmo comportamento linear para a porosidade das sementes de frutas tropicais, as quais apresentaram redução dos seus valores com a diminuição do teor de água, com porosidade da massa de sementes de cajá variando entre 68,54 a 77,61% para faixa de teor de água de 5,2 a 62,9% (b.u.); na massa de sementes de graviola os valores variaram entre 63,82 a 73,91% para faixa de teor de água de 44,26 a 63,27% (b.u.); na massa de sementes de tamarindo os valores variaram entre 50,24 a 54,78% para faixa de teor de água de 11,5 a 15,89% (b.u.) e na massa de sementes de umbu os valores variaram entre 63,41 a 86,40% para faixa de teor de água de 25,37 a 56,38% (b.u.).

A porosidade da massa de sementes de juá revestidas de endocarpo (Figura I.6B) apresentaram valores variando entre 52,51 a 51,26% numa faixa de teor de água entre 6,09 a 15% (b.u.). COUTO et al. (1999) também constataram o mesmo comportamento para as sementes de café, observando que há uma diminuição da porosidade com o aumento do teor de água. De acordo com MELO et al. (2007) a variação da porosidade com o teor de água é uma característica intrínseca de cada produto, aumentando ou diminuindo como o aumento do

teor de água, devido a textura e a composição do material que constitui a casca deste produto, fato este que pode ser constatado nesse estudo. Todavia, a relação da porosidade com o teor de água é sempre linear.

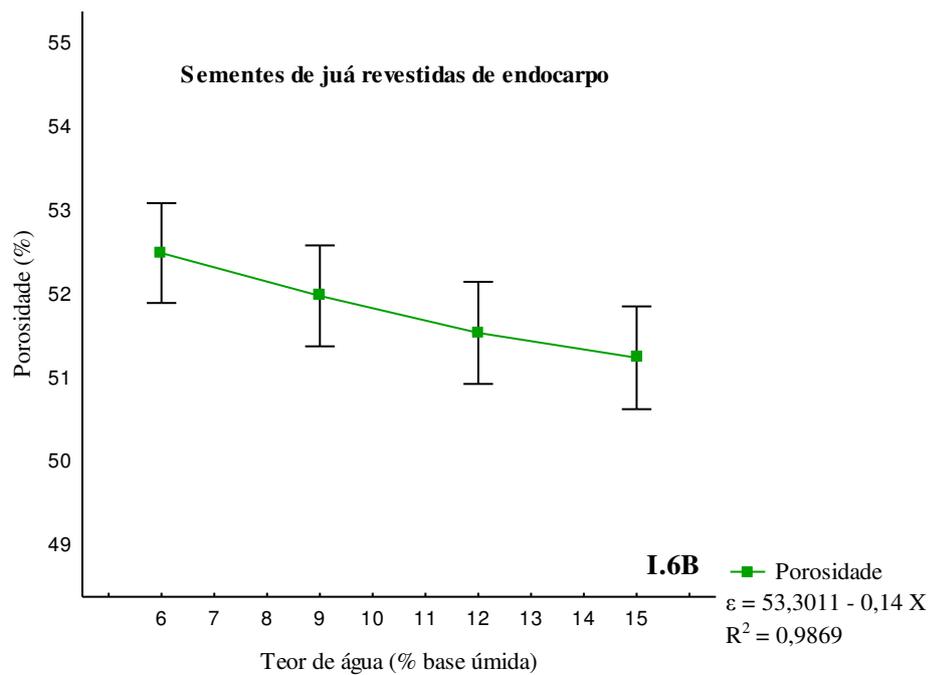
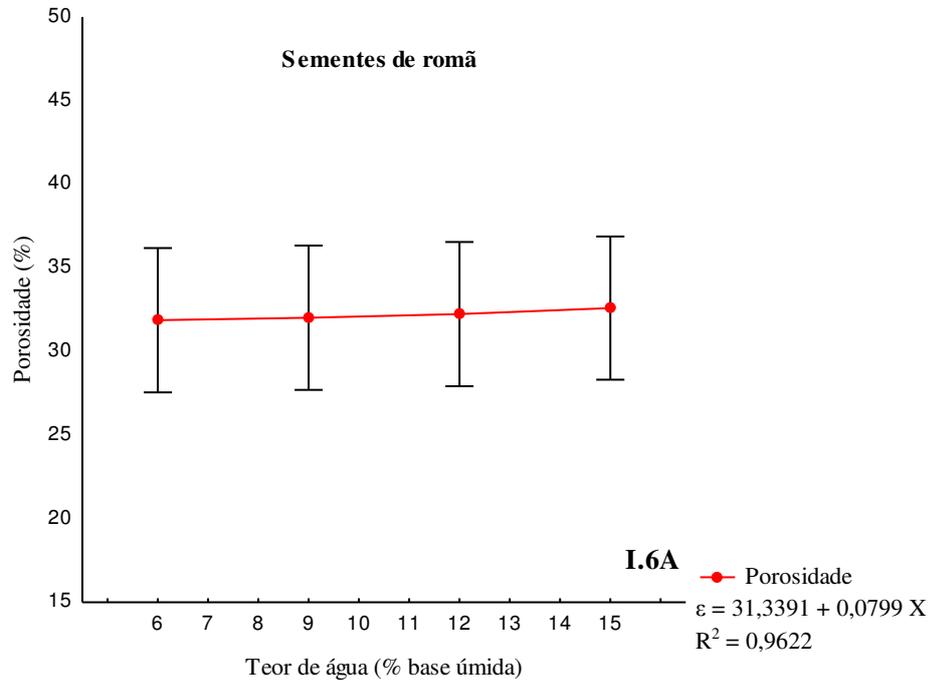


Figura I.6 - Porosidade das sementes de romã (I.6A) e sementes de juá revestidas de endocarpo (I.6B) em função do teor de água.

Os valores experimentais da esfericidade das sementes de romã e sementes de juá revestidas de endocarpo em função do teor de água (b.u.) são apresentados nas Figuras I.7 (A;B).

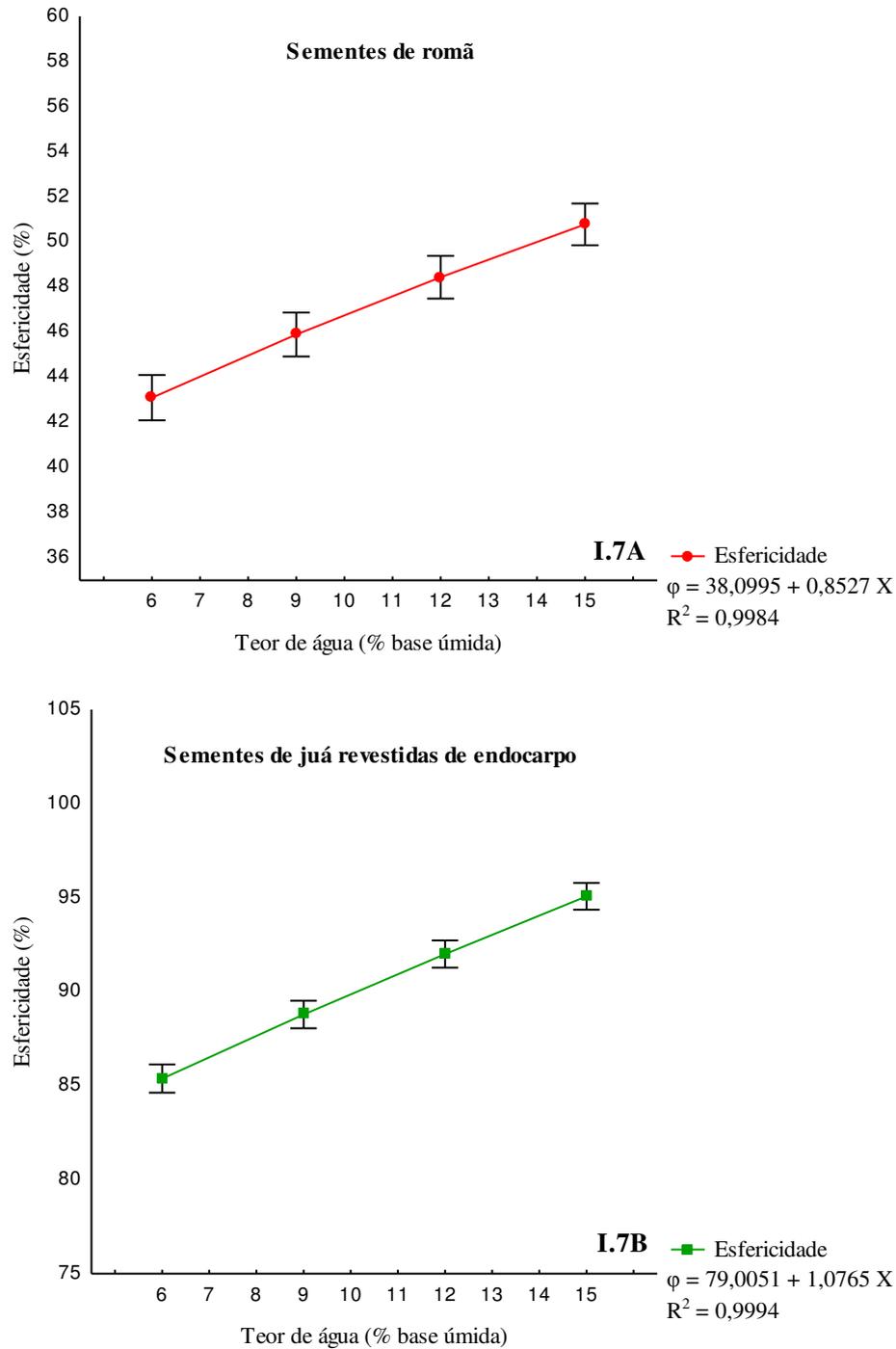


Figura I.7 - Esfericidade das sementes de romã (I.7A) e sementes de juá revestidas de endocarpo (I.7B) em função do teor de água.

Os valores da esfericidade das sementes de romã (Figura I.7A) variaram entre 43,10 a 50,78% para a faixa de teor de água estudada, com coeficiente de determinação de 99,84%. Apresentando comportamento similar, as sementes de juá revestidas de endocarpo (Figura I.7B) apresentaram valores de esfericidade variando de 85,38 a 95,07% para a faixa de teor de água de 6,09 a 15%, e coeficiente de determinação de 99,94%. Estes resultados encontram concordância com os valores apresentados por GAMA (2011), com o comportamento semelhante às sementes de graviola e umbu observando um aumento da esfericidade com o aumento do teor de água.

I.5. CONCLUSÕES

O comprimento, a largura e a espessura das sementes de romã e sementes de juá revestidas de endocarpo aumentam com o acréscimo do teor de água.

O modelo linear representa satisfatoriamente as propriedades físicas das sementes de romã e sementes de juá revestidas de endocarpo.

A porosidade da massa de sementes de juá revestidas de endocarpo apresenta um aumento linear dos seus valores com a diminuição do teor de água, enquanto que a porosidade das sementes de romã diminui com a redução do teor de água.

Os valores da esfericidade aumentam linearmente com o acréscimo teor de água.

I.6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes** / Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. – Brasília : Mapa/ACS, 2009, 398p.

CARLESSO, V. O.; BERBERT, P. A.; SILVA, R. F.; MOLINA, M. B.; OLIVEIRA, M. T. R. Massa específica aparente de sementes de mamão *Carica papaya L.* do cultivar golden em função do teor de água. **Papaya Brasil**, 2005.

CARVALHO, P. E. R. **Juazeiro, *Ziziphus joazeiro***: taxonomia e nomenclatura. Colombo: EMBRAPA Florestas, 2007. 8p. (Circular Técnica, 139). Disponível em:

<<http://www.cnpf.embrapa.br/publica/circtec/edicoes/Circular139.pdf>>. Acesso em: 05 mar. 2012.

CAVALCANTI MATA, M. E. R. M.; DUARTE, M. E. M. Porosidade intergranular de produtos agrícolas. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v.4, n.1, p.79-93, 2002.

COUTO, S. M.; MAGALHÃES, A. C.; QUEIROZ, D. M.; BASTOS, I. T. Massa específica aparente e real e porosidade de grãos de café em função do teor de umidade. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.3, n.1, p.61-68, 1999.

DUARTE, M. E. M.; CAVALCANTI MATA, M. E. R. M., ALMEIDA, F. A. C. Características físicas das sementes. In: ALMEIDA, F. A. C.; DUARTE, M. E. M.; CAVALCANTI MATA, M. E. R. M. (ed). **Tecnologia de armazenamento em sementes**, 2006. Campina Grande: UFCG, cap.5, p.191-297.

ELIAS, M. C. **Pós-colheita de arroz: secagem, armazenamento e qualidade**. Pelotas: UFPEL, 2007. 402p.

ERCISLI, S. Ashort review of the fruit germplasm resources of Turkey. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v.51, p.419-435, 2004.

ERCISLI, S.; ORHAN, E.; OZDEMIR, O.; SENGUL, M. The genotypic effects on the chemical composition and antioxidant activity of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) berries grown in Turkey. **Scientia Horticulturae**, v.115, n.1, p.27-33, 2007.

GAMA, M. J. A. **Propriedades termofísicas de sementes de frutas tropicais**. Tese (Doutorado em Engenharia de Processos). Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Ciências e Tecnologia, Campina Grande, 2011. 354p.

GONELI, A. L. D. **Variação das propriedades físico-mecânicas e da qualidade da mamona (*Ricinus communis* L.) durante a secagem e o armazenamento**. Tese (Doutorado em Engenharia Agrícola). Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, 2008. 199p.

ISIK, E.; ISIK, H. The effect of moisture of organic chickpea (*Cicer arietinum* L.) grain on the physical and mechanical properties. **International Journal of Agricultural Research**, v.3, n.1, p.40-51, 2008.

KARABABA, E. Physical properties of popcorn kernels. **Journal of Food Engineering**, v.72, p.100-107, 2006.

KARIMI, M.; KHEIRALIPOUR, K.; TABATABAEEFAR, A.; KHOUBAKHT, G. M.; NADERI, M.; HEIDARBEIGI, K. The effect of moisture content on physical properties of wheat. **Pakistan Journal of Nutrition**, v.8, n.1, p.90-95, 2009.

LORENZI, H.; BACHER, L.; LACERDA, M.; SARTORI, S. **Frutas brasileiras e exóticas cultivadas: de consumo *in natura***. Nova Odessa: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2006. 672p.

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

MELO, K. S.; BEZERRA, M. C. T.; FERNANDES, T. K. S.; BRAGA, M. E. D. Determinação das propriedades físicas da semente de mamona. **Associação Brasileira de Educação Agrícola Superior - ABEAS**, v.22, n.2, p.54-58, 2007.

NIKOOBIN, M.; MIRDAVARDOOST, F.; KASHANINEJAD, M.; SOLTANI, A. Moisture dependent physical properties of chickpea seeds. **Journal of Food Process Engineering**, v.32, p.544-564, 2009.

OLIVEIRA NETO, M. C.; REIS, R. C.; DEVILLA, I. A. Propriedades físicas de sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) variedade “Emgopa 201 – Ouro”. **Revista Agrotecnologia**, v.1, n.1, p.99-110, 2010.

RESENDE, O.; CORREA, P. C.; GONELI, A. L. D.; RIBEIRO, D. M. Propriedades físicas do feijão durante a secagem: determinação e modelagem. **Ciência e Agrotecnologia**, v.32, n.1, p.225-230, 2008.

SIQUEIRA, V. C.; RESENDE, O.; CHAVES, T. H. Propriedades físicas dos frutos de pinhão manso durante a secagem. **Global Science and Technology**, v.5, n.1, p.83-92, jan-abr/2012.

SOLOMON, W. K.; ZEWDU, A. D. Moisture dependente physical properties of niger (*Guizotia abyssinica* Cass.) seed. **Industrial Crops and Products**, v.29, p.165-170, 2009.

PROTÓCOLOS DE CRIOPRESERVAÇÃO DE SEMENTES DE ROMÃ E JUÁ

CAPÍTULO II

**CINÉTICA DE CONGELAMENTO CRIOGÊNICO DE SEMENTES DE ROMÃ E
JUÁ**

PROTOSCOLOS DE CRIOPRESERVAÇÃO DE SEMENTES DE ROMÃ E JUÁ

CAPÍTULO II: CINÉTICA DE CONGELAMENTO CRIOGÊNICO DE SEMENTES DE ROMÃ E JUÁ

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi determinar as curvas de congelamento das sementes de romã e juá com teores de água de 6, 9, 12 e 15% base úmida $\pm 0,1\%$ nas temperaturas criogênicas de: nitrogênio líquido ($-196\text{ }^{\circ}\text{C}$) e no vapor do nitrogênio ($-170\text{ }^{\circ}\text{C}$), bem como determinar a difusividade térmica efetiva. Para obtenção das curvas de congelamento criogênico, utilizou-se para a temperatura de $-170\text{ }^{\circ}\text{C}$, o vapor de nitrogênio e, para a temperatura de $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$, as sementes foram submersas no nitrogênio líquido. Com o propósito de expressar o comportamento cinético do congelamento das sementes de romã e juá, foi usado o Modelo de Fourier levando-se em consideração o primeiro termo da série, além dos Modelos I e II de Cavalcanti Mata. Os resultados obtidos indicam que as curvas de congelamento criogênico são exponenciais e não se distinguem com clareza as três fases típicas, devido à velocidade de congelamento e um maior gradiente térmico a que estão expostas as sementes; os modelos I e II de Cavalcanti Mata descreve de forma satisfatória, o processo de cinética de congelamento para as temperaturas criogênicas estudadas, representando melhor os dados experimentais que o Modelo de Fourier; para os Modelos de Fourier e Modelo I de Cavalcanti Mata, a difusividade térmica aumenta com a diminuição do teor de água em todas as temperaturas. Já no Modelo II de Cavalcanti Mata não é possível extrair a difusividade térmica, mas se podem obter constantes de congelamento, que é função da temperatura e do teor de água do produto.

Palavras-chave: *Punica granatum* L., *Ziziphus joazeiro* Mart., congelamento criogênico, difusividade térmica.

ABSTRACT

The objective of this study was to determine the freezing curves of pomegranate seeds and *juá* seeds with water contents of 6, 9, 12 and 15% wet basis $\pm 0,1\%$ at cryogenic temperatures of: liquid nitrogen ($-196\text{ }^{\circ}\text{C}$) and nitrogen vapor ($-170\text{ }^{\circ}\text{C}$), well as to determine effective thermal diffusivity. To obtain cryogenic freezing curves, nitrogen vapor was used for the temperature of $-170\text{ }^{\circ}\text{C}$, and for a temperature of $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ the seeds were submerged in liquid nitrogen. With the purpose of expressing the kinetic behavior of freezing pomegranate seeds and *juá* seeds, was used the Fourier Model taking into consideration the first term of the series, in addition to Models I and II from Cavalcanti Mata. The results obtained indicate that the cryogenic freezing curves are exponential and do not clearly distinguish the three typical phases, due to freezing speed and a higher thermal gradient at which the seeds are exposed; the models I and II from Cavalcanti Mata describe satisfactorily the process of freezing kinetics for the cryogenic temperatures studied, representing the experimental data better than the Fourier Model; for the Fourier Models and Model I from Cavalcanti Mata, the thermal diffusivity increases with decreasing water content at all temperatures. Yet in Model II from Cavalcanti Mata is not possible to extract thermal diffusivity, but is possible to obtain freezing constants, which is a function of temperature and water content of the product.

Keywords: *Punica granatum* L., *Ziziphus joazeiro* Mart., cryogenic freezing, thermal diffusivity.

II.1. INTRODUÇÃO

A *Punica granatum* L. tem sido associada com um alto valor nutritivo e um grande número de benefícios para a saúde. É uma boa fonte de antioxidantes e vitaminas em que inclui a vitamina A, C e E, bem como ácido fólico. Essa fruta é composta de três vezes mais antioxidantes do que o vinho ou chá verde, podendo ser consumida diretamente como arilo fresco, assim como o suco fresco (AL-SAID et al., 2009). Diz-se ser a força motriz de saúde, sendo conhecida principalmente para curar os problemas relacionados ao coração e para manter a circulação do sangue eficaz e saudável. Outros benefícios de saúde incluem cura de doenças estomacais, câncer, atendimento odontológico, osteoartrite, anemia e diabetes (VIUDA-MERTOS et al., 2010).

O *Ziziphus joazeiro* Mart. é uma árvore de porte médio, possui ramos tortuosos com espinhos e copa verde durante o ano inteiro. Essa espécie é muito conhecida pelos seus frutos comestíveis e também devido às suas propriedades farmacológicas (SILVA et al., 2012). É uma planta rica em saponina, muito usada pela população local como expectorante no combate a bronquite e pela indústria farmacêutica na fabricação de xampus e dentifrício. Além disso, o juazeiro serve de alimento para o rebanho caprino durante a estação seca por apresentar-se sempre com folhas (LORENZI, 2008). Suas inflorescências surgem nas axilas foliares, sendo compostas por muitas flores amarelas e pequenas. O néctar é o principal recurso coletado pelos visitantes florais, entre eles vespas e abelhas nativas. As flores do juazeiro fornecem principalmente néctar para a manutenção das abelhas durante a estação seca. Por manter sua folhagem verde durante o ano inteiro, o juazeiro é muito utilizado em projetos de arborização visando o sombreamento (SILVA et al., 2012).

No tocante a conservação de sementes, vale ressaltar todas essas potencialidades das espécies em estudo, as quais representam uma fonte imensurável de recursos genéticos. Porém, grande parte desses recursos vem sendo destruídos de modo irreversível, antes mesmo de seu inteiro conhecimento, exigindo medidas urgentes de sua conservação. Para que as constantes pesquisas continuem sendo realizadas faz-se necessário à preservação das atuais cultivares em bancos de germoplasma, com o objetivo de fornecer matéria-prima para a engenharia genética ou para os programas de melhoramento vegetal, com a finalidade de criar novas cultivares mais produtivas para diversas condições edafoclimáticas e mais resistentes a pragas e doenças (ALMEIDA et al., 2010).

Um dos processos indispensáveis à preservação dessas espécies no banco de germoplasma é o congelamento do material genético que pode variar da temperatura de -20 °C

até temperaturas criogênicas, -196 °C. De acordo com CAVALCANTI MATA & DUARTE (2011) o congelamento a baixas temperaturas pode ser classificado em três nomenclaturas: congelamento convencional (lento), em que o processo ocorre em temperaturas variando de 0 a -60 °C; congelamento semicriogênico (rápido), cujo processo ocorre nas temperaturas entre -60 a -130 °C e congelamento criogênico (ultra-rápido) com temperaturas variando entre -130 a -196 °C.

No processo de crioconservação é imprescindível conhecer as características da cinética de congelamento das sementes, uma vez que possibilita determinar os tempos necessários para que as sementes possam ser congeladas em diferentes temperaturas podendo-se determinar sua difusividade térmica efetiva, que é a propriedade física deste produto biológico que estabelece como a energia se propaga da parte externa até o interior do produto (BONOMO et al., 2009; BARBIN et al., 2010).

Durante o congelamento, primeiramente é removido o calor sensível para diminuir a temperatura de um material biológico até o ponto de congelamento. Uma quantidade substancial de energia é, portanto, necessária para remover o calor latente, formar os cristais de gelo e congelar as sementes. O calor latente de outros componentes do alimento deve ser removido antes que solidifiquem, mas na maioria dos alimentos, esses componentes estão presentes em pequenas quantidades e é necessária a remoção de uma quantidade relativamente pequena de calor para que a cristalização aconteça (FELLOWS, 2006).

Assim, o objetivo deste trabalho foi determinar as curvas de congelamento das sementes de romã e sementes de juá revestidas de endocarpo com teores de água de 6, 9, 12 e 15% base úmida \pm 0,1% nas temperaturas criogênicas de: nitrogênio líquido (-196 °C) e no vapor do nitrogênio (-170 °C), bem como determinar a difusividade térmica efetiva.

II.2. REVISÃO DE LITERATURA

O processo de congelamento dos sistemas biológicos segue de maneira muito distinta do congelamento de soluções físicas. A principal diferença resulta da constituição dos tecidos dos produtos. Os sucos celulares estão suspensos e inclusos no interior de uma membrana celular que possui propriedades especiais. Por se tratar também de um ser vivo, durante o congelamento segue ocorrendo os processos biológicos. Neste caso, o processo de congelamento provoca a destruição das estruturas do tecido e a inibição do desenvolvimento

dos processos biológicos, além das manifestações normais que são específicas das soluções (CAVALCANTI MATA, 2008).

SANTOS (2000) explica que quando a velocidade de congelamento ocorre lentamente, a célula do organismo biológico super congela e então perde água porque a pressão de vapor da água no meio intracelular excede aquela do exterior congelado e, com a redução progressiva da temperatura, a água se difunde do interior das células para a solução extracelular e é convertida em gelo na superfície das células ou entre o protoplasto e a parede celular. Como resultado, a concentração da solução celular aumenta e a célula perde o turgor, este fenômeno é chamado de desidratação induzida por congelamento (“freeze-induced desiccation”).

Quando o potencial hídrico das células parcialmente hidratadas se iguala àquele do gelo extracelular, um equilíbrio é estabelecido e a desidratação adicional não ocorrerá, contanto que a temperatura permaneça constante. No entanto, se a célula é congelada rapidamente, a desidratação por congelamento não ocorre e, eventualmente, a solução intracelular, que contém alto teor de água livre, se congela, formando cristais de gelo que, por sua vez, causam injúria às células (SANTOS, 2000).

Na cristalização ou formação de fase sólida organizada sistematicamente a partir de uma solução, podem-se distinguir duas etapas: a nucleação e o crescimento dos cristais. Durante o congelamento, essas duas etapas são ocultadas no tempo, mas é possível controlar a velocidade relativa de cada uma delas e, dessa forma, modificar as características do sistema final (PEREDA et al., 2005).

GOLDFARB et al. (2010) observaram, em estudos realizados com sementes de pinhão manso, que as sementes congeladas em nitrogênio na fase de vapor, a $-170\text{ }^{\circ}\text{C}$, alcançaram a temperatura de equilíbrio num tempo de 220 segundos; já as sementes imersas em nitrogênio líquido a $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$, o tempo para ocorrer o congelamento foi de 200 segundos; nessa perspectiva conclui-se que, quanto maior o gradiente térmico a que o produto está exposto, maior também velocidade de congelamento.

II.3. MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos no Setor de Criogenia do Laboratório de Armazenamento e Processamento de Produtos Agrícolas (LAPPA) da Unidade Acadêmica de Engenharia Agrícola, da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG – PB).

Utilizaram-se sementes de romã (material ainda não padronizado pelas Regras para Análise de Sementes) oriundas de frutos fisiologicamente maduros, adquiridos na Fazenda Águas do Tamanduá, no sertão paraibano de Sousa, PB (cidade que está a uma altitude média de 220 metros, com latitude – 06 ° 45’ 33’’, longitude 38° 13’ 41’’ e uma área que abrange 765,0 km²), coletadas no período de janeiro de 2012. Já as sementes de juá revestidas de endocarpo são oriundas de frutos de juá coletados no Campus da UFCG na cidade de Campina Grande, PB (cidade que está a uma altitude média de 551 metros, com latitude – 07 ° 13’ 50’’, longitude 35° 52’ 52’’ e uma área que abrange 599,6 km²), entre maio e julho de 2012, sendo coletados diretamente da árvore quando iniciaram a queda espontânea.

A determinação do teor de água inicial das sementes foi realizada a partir do método padrão da estufa a 105 ± 3 °C, utilizando quatro sub-amostras de 5g de sementes acondicionadas em recipientes metálicos, onde permaneceram durante 24 h. Após esse período, foram retirados da estufa, tampados rapidamente, resfriados em dessecador durante 15 minutos e pesados em balança analítica com precisão de 0,0001g, como prescrito nas Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009) e o resultado final expresso pela média aritmética em porcentagens das sub-amostras.

Após a determinação do teor de água inicial, sementes de romã e juá foram secas ou umedecidas até que atingissem os teores de água estabelecidos para os diferentes ensaios das curvas de congelamento (6, 9, 12, e 15% b.u. ± 0,1%). Como as sementes de romã tinham um teor de água inicial de aproximadamente 10,6% b.u., foi feita uma secagem para a obtenção dos teores de 6 e 9% b.u. e um umedecimento para a obtenção dos teores de 12 e 15% b.u. As sementes de juá foram extraídas dos frutos com teor de água elevado (15,86% b.u.) e em seguida, foram submetidas à secagem na temperatura de 40 °C até atingirem os teores de água desejados. A quantidade de água evaporada, em gramas, foi determinada de acordo com a seguinte expressão:

$$P_f = P_i \times \frac{100 - X_i}{100 - X_f} \quad (\text{II} - 1)$$

Onde:

P_f - peso final da amostra, g

P_i - peso inicial da amostra, g

X_i - teor de água inicial das sementes, % (b.u.)

X_f - teor de água desejada das sementes, % (b.u.).

No procedimento de secagem das sementes as amostras foram colocadas em uma Câmara, modelo MA 415/Marconi, a 40 °C, sendo os lotes de sementes pesados a cada duas horas até atingirem os pesos referentes aos teores de água desejados. Para o acréscimo do teor de água, as sementes foram umedecidas de forma uniforme em cesta de arame com quatro suportes em sua base; este material foi colocado no interior de uma bandeja plástica com água destilada em um nível em que alcance os suportes, sem atingir as sementes. Todo o material (bandeja e cesta com sementes) foram envolvidos por um saco plástico de alta densidade, vedado, e em seguida, levado a uma câmara de refrigeração com temperatura de 10 °C sendo pesados a cada hora, utilizando uma balança semi-analítica (Mod. BS 3000A) com precisão de 0,001g até atingir os pesos referentes aos teores de água desejados.

As sementes oriundas das operações de secagem e umedecimento e nos respectivos teores de água foram selecionadas manualmente, tomando por base as suas características físicas semelhantes como, tamanho e forma, além de aspecto saudável. Logo após, foram determinadas as dimensões de comprimento, largura e espessura de 30 sementes, com auxílio de um paquímetro digital, marca Mitutuyo com resolução de 0,01 mm.

Para proceder à tomada dos dados da evolução do processo de congelamento em função da temperatura e do tempo, efetuou-se um furo no centro geométrico de cada semente escolhida nos respectivos teores de água, o qual foi determinado através de valores de comprimento, largura e espessura de cada semente. Para monitoramento da temperatura no interior da semente, foi conectado um termopar a um registrador multicanal, e da mesma forma, outro termopar foi colocado no interior do ambiente em que se realizaram as leituras, ou seja, no vapor de nitrogênio (-170 °C) e no nitrogênio líquido (-196 °C), com o propósito de verificar a temperatura de equilíbrio, correspondente ao final do processo.

Para o estudo da cinética de congelamento das sementes de romã as leituras foram realizadas em intervalo de 1 segundo, até a conclusão o experimento; já as sementes de juá os dados foram registrados a cada 5 segundos. O término dos registros das temperaturas aconteceu quando o segundo termopar atingia a temperatura de congelamento em cada botijão criogênico. Dessa maneira, foram realizadas três repetições para cada teor de água, obtendo as curvas de congelamento nas temperaturas criogênicas em função do tempo.

Os modelos matemáticos utilizados para descrever a cinética de congelamento nos diversos teores de água (6, 9, 12 e 15%) foram os de Fourier, utilizando o primeiro termo da série, o Modelo I e Modelo II, proposto por Cavalcanti Mata (2012). Para execução dos tratamentos matemáticos, tomaram-se os valores experimentais das curvas de congelamento

das sementes das duas espécies, sendo obtido os parâmetros fator de atraso (J) e difusividade térmica (α), para o modelo de Fourier utilizando o 1º termo da série, de acordo com a Equação II-2:

$$RT = \frac{T - T_{\infty}}{T_o - T_{\infty}} = J \exp(k \cdot t) \quad (\text{II} - 2)$$

Em que:

$$J = 2 \frac{\text{Sen}\lambda - \lambda \cdot \text{Cos}\lambda}{\lambda - \text{Sen}\lambda \cdot \text{Cos}\lambda} \text{ (fator de atraso)}$$

$$k = \frac{\lambda^2 \cdot \alpha}{r^2}$$

Onde:

RT - razão de temperatura, adimensional

T - temperatura em cada momento, °C

T_{∞} - temperatura do meio de congelamento, °C

T_o - temperatura inicial do produto, °C

J - fator de atraso

k - coeficiente da cinética de congelamento

t - tempo, seg

λ - raiz da equação transcendental

α - difusividade térmica efetiva, $\text{mm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$

r - raio da esfera equivalente, mm.

O Modelo I de Cavalcanti Mata (2012) propõe uma equação derivada do modelo de Fourier, utilizando o 1º termo da série, no qual é realizado uma correção no tempo de ordem exponencial (N) e seu modelo pode ser escrito como:

$$RT = J' \exp\left(\frac{\lambda^2 \cdot \alpha}{r^2}\right) t^N \quad (\text{II} - 3)$$

Onde:

J' - fator de atraso, variando entre 1,001 e 1,006.

O Modelo II proposto por Cavalcanti Mata (2012) é um modelo empírico, onde o autor introduz coeficientes na cinética de congelamento, de maneira que exista uma mudança de curvatura no comportamento cinético, podendo ser escrito como:

$$RT = A_1 + \frac{A_2 - A_1}{1 + \exp((A_3 - t) \cdot A_4)} \quad (\text{II} - 4)$$

Onde:

A_1, A_2, A_3 e A_4 - coeficientes da equação de congelamento.

Com os dados de razão de temperatura em função do tempo, foi realizada uma análise de regressão não linear, pelo método Quasi-Newton através do programa computacional STATISTICA, versão 7.0. Para cada modelo foram considerados o coeficiente de determinação (R^2) e o erro médio relativo (P), sendo calculado de acordo com a seguinte expressão:

$$P = \frac{100}{n} \sum_{i=1}^n \frac{|(RT_{exp} - RT_{pre})|}{RT_{exp}} \quad (\text{II} - 5)$$

Onde:

P - erro médio relativo, %

RT_{pre} - razão de temperatura predita pelo modelo

RT_{exp} - razão de temperatura experimental

n - número de observações do experimento.

II.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O comportamento cinético do congelamento das sementes de romã e juá, nas temperaturas criogênicas encontram-se nas Figuras II.1 a II.6, respectivamente, para os Modelos de Fourier, Modelo I e II de Cavalcanti Mata (2012). Nas curvas de congelamento das sementes por imersão no vapor de nitrogênio (-170 °C) e em nitrogênio líquido (-196 °C), não se distingue com clareza as três fases típicas do congelamento devido à velocidade de processo e um maior gradiente térmico a que estão expostas as sementes, além do baixo teor de água.

COELHO (2006) estudando as curvas de congelamento de sementes de algodão em diferentes teores de água salienta que, as curvas nas temperaturas criogênicas para este produto não apresentavam as três fases típicas de congelamento. As três fases distintas são: a Fase 1 que corresponde ao resfriamento do produto, e vai, da temperatura ambiente até o

início da temperatura de congelamento desse produto, é caracterizado por uma típica curva exponencial. A Fase 2 é constituída pelo congelamento do produto. Nesta fase a fração de água na forma líquida ou na forma vapor, absorve a energia para formar os cristais de gelo, e a curva característica é praticamente uma reta com pequena inclinação. E na Fase 3 a curva característica volta a ser uma exponencial, que corresponde ao pós congelamento do produto.

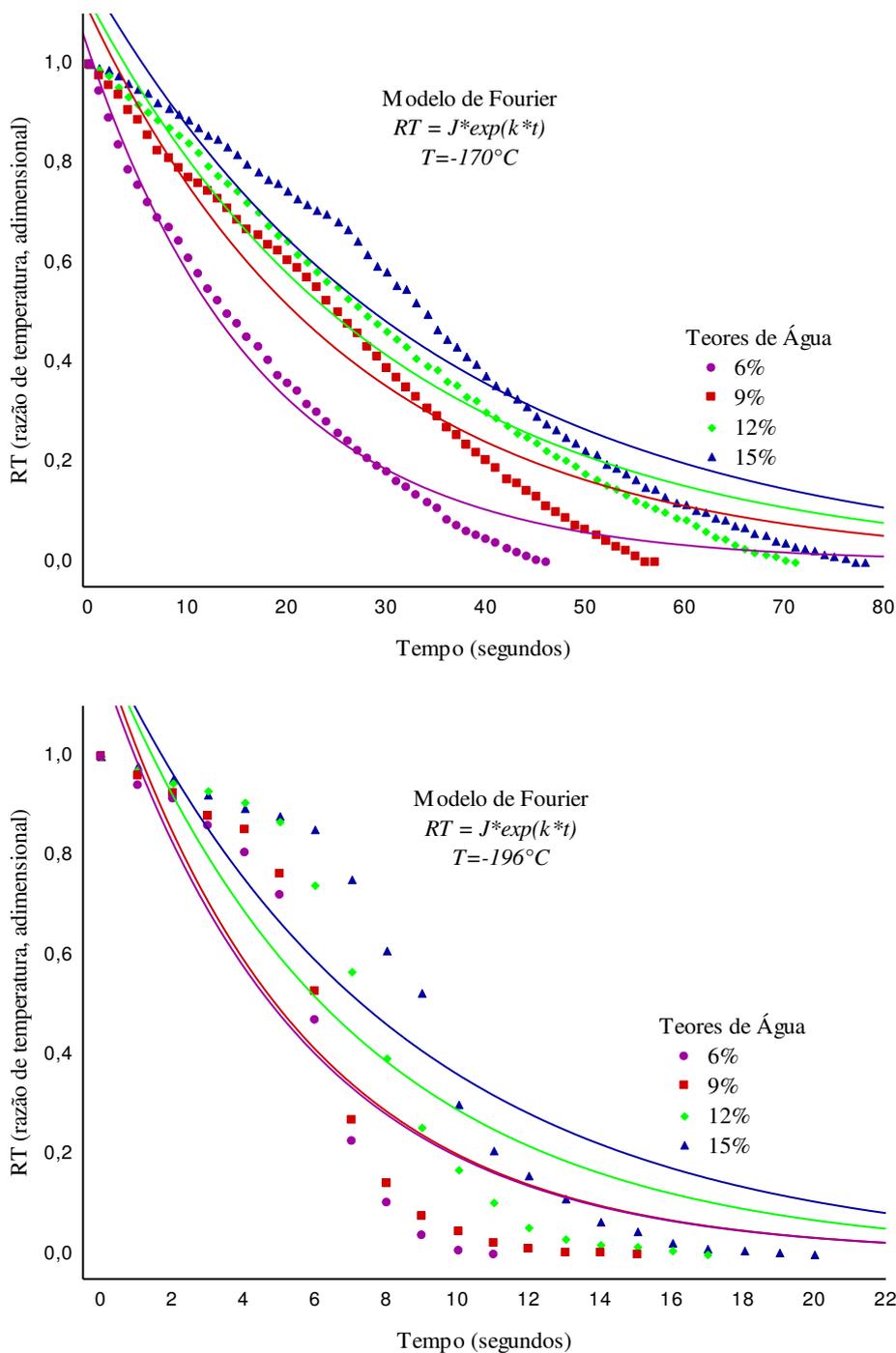


Figura II.1 - Dados experimentais e calculados pelo Modelo de Fourier com o 1º termo da série, das curvas de congelamento de sementes de romã nas temperaturas de -170 e -196 °C.

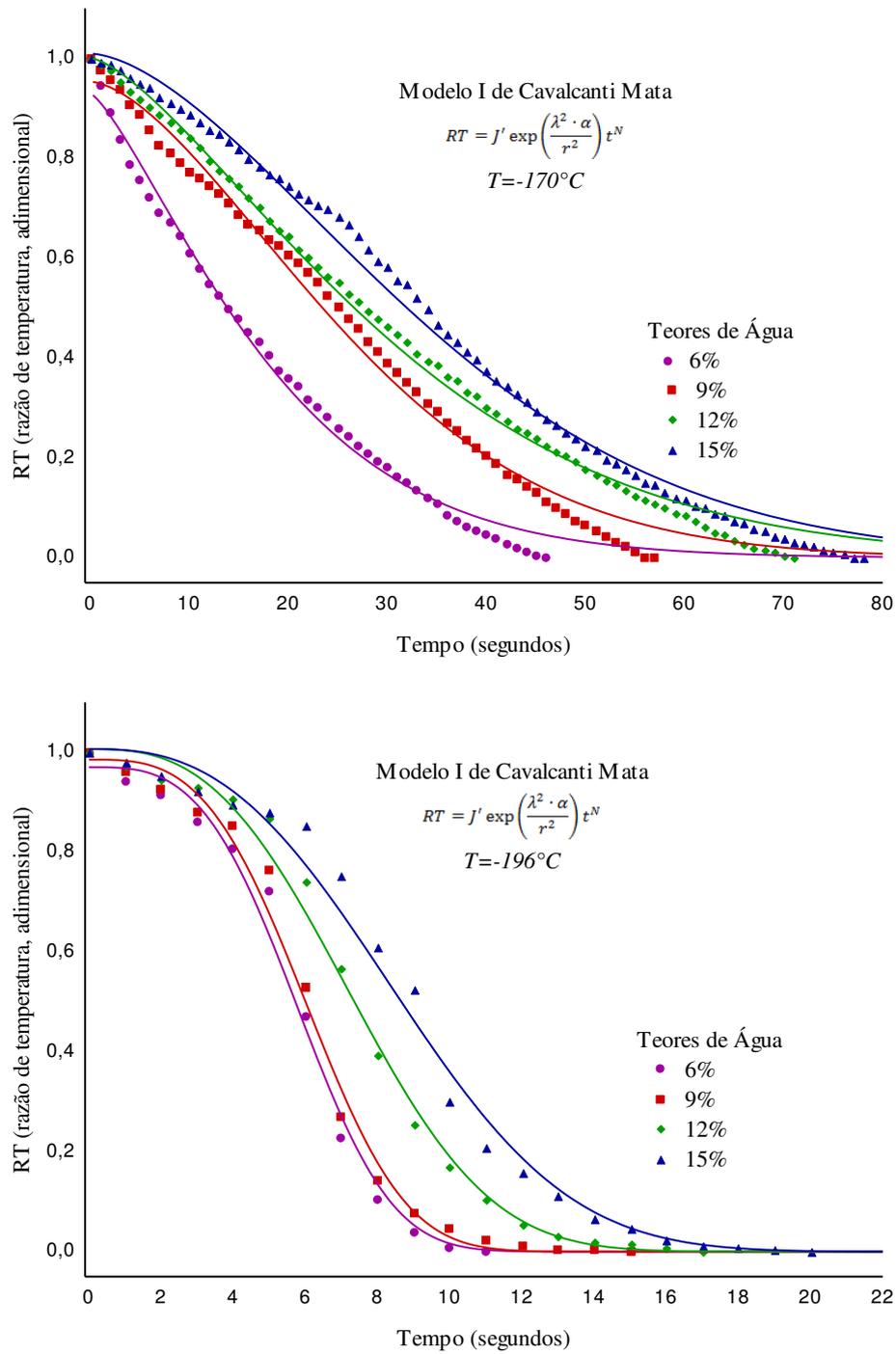


Figura II.2 - Dados experimentais e calculados pelo Modelo I de Cavalcanti Mata, das curvas de congelamento de sementes de romã nas temperaturas de -170 e -196°C .

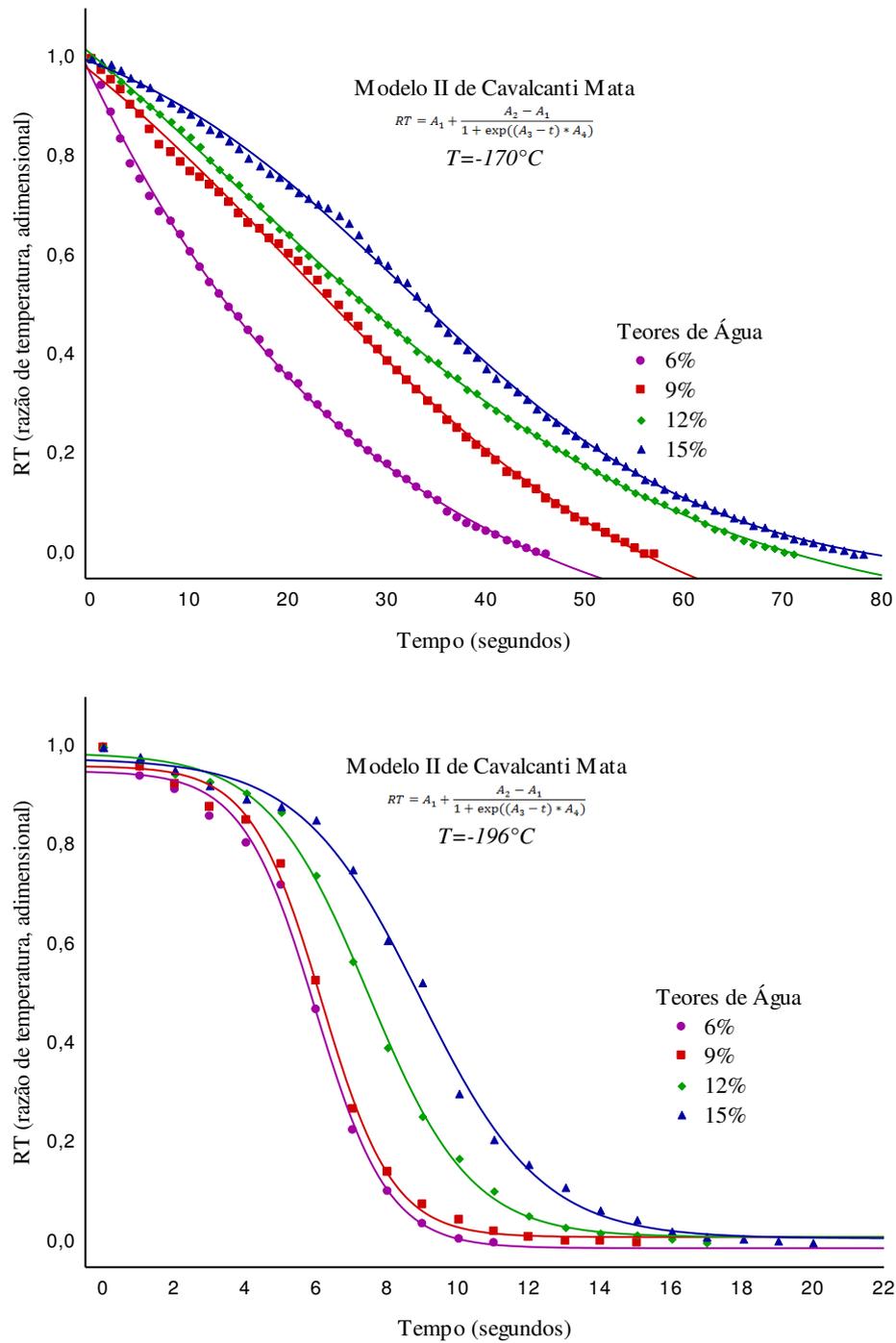


Figura II.3 - Dados experimentais e calculados pelo Modelo II de Cavalcanti Mata, das curvas de congelamento de sementes de romã nas temperaturas de -170 e -196 °C.

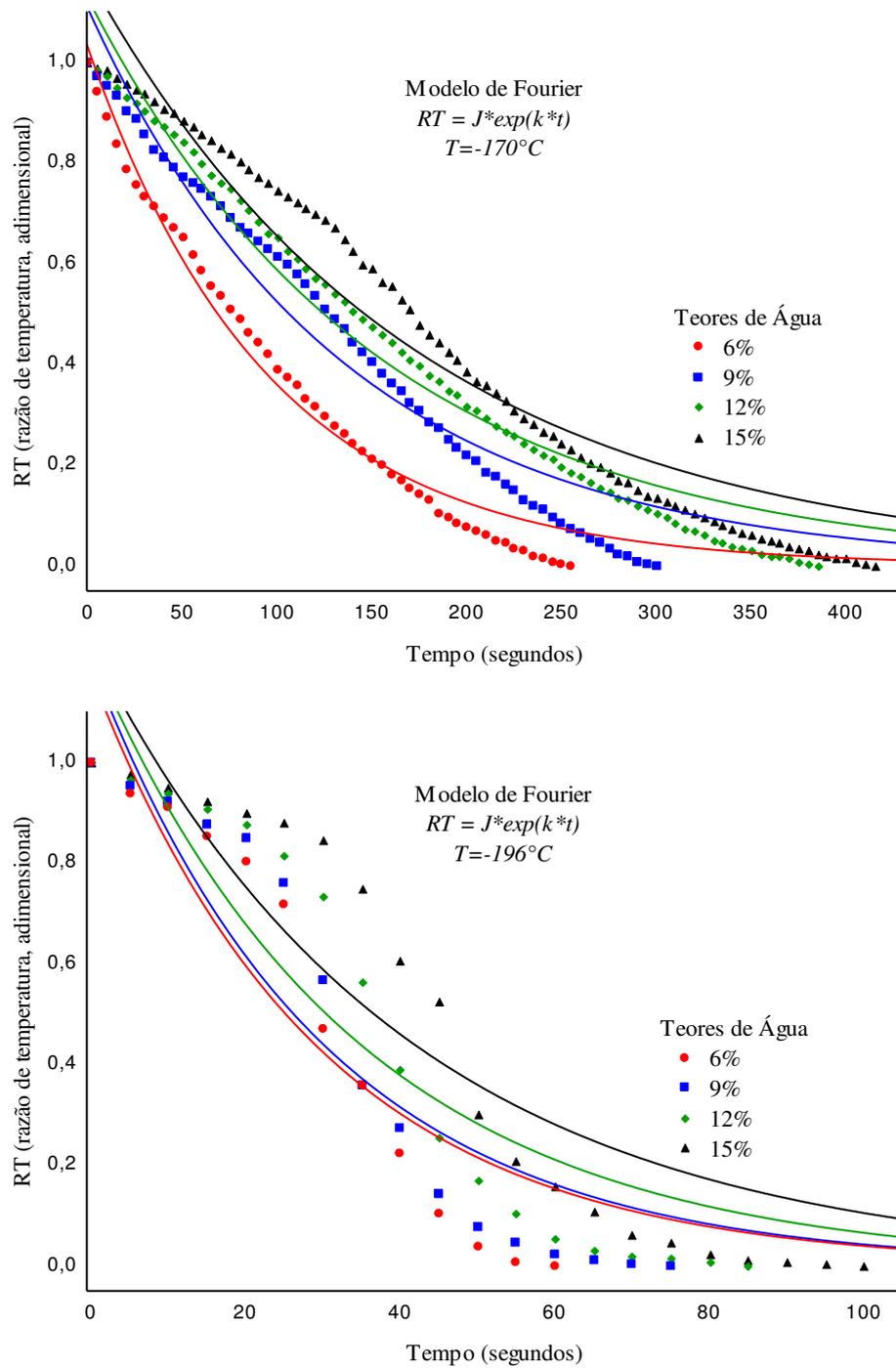


Figura II.4 - Dados experimentais e calculados pelo Modelo de Fourier com o 1º termo da série, das curvas de congelamento de sementes de juá revestidas de endocarpo nas temperaturas de -170 e -196°C .

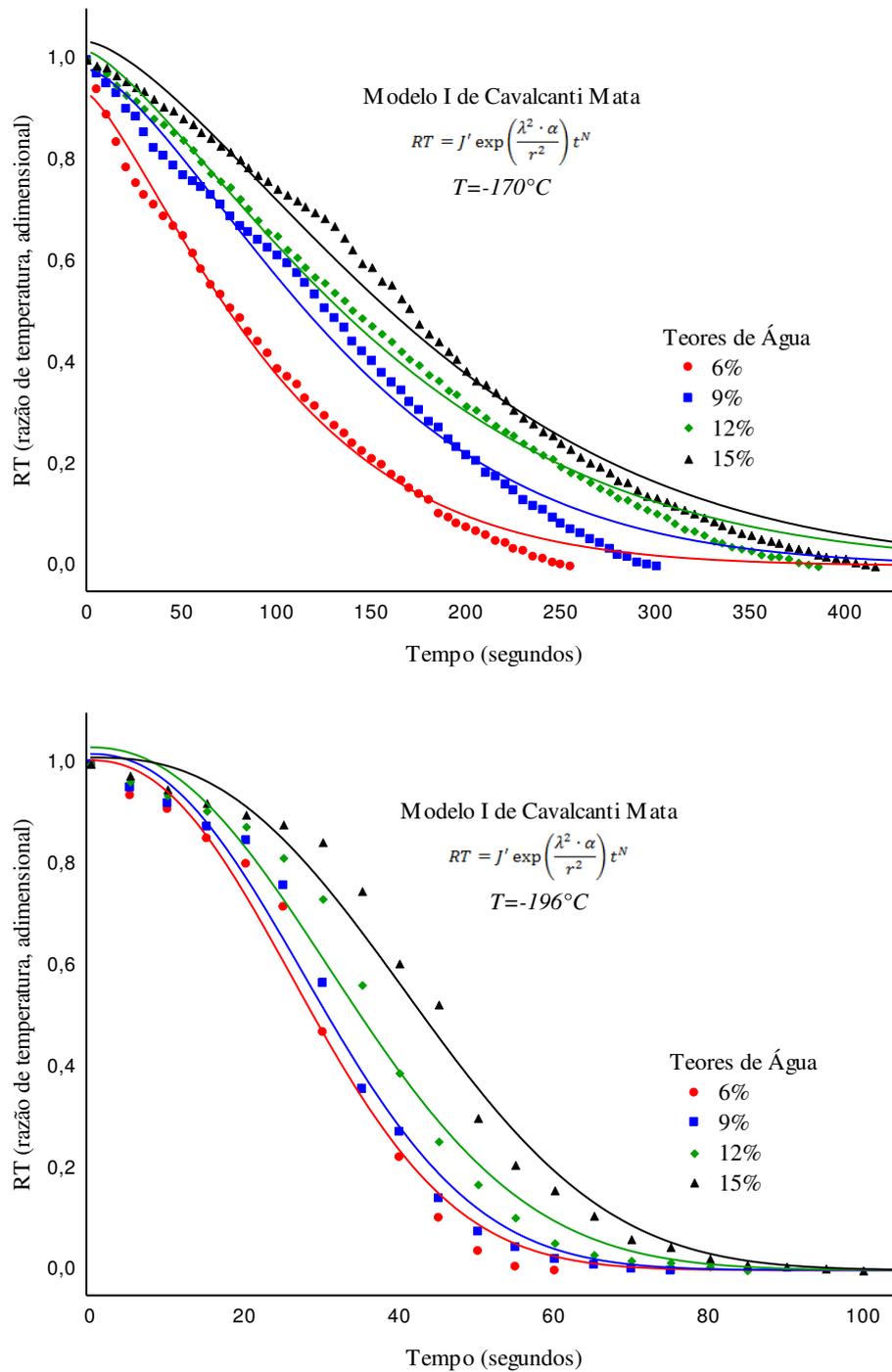


Figura II.5 - Dados experimentais e calculados pelo Modelo I de Cavalcanti Mata, das curvas de congelamento de sementes de juá revestidas de endocarpo nas temperaturas de -170 e -196 °C.

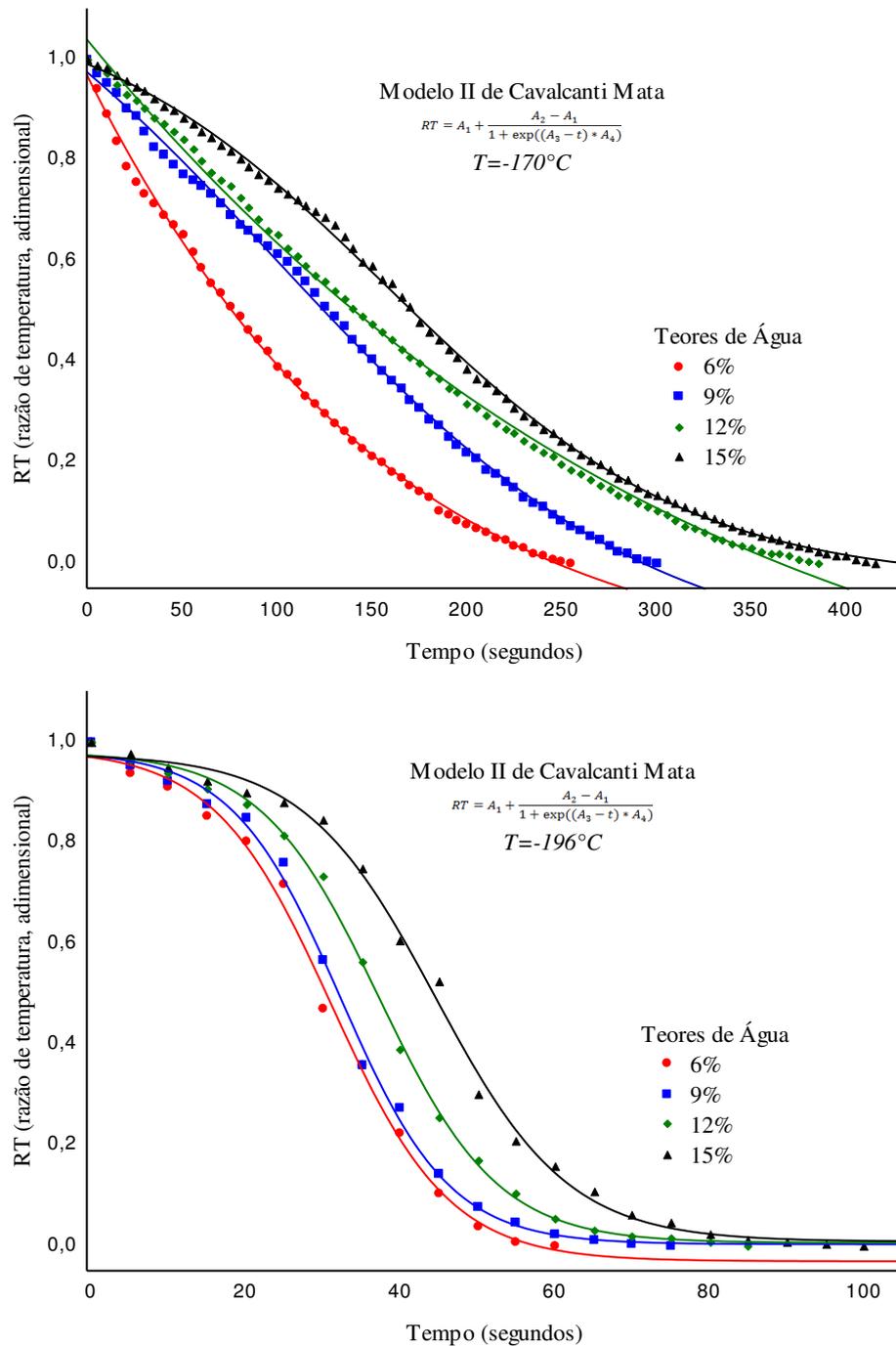


Figura II.6 - Dados experimentais e calculados pelo Modelo II de Cavalcanti Mata, das curvas de congelamento de sementes de juá revestidas de endocarpo nas temperaturas de -170 e -196°C .

As sementes de romã e juá analisadas apresentaram um teor de água de aproximadamente (6, 9, 12, e 15% b.u. $\pm 0,1\%$), ou seja, baixas percentagens de água. Como as curvas de congelamento das sementes das duas espécies não apresentam as três fases

distintas, anteriormente descritas, pode-se dizer que o teor de água, embora passe pelas três fases, não é suficientemente marcante de modo a conferir a essas curvas de congelamento um aspecto de uma curva sigmoide, tendo predominância à curva característica de matéria seca que é uma curva exponencial. Esta afirmação encontra consonância com KASAHARA et al. (1986) e GOLDFARB et al. (2010), ao salientarem que só os produtos agrícolas, com teor de água elevado, em torno de 50 a 90% (b.u.), apresentam de maneira evidente as três fases do congelamento.

Depreende-se ainda da análise das curvas apresentadas nas Figuras II.1 a II.6, que se demanda mais tempo para se alcançar o estado final de congelamento, àquelas sementes com um teor de água mais elevado, comportamento este totalmente esperado. De acordo com GOLDFARB et al. (2010) outro fator a ser considerado é a temperatura, uma vez que quanto maior o gradiente térmico a que o produto está exposto, maior também é a velocidade de congelamento.

Nas Tabelas II.1 e II.2 se encontram os parâmetros das equações de congelamento propostas para as sementes de romã e juá (λ , r_m), coeficiente do modelo (J , J' , k), bem como os coeficientes de determinação das curvas de congelamento das sementes, seu erro médio estimado e o erro médio relativo, além de sua difusividade térmica efetiva. Observa-se que a difusividade térmica efetiva das sementes aumenta com a diminuição do teor de água, nas temperaturas de -170 e -196 °C para o Modelo de Fourier e o Modelo I de Cavalcanti Mata (2012). Resultados semelhantes foram encontrados por SUBRAMANIAN & VISWANATHAN (2003), que trabalhando com grãos de milho miúdo (“minor millet”), obtiveram valores crescentes da difusividade térmica com o decréscimo do teor de água dos grãos.

Para todos os teores de água analisados a raiz da equação transcendental foi variável, apresentando valores inversamente proporcionais, ou seja, à medida que se diminuiu a temperatura estes aumentaram. Com relação ao fator de atraso (J), observa-se que, as curvas de congelamento criogênico apresentam valores que expressam o conceito de fator de atraso que deve estar acima de 1, pois segundo SPAGNOL et al. (1989) o termo fator de atraso indica o tempo necessário para que o congelamento ultrapasse o ciclo logarítmico. Nos teores de água, 6 e 9% (b.u.), o modelo I de Cavalcanti Mata apresentou valores de J inferiores a 1,0 o que não corresponde ao fenômeno físico real, sendo assim procedeu-se uma nova análise de regressão fixando o valor em 1,001, obtendo-se um novo valor de k .

Tabela II.1 - Parâmetros das sementes de romã e coeficientes dos modelos da cinética de congelamento a temperaturas criogênicas.

Modelo de Fourier (1° termo da série)							
Curvas de congelamento (T = -170 °C)							
Teor de Água (% b.u.)	λ	r_m (mm)	J	k	R ² (%)	α (mm ² s ⁻¹)	P(%)
6	0,54513	1,9468	1,03012	0,05719	99,09	0,72941	37,39
9	1,02247	2,0238	1,10945	0,03822	97,28	0,14974	46,03
12	1,11109	2,0955	1,13028	0,03342	98,19	0,11887	43,92
15	1,28602	2,1507	1,17755	0,02978	96,79	0,08329	46,41
Curvas de congelamento (T = -196 °C)							
Teor de Água (% b.u.)	λ	r_m (mm)	J	k	R ² (%)	α (mm ² s ⁻¹)	P(%)
6	1,31621	1,8920	1,18657	0,18024	90,49	0,37244	56,39
9	1,41559	1,9596	1,21811	0,18078	92,38	0,34644	45,84
12	1,45854	2,0137	1,23264	0,14489	92,45	0,27617	49,18
15	1,46717	2,0541	1,23562	0,12315	92,51	0,24138	48,78
Modelo I de Cavalcanti Mata							
Curvas de congelamento (T = -170 °C)							
Teor de Água (% b.u.)	λ	r_m (mm)	J	k	R ² (%)	α (mm ² s ⁻¹)	P(%)
6	0,10016	1,9468	1,001	0,01931	99,19	7,29539	36,99
9	0,10016	2,0238	1,001	0,00606	98,96	2,65252	45,49
12	0,10016	2,0955	1,001	0,00372	99,45	1,51879	43,33
15	0,31125	2,1507	1,009	0,00224	99,29	0,10695	45,60
Curvas de congelamento (T = -196 °C)							
Teor de Água (% b.u.)	λ	r_m (mm)	J	k	R ² (%)	α (mm ² s ⁻¹)	P(%)
6	0,10016	1,8920	1,001	0,00245	99,15	0,79583	55,75
9	0,10016	1,9596	1,001	0,00223	99,32	0,79245	43,16
12	0,25525	2,0137	1,0065	0,00212	99,47	0,15248	47,02
15	0,25760	2,0541	1,0066	0,00207	99,09	0,13479	46,82
Modelo II de Cavalcanti Mata							
Curvas de congelamento (T = -170 °C)							
Teor de Água (% b.u.)	r_m (mm)	A ₁	A ₂	A ₃	A ₄	R ² (%)	P(%)
6	1,9468	20,6661	-0,2397	-75,8802	0,0368	99,90	36,73
9	2,0238	1,4065	-0,2339	20,3355	0,0505	99,87	45,13
12	2,0955	1,5982	-0,1458	15,6174	0,0431	99,98	42,96
15	2,1507	1,1311	-0,0564	31,7738	0,0637	99,95	45,11
Curvas de congelamento (T = -196 °C)							
Teor de Água (% b.u.)	r_m (mm)	A ₁	A ₂	A ₃	A ₄	R ² (%)	P(%)
6	1,8920	0,9507	-0,0117	5,9832	0,9742	99,61	55,46
9	1,9596	0,9612	0,0107	6,1585	1,0017	99,77	43,27
12	2,0137	0,9874	0,0107	7,4821	0,6948	99,89	46,95
15	2,0541	0,9764	0,0081	8,9439	0,5872	99,73	46,55

Tabela II.2 - Parâmetros das sementes de juá revestidas de endocarpo e coeficientes dos modelos da cinética de congelamento a temperaturas criogênicas.

Modelo de Fourier (1° termo da série)							
Curvas de congelamento (T = -170 °C)							
Teor de Água (% b.u.)	λ	r_m (mm)	J	k	R ² (%)	α (mm ² s ⁻¹)	P(%)
6	0,49679	5,2460	1,02496	0,00960	98,24	1,07036	36,67
9	1,01099	5,3809	1,10690	0,00748	97,44	0,21190	44,93
12	1,09658	5,3443	1,12673	0,00652	98,35	0,15486	41,92
15	1,26672	5,4361	1,17192	0,00583	97,10	0,10737	44,79
Curvas de congelamento (T = -196 °C)							
Teor de Água (% b.u.)	λ	r_m (mm)	J	k	R ² (%)	α (mm ² s ⁻¹)	P(%)
6	1,25891	5,0761	1,16967	0,03812	94,44	0,61976	54,60
9	1,38755	5,3139	1,20892	0,03603	92,02	0,52844	47,81
12	1,43693	5,3443	1,22526	0,02906	92,56	0,40197	48,30
15	1,46989	5,4032	1,23657	0,02479	92,86	0,33497	48,64
Modelo I de Cavalcanti Mata							
Curvas de congelamento (T = -170 °C)							
Teor de Água (% b.u.)	λ	r_m (mm)	J	k	R ² (%)	α (mm ² s ⁻¹)	P(%)
6	0,31550	5,2460	1,01000	0,00217	99,21	0,59988	36,49
9	0,31550	5,3809	1,01000	0,00064	98,65	0,18616	44,47
12	0,39621	5,3443	1,01581	0,00093	99,31	0,16920	41,39
15	0,58382	5,4361	1,03461	0,00039	98,87	0,03381	44,10
Curvas de congelamento (T = -196 °C)							
Teor de Água (% b.u.)	λ	r_m (mm)	J	k	R ² (%)	α (mm ² s ⁻¹)	P(%)
6	0,24770	5,0761	1,00615	0,00036	98,48	0,15119	54,26
9	0,43020	5,3139	1,01866	0,00032	98,73	0,04882	46,35
12	0,55930	5,3443	1,03172	0,00029	98,50	0,02648	46,88
15	0,34200	5,4032	1,01176	0,00005	98,91	0,01148	46,85
Modelo II de Cavalcanti Mata							
Curvas de congelamento (T = -170 °C)							
Teor de Água (% b.u.)	r_m (mm)	A ₁	A ₂	A ₃	A ₄	R ² (%)	P(%)
6	5,2460	-0,2178	8,4464	-251,31	-0,0073	99,85	35,92
9	5,3809	-0,2005	1,4051	99,306	-0,0105	99,87	43,98
12	5,3443	7,3873	-0,4111	-382,86	0,0039	99,81	40,93
15	5,4361	1,1306	-0,0381	158,61	0,0125	99,95	43,46
Curvas de congelamento (T = -196 °C)							
Teor de Água (% b.u.)	r_m (mm)	A ₁	A ₂	A ₃	A ₄	R ² (%)	P(%)
6	5,0761	0,9857	-0,0311	31,159	0,1312	99,63	53,69
9	5,3139	0,9810	0,0026	32,317	0,1421	99,75	45,71
12	5,3443	0,9797	0,0054	37,277	0,1300	99,89	46,16
15	5,4032	0,9753	0,0080	44,635	0,1172	99,75	46,41

Os valores de k para o Modelo de Fourier com 1º termo da série apresentaram-se de forma inversamente proporcional para as duas espécies em estudo, ou seja, à medida que se diminui a temperatura estes aumentaram. Estes resultados encontram concordância com AMARAL et al. (2010), que em estudos sobre a difusividade e a energia de ativação de grãos de bico com base na cinética de congelamento encontraram resultados similares aos encontrados no presente estudo.

Ao se comparar o comportamento cinético do congelamento das sementes de romã e juá observa-se que o Modelo II, de Cavalcanti Mata, apresenta um ajuste melhor entre os dados calculados e os experimentais, destacando-se que este modelo é empírico não permitindo determinar a difusividade térmica do processo de congelamento das sementes e sim, uma constante de congelamento. Os demais modelos aplicados permitem obter a difusividade térmica efetiva do processo de congelamento das sementes, porém não apresentam um bom ajuste entre os dados experimentais e os estimados em toda a extensão da curva. Isso implica dizer que o Modelo de Fourier com um termo da série, não permite expressar a cinética de congelamento nas temperaturas criogênicas com diferentes teores de água, fator esse que pode ser sintetizado através de uma correção exponencial no tempo o que pode ser verificado no Modelo I de Cavalcanti Mata, apresentando coeficientes de determinação variando de 99,61 a 99,98%. Resultados semelhantes foram encontrados por CAVALCANTI MATA et al. (2012) que estudando a cinética de congelamento do feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) obteve coeficientes de determinação, superiores a 99%, os quais foram considerados satisfatórios.

Verifica-se que a difusividade térmica das sementes de romã, na temperatura de -170 °C para o Modelo de Fourier, nos diferentes teores de água, é inferior a estimada pelo Modelo de Cavalcanti Mata. Esses valores de difusividade térmica são semelhantes aos obtidos por CAVALCANTI MATA et al. (2012), de $0,7394 \text{ mm}^2 \text{ s}^{-1}$; Outras observações permitem concluir que os dados da difusividade térmica obtido pelo Modelo I de Cavalcanti Mata são mais consistentes ao se analisar o comportamento da cinética de congelamento das sementes nos diferentes teores de água, onde o Modelo de Fourier tem coeficientes de determinação inferiores variando de (90,49 a 99,09%), além de erro médio relativo (P) superior a 20%, indicando que o Modelo de Fourier utilizando o 1º termo da série não representa tão bem a cinética de congelamento quanto o Modelo I de Cavalcanti Mata, em que os coeficientes de determinação variam de (99,61 a 99,98%), respectivamente, com erros médios relativos (P) inferiores.

Embora os modelos propostos sejam, de maneira geral, satisfatórios para expressar a cinética de congelamento das sementes de romã e juá, constata-se que os gráficos dos valores dos resíduos das equações versus valores estimados, são todos considerados tendenciosos em todos os teores de água analisados, como se observa no Apêndice A.II, demonstrando que modelos mais expressivos poderiam ser utilizados; no entanto, há que se desenvolver um modelo que considere o fenômeno físico que ocorre durante o congelamento das sementes.

II.5. CONCLUSÕES

As curvas de congelamento criogênico das sementes de romã e juá com teor de água variando entre 6 e 15% b.u. $\pm 0,1\%$, são exponenciais e não se distinguem com clareza as três fases típicas, devido à velocidade de congelamento e um maior gradiente térmico a que estão expostas as sementes.

Na comparação entre os modelos, percebe-se que o modelo semi-teórico de Cavalcanti Mata (Modelo I), bem como o Modelo II de Cavalcanti Mata descrevem de forma satisfatória, o processo de cinética de congelamento para as temperaturas criogênicas estudadas, representando melhor os dados experimentais que o modelo teórico.

Para os Modelos de Fourier e Modelo I de Cavalcanti Mata, a difusividade térmica aumenta com a diminuição do teor de água em todas as temperaturas. Já no Modelo II de Cavalcanti Mata não é possível extrair a difusividade térmica, mas se podem obter constantes de congelamento, que é função da temperatura e do teor de água do produto.

II.6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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

AL-SAID, F. A.; OPARA, L. U.; AL-YAHYALI, R. A. Physico-chemical and textural quality attributes of pomegranate cultivars (*Punica granatum* L.) grown in the Sultanate of Oman. **Journal of Food Engineering**, v.90, n.1, p.129-134, 2009.

AMARAL, D. S.; SARTOR, F. R.; FÉLIX, P. H. D.; CAVALCANTI MATA, M. E. R. M.; DUARTE, M. E. M.; MOURA NETO, L. G. **Determinação da difusividade e da energia de ativação para o grão de bico com base na cinética de congelamento.** In: Congresso de Pesquisa e Inovação da Rede Norte Nordeste de Educação Tecnológica - CONNEPI, 5, 2010, Maceió. Anais... Maceió: IFAL, 2010. 8p.

BARBIN, D. F.; DAVILA, L. S. M.; SILVEIRA JÚNIOR, V. Avaliação da estabilidade de soluções modelo (cmc-sacarose) em recongelamentos. **Boletim do CEPPA**, v.28, p.125-132, 2010.

BONOMO, R. C. F.; FONTAN, R. C. I.; SOUZA, T. S.; VELOSO, C. M.; REIS, M. F. T.; CASTRO, S. S. Thermophysical properties of cashew juice at different concentrations and temperatures. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v.11, n.1, p.35-42, 2009.

CAVALCANTI MATA, M. E. R. M.; DUARTE, M. E. M. Teoria e modelos matemáticos para congelamento de sementes. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v.13, p. 256-266, 2011.

CAVALCANTI MATA, M. E. R. M.; MORAIS, J. O.; DUARTE, M. E. M.; FARIAS, P. A.; QUEIROZ, A. J. M. Cinética de congelamento do feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) a baixas temperaturas. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.16, n.6, p.667-674, 2012.

CAVALCANTI MATA, M. E. R. M. Tecnologia de crioconservação de sementes de urucum. **Revista Tecnologia & Ciência Agropecuária**, v.2, n.1, p.1-9, mar/2008. *Apresentado no Simpósio Brasileiro do Urucum, em João Pessoa, Paraíba, Brasil, Abril 2006.*

COELHO, R. R. P. **Protocolo de crioconservação de sementes de algodão (*Gossypium hirsutum* L. raça *Latifolium* Hutch.) cultivares BRS 200 marrom e BRS verde.** Tese (Doutorado em Agronomia). Universidade Federal da Paraíba, Centro de Ciências Agrárias, Areia - PB, 2006. 90p.

FELLOWS, P. J. **Tecnologia do processamento de Alimentos.** Porto Alegre: Artmed, 2006.

GOLDFARB, M.; DUARTE, M. E. M.; CAVALCANTI MATA, M. E. R. M.; PIMENTEL, L. W.; SEVERINO, L. S. Cinética de congelamento criogênico de sementes de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.). **Engenharia Ambiental**, v.7, n.1, p.195-203, jan-mar/2010.

KASHARA, G. I.; GARRIDO, B. F.; SIMPSON, R. R.; ALDUNARTE, M. M. I.; CORNEJO, F. F. Cinética de congelacion y propiedades termofísicas em dos espécies de frutales menores. In: KASAHARA, G. J. **Tópicos de calor y propiedades termofísicas en:refrigeración y congelación de alimentos**. Santiago de Chile: Maval, cap.4, p.81-109, 1986.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. 5. Ed. v.1. São Paulo: Plantarum, 2008. 384p.

PEREDA, J. A. O.; RODRIGUEZ, L. F.; SANZ, M. L. G.; MINGUILLÓN, G. D. G. F.; PERALES, L. H.; CORTECERO, M. D. S. **Tecnologia de alimentos: componentes dos alimentos e processos**. Vol. 1, Porto Alegre: Artmed, 2005. 294p.

SANTOS, I. R. I. Crioconservação: potencial e perspectivas para a conservação de germoplasma vegetal. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v.12, p.70-84, 2000. In: GOLDFARB, M.; DUARTE, M. E. M.; CAVALCANTI MATA, M. E. R. M.; PIMENTEL, L. W.; SEVERINO, L. S. Cinética de congelamento criogênico de sementes de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.). **Revista Engenharia Ambiental**, v.7, n.1, p.195-203, jan-mar/2010.

SILVA, C. M.; SILVA, C. I.; HRNCIR, M.; QUEIROZ, R. T.; FONSECA, V. L. I. **Guia de plantas: visitadas por abelhas na caatinga**. 1. ed. - Fortaleza, CE : Editora Fundação Brasil Cidadão, p. 65-68, 2012.

SPAGNOL, W. A.; ROCHA, J. L. V.; PARK, K. J. Modelamento matemático do pré-resfriamento de frutas e hortaliças: uma revisão. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.23, n.3/4, p.192-200, 1989.

SUBRAMANIAN, S.; VISWANATHAN, R. Thermal properties of minor millet grains and flours. **Biosystems Engineering**, London, v.84, n.3, p.289-296, 2003.

VIUDA-MARTOS, M.; FERNANDEZ-LOPEZ, J.; PEREZ-ALVAREZ, J. A. Pomegranate and its many functional components as related to human health: A Review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v.9, p.635-654, 2010.

PROTOCOLOS DE CRIOPRESERVAÇÃO DE SEMENTES DE ROMÃ E JUÁ

CAPÍTULO III

**TRATAMENTOS PRÉ-GERMINATIVOS EM SEMENTES DE JUÁ REVESTIDAS
DE ENDOCARPO**

PROTÓCOLOS DE CRIOPRESERVAÇÃO DE SEMENTES DE ROMÃ E JUÁ

CAPÍTULO III: TRATAMENTOS PRÉ-GERMINATIVOS EM SEMENTES DE JUÁ REVESTIDAS DE ENDOCARPO

RESUMO

Para que uma semente germine é necessário, primeiramente, que os ambientes químicos e físicos sejam favoráveis, ou seja, que haja disponibilidade de água, temperatura e a concentração de oxigênio no meio não limitem o metabolismo germinativo. Entretanto, algumas sementes não germinam mesmo quando colocadas em condições ambientais aparentemente favoráveis. Tais sementes são denominadas dormentes, pois apresentam alguma restrição interna ou sistêmica que impedem o desenvolvimento do embrião. Este estudo avaliou tratamentos pré-germinativos para superação de dormência de sementes de *Ziziphus joazeiro* Mart. revestidas de endocarpo. Os tratamentos consistiram em: sementes intactas; testemunha (endocarpos intactos); imersão em nitrogênio líquido (-196 °C) e vapor de nitrogênio (-170 °C) por 24, 48, 72 e 96 h; escarificação química com imersão dos endocarpos em H₂SO₄ e HCl concentrado por 10, 20, 30 e 40 min.; e imersão em água, à temperatura ambiente, por 24, 48, 72 e 96 h. As variáveis avaliadas foram porcentagem de emergência, comprimento e matéria seca das plântulas. A escarificação ácida através da imersão em ácido sulfúrico durante 10 e 20 minutos foram os tratamentos mais eficientes para acelerar e uniformizar a germinação, ocorrendo o desgaste do tegumento, promovendo a permeabilidade da semente.

Palavras-chave: *Ziziphus joazeiro* Mart., dormência, germinação, vigor.

ABSTRACT

For a seed to germinate is necessary, first, that the chemical and physical environments are favorable, i.e., availability of water, temperature and oxygen concentration in the environment does not limit the germinative metabolism. However, some seeds do not germinate even when placed in seemingly favorable environmental conditions. Such seeds are called dormant because they have some internal or systemic restriction preventing development of the embryo. This study evaluated pre-germination treatments for breaking dormancy of seeds of *Ziziphus joazeiro* Mart. coated with endocarp. The treatments consisted of: intact seeds; testifies (intact endocarps); immersion in liquid nitrogen (-196 °C) and nitrogen vapor (-170 °C) for 24, 48, 72 and 96 hours; chemical scarification with immersion of the endocarps in H₂SO₄ and HCl concentrated for 10, 20, 30 and 40 minutes; and immersion in water at room temperature for 24, 48, 72 and 96 hours. The variables evaluated were the percentage of emergence, length and seedling dry matter. The acid scarification through immersion in sulfuric acid during 10 and 20 minutes were the most effective treatments for rapid and uniform germination, occurring the wear of the tegument, promoting the permeability of the seed.

Keywords: *Ziziphus joazeiro* Mart., dormancy, germination, vigor.

III.1. INTRODUÇÃO

A propagação de espécies florestais via sementes exige que as mesmas apresentem boas características como uniformidade, alta porcentagem e rapidez no seu processo de germinação, além de alta sobrevivência para que sua produção se torne economicamente viável. Porém, nem sempre é possível à obtenção de sementes com todas as características desejáveis, principalmente para espécies que apresentam germinação baixa e heterogênea, além de necessitar de um período prologado para sua germinação (PINEDO & FERRAZ, 2008) sendo a dormência de sementes, principalmente de leguminosas, um dos principais problemas encontrados para a produção de mudas florestais nativas (OLIVEIRA et al., 2003).

Com base nos mecanismos ou estruturas da semente envolvidas, a dormência pode ser classificada como: endógena e exógena (CARDOSO, 2004). A dormência endógena é causada por algum bloqueio da germinação relacionada ao próprio embrião ou tecidos, quando envolve processos metabólicos é conhecida como dormência fisiológica e, dormência morfológica quando está relacionada às sementes com embrião não completamente desenvolvido. A dormência exógena, entretanto, é causada por tecidos da semente (extra-embriônico), como o tegumento ou partes do fruto, podendo ser associada a fatores físicos, mecânicos ou químicos (MENEZES et al., 2009).

A multiplicação de árvores, nativas ou exóticas, depende muitas vezes da quebra de dormência das sementes, o que pode não ser muito simples de se obter (ANDREANI JUNIOR et al., 2011). A dormência pode ser definida como um fenômeno pelo qual sementes de uma determinada espécie, mesmo estando viáveis e tendo as condições favoráveis (luz, temperatura e oxigênio), não germinam. A causa pode ser um ou mais bloqueios à germinação e que podem variar de intensidade. Do ponto de vista da planta, a dormência é benéfica, pois retarda a germinação e a distribui no tempo, impedindo que a semente germine em condições ambientais desfavoráveis (DAVIDE & SILVA, 2008).

Segundo os tecnólogos de sementes, a germinação é definida como o desenvolvimento das estruturas essenciais do embrião, manifestando a sua capacidade para dar origem a uma plântula normal em condições ambientais favoráveis (BRASIL, 2009). A utilização do teste de germinação é fundamental para o monitoramento da viabilidade das sementes em bancos de germoplasma, antes e durante o armazenamento. Todavia, o conhecimento atual sobre as técnicas de monitoramento é limitado, concentrando-se, principalmente, em plantas de interesse agrícola (SILVA et al., 2012). De acordo com

CARVALHO & NAKAGAWA (2000) as sementes da maioria das espécies germinam prontamente quando lhes são dadas condições ambientais favoráveis. Porém, as sementes de cerca de dois terços das espécies arbóreas apresentaram certo grau de dormência, que pode ser superada com a utilização de tratamentos pré-germinativos (KRAMER & KOZLOWISK, 1972).

EIRA et al. (1993) salienta que, todos os tratamentos pré-germinativos apresentam vantagens e desvantagens, de forma que cada um devem ser analisados, levando em consideração, os custos e facilidade de execução. Faz-se necessário, tomar algumas precauções, para que na aplicação de determinado tratamento de superação de dormência em um lote de sementes a distribuição seja uniforme. Outro transtorno a ser enfrentado ocorre quando as sementes são utilizadas para produção de mudas, em virtude do longo tempo para que ocorra a germinação, ficando às mesmas sujeitas a condições adversas, o que favorece o ataque de fungos e conseqüentemente, perdas na produção.

Diante do exposto, o presente trabalho objetivou avaliar a capacidade germinativa e o vigor de sementes de juá revestidas de endocarpo, submetidas a diferentes tratamentos de superação de dormência.

III.2. REVISÃO DE LITERATURA

III.2.1. Características do *Ziziphus joazeiro* Mart.

Poucas espécies arbóreas da caatinga possuem informações sobre o seu cultivo. Apesar do reconhecimento científico das suas potencialidades e importância para a biodiversidade ainda permanecem sem a atenção devida por parte de programas eficientes que visem a sua conservação e valorização como recurso natural junto à população. O *Ziziphus joazeiro* Mart. é uma das espécies nessa condição e até hoje muito pouco estudada (MONIZ-BRITO & OSUNA, 2008).

O juazeiro (*Ziziphus joazeiro* Mart.) é uma espécie xerófita pertencente à família Rhamnaceae, nativa da Caatinga, que em 2002, na primeira Reunião Técnica de Recursos Genéticos de Plantas Medicinais e Aromáticas, promovida pela EMBRAPA (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária) e pelo IBAMA (Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis) foi citada como uma das espécies prioritárias a conservação e manejo sustentável do bioma Caatinga, exclusivamente brasileiro, degradado

em virtude da utilização inadequada das espécies lá existentes pela população local (LORENZI, 2008).

A unidade de dispersão do juazeiro consiste de um diásporo composto da semente e de um complexo orgânico que a acompanha, no caso, um endocarpo pétreo e extremamente resistente (DIÓGENES et al., 2010). CARVALHO E NAKAGAWA (2000) salientam que no habitat natural esta dureza é removida por processos de escarificação que envolvem a participação e a interação de microrganismos, animais e temperaturas alternadas. Ainda assim é extremamente raro encontrar plântulas dessa espécie próximas às plantas matrizes, além da planta jovem constituir excelente alimento para animais, o que, de certa forma, prejudica a sua multiplicação natural (MONIZ-BRITO & OSUNA, 2008).

III.2.2. A importância do estudo morfológico em sementes

O estudo da morfologia de sementes e plântulas nos estágios iniciais de desenvolvimento contribui para melhorar o conhecimento do processo reprodutivo das espécies vegetais, servindo de subsídio para a produção de mudas, além de ser fundamental para uma melhor compreensão do processo de estabelecimento da planta em condições naturais da floresta (GUERRA et al., 2006).

Estudos envolvendo a morfologia de sementes podem auxiliar no entendimento do processo de germinação, vigor, armazenamento, viabilidade e métodos de propagação das espécies. Além disso, a caracterização morfológica de sementes fornece subsídios para diferenciar espécies e caracterizar aspectos ecológicos da planta, como a dispersão, estabelecimento de plântulas e fase da sucessão ecológica (LOPES & MATHEUS, 2008).

Os estudos morfológicos auxiliam a identificação botânica da espécie, a interpretação dos testes de laboratório e o reconhecimento da espécie em bancos de sementes. Diante disso, MELO & VARELA (2006) afirmam que o conhecimento específico dos aspectos morfológicos de sementes de uma espécie, contribui em sua propagação e tornam-se fundamentais para o melhor planejamento e tratamento silvicultural das espécies, permitindo o uso racional da floresta.

III.2.3. Dormência

O termo dormência de sementes aplica-se à condição das sementes viáveis que não germinam apesar de lhes serem fornecidas as condições ambientais adequadas para

germinarem (ex. água e temperatura conveniente). O fenômeno de dormência nas sementes provém da adaptação das espécies às condições ambientais em que se reproduzem. É, portanto, um recurso utilizado pelas plantas para germinarem na época apropriada ao seu desenvolvimento, e que visa à perpetuação da espécie.

A dormência proporciona a sobrevivência das espécies em condições naturais, uma vez que distribui a germinação ao longo do tempo ou permite que a germinação ocorra somente quando as condições forem favoráveis à sobrevivência das plântulas, apresentando-se como uma vantagem. Porém, é frequentemente prejudicial às atividades de produção de mudas em viveiros, onde é esperado que elevada quantidade de sementes germinem em curto período de tempo e, desta forma, permitindo a produção de um estande de mudas uniformes (MARCOS FILHO, 2005). São identificados os diversos tipos de dormência de sementes; neste caso, o conhecimento das causas da dormência é de significativa importância prática, visto que permite a aplicação de tratamentos apropriados para obtenção de melhor germinação.

Além dos fatores genéticos, a indução da dormência nas sementes ocorre devido à influência dos fatores ambientais durante a fase de maturação das sementes. Em muitas plantas ou na maioria delas, a formação de estruturas ou de mecanismos que levam à dormência é iniciada sob a combinação de variáveis ambientais específicas, de forma que, mesmo quando o desenvolvimento morfológico dessas estruturas e a sua transição fisiológica para o estado de dormência estão sob controle endógeno, o mecanismo principal que dá origem a esses eventos depende da percepção e resposta a sinais do ambiente (LOPES & NASCIMENTO, 2012). Dentre os fatores ambientais que podem induzir a dormência nas sementes destacam-se: o fotoperíodo, a temperatura, a umidade relativa do ar e a disponibilidade hídrica (MARCOS FILHO, 2005).

Outros fatores localizados nos tecidos extra-embrionários também participam do controle da dormência, como no caso da dormência tegumentar ou de cobertura, influenciada principalmente pelas características anatômicas dos envoltórios. Assim, a semente é dormente apenas devido aos tecidos que envolvem o embrião (pericapo, testa, endosperma, órgãos florais) que exercem uma restrição que o embrião não pode vencer. Esse tipo de dormência é denominado de exógena, ou seja, imposta pelos tecidos que envolvem o embrião. Por outro lado, em alguns casos, a remoção das estruturas que envolvem o embrião não permite que esse germine normalmente, pois o embrião encontra-se dormente, dormência endógena (LOPES & NASCIMENTO, 2012).

Em algumas espécies florestais, como algumas leguminosas, a dormência das sementes ocorre devido a um bloqueio físico imposto pelo tegumento resistente e impermeável que, ao impedir a absorção de água e as trocas gasosas, impede a embebição da semente e a oxigenação do embrião (ALVES et al., 2007).

III.3. MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Sementes e no Setor de Processamento de Frutos do Laboratório de Armazenamento e Processamento de Produtos Agrícolas (LAPPA) da Unidade Acadêmica de Engenharia Agrícola, da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG – PB).

Os frutos de *Zizyphus joazeiro* Mart. (Figura III.1A) foram coletados no Campus da UFCG na cidade de Campina Grande, PB (cidade que está a uma altitude média de 551 metros, com latitude – 07° 13' 50'', longitude 35° 52' 52'' e uma área que abrange 599,6 km²), entre maio e julho de 2012, sendo coletados diretamente da árvore quando iniciaram a queda espontânea, e em seguida levados para o Laboratório de Análise de Sementes, onde foram despulpados em uma despulpadeira industrial (Laboremus- PAT/REG), restando parte do fruto, o endocarpo, que fica aderido ao tegumento da semente, sendo estes submetidos à fermentação por cinco dias, para a retirada de mucilagem. Decorrido esse período, foram lavados com água corrente, sob peneira de arame, e postos para secar a sombra (Figura III.1B).



Figura III.1 - Frutos e folhas do *Zizyphus joazeiro* Mart. (A); Endocarpos (B); Tratamentos pré-germinativos aplicados nos endocarpos (C).

A determinação do teor de água inicial das sementes foi realizada a partir do método padrão da estufa a 105 ± 3 °C, utilizando quatro amostras de 5g de sementes acondicionadas em recipientes metálicos, onde permaneceram durante 24 h. Após esse período, foram retirados da estufa, tampados rapidamente, resfriados em dessecador durante 15 minutos e

pesados em balança analítica com precisão de 0,0001g, como prescrito nas Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009) e o resultado final expresso pela média aritmética em porcentagens das amostras. Devido à dificuldade em retirar as sementes sem provocar danos, os tratamentos pré-germinativos para superação de dormência foram realizados nas sementes revestidas de endocarpo (Figura III.1C), sendo efetuado apenas um tratamento com a semente para um resultado comparativo, como é demonstrado na Tabela III.1.

Tabela III.1 - Tratamentos pré-germinativos aplicados para superação da dormência de sementes de *Ziziphus joazeiro* Mart.

Descrição dos Tratamentos Pré-Germinativos	
T ₁	Sementes
T ₂	Testemunha – sementes revestidas de endocarpos
T ₃	Imersão em nitrogênio líquido (-196 °C) por 24 horas
T ₄	Imersão em nitrogênio líquido (-196 °C) por 48 horas
T ₅	Imersão em nitrogênio líquido (-196 °C) por 72 horas
T ₆	Imersão em nitrogênio líquido (-196 °C) por 96 horas
T ₇	Imersão em vapor de nitrogênio (-170 °C) por 24 horas
T ₈	Imersão em vapor de nitrogênio (-170 °C) por 48 horas
T ₉	Imersão em vapor de nitrogênio (-170 °C) por 72 horas
T ₁₀	Imersão em vapor de nitrogênio (-170 °C) por 96 horas
T ₁₁	Imersão em ácido sulfúrico concentrado (H ₂ SO ₄ – P.A.) por 10 minutos
T ₁₂	Imersão em ácido sulfúrico concentrado (H ₂ SO ₄ – P.A.) por 20 minutos
T ₁₃	Imersão em ácido sulfúrico concentrado (H ₂ SO ₄ – P.A.) por 30 minutos
T ₁₄	Imersão em ácido sulfúrico concentrado (H ₂ SO ₄ – P.A.) por 40 minutos
T ₁₅	Imersão em ácido clorídrico concentrado (HCl – P.A.) por 10 minutos
T ₁₆	Imersão em ácido clorídrico concentrado (HCl – P.A.) por 20 minutos
T ₁₇	Imersão em ácido clorídrico concentrado (HCl – P.A.) por 30 minutos
T ₁₈	Imersão em ácido clorídrico concentrado (HCl – P.A.) por 40 minutos
T ₁₉	Pré-embebição em água destilada a 25 °C por 24 horas
T ₂₀	Pré-embebição em água destilada a 25 °C por 48 horas
T ₂₁	Pré-embebição em água destilada a 25 °C por 72 horas
T ₂₂	Pré-embebição em água destilada a 25 °C por 96 horas

Capítulo III: Tratamentos pré-germinativos em sementes de juá revestidas de endocarpo

As sementes e a testemunha correspondem às sementes que foram colocadas diretamente para germinar, sem qualquer tratamento. As unidades de dispersão constituídas de endocarpo + semente imersas em nitrogênio líquido a (-196 °C) e vapor de nitrogênio a (-170 °C) foram acondicionadas em tubos cilíndricos de alumínio (canister) e armazenadas em botijões criogênicos por (24, 48, 72 e 96 horas) e logo após foram submetidas a um descongelamento gradativo (-196; -170; -80; 10 °C e ambiente) com intervalo de três horas para cada temperatura.

As sementes revestidas de endocarpo imersas em ácido sulfúrico (densidade de 1,84 e pureza de 95-98%) e ácido clorídrico concentrado (densidade de 1,19 e pureza de 95-98%) foram constantemente revolvidas com um bastão de vidro, objetivando uniformizar a sua ação abrasiva em diferentes períodos de imersão (10, 20, 30 e 40 min.). Decorridos os períodos preestabelecidos foram lavadas em água corrente por 10 min, para que os ácidos fossem totalmente removidos. Já o tratamento com água destilada foi realizado através da imersão das sementes revestidas de endocarpo em água destilada por diferentes períodos (24, 48, 72 e 96 horas), fazendo a substituição da água a cada seis horas.

Após a aplicação dos tratamentos pré-germinativos as sementes foram semeadas em bandejas plásticas, sendo utilizada como substrato a vermiculita, a qual foi umedecida com quantidade de água equivalente a 60% da capacidade de retenção. As seguintes características foram avaliadas: **emergência** – foram utilizadas 100 sementes revestidas de endocarpos por tratamento, divididas em quatro sub-amostras de 25. As contagens do número de endocarpos germinados iniciaram-se aos 18 e estenderam-se até os 120 dias após a semeadura, à exceção das testemunhas, cuja primeira contagem das sementes iniciou-se no 23 após a semeadura e as sementes revestidas de endocarpos só foi possível aos 59 dias após o semeio. O critério utilizado foi o de plântulas normais (Figura III.2) que apresentavam as estruturas essenciais perfeitas (BRASIL, 2009), sendo os resultados expressos em porcentagem.



Figura III.2 – Plântulas de juá de um mesmo endocarpo (A); Endocarpo com desenvolvimento de uma única semente (B); Plântulas normais de juá (C).

Os teste de vigor aplicados foram: **comprimento de plântulas** – no final do teste de emergência, as plântulas normais de cada repetição foram medidas com o auxílio de um paquímetro com precisão de 0,01mm, sendo avaliada a altura das plântulas normais (sistema radicular desenvolvido, presença de hipocótilo e cotilédones), com os resultados expressos em centímetros (GOLDFARB et al., 2010) e; **matéria seca das plântulas** – após a contagem final no teste de emergência, as plântulas anteriormente medidas foram submetidas à secagem em estufa a 70 ± 3 °C, até atingirem peso constante. Depois deste período, as mesmas foram retiradas da estufa e colocadas para resfriar em um dessecador, por um período de 15 minutos e, logo após, pesadas em balança eletrônica, com precisão de 0,01g. O peso seco foi calculado através da fórmula proposta por VIERA & CARVALHO (1994).

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, constando de vinte e dois tratamentos, cada um com quatro repetições de 25 sementes revestidas de endocarpo. Os dados foram analisados com o *software* ASSISTAT, versão 7.6 beta (SILVA & AZEVEDO, 2009). Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias, comparadas pelo teste Scott-Knott a 5% de probabilidade.

III.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As sementes de juá revestidas de endocarpo apresentaram um teor de água inicial de 15,23%. COIMBRA et al. (2007) ressalta que o teor de água inicial das sementes é um fator primordial para a padronização dos testes de avaliação de qualidade e, conseqüentemente, para obtenção de resultados consistentes. De acordo com os dados apresentados na Figura III.3, observa-se que a imersão das sementes revestidas de endocarpo em ácido sulfúrico concentrado, bem como a imersão em ácido clorídrico concentrado, proporcionaram os maiores percentuais de emergência de plântulas diferindo estatisticamente, das sementes revestidas de endocarpo (testemunha). Esses resultados indicam que a imersão em ácidos, foram os tratamentos mais eficazes em superar a resistência mecânica imposta pelo endocarpo, desencadeando o processo de germinação e posterior emergência das plântulas, evidenciando, dessa forma, que a resistência mecânica do endocarpo era o único impedimento à emergência.

Vários trabalhos são relatados utilizando o ácido sulfúrico (H₂SO₄) em diferentes períodos, como o principal produto químico na superação da dormência das sementes de essências florestais, tais como barbatimão (*Stryphnodendron adstringens* e *S. polyphyllum*)

por MARTINS et al. (2008); olho-de-dragão (*Adenanthera pavonina*) por KISSMANN et al. (2008); pau-ferro (*Caesalpinia ferrea* Mart. ex Tul. var. *leiostachya* Benth.) por ALVES et al. (2009); pau-de-jangada (*Apeiba tibourbou* Aubl.) por PACHECO & MATOS (2009); e angico-de-bezerro (*Piptadenia moniliformis* Benth.) por AZEREDO et al. (2010). Dessa forma pode-se afirmar que a escarificação com ácido sulfúrico é eficiente na superação da dormência causada pela impermeabilidade do tegumento, porém este é um produto de difícil manuseio e não encontrado facilmente no mercado.

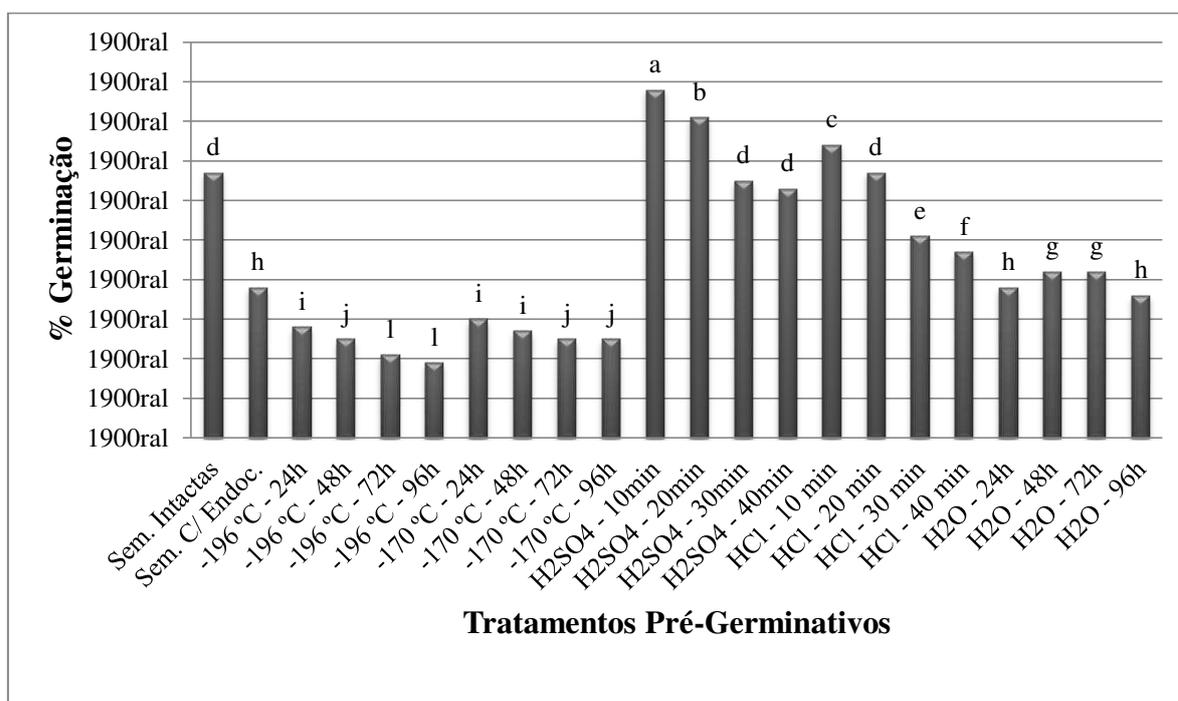


Figura III.3 - Valores médios da porcentagem de germinação de sementes de juá revestidas de endocarpo em função de diferentes tratamentos pré-germinativos, aos 120 dias após a semeadura. Valor de “F” para tratamentos = 267,93** (P < 0,01); CV(%) = 5,58. Médias seguidas por uma mesma letra, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott (P<0,05).

Quando submetidas à escarificação química com ácido sulfúrico concentrado por 10 minutos (T11) e por 20 minutos (T12), os endocarpos de juá tiveram o melhor desempenho germinativo, com percentual variando de 81 a 88%, respectivamente. Porém, à medida que se aumentou o tempo de imersão no ácido sulfúrico, pode-se observar que acima de 20 minutos de imersão, ou seja, nos tratamentos nos quais as sementes foram imersas no ácido sulfúrico por 30 (T13) e 40 (T14) minutos, o percentual de germinação diminuiu sensivelmente, provavelmente, por ter ocasionado a morte do embrião. Resultados semelhantes foram

encontrados por REBOUÇAS et al. (2012), que estudando a superação da dormência de sementes de quixabeira (*Sideroxylon obtusifolium* (Roem.& Schult.) T.D.Penn.) encontraram valores superiores a 50% nos tratamentos com imersão em ácido por 10, 20 e 30 minutos, com redução desse percentual quando submetidas a períodos superiores a 30 minutos, causando danos as células do eixo embrionário, com conseqüente diminuição do processo de germinação.

De posse dos resultados obtidos é possível afirmar que as sementes de juá revestidas de endocarpo necessitam realmente de tratamentos pré-germinativos para acelerar e uniformizar a porcentagem de emergência das plântulas, tendo em vista que as sementes que não passaram por tratamentos pré-germinativos (T2) obtiveram emergência inferior a maioria dos tratamentos (38%), com exceção das sementes que foram submetidas a imersão em vapor de nitrogênio (-170 °C) e imersão em nitrogênio líquido (-196 °C), as quais obtiveram percentual de germinação variando entre 19 e 30% de emergência, respectivamente (Figura III.3). Esses resultados encontram concordância com ALVES et al. (2006; 2008), MONIZ-BRITO & OSUNA (2008) e DIÓGENES et al. (2010) ao verificarem que as sementes de *Ziziphus joazeiro* Mart., sem pré-tratamento para superar a dormência, apresentam baixa porcentagem de germinação.

A ineficiência da escarificação utilizando-se temperaturas ultra-baixas (-170 e -196 °C), na superação da dormência das sementes, indica a provável ocorrência de dano fisiológico no eixo embrionário. Esses resultados discordam dos obtidos por AMARO et al. (2012) que estudando diferentes métodos para superação de dormência da sementes em manjerição (*Ocimum basilicum* L.), encontraram resultados satisfatórios na porcentagem de germinação utilizando tratamentos de pré-resfriamento. No entanto, a mesma autora enfatiza que resultados satisfatórios podem ser obtidos, uma vez que esse tratamento atua na ativação do metabolismo das sementes, devendo-se ressaltar que tanto a temperatura quanto o tempo de exposição das sementes são fatores que, se não forem bem elucidados para a espécie em estudo, podem danificar o embrião e prejudicar os resultados.

Nas sementes imersas em água destilada a temperatura ambiente, o valor mais elevado da germinação foi atingido com a embebição por 48 horas, seguida da embebição por 72 horas. Comparando-se os resultados deste trabalho com os de ALVES et al. (2008), com unidades de dispersão de *Ziziphus joazeiro* Mart., pode-se inferir que as sementes utilizadas aqui tinham uma intensidade de dormência mais acentuada, porque a imersão das sementes em água à temperatura ambiente, por 48 e 72 horas, proporcionou uma média de 42 a 43% de

germinação, enquanto que os resultados encontrados pelos autores, nessa mesma temperatura, foi na ordem de 83 a 97% de germinação para os mesmos períodos de imersão. A dormência das sementes, em algumas espécies florestais, ocorre devido a um bloqueio físico imposto pelo tegumento resistente e impermeável que, ao impedir a absorção de água e as trocas gasosas, impede a embebição da semente e a oxigenação do embrião (ALVES et al., 2007).

Os valores médios referentes ao vigor, determinado pelo comprimento de plântulas, são apresentados na Figura III.4, do qual se observa que a escarificação química através da imersão em ácido sulfúrico por 10 minutos foi responsável pelo maior vigor das sementes revestidas de endocarpo, no entanto não diferiu estatisticamente da imersão em ácido sulfúrico por 20 minutos. ALVES et al. (2006) observaram que o pré-condicionamento das unidades de dispersão de *Zizyphus joazeiro* em ácido sulfúrico concentrado mostrou-se eficiente, pois promoveu aumento na altura das plantas. Dessa forma faz-se necessário a realização de testes de vigor, uma vez que permitem avaliar o potencial fisiológico das sementes, o que garante, em conjunto com o teste de germinação, resultados confiáveis para fins de semeadura da espécie em estudo (AMARO et al., 2012).

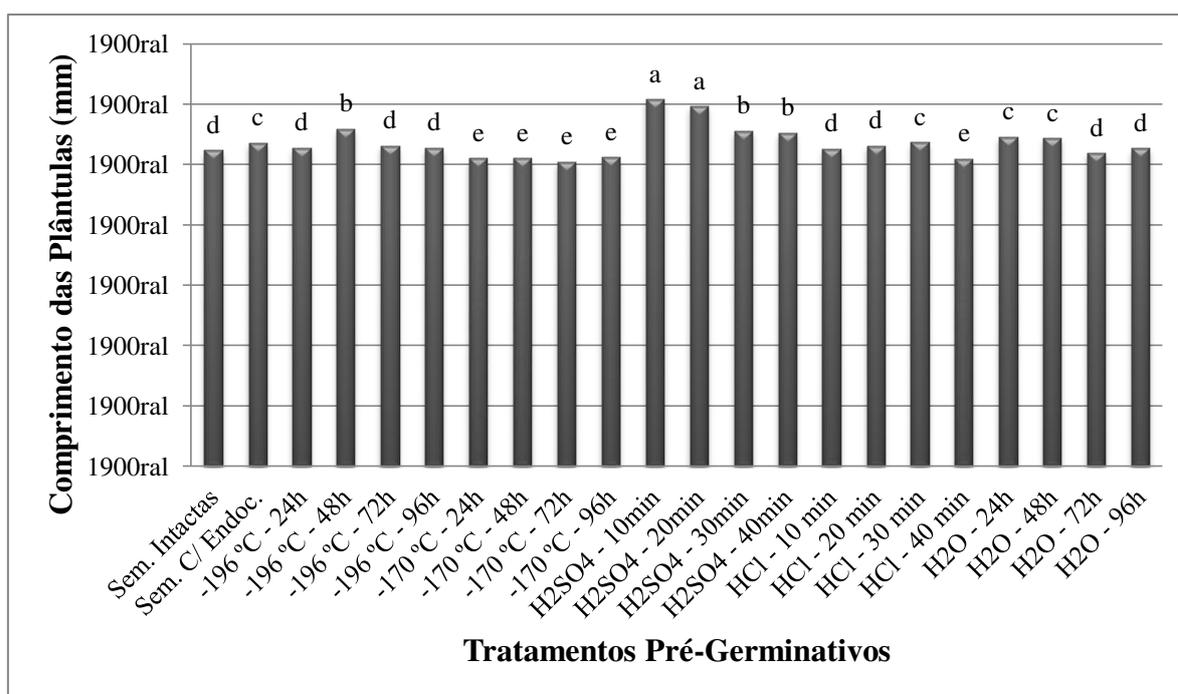


Figura III.4 - Valores médios de comprimento de plântulas de juá originadas de sementes revestidas de endocarpo submetidas a diferentes tratamentos pré-germinativos, aos 120 dias após a semeadura. Valor de “F” para tratamentos= 40,79** (P < 0,01); CV(%) = 1,55. Médias seguidas por uma mesma letra, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott (P<0,05).

O comprimento das plântulas (Figura III.4), oriundas de sementes revestidas de endocarpo submetidas à imersão em vapor de nitrogênio (-170 °C), demonstraram os menores valores (10,20 a 10,23cm) não havendo diferença estatística entre as médias. DIÓGENES et al. (2010), estudando a superação da dormência de sementes de *Ziziphus joazeiro* Mart. encontraram valores similares aos verificados no presente estudo, com comprimento de plântulas variando entre (10,8 a 11cm) para os tratamentos em que as sementes foram imersas em ácido sulfúrico por períodos de 60, 90 e 120 minutos.

Conforme dados da Figura III.5, referentes à matéria seca das raízes e da parte aérea, constatou-se que, quando as sementes revestidas de endocarpo foram submetidas aos tratamentos de imersão em ácido sulfúrico concentrado por 10 e 20 minutos, originaram plântulas mais vigorosas, ou seja, com maior conteúdo de matéria seca e parte aérea.

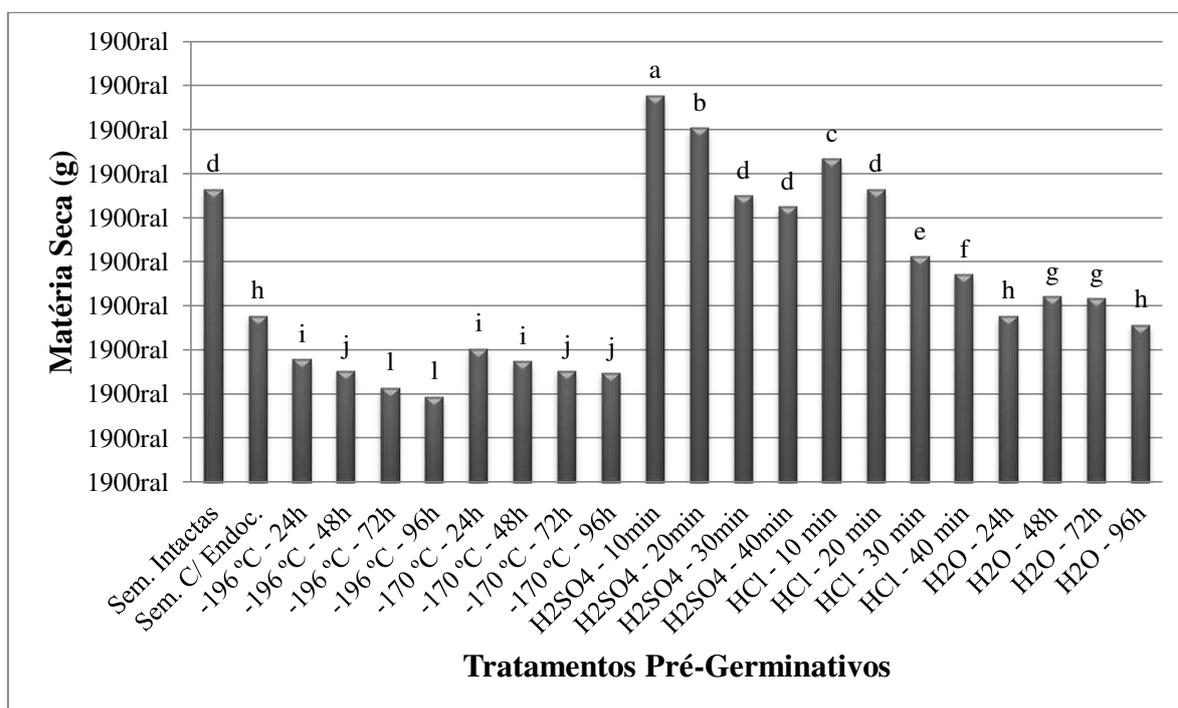


Figura III.5 - Valores médios de matéria seca de plântulas de juá originadas de sementes revestidas de endocarpo submetidas a diferentes tratamentos pré-germinativos, aos 120 dias após a semeadura. Valor de “F” para tratamentos = 267,93** (P < 0,01); CV(%) = 5,58. Médias seguidas por uma mesma letra, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott (P<0,05).

Possivelmente, esses resultados se devem ao fato de as sementes revestidas de endocarpo dos referidos tratamentos terem proporcionado uma emergência de plântulas mais

rápida e, assim, terem acumulado maior fitomassa, uma vez que os cotilédones são foliáceos e, por ocasião da emergência, passam a realizar fotossíntese. De forma semelhante, DIÓGENES et al.(2010) obtiveram maiores valores de matéria seca de plântulas (3,52g) de *Ziziphus joazeiro* Mart., quando as sementes foram imersas por 150 minutos no ácido sulfúrico.

Para as sementes de espécies florestais nativas, a interpretação dos resultados dos testes que avaliam o vigor é dificultado pela característica selvagem das mesmas, pela desuniformidade no processo de maturação ou pela presença de dormência nas sementes, dentre outros fatores (BIRUEL, 2006).

III.5. CONCLUSÕES

A espécie *Ziziphus joazeiro* Mart. apresenta dormência imposta pelos envoltórios. A barreira mecânica causada pelo endocarpo duro e resistente que envolve as sementes foi indicada como a causa do atraso e da desuniformização do processo germinativo da espécie.

A escarificação ácida através da imersão em ácido sulfúrico durante 10 e 20 minutos foram os tratamentos mais eficientes para acelerar e uniformizar a germinação, ocorrendo o desgaste do tegumento, promovendo a permeabilidade da semente.

III.6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, E. U.; BRAGA JÚNIOR, J. M.; BRUNO, R. L. A.; OLIVEIRA, A. P.; CARDOSO, E. A.; ALVES, A. U.; ALVES, A. U.; SILVA, K. B. Métodos para quebra de dormência de unidades de dispersão de *Ziziphus joazeiro* Mart. (Rhamnaceae). **Revista Árvore**, Viçosa-MG, v.32, n.3, p.407-415, 2008.

ALVES, E. U.; BRUNO, R. L. A.; ALVES, A. U. Escarificação ácida na superação da dormência de sementes de pau ferro (*Caesalpineia ferrea* Mart. ex Tu. var. *leiostachya* Benth.). **Revista Caatinga**, Mossoró-RN, v.22, n.1, p.37-47, 2009.

ALVES, E. U.; BRUNO, R. L. A.; OLIVEIRA, A. P.; ALVES, A. U.; ALVES, A. U. Ácido sulfúrico na superação da dormência de unidades de dispersão de juazeiro (*Ziziphus joazeiro* Mart.). **Revista Árvore**, Viçosa-MG, v.30, n.2, p.187-195, 2006.

Capítulo III: Tratamentos pré-germinativos em sementes de juá revestidas de endocarpo

ALVES, E. U.; BRUNO, R. L. A.; ALVES, A. U.; ALVES, A. U.; CARDOSO, E. A.; GALINDO, E. A.; BRAGA JUNIOR, J. M. Germinação e biometria de frutos e sementes de *Bauhinia divaricata* L. (Leguminosae). **Revista Sttientibus**, Série Ciências Biológicas, v.7, n.3, p.193-198, jun-dez/2007.

AMARO, H. T. R.; ASSIS, M. O.; DAVID, A. M. S. S.; SILVEIRA, J. R.; SILVA NETA, I. C.; MOTA, W. F. Superação de dormência em sementes de manjeriço (*Ocimum basilicum* L.). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu-SP, v.14, n.esp., p.218-223, 2012.

ANDREANI JUNIOR, R.; CARDOSO, R. D.; SANTOS, N. S. S.; SANTOS, S. R. G.; KOZUSNY-ANDREANI, D. I.; Superação da dormência de sementes de três essências florestais. **Revista do Instituto Florestal**, v.23, n.2, p.255-264, dez/2011.

AZEREDO, G. A.; DE PAULA, R. C.; VALERI, S. V.; MORO, F. V. Superação de dormência de sementes de *Piptadenia moniliformis* Benth. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina-PR, v.32, n.2, p.49-58, 2010.

BIRUEL, R. P. **Caracterização e germinação de sementes de *Aegiphyla sellowiana***. Tese (Doutorado em Ciências - Ecologia e Recursos Naturais). Universidade Federal de São Carlos, São Carlos - SP, 2006. 131p.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes** / Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. – Brasília: Mapa/ACS, 2009, 398p.

CARDOSO, V. J. M. Dormência: estabelecimento do processo. In: FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed Editora, 2004. 323p.

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

COIMBRA, R. A.; TOMAZ, C. A.; MARTINS, C. C.; NAKAGAWA, J. Teste de germinação com acondicionamento dos rolos de papel em sacos plásticos. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina-PR, v.29, n.1, p.92-97, 2007.

DAVIDE, A. C.; SILVA, E. A. A. Sementes florestais. In: DAVIDE, A. C.; SILVA, E. A. A. (Ed.). **Produção de sementes e mudas de espécies florestais**. Lavras: UFLA, 2008. p.11- 81.

DIÓGENES, F. E. P.; OLIVEIRA, A. K.; COELHO, M. F. B.; MAIA, S. S. S.; AZEVEDO, R. A. B. Pré-tratamento com ácido sulfúrico na germinação de sementes de *Ziziphus joazeiro* Mart. – Rhamnaceae. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu-SP, v.12, n.2, p.188-194, 2010.

EIRA, M. T. S.; FREITAS, R. W. A.; MELLO, C. M. C. Superação da dormência de sementes de *Enterolobium contortisiliquum* (VELL.) Morong.- Leguminosae. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v.15, p.177-182, dez/1993.

GOLDFARB, M.; DUARTE, M. E. M.; CAVALCANTI MATA, M. E. R. M. Armazenamento criogênico de sementes de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.) Euphorbiaceae. **Revista Biotemas**, v.23, n.1, p.27-33, mar/2010.

GUERRA, M. E. C.; MEDEIROS FILHO, S.; GALHÃO, M. I. Morfologia de sementes, de plântulas e da germinação de *Copaifera langsdorfii* Desf. (Leguminosae- Caesalpinioideae). **Revista Cerne**, Lavras-MG, v.12, n.4, p.322-328, out-dez/2006.

KISSMANN, C.; SCALON, S. P. Q.; SCALON FILHO, H.; RIBEIRO, N. Tratamentos para quebra de dormência, temperaturas e substratos na germinação de *Adenanthera pavonina* L. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras-MG, v.32, n.2, p.668-674, 2008.

KRAMER, P. J.; KOZLOWISK, T. T. **Fisiologia das árvores**. Lisboa: Fundação Calouste Gubbenkian, 1972. 745 p. In: SILVA, K. B.; MATA, M. F.; BRUNO, R. L. A. Tratamentos pré-germinativos para superação da dormência de sementes de *Sterculia striata* A. St. Hil. Naldin. **Revista Semina: Ciências Agrárias**, Londrina-PR, v.33, n.3, p.857-866, maio-jun/2012.

LOPES, A. C. A.; NASCIMENTO, W. M. **Dormência em sementes de hortaliças**. Brasília-DF: Embrapa, 2012. 28p. (Documentos / Embrapa Hortaliças 136).

LOPES, J. C.; MATHEUS, M. T. Caracterização morfológica de sementes, plântulas e da germinação de *Dimorphandra wilsonii* Rizz. – faveiro – de - wilson (fabaceae caesalpinioideae). **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina-PR, v.30, n.1, p.96-101, 2008.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: Manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. 5. Ed. v.1. São Paulo: Plantarum, 2008. 384p.

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

MARTINS, C. C.; CAMARA, A. T. R.; MACHADO, C. G.; NAKAGAWA, J. Métodos de superação de dormência de sementes de barbatimão. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v.30, n.3, p.381-385, 2008.

MELO, M. F. F.; VARELA, V. P. Aspectos morfológicos de frutos, sementes, germinação e plântulas de duas espécies florestais da amazônia. I. *Dinizia excelsa* Ducke (Angelim pedra). II *Cedrelinga catenaeformis* Ducke (Cedrorana) - Leguminosae: Mimosoideae. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina-PR, v.28, n.1, p.54-62, 2006.

MENEZES, N. L.; FRANZIN, S. M.; BORTOLOTTI, R. P. Dormência em sementes de arroz: causas e métodos de superação. **Revista de Ciências Agro-Ambientais**, Alta Floresta, v.7, n.1, p.35- 44, 2009.

MONIZ-BRITO, K. L.; OSUNA, J. T. A. Influência dos tratamentos físicos e químicos na germinação de *Ziziphus joazeiro* Mart. (RHAMNACEAE). **Revista Magistra**, Cruz das Almas-BA, v.20, n.1, p.16-21, 2008.

OLIVEIRA, L. M.; DAVIDE, A. C.; CARVALHO, M. L. M. Avaliação de métodos para quebra da dormência e para a desinfestação de sementes de canafístula (*Peltophorum dubium* (Sprengel) Taubert). **Revista Árvore**, Viçosa-MG, v.27, n.5, p.597-603, 2003.

PACHECO, M. V.; MATOS, V. P. Método para superação de dormência tegumentar em sementes de *Apeiba tibourbou* Aubl. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, Recife-PE, v.4, n.1, p.62-66, 2009.

PINEDO, G. J. V.; FERRAZ, I. D. K. Hidrocondicionamento de *Parkia pendula* [BENTH ex WALP]: sementes com dormência física de árvore da Amazônia. **Revista Árvore**, Viçosa-MG, v.32, n.1, p.39-49, 2008.

REBOUÇAS, A. C. M. N.; MATOS, V. P.; FERREIRA, R. L. C.; SENA, L. H. M.; SALES, A. G. F. A.; FERREIRA, E. G. B. S. Métodos para superação da dormência de sementes de quixabeira (*Sideroxylon obtusifolium* (Roem. & Schult.) T.D.Penn.). **Ciência Florestal**, Santa Maria-RS, v.22, n.1, p.183-192, jan-mar/2012.

SILVA, F. A. S.; AZEVEDO, C. A. V. **Principal Components Analysis in the Software Assistat-Statistical Attendance**. In: WORLD CONGRESS ON COMPUTERS IN AGRICULTURE, 7, Reno-NV-USA: American Society of Agricultural and Biological Engineers, 2009.

SILVA, K. B.; MATA, M. F.; BRUNO, R. L. A. Tratamentos pré-germinativos para superação da dormência de sementes de *Sterculia striata* A. St. Hil. Naldin. **Revista Semina: Ciências Agrárias**, Londrina-PR, v.33, n.3, p.857-866, maio-jun/2012.

VIEIRA, R. D.; CARVALHO, N. M. **Teste de vigor em sementes**. São Paulo - SP: Editora Afiliada, 1994, 164p. In: GOLDFARB, M.; DUARTE, M. E. M.; CAVALCANTI MATA, M. E. R. M. Armazenamento criogênico de sementes de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.) Euphorbiaceae. **Revista Biotemas**, vol.23, n.1, p.27-33, mar/2010.

Capítulo IV: Teor de Água Limite para Crioconservação das sementes de romã e juá

PROTÓCOLOS DE CRIOPRESERVAÇÃO DE SEMENTES DE ROMÃ E JUÁ

CAPÍTULO IV

**TEOR DE ÁGUA LIMITE PARA CRIOPRESERVAÇÃO DAS SEMENTES DE
ROMÃ E JUÁ**

PROTÓCOLOS DE CRIOPRESERVAÇÃO DE SEMENTES DE ROMÃ E JUÁ

CAPÍTULO IV: TEOR DE ÁGUA LIMITE PARA CRIOPRESERVAÇÃO DAS SEMENTES DE ROMÃ E JUÁ

RESUMO

Objetivou-se neste trabalho, determinar o Teor de Água Limite para crioconservar as sementes romã e sementes de juá revestidas de endocarpo, em vapor de nitrogênio a $-170\text{ }^{\circ}\text{C}$ e nitrogênio líquido a $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$. As sementes passaram por um processo de secagem e umedecimento para alcançar os teores de água de 4, 6, 8, 10, 12, e 14% em base úmida; logo após, foram crioconservadas a -170 e -196°C durante cinco dias e, em seguida, descongeladas gradativamente nas temperaturas de -196 , -170 , -80 , $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ e ambiente com intervalo de 3 horas para cada temperatura, para serem realizados os testes de germinação e vigor; para efeito de uma análise comparativa utilizou-se armazenagem das sementes a $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ e 70% de umidade relativa por igual período de tempo (5 dias). O delineamento estatístico empregado foi o inteiramente casualizado, com arranjo fatorial de três temperaturas e seis teores de água, empregando-se quatro repetições por tratamento. A análise de variância e comparação das médias dos tratamentos foi realizada pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. Com os resultados obtidos conclui-se que o melhor porcentual de germinação e vigor das semente de romã foi obtido quando essas sementes foram crioconservadas em vapor de nitrogênio ($-170\text{ }^{\circ}\text{C}$), com um teor de água de 10% b.u. E o teor de água limite para a crioconservação das sementes de juá revestidas de endocarpo, considerando-se a germinação e o vigor dessa espécie, encontra-se entre 8 e 10% b.u.;

Palavras-chave: *Punica granatum* L., *Ziziphus joazeiro* Mart., vapor de nitrogênio, nitrogênio líquido, qualidade fisiológica.

ABSTRACT

The objective of this work was to determine the Limit Water Content to cryopreserve the pomegranate seeds and *juá* seeds coated with endocarp, in nitrogen vapor at $-170\text{ }^{\circ}\text{C}$ and liquid nitrogen at $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$. The seeds have undergone a process of drying and wetting to achieve the moisture contents of 4, 6, 8, 10, 12, and 14% on a wet basis; soon after, they were cryopreserved at -170 and $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ for five days, and then thawed slowly at temperatures of -196 , -170 , -80 , $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ and room temperature with an interval of three hours for each temperature, to be performed the germination and vigor tests; for purposes of comparative analysis the seeds were stored at $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ and 70% relative humidity for the same period of time (5 days). The statistical design was completely randomized with a factorial arrangement of three temperatures and six water contents, using four replicates per treatment. The variance analysis and comparison of the treatment averages was performed by Tukey test at 5% probability. With the results obtained it is concluded that the best percentage of germination and vigor of pomegranate seeds was obtained when these seeds were cryopreserved in nitrogen vapor ($-170\text{ }^{\circ}\text{C}$) with a water content of 10% wet basis. The limit water content for the cryopreservation of *juá* seeds coated with endocarp, considering the germination and vigor of this species, is between 8 and 10% wet basis.

Keywords: *Punica granatum* L., *Ziziphus joazeiro* Mart., nitrogen vapor, liquid nitrogen, physiological quality.

IV.1. INTRODUÇÃO

A necessidade de recuperação de ecossistemas florestais e a conservação da biodiversidade geraram necessidade de estudos do comportamento das sementes durante o armazenamento (CARVALHO et al., 2006). Na última década, o avanço significativo nas pesquisas utilizando as técnicas de crioconservação de sementes, resultou em protocolos de conservação para cerca de 100 espécies, uma vez que a semente é a forma pela qual a planta sobrevive o máximo de tempo com o mínimo de atividade fisiológica (MARTINS et al., 2009).

A crioconservação é uma técnica disponível, a longo prazo, para a conservação do germoplasma de espécies de plantas propagadas vegetativamente ou que possuem sementes recalcitrantes. Neste processo de armazenamento, utilizam-se temperaturas ultra-baixas, geralmente em nitrogênio líquido a $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$, ou em sua fase de vapor, a $-170\text{ }^{\circ}\text{C}$. A criobiologia tem motivado o desenvolvimento de protocolos de crioconservação para sementes de muitas espécies economicamente importantes; considera-se a massa de água da semente o fator mais crítico para o sucesso de um protocolo de crioarmazenamento (GOLDFARB et al., 2007).

Contudo, com essa crescente perda da nossa biodiversidade, tornam-se necessárias estratégias que permitam manter *ex situ* parte dessa diversidade. Dessa forma, a crioconservação surge como alternativa, pois, ao contrário dos Bancos de Germoplasma comuns, que são de alto custo e mantêm as espécies a curto ou médio prazo, a crioconservação de sementes surge como uma alternativa viável e de longo prazo para conservação de espécies ameaçadas e/ou de valor econômico (DUARTE, 2009).

Em um banco de germoplasma a baixas temperaturas, não só o processo de crioconservação deve ser levado em consideração como também o método de descongelamento, pois quanto mais rápido ocorrer o descongelamento das sementes, melhor a preservação de suas características fisiológicas. Portanto, o método de descongelamento a temperatura ambiente se torna questionável, uma vez que existe a possibilidade do recongelamento durante este período, necessitando, desta forma, estudos em relação aos métodos mais rápidos de descongelamento (MOLINA et al., 2006).

Objetivou-se, portanto, neste trabalho determinar o Teor de Água Limite para Crioconservação (TALC), das sementes de romã e sementes de juá revestidas de endocarpo, haja vista a importância dos estudos referentes à exploração de forma racional dos recursos genéticos.

IV.2. REVISÃO DE LITERATURA

IV.2.1. *Punica granatum* L.

A *Punica granatum* L., romãzeira, como conhecida no Brasil, é um arbusto lenhoso, ramificado, da família Punicaceae, nativa da região que abrange, desde o Irã até o Himalaia, ao noroeste da Índia. Há muito tempo tem sido cultivada por toda a região Mediterrânea da Ásia, África e Europa. Tem folhas pequenas, rijas, brilhantes e membranáceas, flor disposta nas extremidades dos ramos, de cor vermelha-alaranjada e frutos esféricos, com muitas sementes em camadas, as quais se acham envolvidas em arilo polposo (LORENZI & SOUZA, 2001; SHEETS et al., 2004; WERKMAN et al., 2008).

Na sua estrutura contém, entre os seus princípios ativos, grande quantidade de tanino (em torno de 22 a 25% de ácido punicotânico). Seus alcalóides possuem propriedades digestiva, espasmolítica, anti-diarréica e anti-helmíntica e a pelieterina possui ação tóxica específica contra a tênia. Por conterem moléculas bastante coloridas, podem ser úteis no tingimento de tecidos. Os alcalóides pelieterina e isopelieterina estão presentes de 0,3% a 0,9% nas cascas da raiz e do fruto. A casca do fruto também contém tanino e alcalóides, além de substâncias com ação antibiótica. Possui atividade antisséptica, antiviral e adstringente sendo empregada popularmente no tratamento de dores de garganta, rouquidão e inflamações na boca (HOLETZ et al., 2002).

O seu cultivo é realizado em mais de 100 países do mundo. Dos países do Mediterrâneo, atravessou o Atlântico e acabou aportando no Brasil, onde encontrou condições favoráveis para um crescimento vegetativo, florescimento, frutificação e produção de frutos de primeira qualidade. O seu maior interesse no mundo está no seu cultivo para o consumo como fruta fresca. Também tem a sua aplicação em clínicas especializadas no campo da medicina moderna (MANICA, 2007).

A Espanha é um dos mais importantes países produtores do mundo e o maior produtor e exportador do mercado comum europeu. A Turquia com 60.000 toneladas e a Tunísia com 55.000 toneladas são grandes produtores mundiais, mas nestes dois países existe um sistema de cultivo menos intensivo e menos especializado com uma rede de comercialização pouco desenvolvida, com apenas 2 a 7% de exportação da sua produção total, quando comparado com o cultivo na Espanha. Tradicionalmente, o Reino Unido tem sido o principal comprador de romã da Espanha e os frutos são destinados fundamentalmente para o consumo in natura

especialmente nas zonas de mineração da Inglaterra devido às suas propriedades benéficas frente à contaminação de metais pesados (MANICA, 2007).

Entre os principais países importadores está em primeiro lugar a Inglaterra que absorve os frutos de calibres pequenos, em segundo lugar, a França que adere aos frutos de grande calibre e em terceiro lugar a Itália que vem aumentando significativamente a quantidade de frutos importados da Espanha. Em quarta posição encontram-se os Países Árabes que aceitam frutos de qualidade um pouco inferior e que representam uma grande importância para a Espanha para poder descongestionar as sobras dos mercados e evitar uma oferta excessiva de frutos (MANICA, 2007).

IV.2.2. *Ziziphus joazeiro* Mart.

IV.2.2.1 O bioma caatinga

Exclusivamente brasileiro, a Caatinga ocupa cerca de 11% do país, sendo o principal ecossistema/bioma da região nordeste e considerado o bioma semiárido mais rico do mundo em biodiversidade com a maior parte de seu território ocupado por uma vegetação xerófila, de fisionomia e florística variadas (MMA, 2012). Esta vegetação é extremamente importante do ponto de vista biológico, e tem sua distribuição restrita ao Brasil. De modo geral, a Caatinga tem sido geralmente descrita na literatura como um ecossistema de baixa diversidade, abrigando poucas espécies endêmicas (EMBRAPA, 2008).

Do ponto de vista vegetacional, é bastante diversificada por incluir outros ambientes associados. Somente de Caatingas são reconhecidas 12 tipologias diferentes, as quais despertam atenção especial pelos exemplos fascinantes de adaptação aos habitats do semi-árido. Isto implica dizer que a relação entre os fatores abióticos como solo-clima-pluviosidade pode explicar, em parte, a grande diversidade de fisionomias aliada à composição florística, com muitas das espécies vegetais endêmicas no bioma (MELO & ANDRADE, 2007).

O clima da região semi-árida apresenta como característica marcante a irregularidade do regime pluviométrico, com duas estações definidas: a estação chuvosa (inverno) que dura de três a cinco meses e a estação seca (verão) que dura de sete a nove meses. As chuvas são intensas e irregulares no tempo e no espaço, provocando periodicamente a ocorrência de secas prolongadas (ANDRADE et al., 2008).

A maioria da população que vive nessa região (caatinga) apresenta baixa renda *per capita* e faz uso da vegetação como recurso para subsistência. A demanda de uso energético da vegetação da Caatinga tem gerado modificações nas paisagens e perda de diversidade biológica por insuficiência de informações sobre o manejo das espécies (FIGUEIRÔA et al., 2008). É interessante estimular a revegetação da caatinga com plantas nativas perenes, visando sistemas silvos-pastoris direcionados a população de baixa renda, na tentativa de preservar o agro sistema e diminuir as pressões de desertificação que as regiões semi-áridas sofrem (AMORIM et al., 2009).

IV.2.2.2 A família *Rhamnaceae* e o gênero *Ziziphus*

A família *Rhamnaceae* é composta por cerca de 58 gêneros e 900 espécies com distribuição cosmopolita, sendo representada por 23 gêneros e 170 espécies na América Tropical (HEALD, 2004), que inclui desde árvores e arbustos, com frequência xerófilos, até trepadeiras lenhosas e raras ervas. Apesar de muito heterogênea, cabe salientar que a família constitui um grupo monofilético, como demonstrado em estudo com sequências de DNA (RICHARDSON et al., 2000). Quanto ao aspecto taxonômico, o mesmo autor salienta a necessidade de uma nova classificação supra genérica, que leve em consideração dados moleculares, juntamente com características morfológicas das espécies.

Esta família abrange plantas cosmopolitas, de folhas simples e flores miúdas, com disco nectarífero de forma variável, interno ao tubo; os estames, presos ao disco, são alternos às lacínias do cálice e opostos às pétalas, que normalmente são côncavas. Igualmente típica da família, é a presença de placentação basal. Em nosso país as *Rhamnaceae* são de importância pouco notável, se levado em conta o número de espécies e sua utilização, que se concentra, sobretudo, em espécies ornamentais ou de frutos comestíveis (SOUZA & LORENZI, 2005).

Ziziphus possui cerca de 30 espécies (HEALD, 2004), seis das quais ocorrem na região Nordeste do Brasil (CNIP, 2005).

IV.2.2.3 A espécie *Ziziphus joazeiro* Mart.

O juazeiro (*Ziziphus joazeiro* Mart.), pertencente à família *Rhamnaceae*, é uma árvore típica do semi-árido nordestino brasileiro, surgindo, principalmente, nas áreas de embasamento cristalino em suas partes mais baixas, onde os solos são mais profundos. É uma

espécie endêmica do bioma Caatinga (PRADO & GIBBS, 2003), com grande potencial medicinal, madeireiro, econômico e socioambiental para a região semi-árida, além de servir na alimentação animal dos rebanhos domésticos, pois suas folhas e frutos são intensamente consumidos, na planta ou quando caem, principalmente, nos períodos mais tórridos do semi-árido brasileiro (LIMA & TORRES, 2009).

Conserva-se verde durante as secas, cresce lentamente e vivem mais de 100 anos. Há mais de 100 espécies e aparece em todas as regiões tropicais do mundo, sendo estas espécies também utilizadas na medicina popular de todos os países onde crescem. É nativo da caatinga nordestina do país (Piauí até o norte de Minas Gerais), nas caatingas e campos abertos do polígono da seca, aparece ainda em áreas secas da Argentina, Bolívia e Paraguai (ITF, 2008).

As partes mais utilizadas são as folhas, cascas, entrecascas, frutos e raízes, as indicações são como febrífugo, bactericida, analgésico, cicatrizantes tópicos; calutório para cavidade oral, gengivites, higiene bucal, já que possui propriedade de retirar a placa dentária, tônico hepático e cardíaco, adstringente, diurético, tônico capilar para seborréia e alopecia, caspa e para a limpeza do couro cabeludo e dos fios capilares, afecções respiratórias bacterianas superiores, tosse e bronquite (CAVALCANTI et al., 2011).

Mesmo sendo uma espécie de intensa utilidade para a população residente no semi-árido, o juazeiro, continua sendo explorado de forma extrativista e predatória, necessitando ser pesquisado e estudado tanto pela sua capacidade fisiológica, como também por ser uma alternativa de sustentabilidade da vida no semi-árido nordestino (TABARELLI et al., 2003). De acordo com LIMA et al. (2006) não há conhecimento suficiente para o manejo e análise de sementes da maioria das espécies florestais nativas do Nordeste do Brasil, de modo que forneçam dados que possam caracterizar seus atributos físicos e fisiológicos.

IV.2.3. Generalidades sobre sementes

IV.2.3.1 Teor de água

Determinar como o teor de água influencia a longevidade das sementes é logisticamente difícil porque os experimentos relacionados à deterioração de sementes são de longo prazo, exigindo muitos anos para detectar mudanças na viabilidade e no vigor das sementes. O princípio destes experimentos é simular, sob condições adversas (submeter lotes de sementes com diferentes teores de água a temperaturas elevadas), os mesmos processos de

deterioração que as sementes teriam sob armazenamento em condições amenas. Para isto, é necessário assumir que os mecanismos de deterioração de sementes são similares em uma ampla faixa de temperaturas e umidades relativas do ar (WALTERS et al., 2005).

MARCOS FILHO (2005) afirma que independente do processo de armazenamento, mesmo considerando as condições ótimas de teor de água e de temperatura, todas as sementes sofrem o processo de deterioração, levando a perda gradativa da viabilidade e do vigor, sendo considerado um processo contínuo.

IV.2.3.2 Teor de Água Limite para Crioconservação

As sementes, consideradas uma das estruturas encarregadas da propagação das plantas são constituídas de água e matéria seca, nas quais encontram-se os polissacarídeos, proteínas, óleos, cinzas e vitaminas. O termo teor de água refere-se à quantidade de água existente na semente em relação à sua massa total sendo esta, função da umidade relativa do ar e da temperatura do ambiente (ALMEIDA et al., 2006).

Segundo CASTRO et al. (2004) as sementes mudam de um estado metabolicamente ativo para um estado inativo após a maturação, por efeito da dessecação e, retorna ao estado metabolicamente ativo durante a germinação, por efeito de uma sorção de água. No entanto, o estado inativo de uma semente, após a maturação, é função da umidade relativa do ar e da temperatura do ambiente, tendo em vista que essas condições ambientais definem o teor de água de equilíbrio das sementes (ALMEIDA et al., 2006).

GOLDFARB et al. (2008) menciona que quando as condições ambientais são inadequadas e o teor de água de equilíbrio das sementes se eleva a determinados níveis que passam a ser impróprios para a conservação de um determinado material, inicia-se, nessas condições, a perda acentuada da qualidade fisiológica. Contudo, antes de se crioconservar uma semente, é necessário conhecer o teor de água ideal que as mesmas devem ser armazenadas a temperatura criogênica, pois se este teor de água ideal não for determinado, as sementes podem perder sua viabilidade, durante o armazenamento criogênico, inviabilizando o uso dessa técnica.

Nessa perspectiva, estabeleceu-se ao longo dessas últimas décadas de pesquisa com crioconservação de sementes, que existiria um limite máximo de teor de água para o seu congelamento (High Moisture Freezing Limit-HMFL ou Teor de Água Limite para a

Criopreservação - TALC), acima do qual a viabilidade da semente é reduzida (STANWOOD, 1985).

IV.2.3.3 Sementes ortodoxas, intermediárias e recalcitrantes

As sementes podem ser classificadas em três categorias de comportamento de armazenamento, em função da sensibilidade a desidratação das sementes e a tolerância a baixas temperaturas: ortodoxa, intermediária ou recalcitrante (THEILADE & PETRI, 2003).

Sementes de espécies ortodoxas toleram redução expressiva no seu teor de água até atingir valores inferiores a 10% de seu peso, o que torna muitas de suas organelas celulares desorganizadas e inativas. Neste estado de quiescência a semente resiste a condições adversas do ambiente, podendo voltar à atividade metabólica (crescimento e desenvolvimento), quando as condições do ambiente forem favoráveis, ou seja, quando re-hidratadas. Tais espécies apresentam sementes que são classificadas como tolerantes a dessecação, pois tem a capacidade de se re-hidratarem depois da remoção de 80 a 90% da água protoplasmática e, com isto, terem o seu metabolismo reativado (HOEKSTRA et al., 2001; GUIMARÃES et al., 2008).

Nessa perspectiva, sementes ortodoxas são aquelas que, ao final do processo de desenvolvimento e maturação, podem sofrer secagem natural na planta mãe, finalizando o seu desenvolvimento com baixo teor de água, em torno de 5 a 10% de seu peso fresco. Apresentando comportamento oposto, as sementes recalcitrantes não passam por esta fase de secagem ao final da maturação, sendo dísporas da planta mãe com teor de água relativamente alto, em geral, em torno de 60 a 70% de seu peso fresco (CASTRO et al., 2004). Tais sementes são classificadas como intolerantes a dessecação, devendo ser armazenadas com teores de água relativamente altos, pois caso sejam desidratadas a teores de água inferiores a um nível crítico mínimo, que varia com a espécie, perdem a viabilidade (BEWLEY et al., 2000; GUIMARÃES et al., 2008).

As sementes intermediárias são aquelas que não se comportam nem como ortodoxas nem como recalcitrantes, situando-se entre os limites destas duas categorias. Segundo CASTRO et al. (2001) as sementes com essa classificação apresentam um tipo de comportamento em que podem ser desidratadas a teores baixos de água mas ainda assim apresentam longevidade, no entanto são altamente sensíveis a danos de embebição ou baixas temperaturas.

IV.2.3.4 Germinação e vigor

As sementes apresentam importantes funções relacionadas à disseminação e garantia de sobrevivência das espécies vegetais, além do seu papel biológico e utilização na alimentação humana e animal. Apesar de serem formadas basicamente por embrião, tecidos de reserva e envoltório, na natureza diversos fatores contribuem para que haja desenvolvimento diferenciado dos componentes da semente, variando entre espécies e até dentro da própria espécie, através da cor, forma e tamanho (MARCOS FILHO, 2005).

Para a obtenção de resultados confiáveis e comparáveis dos testes de germinação, é necessária a utilização de condições padrões, indicadas nas Regras para Análises de Sementes (BRASIL, 2009). Isso significa que as condições sob as quais são realizados esses testes são controladas de forma a atenderem os requisitos ambientais ideais à germinação das sementes de cada espécie. Segundo MARCOS FILHO (2005) as variações de temperatura afetam a velocidade, a percentagem e a uniformidade de germinação. Portanto, a temperatura ótima é aquela que possibilita a combinação mais eficiente entre a porcentagem e a velocidade de germinação.

O processo germinativo se inicia com a absorção de água por embebição, porém, há necessidade de que a semente alcance um nível de hidratação que permita a reativação dos seus processos metabólicos para o estabelecimento das plântulas (GUEDES et al., 2011) . Segundo BRAGA et al. (2009), o período germinativo é importante para a sobrevivência das espécies, principalmente nos locais onde a disponibilidade de água é limitada durante um período do ano.

A profundidade de semeadura é específica para cada espécie e, quando adequada, propicia uniformidade de germinação e emergência de plântulas (SOUSA et al., 2007). Profundidade de semeadura excessiva pode impedir que a plântula, ainda frágil, consiga emergir, além disso, conforme SILVA et al. (2007) a camada espessa de solo pode impedir que as sementes menos vigorosas não completem a germinação ou originem deformidades na plântula, bem como aumentar o período de suscetibilidade a patógenos.

A primeira contagem de germinação, realizada para facilitar a condução do teste de germinação, pode ser considerada como um teste de vigor, pois a velocidade da germinação é uma das primeiras características a serem afetadas no processo de deterioração das sementes. É neste sentido, que o vigor é reconhecido como um parâmetro para a caracterização do potencial fisiológico das sementes, indicando os lotes com maior ou menor probabilidade de

sucesso após a semeadura em campo ou durante o armazenamento, sob diferentes condições do ambiente, ampliando o leque de informações disponíveis sobre a viabilidade das sementes (MARCOS FILHO, 2005).

Os testes de vigor visam simular as condições desfavoráveis de campo, uma vez que o teste de germinação pode superestimar os resultados, já que são dadas condições ambientais ótimas para as sementes. Portanto, os testes de vigor são capazes de detectar, com maior precisão, os avanços da deterioração das sementes, permitindo diferenciar lotes de poder germinativo semelhantes (MENDONÇA et al., 2008).

IV.3. MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Sementes e no Setor de Criogenia do Laboratório de Armazenamento e Processamento de Produtos Agrícolas (LAPPA) da Unidade Acadêmica de Engenharia Agrícola, da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG – PB). Foram utilizadas sementes de romã oriundas de frutos fisiologicamente maduros (pericarpo amarelado com manchas vermelhas), adquiridos na Fazenda Águas do Tamanduá, no sertão paraibano de Sousa, PB (cidade que está a uma altitude média de 220 metros, com latitude – 06 ° 45' 33'', longitude 38° 13' 41'' e uma área que abrange 765,0 km²), coletadas no período de janeiro de 2012 (Figura 1).



Figura IV.1 - Fruta (A); Processamento (B); Sementes (C).

As frutas foram lavadas e sanitizadas com água clorada (10 ppm de cloro livre), em seguida abertas e o conteúdo interno (sementes) colocado sobre uma peneira e macerado com um pistilo à temperatura ambiente (± 25 °C), imersas em água destilada por 24 horas para a remoção do sarcotesta e secas à sombra.

Já os frutos de juá foram coletados no Campus da UFCG na cidade de Campina Grande, PB (cidade que está a uma altitude média de 551 metros, com latitude – 07 ° 13' 50'', longitude 35° 52' 52'' e uma área que abrange 599,6 km²), entre maio e julho de 2012, sendo

coletados diretamente da árvore quando iniciaram a queda espontânea. Os frutos foram despulpados em uma despulpadeira industrial (Laboremus- PAT/REG), restando parte do fruto, o endocarpo, que fica aderido ao tegumento da semente, sendo estes submetidos à fermentação por cinco dias, para a retirada de mucilagem. Decorrido esse período, foram lavados com água corrente, sob peneira de arame, e postos para secar a sombra.



Figura IV.2 - Fruto (A); Queda espontânea dos frutos (B); Sementes revestidas de endocarpo (C).

IV.3.1 Determinação do teor de água inicial das sementes

A determinação do teor de água inicial das sementes foi realizada a partir do método padrão da estufa a 105 ± 3 °C, utilizando quatro sub-amostras de 5g de sementes acondicionadas em recipientes metálicos, onde permaneceram durante 24 h. Após esse período, foram retirados da estufa, tampados rapidamente, resfriados em dessecador durante 15 minutos e pesados em balança analítica com precisão de 0,0001g, como prescrito nas Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009) e o resultado final expresso pela média aritmética em porcentagens das sub-amostras.

Após a determinação do teor de água inicial as sementes de romã e as sementes de juá revestidas de endocarpo foram submetidas a um processo de umedecimento ou secagem, até atingirem teores de água estabelecidos para os diferentes ensaios de determinação do TALC (4, 6, 8, 10, 12 e 14% b.u.). Como a espécie *Ziziphus joazeiro* Mart. apresenta dormência imposta pelos envoltórios, devido a barreira mecânica causada pelo endocarpo duro e resistente que envolve as sementes fez-se necessário a escarificação ácida através da imersão em ácido sulfúrico concentrado durante 10 minutos para acelerar e uniformizar a germinação, ocorrendo o desgaste do tegumento, promovendo a permeabilidade da semente.

No procedimento de secagem das sementes as amostras foram colocadas em uma estufa a 30 ± 2 °C, sendo os lotes de sementes pesados a cada duas horas até atingirem os pesos referentes aos teores de água desejados. Para o acréscimo do teor de água, as sementes

foram umedecidas de forma uniforme em cesta de arame com quatro suportes em sua base; este material foi colocado no interior de uma bandeja plástica com água destilada em um nível em que alcance os suportes, sem atingir as sementes. Todo o material (bandeja e cesta com sementes) foram envolvidos por um saco plástico de alta densidade, vedado, e em seguida, levado a uma câmara de refrigeração com temperatura de 10 °C sendo pesados a cada uma hora, utilizando uma balança eletrônica, com precisão de 0,01g até atingir os pesos referentes aos teores de água desejados. A perda ou ganho de água pelas sementes foi determinada por meio da Equação II-1.

Decorrido o processo, os valores experimentais do umedecimento e secagem das sementes de romã e juá foram ajustados a uma equação exponencial através de regressão não-linear, em função do tempo (minutos).

IV.3.2 Teor de Água Limite para Crioconservação (TALC)

Para determinação do TALC foram formados seis lotes de sementes com teores de água ajustados para (4, 6, 8, 10, 12, 14% b.u). As sementes foram acondicionadas em tubos cilíndricos de alumínio (canister), separadas por teor de água e acondicionadas em botijões criogênicos isolados com vácuo (Figura IV.3), o que confere, ao botijão, a capacidade de manter o nitrogênio em estado líquido (N_2L) a -196 °C e no estado de vapor a -170 °C (CAVALCANTI MATA et al., 2004).

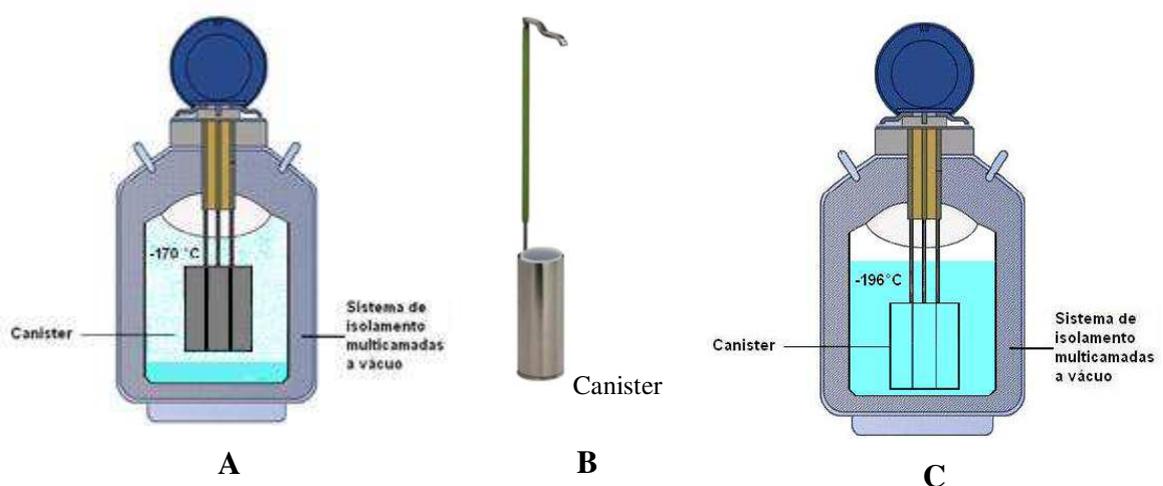


Figura IV.3 - Botijão criogênico com vapor de nitrogênio a -170 °C (A); Canister em aço inoxidável (B); Botijão criogênico com nitrogênio líquido a -196 °C (C).

Decorrido um período de cinco dias de crioarmazenamento as sementes foram submetidas a um descongelamento gradativo (-196; -170; -80; 10 °C e ambiente) com intervalo de três horas para cada temperatura, e logo após submetidas a uma avaliação da qualidade fisiológica através dos testes de germinação e vigor. Empregou-se os mesmos testes para um lote de sementes armazenadas por um período de cinco dias a temperatura ambiente (± 25 °C) e umidade relativa (UR) média de 70%, para uma análise comparativa.

IV.3.3 Análise da qualidade fisiológica após a crioconservação

Como não existe, nas Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009), um protocolo que descreva a metodologia para avaliar as sementes de romã e sementes de juá revestidas de endocarpo o teste de germinação adotado foi determinado através de procedimentos experimentais. Para a romã foram utilizadas quatro repetições de 50 sementes por tratamento e, para o juá, utilizou-se quatro repetições de 25 sementes para cada tratamento. Para este teste, as sementes foram semeadas em bandejas plásticas com 42 cm de comprimento, 27,5 cm de largura e 7,0 cm de altura. O substrato utilizado foi a vermiculita, a qual foi umedecida com água destilada e repostada sempre que o substrato era ressecado pelo ar do ambiente.

Os testes de vigor foram determinados através do comprimento de plântula e do peso da matéria seca. Para determinação do comprimento das plântulas foi utilizado um paquímetro com precisão de 0,01mm, sendo avaliada a altura das plântulas normais (sistema radicular desenvolvido, presença de hipocótilo e cotilédones) (GOLDFARB et al., 2010). A determinação do peso da matéria seca das plântulas consideradas normais de cada repetição foi realizada retirando-as do substrato e colocando-as em saco de papel as quais, separadas por tratamento e repetições, foram colocadas para desidratar em estufa a 70 ± 3 °C, até peso constante. Depois deste período, as mesmas foram retiradas da estufa e colocadas para resfriar em um dessecador, por um período de 15 minutos e, logo após, pesadas em balança eletrônica, com precisão de 0,01g. O peso seco foi calculado através da fórmula proposta por VIERA & CARVALHO (1994).

IV.3.4 Análise estatística

O delineamento estatístico empregado foi o inteiramente casualizado com arranjo fatorial 6 X 3 representado pelos teores de água (4, 6, 8, 10, 12 e 14% b.u.) e temperaturas de (25, -170 e -196 °C), empregando-se quatro repetições por tratamento. Foram realizadas a análise de variância e a comparação das médias dos tratamentos, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade utilizando o programa computacional ASSISTAT, versão 7.6 beta (SILVA & AZEVEDO, 2009).

IV.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

IV.4.1 Teor de Água Limite para Crioconservação da romã

O valor do teor de água inicial das sementes de romã foi de 10,6% (b.u.). Os valores experimentais referentes ao processo de umedecimento e secagem das sementes em função do tempo (minutos) estão demonstrados nas Figuras IV.4 e IV.5:

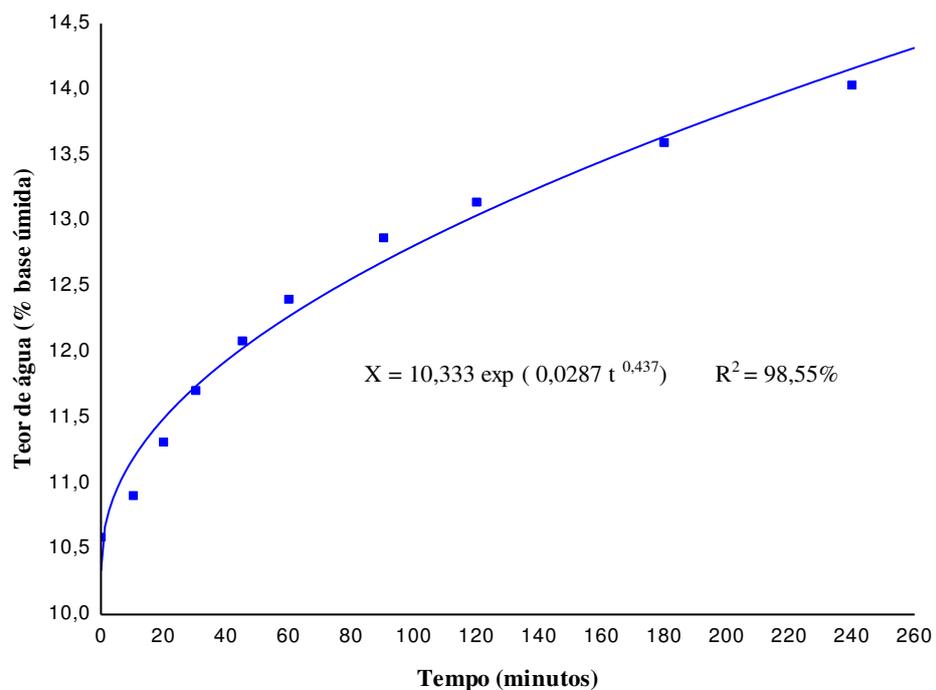


Figura IV.4 - Valores experimentais do umedecimento das sementes de romã em função do tempo (minutos).

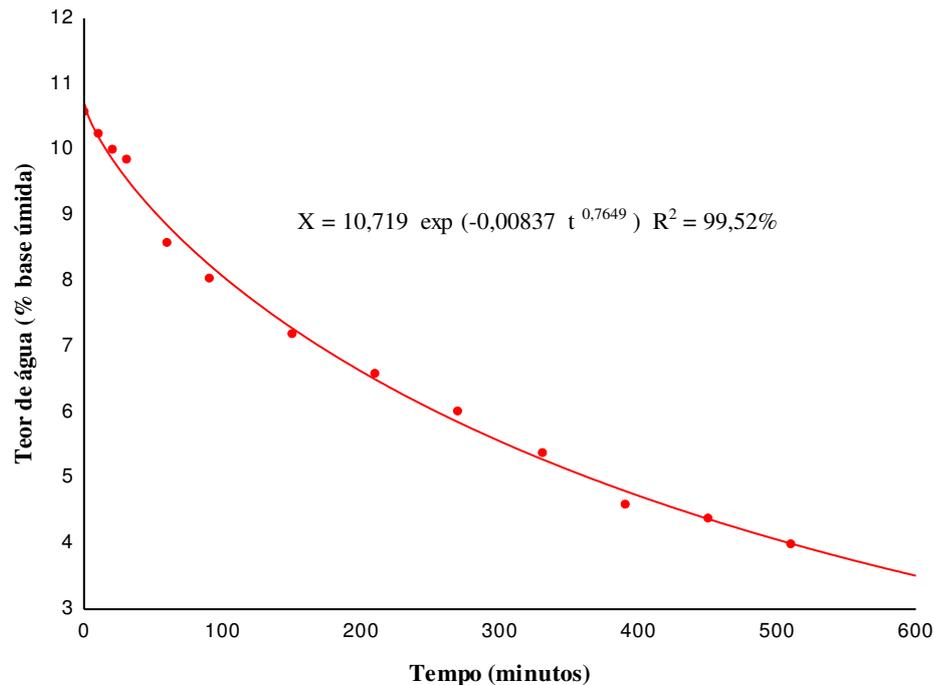


Figura IV.5 - Valores experimentais da secagem das sementes de romã em função do tempo (minutos).

Os dados experimentais do processo de umedecimento e secagem foram ajustados por regressão. Verifica-se que os valores estão intrinsecamente ligados a estrutura da semente, a qual apresenta condições favoráveis para o processo sendo facilitada pelo fato de as mesmas se encontrarem livres da sarcotesta, expondo o tegumento a uma maior absorção e desidratação. O modelo não-linear representa satisfatoriamente os valores experimentais, apresentando elevado valor do coeficiente de determinação (R^2).

A germinação e o vigor das sementes de romã com os teores de água descritos anteriormente e submetidas à armazenagem por cinco dias, à temperatura ambiente ($25\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$), imersão em vapor de nitrogênio (-170 °C) e nitrogênio líquido (-196 °C), encontram-se na Tabela IV.1. De acordo com os resultados, observa-se que sementes com teor de água abaixo de 6% e acima de 12% quando imersas no vapor de nitrogênio e nitrogênio líquido diminuiriam a sua germinação, indicando haver uma ação negativa do frio a esses teores de água. Observa-se também, que as sementes armazenadas a temperatura ambiente e crioarmazenadas em nitrogênio líquido com teores de água entre 4 e 8% b.u. foram estatisticamente iguais de acordo com o teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Diversas pesquisas têm demonstrado que o porcentual do teor de água das sementes interfere no processo de crioconservação. De acordo com TRESENA et al. (2010), sementes

de ipê amarelo com teores de água acima de 4% (b.u.) apresentaram um decréscimo significativo nos testes de germinação e vigor. Já nos procedimentos experimentais realizados por GOLDFARB et al. (2008), as sementes de pinhão manso podem ser crioconservadas à temperatura de -196 °C, com teor de água entre 4 a 8% (b.u.), pois sua germinação e o seu vigor não são alterados significativamente. No entanto, o teor de água limite para crioconservação das sementes de pinhão manso foi estabelecido como sendo 8 % (b.u.), que foi o teor de água da colheita.

Tabela IV.1 - Valores médios da germinação e vigor em função do teor de água das sementes de romã, crioconservadas a (-170 e -196 °C) e à temperatura ambiente (25 °C), por um período de cinco dias.

Sementes de Romã									
T.A. %	Germinação (%)			Vigor					
	25 °C	-170 °C	-196 °C	Comprimento da Plântula (mm)			Matéria Seca (g)		
	25 °C	-170 °C	-196 °C	25 °C	-170 °C	-196 °C	25 °C	-170 °C	-196 °C
4	68,0aA	62,0aC	62,0aA	25,05abA	23,33bA	28,56aA	0,461aC	0,211bF	0,209bE
6	69,5aA	69,0aBC	66,5aA	25,64aA	27,74aA	28,10aAB	0,555bA	0,573aD	0,433cC
8	68,5aA	70,0aBC	67,5aA	25,67aA	25,38aA	23,43aAB	0,423bD	0,653aC	0,360cD
10	69,0bA	83,0aA	69,5bA	25,04aA	26,49aA	25,64aAB	0,517bB	1,485aA	0,471cB
12	67,0bA	76,5aAB	68,5abA	26,59aA	26,45aA	22,72aB	0,345cE	0,851aB	0,730bA
14	68,5aA	62,0aC	62,0aA	29,13aA	25,82abA	23,27bAB	0,514aB	0,311bE	0,212cE
Média	68,42	70,42	66,00	26,19	25,87	25,29	0,469	0,681	0,402
	dms_{colunas} = 8,68			dms_{colunas} = 4,47			dms_{colunas} = 0,016		
	dms_{linhas} = 10,63			dms_{linhas} = 5,47			dms_{linhas} = 0,019		
	CV% = 61,51			CV% =10,16			CV% =1,97		

Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas, não diferem significativamente entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Segundo MARCOS FILHO (2005) as variações de temperatura afetam a velocidade, a percentagem e a uniformidade de germinação. Portanto, a temperatura ótima é aquela que possibilita a combinação mais eficiente entre a porcentagem e a velocidade de germinação.

Ainda em relação à viabilidade dessa espécie, observa-se disparidade tanto na germinação como no vigor (matéria seca) na temperatura de -170 °C, indicando que a mesma é muito frágil com relação à sua armazenabilidade e qualidade fisiológica, sendo o teor de água limite para crioconservação da semente, nessas condições, em torno de 10 a 12 % b.u.

O comportamento apresentado pelas sementes de romã, no presente trabalho, pode também estar associado à sensibilidade à dessecação que algumas espécies apresentam, refletindo no processo de germinação. Segundo ROBERTS (1973) citado por LOPES et al. (2001), sementes que não toleram dessecação até níveis abaixo de 12 a 31%, conforme a espécie, e que não sobrevivem em temperaturas subzero, recebem a denominação de recalcitrantes. Esta tolerância ou não à dessecação é de extrema importância, uma vez que desta depende a conservação de sementes a longo ou a curto prazo. Assim, há necessidade da realização de trabalhos que esclareçam a tolerância ou não, das sementes de romã, bem como o comportamento das mesmas frente a outras formas de extração da sarcotesta, com ênfase na eliminação da possível dormência causada pelo tegumento.

IV.4.2 Teor de Água Limite para Crioconservação do juá

O teor de água inicial das sementes de juá revestidas de endocarpo foi de 15,86% (b.u.). Após a aplicação do tratamento pré-germinativo através da imersão das sementes em ácido sulfúrico concentrado realizou-se uma nova determinação do teor de água ficando as mesmas em torno de 15,94% (b.u.). Os valores experimentais referentes ao processo de secagem das sementes em função do tempo (minutos) estão demonstrados na Figura IV.6:

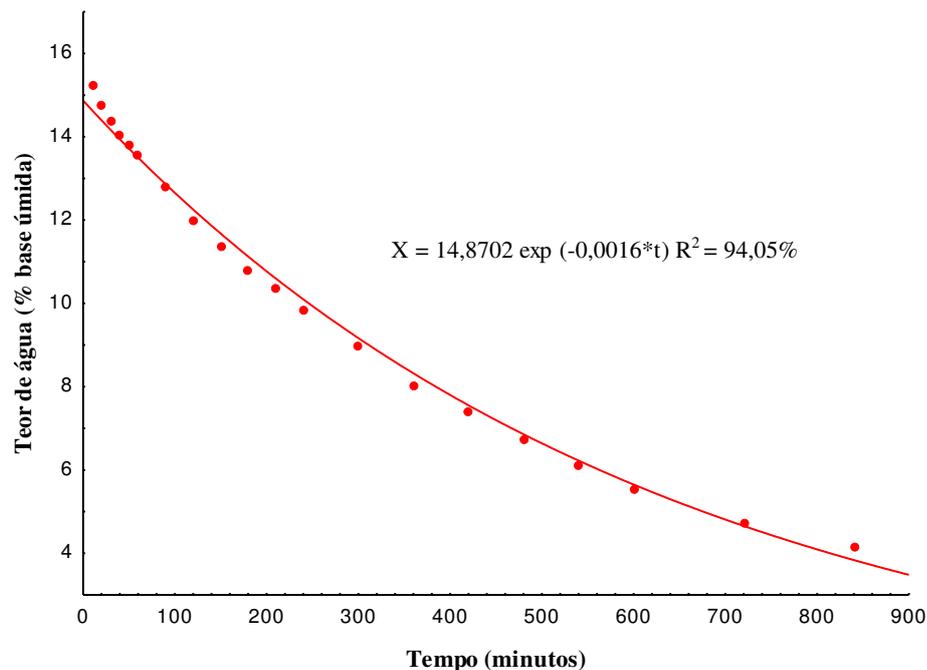


Figura IV.6 - Valores experimentais da secagem das sementes de juá revestidas de endocarpo em função do tempo (minutos).

Os dados experimentais do processo de secagem foram ajustados por regressão. Observa-se que o modelo não-linear representa satisfatoriamente os valores experimentais, apresentando elevado valor do coeficiente de determinação (R^2).

Os valores referentes à germinação e o vigor das sementes de juá revestidas de endocarpo com os teores de água descritos anteriormente e submetidas à armazenagem por cinco dias, à temperatura ambiente (25 ± 2 °C), imersão em vapor de nitrogênio (-170 °C) e nitrogênio líquido (-196 °C), encontram-se na Tabela IV.2. De acordo com os resultados, observa-se que o tratamento para superação da dormência das sementes de juá revestidas de endocarpo foi eficiente, mostrando percentuais de germinação superiores a 63% para todas as condições de temperatura analisada. Observa-se também, que as sementes armazenadas a temperatura ambiente e crioarmazenadas em nitrogênio líquido e vapor de nitrogênio com teores de água entre 8 e 10% b.u. não diferiram estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Tabela IV.2 - Valores médios da germinação e vigor em função do teor de água das sementes de juá revestidas de endocarpo, crioconservadas a (-170 e -196 °C) e à temperatura ambiente (25 °C), por um período de cinco dias.

Sementes de Juá Revestidas de Endocarpo									
T.A. %	Germinação (%)			Vigor					
	25 °C	-170 °C	-196 °C	Comprimento da Plântula (mm)			Matéria Seca (g)		
	25 °C	-170 °C	-196 °C	25 °C	-170 °C	-196 °C	25 °C	-170 °C	-196 °C
4	71,0aC	63,0bD	65,0abC	102,73bB	108,39aA	105,74abABC	2,73aC	2,42bD	2,50abC
6	76,0aBC	74,0aC	70,0aBC	106,22bAB	109,50aA	106,95abABC	2,92aBC	2,84aC	2,69aBC
8	81,0aAB	79,0aBC	75,0aB	106,38bAB	110,69aA	103,46bC	3,11aAB	3,04aBC	2,88aB
10	86,0aA	92,0aA	91,0aA	107,32aA	110,52aA	107,53aAB	3,31aA	3,53aA	3,49aA
12	71,0bC	84,0aAB	76,0bB	106,21aAB	109,12aA	109,10aA	2,73bC	3,23aAB	2,92bB
14	69,0aC	72,0aC	71,0aBC	104,99aAB	106,98aA	104,35aBC	2,65aC	2,76aCD	2,73aBC
Média	75,67	77,33	74,67	105,64	109,20	106,19	2,91	2,97	2,87
	dms_{colunas} = 7,27			dms_{colunas} = 3,28			dms_{colunas} = 0,30		
	dms_{linhas} = 8,91			dms_{linhas} = 4,02			dms_{linhas} = 0,37		
	CV% = 5,62			CV% = 1,80			CV% = 6,09		

Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas, não diferem significativamente entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

O vigor, expresso pelo comprimento da plântula e peso de matéria seca em função do teor de água tem comportamento semelhante ao da germinação. Constata-se que o maior vigor

se encontra, em geral, quando as sementes foram crioconservadas com 10% b.u. em vapor de nitrogênio, embora estas não diferirem significativamente das sementes armazenadas a 25 e -196 °C com teores de água de 8 e 10% b.u.

Em estudos referentes à manutenção de banco de germoplasma, ALMEIDA (2006) afirma que, o teor de água, sua composição química e as velocidades de congelamento e descongelamento são os fatores que habitualmente, consideram-se como determinante do efeito da crioconservação sobre as sementes, assim como as sementes de menor tamanho, uma composição química rica em lipídeos ou velocidade de congelamento/descongelamento inadequadas, pode afetar a viabilidade das mesmas.

Nessa perspectiva, estabeleceu-se ao longo dessas últimas décadas de pesquisa com crioconservação de sementes, que existiria um limite máximo de teor de água para o seu congelamento (High Moisture Freezing Limit - HMFL ou Teor de Água Limite para a Criopreservação - TALC), acima do qual a viabilidade da semente é reduzida (STANWOOD, 1985).

Buscando avaliar o sucesso da crioconservação, vários pesquisadores têm trabalhado nesse tema, como por exemplo, ROCHA et al. (2009) que testaram as sementes das cultivares de algodoeiro BRS Verde (V1), BRS-200-Marrom (V2), BRS-187-8H-Branco (V3) e 6M-Mocó-Branco (V4) provenientes da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (CNPQ/EMBRAPA). Em seu trabalho, concluíram que a crioconservação aumenta o percentual de germinação e o vigor das sementes de algodão, em razão dessa temperatura promover quebra de dormência pela ação do frio.

Pesquisas a respeito da crioconservação de sementes de interesse econômico estão sendo cada vez mais estudadas, podendo citar GOLDFARB^a et al. (2010), que estudando o armazenamento criogênico de sementes de pinhão manso (*Jatropha curcas L.*), haja vista que, esse processo tem por função a preservação dos recursos genéticos dessa espécie para seleção, melhoramento genético e manutenção de estoques para o futuro, concluíram que as sementes mantiveram a sua viabilidade e os índices de vigor durante os períodos de crioconservação.

IV.5. CONCLUSÕES

A semente de romã com teores de água abaixo de 6% e acima de 12% b.u., quando crioconservadas, tem sua germinação e vigor diminuídos significativamente.

O melhor porcentual de germinação e vigor (comprimento de plântula e matéria seca) das semente de romã foi obtido quando essas sementes foram crioconservadas em vapor de nitrogênio (-170 °C), com um teor de água de 10% b.u.

O teor de água limite para a crioconservação das sementes de juá revestidas de endocarpo, considerando-se a germinação e o vigor dessa espécie, encontra-se entre 10 e 12% (b.u.).

IV.6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, F. A. C. **Crioconservação de sementes na manutenção de banco de germoplasma**. In: Simpósio Brasileiro do Urucum, João Pessoa, PB: EMEPA, 2006.

ALMEIDA, F. A. C.; DUARTE, M. E. M.; CAVALCANTI MATA, M. E. R. M. Teor de água na semente e sua relação com a tecnologia do armazenamento. In: ALMEIDA, F. A. C.; DUARTE, M. E. M.; CAVALCANTI MATA, M. E. R. M. (ed). **Tecnologia de armazenamento em sementes**, 2006. Campina Grande: UFCG, p.147-188.

AMORIM, I. L.; SAMPAIO, E. V. S. B.; ARAUJO, E. L. Fenologia de espécies lenhosas da caatinga do Seridó, RN. **Revista Árvore**, v.33, n.3, p.491-499, 2009.

ANDRADE, R. L.; SOUTO, J. S.; SOUTO, P. C.; BEZERRA, D. M. Deposição de serrapilheira em área de caatinga na RPPN “Fazenda Tamanduá”, Santa Terezinha – PB, **Revista Caatinga**, v.21, n.2, p.223-230, 2008.

BEWLEY, J. D.; HEMPEL, F. D.; McCORMICK, S.; ZAMBRYSKI, P. Reproductive Development. In: BUCHANAN, B. B.; GRUISSEM, W.; JONES, R. L. **Biochemistry & Molecular Biology of Plants**. American Society of Plant Phytologist, Rockeville. 2000, p. 988-1043.

BRAGA, L. F.; SOUSA, M. P.; ALMEIDA, T. A. Germinação de sementes de *Enterolobium schomburgkii* (Benth.) Benth. submetidas a estresse salino e aplicação de poliamina. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.11, n.1, p.63-70, 2009.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes** / Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. – Brasília : Mapa/ACS, 2009, 398 p.

CAATINGA. Disponível em: <http://www.mma.gov.br>. Acesso em: 20 jan. 2012.

CARVALHO, L. R.; SILVA, E. A. A.; DAVIDE, A. C. Classificação de sementes florestais quanto ao comportamento no armazenamento. **Revista Brasileira de Sementes**, v.28, p.15-25, 2006.

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

CASTRO, A. A.; CAVALCANTI MATA, M. E. R. M.; BRAGA, M. E. D. Teor de umidade limite para crioconservação de sementes de urucum (*Bixa orella L.*). **Revista Brasileira de Corantes Naturais**, v.5, n.1, p.17-22, 2001. In: GOLDFARB, M.; DUARTE, M. E. M.; CAVALCANTI MATA, M. E. R. M.; PIMENTEL, L. W.; SEVERINO, L. S. Teor de Água Limite para Crioconservação das sementes de pinhão manso (*Jatropha curcas L.*). **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v.10, n.2, p.121-129, 2008.

CASTRO, R. D.; BRADFORD, K. J.; HILHORST, H. W. Desenvolvimento de sementes e conteúdo de água. In: FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. (ed). **Germinação: do básico ao aplicado**. São Paulo: ed. Artmed, 2004, cap.3, p.53-65.

CAVALCANTI MATA, M. E. R. M.; ROCHA, M. S.; DUARTE, M. E. M. Teor de água limite para crioconservação de sementes de algodão arbóreo variedade 6M. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v.6, n.2, p.179-189, 2004. In: GOLDFARB, M.; DUARTE, M. E. M.; CAVALCANTI MATA, M. E. R. M.; PIMENTEL, L. W.; SEVERINO, L. S. Teor de Água Limite para Crioconservação das sementes de pinhão manso (*Jatropha curcas L.*). **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v.10, n.2, p.121-129, 2008.

CAVALCANTI, M. T.; SILVEIRA, D. C.; FLORÊNCIO, I. M.; FEITOSA, V. A.; ELLER, S. C. W. S. Obtenção da farinha do fruto do juazeiro (*Ziziphus joazeiro Mart.*) e

caracterização físico-química. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v.6, n.1, p.220-224, jan-mar/2011.

CNIP – Centro Nordestino de Informações sobre Plantas. [on line] Disponível em: <http://www.cnip.org.br>. Acesso em: 05 jan.2012.

COIMBRA, R. A.; TOMAZ, C. A.; MARTINS, C. C.; NAKAGAWA, J. Teste de germinação com acondicionamento dos rolos de papel em sacos plásticos. **Revista Brasileira de Sementes**, v.29, n.1, p.92-97, 2007.

DUARTE, D. M. **Qualidade fisiológica de sementes de sempre-viva *syngonanthus spp* submetidas a crioconservação**. Dissertação (Mestrado *Strictu Sensu* em Produção Vegetal). Instituto de Ciências Agrárias, Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina, 2009. 60 p.

EMBRAPA. EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Levantamento florístico da reserva legal do Projeto Salitre, Juazeiro-BA**. Petrolina, PE: 2008. 22 p. (Embrapa Semi-Árido. Documentos, 209).

FIGUEIRÔA, J. M.; ARAÚJO, E. L.; PAREYN, F. G. C.; CUTLER, D. F.; GASSON, P.; LIMA, K. C.; SANTOS V. F. Variações sazonais na sobrevivência e produção de biomassa de *Caesalpinia pyramidalis* Tul. após o corte raso e implicações para o manejo da espécie. **Revista Árvore**, v.32, n.6, p.1041-1049, 2008.

GOLDFARB^a, M.; DUARTE, M. E. M.; CAVALCANTI MATA, M. E. R. M. Armazenamento criogênico de sementes de pinhão manso (*Jatropha curcas L.*) Euphorbiaceae. **Revista Biotemas**, v.23, n.1, p.27-33, mar/2010.

GOLDFARB^b, M.; DUARTE, M. E. M.; CAVALCANTI MATA, M. E. R. M.; PIMENTEL, L. W.; SEVERINO, L. S. Cinética de congelamento criogênico de sementes de pinhão manso (*Jatropha curcas L.*). **Revista Engenharia Ambiental**, v.7, n.1, p.195-203, jan-mar/2010.

GOLDFARB, M.; DUARTE, M. E. M.; CAVALCANTI MATA, M. E. R. M.; PIMENTEL, L. W.; SEVERINO, L. S. Teor de Água Limite para Crioconservação das sementes de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.). **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v.10, n.2, p.121-129, 2008.

GOLDFARB, M.; QUEIROGA, V. P.; MARTINS, M. E. D.; SEVERINO, L. S. **Teor Limite de Água para Crioconservação de sementes de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.)**. II Encontro de Produção Científica - EPC 2007. Campina Grande - PB, 2007. 50p. (Embrapa Algodão. Documentos, 187).

GUEDES, R. S.; ALVES, E. U.; GALINDO, E. A.; BARROZO, L. M. Estresse salino e temperaturas na germinação e vigor de sementes de *Chorisia glaziovii* O. Kuntze. **Revista Brasileira de Sementes**, v.33, n.2, p.279-288, 2011.

GUIMARAES, M. A.; DIAS, D. C. F. S.; LOUREIRO, M. E. Hidratação de sementes. **Revista Trópica**, v.2, n.1, p.31, 2008.

HEALD, S. V. **Flowering Plants of the Neotropics**. New Jersey, Princeton University Press. Pp.323-324, 2004.

HOEKSTRA, F. A.; GOLOVINIA, E. A.; BUITINK, J. Mechanisms of plant desiccation tolerance. **Trends in Plant Science**, v.6, p.431-438, 2001.

HOLETZ, F. B.; PESSINI, G. L.; SANCHES, N. R.; CORTEZ, D. A. G.; NAKAMURA, C. V.; DIAS-FILHO, B. P. Screening of some plants used in the brazilian folk medicine for the treatment of infectious diseases. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v.97, n.7, p.1027-1031, 2002.

Índice Terapêutico Fitoterápico: **ITF** – 1.ed. – Petrópolis. RJ: EPUB, 2008.

LIMA, B. G.; TORRES, S. B. Estresses hídrico e salino na germinação de sementes de *Zizyphus joazeiro* Mart. (Rhamnaceae). **Revista Caatinga**, v.22, n.4, p.93-99, out.-dez/2009.

LIMA, J. D; ALMEIDA, C. C.; DANTAS, V. A. V.; SILVA, B. M. S.; MORAES, W. S. Efeito da temperatura e do substrato na germinação de sementes de *Caesalpinia férrea* Mart. ex. Tul. (Leguminosae, Caesalpinoideae). **Revista Árvore**, v.30, n.4, p.513-518, 2006.

LORENZI H.; SOUZA H. M. **Plantas ornamentais no Brasil:** arbustivas, herbáceas e trepadeiras. 3. ed. São Paulo: Nova Odessa, 2001.

MANICA, I. **Romã.** Porto Alegre: Cinco Continentes, 2007. 90p. (Frutas Nativas e Exóticas 4).

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

MARTINS, L.; LAGO, A. A.; ANDRADE, A. C. S.; SALES W. R. M. Conservação de sementes de ipê-roxo (*Tabebuia impetiginosa* (Mart. ex DC.) Standl.) em nitrogênio líquido. **Revista Brasileira de Sementes**, v.31, n.2, p.71-76, 2009.

MELO, J. I. M.; ANDRADE, W. M. Boraginaceae *s.l.* A. Juss. em uma área de Caatinga da ESEC Raso da Catarina, BA, Brasil. **Acta Botânica Brasílica**, v.21, n.2, p.369-378, 2007.

MENDONÇA, E. A. F.; AZEVEDO, S. C.; GUIMARÃES, S. C.; ALBUQUERQUE, M. C. F. Teste de vigor em sementes de algodoeiro herbáceo. **Revista Brasileira de Sementes**, v.30, n.3, p.01-09, 2008.

MOLINA, T. F.; TILLMANN, M. A. A.; DODE, L. B.; VIÉGAS, J. Crioconservação em sementes de cebola. **Revista Brasileira de Sementes**, v.28, n.3, p.72-81, 2006.

PRADO, D. E.; GIBBS, P. E. Patterns of species distribution in the dry seasonal forests of South America. **Annals of Missouri Botanical Garden**, v.80, n.4, p.902-927, 2003.

RICHARDSON, J. E.; FAY, M. F.; CRONK, Q. C. B.; BOWMAN, D.; CHASE, M.W. A phylogenetic analysis of Rhamnaceae using rbcL and trn-F plastid DNA sequences. **American Journal of Botany**, v.87, n.9, p.1309-1324, 2000.

ROBERTS, E. H. Predicting the storage life of seeds. *Seed Science and Technology*, Zürich, v.1, n.1, p.449-514, 1973. In: LOPES, K. P.; BRUNO, R. L. A.; BRUNO, G. B.; AZEREDO, G. A. Comportamento de sementes de romã (*Punica granatum L.*) submetidas à fermentação e secagem. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.23, n.2, p.369-372, 2001.

ROCHA, M. S.; CAVALCANTI MATA, M. E. R. M.; CARVALHO, J. M. F. C.; LOPES, K. P. Crioconservação de sementes de algodão. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.13, n.3, p.312–318, 2009.

SHEETS, M. D.; DU BOIS, M. L.; WILLIAMSON, J. G. The pomegranate. In: Horticultural Sciences Department. Miami: Florida Cooperative Extension Service. **Institute of food and Agricultural Sciences**. University of Florida, 2004.

SILVA, B. M. S.; MÔRO, F. V.; SADER, R.; KOBORI, N. N. Influência da posição e da profundidade de semeadura na emergência de plântulas de açaí (*Euterpe oleracea* Mart. – *Arecaceae*). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.29, n.1, p.187-190, 2007.

SILVA, F. A. S.; AZEVEDO, C. A. V. **Principal Components Analysis in the Software Assisat-Statistical Attendance**. In: WORLD CONGRESS ON COMPUTERS IN AGRICULTURE, 7, Reno-NV-USA: American Society of Agricultural and Biological Engineers, 2009.

SOUSA, A. H.; RIBEIRO, M. C. C.; MENDES, V. H. C.; MARACAJÁ, P. B.; COSTA, D. M. Profundidades e posições de semeadura na emergência e no desenvolvimento de plântulas de moringa. **Revista Caatinga**, v.20, n.4, p.56-60, 2007.

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. **Botânica Sistemática**: guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2005. 640 p.

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

sementes de urucum. **Revista Tecnologia & Ciência Agropecuária**, v.2, n.1, p.1-9, mar/2008.

TABARELLI, M.; VICENTE, A.; BARBOSA, D. C. A. Variation of seed dispersal spectrum of woody plants across a rainfall gradient in Northeast Brazil. **Journal of Arid Environments**, v.53, n.2, p.197-210, 2003.

THELAIDE, I.; PETRI, L. **Conservation of tropical trees ex situ through storage and use. Guidelines and Technical Notes n° 65**. Danida Forest Seed Centre, Humlebaek, Denmark, 2003.

TRESENA, N. L.; CAVALCANTI MATA, M. E. R. M.; DUARTE, M. E. M.; MORAES, A. M. Determinação do teor de água limite para crioconservação das sementes de ipê amarelo (*Tabebuia chrysothrica* (Mart. Ex. DC.) Standl.). **Revista Cerne**, v.16, n.2, p.171-175, abr-jun/2010.

VIEIRA, R. D.; CARVALHO, N. M. **Teste de vigor em sementes**. São Paulo - SP: Editora Afiliada, 1994, 164p. In: GOLDFARB, M.; DUARTE, M. E. M.; CAVALCANTI MATA, M. E. R. M. Armazenamento criogênico de sementes de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.) Euphorbiaceae. **Revista Biotemas**, v.23, n.1, p.27-33, mar/2010.

WALTERS, C. WEELER, L. M.; GROTEHUIS, J. M. Longevity of seeds stored in a genebank: species characteristics. **Seed Science Research**, v.15, n.1, p.01-20, mar/2005.

WERKMAN, C.; GRANATO, D. C.; KERBAUY, W. D.; SAMPAIO, F. C.; BRANDÃO A. A. H.; RODE S. M. Aplicações terapêuticas da *Punica granatum* L. (romã). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.10, n.3, p.104-111, 2008.

Capítulo V: Aspectos fisiológicos das sementes de romã e juá durante o armazenamento criogênico

PROTÓCOLOS DE CRIOPRESERVAÇÃO DE SEMENTES DE ROMÃ E JUÁ

CAPÍTULO V

**ASPECTOS FISIOLÓGICOS DAS SEMENTES DE ROMÃ E JUÁ DURANTE O
ARMAZENAMENTO CRIOGÊNICO**

PROTOSCOLOS DE CRIOPRESERVAÇÃO DE SEMENTES DE ROMÃ E JUÁ

CAPÍTULO V: ASPECTOS FISIOLÓGICOS DAS SEMENTES DE ROMÃ E JUÁ DURANTE O ARMAZENAMENTO CRIOGÊNICO

RESUMO

É essencial conhecer o comportamento fisiológico das sementes, para que se possa definir a técnica apropriada para o armazenamento seguro. O teor de água das sementes e a temperatura do ambiente de armazenamento são fatores decisivos para a conservação da qualidade fisiológica das sementes. Este trabalho teve como objetivo avaliar a qualidade fisiológica das sementes de romã e sementes de juá revestidas de endocarpo submetidas ao armazenamento criogênico nas temperaturas de $-170\text{ }^{\circ}\text{C}$ (vapor de nitrogênio) e $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ (nitrogênio líquido) por um período de 90 dias. As sementes foram criopreservadas e em seguida, descongeladas gradativamente nas temperaturas de -196 , -170 , -80 , $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ e ambiente com intervalo de 3 horas para cada temperatura, para serem realizados os testes de germinação e vigor. O delineamento estatístico empregado foi o inteiramente casualizado, com arranjo fatorial de duas temperaturas (-170 e $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$) e quatro períodos de criopreservação (0, 30, 60 e 90 dias). A análise de variância e comparação das médias dos tratamentos foi realizada pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. Com os resultados obtidos conclui-se que a qualidade fisiológica (germinação e vigor) das sementes de romã foi afetada negativamente com a utilização dos métodos de criopreservação, apresentando um decréscimo no percentual no decorrer do armazenamento; já as sementes de juá revestidas de endocarpo mantiveram a viabilidade durante o período de armazenamento, podendo ser criopreservadas tanto no vapor de nitrogênio ($-170\text{ }^{\circ}\text{C}$) como no nitrogênio líquido ($-196\text{ }^{\circ}\text{C}$).

Palavras-chave: *Punica granatum* L., *Ziziphus joazeiro* Mart., criopreservação, qualidade fisiológica.

ABSTRACT

It is essential to know the physiological behavior of the seeds, to determine the proper technique for safe storage. The water content of the seeds and the temperature of the storage environment are decisive factors for the maintenance of physiological seed quality. This study aimed to evaluate the physiological quality of pomegranate seeds and *juá* seeds coated with endocarp, stored under cryogenic temperatures of $-170\text{ }^{\circ}\text{C}$ (nitrogen vapor) and $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ (liquid nitrogen) for a period of 90 days. Seeds were cryopreserved and then thawed slowly at temperatures of -196 , -170 , -80 , $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ and room temperature with an interval of three hours for each temperature, to be performed the germination and vigor tests. The statistical design was a completely randomized with a factorial arrangement of two temperatures (-170 and $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$) and four periods of cryopreservation (0, 30, 60 and 90 days). The variance analysis and comparison of the treatment averages was performed by the Tukey test at 5% probability. With these results it is concluded that the physiological quality (germination and vigor) of pomegranate seeds was negatively affected by the use of cryopreservation methods, presenting a decrease in the percentage during storage; yet *juá* seeds coated with endocarp maintained viability during storage, and may be cryopreserved in nitrogen vapor ($-170\text{ }^{\circ}\text{C}$) and in liquid nitrogen ($-196\text{ }^{\circ}\text{C}$).

Keywords: *Punica granatum* L., *Ziziphus joazeiro* Mart., cryopreservation, physiological quality.

V.1. INTRODUÇÃO

Em que pese à evolução da biotecnologia, torna-se necessário conservar todas as espécies, tanto as antigas, como as novas, uma vez que o gene de determinadas espécies que não são interessantes para a ciência no momento, poderá, no entanto, ser uma preciosidade, no futuro, para resoluções de problemas, ora existentes, ou mesmo os que hoje inexistem (GONZAGA et al., 2003). Dessa forma, a técnica de crioconservação tem sido utilizada como um método alternativo ao banco de germoplasma tradicional, uma vez que proporciona potencial para a preservação das sementes sem limites de tempo, por ocorrer redução do metabolismo a níveis tão baixos que todos os processos bioquímicos são significativamente reduzidos e a deterioração é praticamente paralisada; contudo, referida técnica só pode ser utilizada para sementes ortodoxas (GOLDFARB et al., 2010).

De acordo com CAVALCANTI MATA (2008) os bancos de germoplasma são essenciais para a conservação da diversidade biológica das espécies de um País, e a sua preservação, deve obedecer as mais rigorosas e avançadas tecnologias, podendo destacar a crioconservação como a tecnologia mais adequada na atualidade para a conservação das espécies vegetais por sementes. Logo, o conhecimento do tempo de congelamento de cada material é de grande aplicabilidade para projetos, dimensionamento dos equipamentos e para a otimização de processos térmicos (KASHARA et al., 1986).

Com relação ao tema deste trabalho, pesquisas a respeito da crioconservação de sementes de espécies de interesse econômico estão sendo cada vez mais estudadas; haja vista que a crioconservação consiste em conservar o material biológico em temperaturas ultra-baixas, em nitrogênio líquido, a $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$, ou em seu vapor, em torno de $-170\text{ }^{\circ}\text{C}$, tendo por função a preservação dos recursos genéticos dessas espécies para seleção, melhoramento genético e manutenção de estoques para o futuro. O desenvolvimento de protocolos de crioconservação tem permitido que sementes de diversas espécies possam ser armazenadas a um custo relativamente baixo, em um ambiente que possibilite a preservação da integridade física e biológica do produto agrícola, podendo ser citado o pinhão manso cujas sementes mantiveram a sua viabilidade e os seus índices de vigor durante os períodos de crioconservação (GOLDFARB et al., 2010).

O armazenamento de sementes constitui uma das etapas fundamentais para manutenção da qualidade fisiológica. Após o ponto de maturidade fisiológica (MF), as sementes começam um processo contínuo de deterioração, onde se observa perdas no vigor e germinação das mesmas. Entre as principais variáveis que influenciam a qualidade fisiológica

das sementes no armazenamento pode-se citar a temperatura e a umidade. A baixa temperatura diminui os processos metabólicos que necessitam de energia térmica para ocorrer; e a baixa umidade, além de diminuir o metabolismo, evita a ação de patógenos, principalmente a ação dos fungos. Portanto, para a manutenção da qualidade fisiológica das sementes, deve-se armazená-las em condições de temperatura e umidade adequadas para que os processos de deterioração sejam minimizados (DUARTE, 2009).

A finalidade principal da análise de qualidade fisiológica de sementes em laboratório é estimar o número máximo de sementes que germinam sob ótimas condições de temperatura, substrato, teor de água e aeração. A germinação é definida como a emergência e o desenvolvimento do embrião da semente com suas estruturas essenciais, indicando a capacidade de produzir uma plântula normal em condições favoráveis. Os resultados deste teste são expressos em porcentagem de sementes germinadas.

Assim, objetivou-se no presente trabalho, avaliar a qualidade fisiológica das sementes de romã e sementes de juá revestidas de endocarpo submetidas ao armazenamento criogênico nas temperaturas de $-170\text{ }^{\circ}\text{C}$ (vapor de nitrogênio) e $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ (nitrogênio líquido) por um período de 90 dias.

V.2. REVISÃO DE LITERATURA

A crioconservação tem se revelado uma importante técnica para manutenção da qualidade fisiológica de semente e material vegetal armazenado. Essa técnica consiste na conservação do material em nitrogênio líquido a temperatura de $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ e na sua forma de vapor de nitrogênio a $-170\text{ }^{\circ}\text{C}$. Nessas temperaturas, os processos metabólicos que necessitam de energia térmica praticamente são paralisados, fazendo com que os processos de deterioração do material ocorram de forma muito lenta podendo ser armazenados por um longo período (COELHO, 2006).

O armazenamento de sementes possui diversas finalidades e a exigência em mantê-las viáveis por curta duração ou por períodos mais longos é o que vai definir a aplicação de tecnologias menos ou mais elaboradas. Quando armazenadas como recursos genéticos, a sua viabilidade deve ser mantida durante várias décadas ou até mesmo séculos, visando preservar sua integridade genética. A implementação de condições mais rigorosas durante o armazenamento de sementes tem relação direta com a exigência de se ampliar a sua longevidade. Para espécies com sementes ortodoxas, o aumento da sua longevidade pode ser

obtido ajustando o teor de água das sementes para um nível ótimo e pela redução da temperatura de armazenamento (ESPINDOLA, 2007).

Buscando avaliar o sucesso da crioconservação, vários pesquisadores têm trabalhado nesse tema, como por exemplo, GONZAGA et al. (2003) que testaram as sementes de aroeira (*Astronium urundeuva* Engl.) e baraúna (*Schinapsis brasiliensis* Engl.), duas espécies ameaçadas de extinção no Bioma Caatinga. Em seu trabalho, concluíram que a crioconservação não só foi eficiente como melhorou a qualidade fisiológica das sementes.

Diversos são os fatores que influenciam a crioconservação de sementes, dentre os quais podem ser citados a desidratação, congelamento, descongelamento e regeneração (SANTOS, 2000). Os três primeiros estão relacionados à formação de cristais de gelo no meio intracelular e o último, a regeneração, está relacionada com a recuperação do maior número possível de células vivas.

Apesar da crioconservação ter sido testada em diversas espécies, ainda não existe uma rotina de laboratório que possa garantir a conservação do germoplasma vegetal. A complexidade, tanto técnica como biológica necessitam ser observadas, tendo em vista que para o sucesso da crioconservação, fatores como o teor de água da semente, a velocidade de congelamento e descongelamento e danos físicos à semente requer bastante atenção (ENGELMANN, 2000).

MOLINA et al. (2006), ao trabalhar com sementes de cebola crioconservadas verificou que o método em descongelamento rápido no microondas apresentou melhor resultado relacionado aos demais: ambiente e banho-maria. Métodos mais rápidos de descongelamento evitam a formação dos cristais de gelo no meio intracelular (SANTOS, 2000).

V.3. MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Sementes e no Setor de Criogenia do Laboratório de Armazenamento e Processamento de Produtos Agrícolas (LAPPA) da Unidade Acadêmica de Engenharia Agrícola, da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG – PB).

Utilizaram-se sementes (material ainda não padronizado pelas Regras para Análise de Sementes) de romã oriundas de frutos fisiologicamente maduros, adquiridos na Fazenda Águas do Tamanduá, no sertão paraibano de Sousa, PB (cidade que está a uma altitude média

de 220 metros, com latitude $-06^{\circ} 45' 33''$, longitude $38^{\circ} 13' 41''$ e uma área que abrange $765,0 \text{ km}^2$), coletadas no período de janeiro de 2012. Já as sementes de juá revestidas de endocarpo são oriundas de frutos de juá coletados no Campus da UFCG na cidade de Campina Grande, PB (cidade que está a uma altitude média de 551 metros, com latitude $-07^{\circ} 13' 50''$, longitude $35^{\circ} 52' 52''$ e uma área que abrange $599,6 \text{ km}^2$), entre maio e julho de 2012, sendo coletados diretamente da árvore quando iniciaram a queda espontânea.

V.3.1 Crioconservação das sementes

Foi determinado o Teor de Água Limite para Crioconservação (TALC) seguindo a metodologia proposta por SILVA et al. (2012). Em seguida, as sementes de romã e sementes de juá revestidas de endocarpo com teor de água de 10% (b.u.) foram acondicionadas em tubos cilíndricos de alumínio (canister), separadas por dias de armazenamentos, e crioarmazenadas em botijões criogênicos (Figura IV.3) a -170°C (vapor de nitrogênio) e -196°C (nitrogênio líquido) por um período de (0, 30, 60 e 90 dias).

Após os períodos de crioarmazenamento, as sementes foram submetidas a um descongelamento gradativo (-196 ; -170 ; -80 ; 10°C e temperatura ambiente) com intervalo de três horas para cada temperatura, e logo após foram submetidas a uma avaliação da qualidade fisiológica através dos testes de germinação e vigor, seguindo-se a metodologia do item IV.3.3.

O delineamento estatístico empregado foi o inteiramente casualizado, com arranjo fatorial de duas temperaturas (-170 e -196°C) e quatro períodos de crioconservação (0, 30, 60 e 90 dias), empregando-se quatro repetições por tratamento. Foi realizada análise de variância e a comparação das médias dos tratamentos foi obtida teste de Tukey. O programa computacional utilizado foi ASSISTAT, versão 7.6 beta (SILVA & AZEVEDO, 2009).

V.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados da análise de variância (Apêndice A.V.1) referentes à germinação das sementes de romã, em função do tempo de armazenamento (0, 30, 60 e 90 dias) e temperaturas criogênicas (-170 e -196°C) indicam efeito significativo ao nível de 1% de probabilidade pelo teste F, para o fator período de armazenamento (F1) e temperatura (F2), porém não houve significância para a interação (F1 x F2). Com relação ao vigor

(comprimento de plântulas e peso da matéria seca) (Apêndice A.V.2 e A.V.3) nas mesmas condições de armazenamento houve efeito significativo ao nível de 1% de probabilidade pelo teste F, para o fator período de armazenamento (F1). Não houve diferença estatisticamente significativa para os fatores: temperaturas de armazenamento (F2) indicados para a matéria seca e interação (F1 x F2) indicados para ambos os testes de vigor.

Os resultados da análise de variância dos valores médios de germinação e vigor das sementes de juá revestidas de endocarpo (Apêndice A.V.4 a A.V.6), indicam efeito significativo a nível de 1% de probabilidade pelo teste F, para o fator período de armazenamento (F1) e efeito significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F, para as interações (F1 x F2) com relação a germinação e ao vigor (peso da matéria seca). Não houve significância para os fatores: temperaturas de armazenamento (F2) indicados para a germinação e peso de matéria seca; nos fatores (F1 e F2) e na interação (F1 x F2) para o vigor (comprimento de plântula) não ocorreu efeito significativo.

Na tabela V.1 encontram-se os valores experimentais de germinação e vigor (comprimento de plântulas e matéria seca) das sementes de romã crioconservadas no vapor de nitrogênio à temperatura de -170 °C e imerso no nitrogênio líquido a -196 °C. Verifica-se que não foi aplicado o teste de comparação de médias por que o F de interação não foi significativo.

Tabela V.1 - Valores experimentais da germinação e vigor em função do tempo de armazenamento das sementes de romã, crioconservadas a (-170 e -196°C), por um período de 0, 30, 60 e 90 dias.

Sementes de Romã						
T.A. (dias)	Germinação (%)		Vigor			
	-170 °C	-196 °C	Comp. da Plântula (mm)		Matéria Seca (g)	
	-170 °C	-196 °C	-170 °C	-196 °C	-170 °C	-196 °C
Testemunha	78,50	78,50	27,39	27,39	0,9145	0,9145
30	59,50	57,50	28,10	27,59	0,4153	0,3953
60	50,50	44,00	27,91	26,25	0,3460	0,3145
90	38,00	31,50	26,37	25,67	0,2525	0,1703
Média	56,62	52,87	27,44	26,72	0,4821	0,4486

Capítulo V: Aspectos fisiológicos das sementes de romã e juá durante o armazenamento criogênico

Nas Tabelas V.2 e V.3 encontram-se os valores de germinação e vigor (comprimento de plântulas e matéria seca) das sementes de romã e sementes de juá revestidas de endocarpo crioconservadas no vapor de nitrogênio à temperatura de -170 °C e imerso no nitrogênio líquido a -196 °C. Os dados da interação período de armazenamento com a temperatura de crioconservação indicam que tanto a germinação como o vigor das sementes de romã sofreram alterações durante o período de crioconservação de 90 dias, os quais podem ter sido provocados por danos físicos na estrutura da semente.

Tabela V.2 - Valores médios da germinação e vigor em função do tempo de armazenamento das sementes de romã, crioconservadas a (-170 e -196°C), por um período de 0, 30, 60 e 90 dias.

Sementes de Romã			
	Germinação	Vigor	
	(%)	Comp. da Plânt. (mm)	Matéria Seca (g)
Temperatura (-170 °C)	56,62 a	27,44 a	0,4821 a
Temperatura (-196 °C)	52,87 b	26,73 b	0,4486 a
DMS	2,03	0,71	0,04
Período de Armazenamento			
Testemunha	78,50 a	27,39 a	0,9145 a
30	58,50 b	27,85 a	0,4052 b
60	47,25 c	27,08 ab	0,3302 b
90	34,75d	26,02 b	0,2114 c
Média	54,75	27,08	0,46
DMS	3,84	1,35	0,08
CV %	5,08	3,61	13,12

Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Esses resultados encontram concordância com CHANDEL et al. (1995), que estudando a sensibilidade de sementes recalcitrantes a dessecação e ao congelamento, afirmam que ocorre um decréscimo do percentual germinativo durante a crioarmazenagem devido à fragilidade de algumas sementes ao frio, caracterizado por injúrias durante o período de crioconservação. COELHO (2006) trabalhando com a qualidade fisiológica de sementes de diferentes cultivares de algodão durante a exposição às temperaturas ultra-baixas, observou

que a germinação e o vigor das sementes da cultivar BRS 200 marrom foram afetados negativamente pela utilização da crioconservação, constatando um decréscimo nesses valores, com o decorrer do armazenamento.

Já para as sementes de juá revestidas de endocarpo não foram observadas diferenças significativas entre as temperaturas de crioconservação (-170 °C e -196 °C) indicando que essas sementes são crioconserváveis. Independente das condições de armazenamento, as sementes de *Ziziphus joazeiro* Mart. mantiveram porcentagens de germinação elevadas durante todo o período avaliado, não se diferenciando do valor de germinação inicial (92%). O elevado desempenho germinativo das sementes durante o armazenamento deve-se a fatores como quebra de dormência e conteúdo de água em níveis baixos em todas as condições testadas, proporcionando dessa forma taxas metabólicas reduzidas, e prolongando assim, a longevidade das sementes. Esses resultados concordam com TRESENA et al. (2009) que trabalhando com sementes de *Tabebuia heptaphylla* (Vellozo) Toledo) relataram que tanto a germinação como o vigor se mantiveram inalterados durante o período de crioconservação de 90 dias, indicando que as sementes são crioconserváveis.

Tabela V.3 - Valores médios da germinação e vigor em função do tempo de armazenamento das sementes de juá revestidas de endocarpo, crioconservadas a (-170 e -196°C), por um período de 0, 30, 60 e 90 dias.

Sementes de Juá Revestidas de Endocarpo						
T.A. (dias)	Germinação (%)		Vigor			
	-170 °C	-196 °C	Comp. da Plântula (mm)		Matéria Seca (g)	
	-170 °C	-196 °C	-170 °C	-196 °C	-170 °C	-196 °C
Testemunha	92,00 aA	92,00 aA	109,25 a	109,87 a	3,5416 aA	3,5271 aA
30	88,00 aA	87,00 abA	109,99 a	109,03 a	3,3398 aA	3,2582 abA
60	89,00 aA	87,00 abA	109,32 a	109,78 a	3,4255 aA	3,3204 abA
90	82,00 aA	81,00 bA	109,37 a	106,84 a	3,1194 aA	3,0523 bA
Média	87,75	86,75	109,48	108,88	3,3566	3,2895
	dms_{colunas} = 10,79		dms_{fator 1} = 2,59		dms_{colunas} = 0,4531	
	dms_{linhas} = 8,08		dms_{fator 2} = 1,37		dms_{linhas} = 0,3393	
	CV % = 6,35		CV % = 1,72		CV % = 6,99	

Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas, não diferem significativamente entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Não foi aplicado o teste de comparação de médias para Comprimento de Plântulas por que o F de interação não foi significativo.

Neste trabalho, valores de germinação e vigor em ambas as condições de armazenamento, ocorreram em sementes com teores de água de 10% b.u. A diferença que se observa entre as duas espécies em estudo pode ser devida à sua composição química e/ou à sensibilidade das sementes aos danos físicos. De acordo com ROCHA et al. (2009) o que tem-se de concreto é que o teor de água das sementes é um dos principais fatores controladores da criopreservação. O conhecimento do menor teor de água suportável pelas sementes, sem que haja o comprometimento da qualidade fisiológica é imprescindível para definir a melhor tecnologia de armazenamento das mesmas. Através dessa informação, a conservação das sementes pode ser viabilizada, mediante a secagem parcial, sem que haja o comprometimento na porcentagem de germinação.

Os resultados aqui obtidos vêm reforçar, a exemplo de outros experimentos, que a temperatura de armazenamento garante a manutenção da qualidade das sementes. Sementes de *S. obtusifolium*, espécie arbórea de caatinga, armazenadas em embalagens permeáveis, semipermeáveis e câmara fria mantiveram sua viabilidade ao longo de um ano de armazenamento (SILVA, 2010). KISSMANN (2009) avaliando diferentes ambientes de armazenamento de sementes de *Albizia hasslerii*, observou que as plântulas provenientes de sementes armazenadas em câmara fria foram mais vigorosas que as armazenadas em temperatura ambiente. Sementes de *Caesalpinia echinata* quando armazenadas sob condições de temperatura ambiente, perderam a viabilidade em menos de três meses, enquanto que em temperatura baixa (câmara fria a 7 ± 1 °C) mantiveram a viabilidade das sementes por até 18 meses, com emergência superior a 80% (BARBEDO et al., 2002).

A temperatura não exerce influência sobre o comprimento das plântulas e o acúmulo de matéria seca das duas espécies estudadas. Este comportamento se apresenta como vantagem deste material à criopreservação, pois o nitrogênio líquido é volátil e pode alterar a temperatura interna dos botijões criobiológicos (ROCHA et al., 2009).

V.5. CONCLUSÕES

A qualidade fisiológica (germinação e vigor) das sementes de romã foi afetada negativamente com a utilização dos métodos de criopreservação, apresentando um decréscimo no percentual no decorrer do armazenamento.

Capítulo V: Aspectos fisiológicos das sementes de romã e juá durante o armazenamento criogênico

As sementes de juá revestidas de endocarpo mantiveram a viabilidade durante o período de armazenamento, podendo ser crioconservadas tanto no vapor de nitrogênio (-170 °C) como no nitrogênio líquido (-196 °C).

O vigor (comprimento de plântulas e matéria seca) das sementes de juá revestidas de endocarpo mantiveram inalterados durante o período de armazenamento, não diferindo estatisticamente entre si.

V.6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARBEDO, C. J.; BILIA, D. A. C.; RIBEIRO, R. C. L. F. Tolerância à dessecação e armazenamento de sementes de *Caesalpinia echinata* Lam. (pau-brasil), espécie da Mata Atlântica. **Revista Brasileira de Botânica**, v.25, n.4, p.431-439, 2002.

CAVALCANTI MATA, M. E. R. M. Tecnologia de crioconservação de sementes de urucum. **Tecnologia & Ciência Agropecuária**, v.2, n.1, p.01-09, mar/2008.

CHANDEL, K. P. S.; CHAUDHURY, R.; RADHAMANI, J.; MALIK, S. K. Desiccation and freezing sensitivity in recalcitrant seed of tea, cocoa and jackfruit. **Annals of Botany**, v.76, n.1, p.443-450, 1995.

COELHO, R. R. P. **Protocolo de crioconservação de sementes de algodão (*Gossypium hirsutum* L. raça *Latifolium* Hutch.) cultivares BRS 200 marrom e BRS verde**. Tese (Doutorado em Agronomia). Universidade Federal da Paraíba, Centro de Ciências Agrárias, Areia - PB, 2006. 90p.

DUARTE, D. M. **Qualidade fisiológica de sementes de sempre-viva *syngonanthus* spp submetidas a crioconservação**. Dissertação (Mestrado *Strictu Sensu* em Produção Vegetal). Instituto de Ciências Agrárias, Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina, 2009. 60p.

ENGELMANN, F. Importance of cryopreservation for the conservation of plant genetic resources. Itália: **International Plant Genetic Resources Institute**, p.8-20, 2000. In: ALMEIDA, F. A. C.; MORAIS, A. M.; CARVALHO, J. M. F. C.; GOUVEIA, J. P. G.

Crioconservação de sementes de mamona das variedades nordestina e pernambucana. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.6, n.2, p.295-302, 2002.

ESPINDOLA, L. F. **Determinação do teor de água ideal para o armazenamento de sementes de quatro espécies arbóreas ameaçadas da flora brasileira**. Dissertação (Mestrado em Botânica) – Escola Nacional de Botânica Tropical, do Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro – RJ, 2007. 68p.

GOLDFARB, M.; DUARTE, M. E. M.; CAVALCANTI MATA, M. E. R. M. Armazenamento criogênico de sementes de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.) Euphorbiaceae. **Revista Biotemas**, v.23, n.1, p.27-33, mar/2010.

GONZAGA, T. W. O.; CAVALCANTI MATA, M. E. R. M.; SILVA, H.; DUARTE, M. E. M. Crioconservação de sementes de aroeira (*Astronium urudeuva* Engl.), e baraúna (*Schinopsis brasiliensis* Engl.). **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v.5, n.2, p.145-154, 2003.

KASHARA, S.; ITABASHI, K.; IGAWA, K. **New Developments in Zeolite Science and Technology**, Proc. 7 th Int. Conf. on Zeolites, (Eds. Y. Murakami, A. Lijima, and J.W. Ward), Kodansha/Elsevier, Tokyo, 185 (1986).

KISSMANN, C.; SCALON, S. P. Q.; MUSSURY, R. M.; RABAINA, A. D. Germinação e armazenamento de sementes de *Albizia hassleri*. **Revista Brasileira de Sementes**, v.31, n.2, p.104-115, 2009.

MOLINA, T. F.; TILLMANN, M. A. A.; DODE, L. B.; VIÉGAS, J. Crioconservação em sementes de cebola. **Revista Brasileira de Sementes**, v.28, n.3, p.72-81, 2006.

PIMENTEL, L.W. **Crioconservação de sementes de girassol (*Helianthus annuus* L.)**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola). Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande – PB, 2009. 76 p.

ROCHA, M. S.; CAVALCANTI MATA, M. E. R. M.; CARVALHO, J. M. F. C.; LOPES, K. P. Crioconservação de sementes de algodão. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.13, n.3, p.312–318, 2009.

SANTOS, I. R. I. Crioconservação: potencial e perspectivas para a conservação de germoplasma vegetal. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v.12, p.70-84, 2000. In: GOLDFARB, M.; DUARTE, M. E. M.; CAVALCANTI MATA, M. E. R. M.; PIMENTEL, L. W.; SEVERINO, L. S. Cinética de congelamento criogênico de sementes de pinhão manso (*Jatropha curcas L.*). **Revista Engenharia Ambiental**, v.7, n.1, p.195-203, jan-mar/2010.

SILVA, F. A. S.; AZEVEDO, C. A. V. **Principal Components Analysis in the Software Assisat-Statistical Attendance**. In: WORLD CONGRESS ON COMPUTERS IN AGRICULTURE, 7, Reno-NV-USA: American Society of Agricultural and Biological Engineers, 2009.

SILVA, F. F. S. **Qualidade de sementes e produção de mudas de *Sideroxylon obtusifolium* (SAPOTACEAE) de duas procedências**. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias). Universidade Federal da Paraíba, Centro de Ciências Agrárias, Areia - PB, 2010. 120p.

SILVA, L. M. M.; CAVALCANTI MATA, M. E. R. M.; DUARTE, M. E. M. Teor De Água Limite para Crioconservação de Sementes de romã (*Punica granatum L.*). Artigo submetido à **Revista Engenharia Agrícola**. Departamento de Engenharia Rural, Jaboticabal – SP.

TRESENA, N. L.; CAVALCANTI MATA, M. E. R. M.; DUARTE, M. E. M.; MORAES, A. M.; DIAS, V. S. Qualidade fisiológica da semente de ipê rosa (*Tabebuia heptahylla* (Vellozo) Toledo) submetidas à crioconservação. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v.11, n.1, p.87-93, 2009.

PROCOLOS DE CRIOPRESERVAÇÃO DE SEMENTES DE ROMÃ E JUÁ

APÊNDICE A.I

**(Dados referentes às propriedades físicas das sementes de romã e sementes de juá
revestidas de endocarpo)**

Tabela A.I.1 - Dimensões, massa individual, volume individual, massa específica real, massa específica aparente, esfericidade e porosidade das sementes de romã com teor de água de 6% (b.u.)

A (mm)	B (mm)	C (mm)	MI (g)	VI (g/cm ³)	pr (g/cm ³)	pa (g/cm ³)	φ (%)	ε (%)
6,603	3,043	2,223	0,024	0,032	0,750	0,413	40,736	44,653
6,103	2,963	2,883	0,024	0,035	0,678	0,413	44,037	38,747
6,383	3,103	2,803	0,029	0,039	0,735	0,413	44,311	43,535
6,223	3,413	2,233	0,029	0,042	0,684	0,413	42,395	39,353
6,263	2,803	2,413	0,028	0,032	0,858	0,413	40,736	51,620
6,993	4,023	2,883	0,036	0,046	0,785	0,413	48,770	47,108
5,723	2,843	2,193	0,020	0,042	0,475	0,413	39,643	12,525
5,803	3,103	2,613	0,021	0,036	0,578	0,413	43,285	28,163
5,873	3,473	2,413	0,028	0,029	0,928	0,413	43,760	55,274
5,613	3,393	2,433	0,023	0,043	0,538	0,413	43,551	22,885
6,373	3,113	2,293	0,029	0,041	0,709	0,413	41,486	41,471
6,023	3,263	1,993	0,028	0,039	0,725	0,413	40,207	42,745
6,033	3,523	2,793	0,025	0,043	0,578	0,413	46,167	28,168
6,093	3,363	2,583	0,029	0,048	0,600	0,413	44,294	30,771
6,113	3,663	3,053	0,029	0,051	0,573	0,413	48,174	27,529
5,833	3,603	2,213	0,023	0,042	0,534	0,413	43,035	22,279
6,673	3,183	2,763	0,031	0,048	0,645	0,413	44,463	35,615
6,973	2,493	2,093	0,022	0,041	0,532	0,413	37,373	21,961
5,493	3,103	2,303	0,024	0,043	0,551	0,413	41,505	24,636
5,843	3,613	2,023	0,019	0,041	0,449	0,413	41,813	7,635
5,983	3,573	2,473	0,023	0,044	0,514	0,413	44,547	19,267
6,153	4,013	2,473	0,026	0,051	0,518	0,413	46,292	19,880
6,083	3,663	1,983	0,027	0,033	0,806	0,413	41,717	48,491
6,363	2,843	2,323	0,030	0,052	0,574	0,413	40,412	27,662
5,943	2,953	2,093	0,027	0,042	0,638	0,413	39,536	34,983
6,263	2,983	2,383	0,022	0,040	0,550	0,413	41,428	24,477
5,873	3,683	2,793	0,027	0,046	0,575	0,413	46,860	27,809
5,983	3,883	2,583	0,033	0,053	0,621	0,413	46,462	33,143
5,603	2,873	2,543	0,027	0,046	0,587	0,413	41,813	29,285
6,443	3,413	2,513	0,024	0,044	0,549	0,413	44,106	24,345

Tabela A.I.2 - Dimensões, massa individual, volume individual, massa específica real, massa específica aparente, esfericidade e porosidade das sementes de romã com teor de água de 9% (b.u.)

A (mm)	B (mm)	C (mm)	MI (g)	VI (g/cm ³)	pr (g/cm ³)	pa (g/cm ³)	φ (%)	ε (%)
6,880	3,320	2,500	0,025	0,034	0,756	0,415	43,621	44,867
6,380	3,240	3,160	0,025	0,036	0,682	0,415	46,782	38,950
6,660	3,380	3,080	0,030	0,040	0,740	0,415	47,042	43,683
6,500	3,690	2,510	0,030	0,043	0,688	0,415	45,245	39,488
6,540	3,080	2,690	0,028	0,033	0,865	0,415	43,595	51,813
7,270	4,300	3,160	0,037	0,047	0,789	0,415	51,411	47,198
6,000	3,120	2,470	0,021	0,043	0,477	0,415	42,555	12,718
6,080	3,380	2,890	0,022	0,038	0,582	0,415	46,054	28,380
6,150	3,750	2,690	0,028	0,031	0,936	0,415	46,551	55,480
5,890	3,670	2,710	0,024	0,044	0,541	0,415	46,332	23,043
6,650	3,390	2,570	0,030	0,042	0,713	0,415	44,331	41,607
6,300	3,540	2,270	0,029	0,040	0,730	0,415	43,153	42,898
6,310	3,800	3,070	0,026	0,044	0,581	0,415	48,862	28,316
6,370	3,640	2,860	0,030	0,050	0,603	0,415	47,042	30,867
6,390	3,940	3,330	0,030	0,053	0,576	0,415	50,814	27,611
6,110	3,880	2,490	0,024	0,044	0,537	0,415	45,886	22,442
6,950	3,460	3,040	0,032	0,050	0,648	0,415	47,057	35,705
7,250	2,770	2,370	0,023	0,042	0,535	0,415	40,341	22,143
5,770	3,380	2,580	0,024	0,044	0,554	0,415	44,345	24,791
6,120	3,890	2,300	0,019	0,043	0,452	0,415	44,726	7,847
6,260	3,850	2,750	0,024	0,046	0,517	0,415	47,308	19,417
6,430	4,290	2,750	0,027	0,053	0,521	0,415	49,045	19,974
6,360	3,940	2,260	0,027	0,034	0,812	0,415	44,655	48,686
6,640	3,120	2,600	0,031	0,054	0,577	0,415	43,289	27,740
6,220	3,230	2,370	0,028	0,044	0,642	0,415	42,460	35,122
6,540	3,260	2,660	0,023	0,041	0,553	0,415	44,262	24,664
6,150	3,960	3,070	0,028	0,048	0,578	0,415	49,539	27,926
6,260	4,160	2,860	0,034	0,055	0,624	0,415	49,184	33,209
5,880	3,150	2,820	0,028	0,048	0,590	0,415	44,619	29,402
6,720	3,690	2,790	0,025	0,045	0,552	0,415	46,868	24,492

Tabela A.I.3 - Dimensões, massa individual, volume individual, massa específica real, massa específica aparente, esfericidade e porosidade das sementes de romã com teor de água de 12% (b.u.)

A (mm)	B (mm)	C (mm)	MI (g)	VI (g/cm ³)	pr (kg.m ⁻³)	pa (kg.m ⁻³)	φ (%)	ε (%)
7,138	3,578	2,758	0,026	0,034	0,756	0,417	46,214	45,131
6,638	3,498	3,418	0,025	0,037	0,683	0,417	49,269	39,210
6,918	3,638	3,338	0,031	0,041	0,740	0,417	49,515	43,885
6,758	3,948	2,768	0,030	0,044	0,689	0,417	47,812	39,684
6,798	3,338	2,948	0,029	0,034	0,865	0,417	46,167	52,048
7,528	4,558	3,418	0,038	0,049	0,790	0,417	53,809	47,343
6,258	3,378	2,728	0,021	0,044	0,478	0,417	45,144	13,000
6,338	3,638	3,148	0,023	0,039	0,582	0,417	48,559	28,665
6,408	4,008	2,948	0,029	0,031	0,937	0,417	49,076	55,724
6,148	3,928	2,968	0,025	0,045	0,542	0,417	48,854	23,280
6,908	3,648	2,828	0,031	0,043	0,714	0,417	46,906	41,802
6,558	3,798	2,528	0,030	0,041	0,730	0,417	45,789	43,107
6,568	4,058	3,328	0,026	0,045	0,582	0,417	51,312	28,538
6,628	3,898	3,118	0,031	0,051	0,603	0,417	49,529	31,038
6,648	4,198	3,588	0,031	0,054	0,576	0,417	53,204	27,773
6,368	4,138	2,748	0,024	0,045	0,538	0,417	48,446	22,685
7,208	3,718	3,298	0,033	0,051	0,648	0,417	49,678	35,865
7,508	3,028	2,628	0,023	0,043	0,536	0,417	43,017	22,403
6,028	3,638	2,838	0,025	0,045	0,554	0,417	46,906	25,024
6,378	4,148	2,558	0,020	0,044	0,452	0,417	47,341	8,153
6,518	4,108	3,008	0,024	0,047	0,517	0,417	49,813	19,651
6,688	4,548	3,008	0,028	0,054	0,521	0,417	51,526	20,155
6,618	4,198	2,518	0,028	0,035	0,813	0,417	47,282	48,927
6,898	3,378	2,858	0,032	0,055	0,577	0,417	45,868	27,898
6,478	3,488	2,628	0,029	0,045	0,643	0,417	45,095	35,327
6,798	3,518	2,918	0,023	0,042	0,553	0,417	46,830	24,926
6,408	4,218	3,328	0,028	0,049	0,578	0,417	51,974	28,120
6,518	4,418	3,118	0,035	0,056	0,624	0,417	51,652	33,350
6,138	3,408	3,078	0,029	0,049	0,591	0,417	47,162	29,594
6,978	3,948	3,048	0,026	0,046	0,552	0,417	49,365	24,718

Tabela A.I.4 - Dimensões, massa individual, volume individual, massa específica real, massa específica aparente, esfericidade e porosidade das sementes de romã com teor de água de 15% (b.u.)

A (mm)	B (mm)	C (mm)	MI (g)	VI (g/cm ³)	pr (kg.m ⁻³)	pa (kg.m ⁻³)	φ (%)	ε (%)
7,383	3,823	3,003	0,027	0,035	0,761	0,418	48,601	45,348
6,883	3,743	3,663	0,026	0,038	0,687	0,418	51,564	39,478
7,163	3,883	3,583	0,032	0,042	0,744	0,418	51,813	44,164
7,003	4,193	3,013	0,031	0,045	0,692	0,418	50,173	40,002
7,043	3,583	3,193	0,030	0,035	0,871	0,418	48,545	52,234
7,773	4,803	3,663	0,039	0,050	0,793	0,418	56,030	47,642
6,503	3,623	2,973	0,022	0,045	0,480	0,418	47,578	13,459
6,583	3,883	3,393	0,023	0,040	0,585	0,418	50,891	28,996
6,653	4,253	3,193	0,030	0,032	0,943	0,418	51,400	55,873
6,393	4,173	3,213	0,025	0,047	0,544	0,418	51,185	23,695
7,153	3,893	3,073	0,032	0,044	0,717	0,418	49,269	42,104
6,803	4,043	2,773	0,031	0,042	0,734	0,418	48,217	43,386
6,813	4,303	3,573	0,027	0,046	0,584	0,418	53,566	28,924
6,873	4,143	3,363	0,032	0,053	0,605	0,418	51,838	31,446
6,893	4,443	3,833	0,032	0,056	0,578	0,418	55,429	28,215
6,613	4,383	2,993	0,025	0,046	0,540	0,418	50,813	23,100
7,453	3,963	3,543	0,034	0,053	0,651	0,418	51,974	36,244
7,753	3,273	2,873	0,024	0,044	0,538	0,418	45,468	22,805
6,273	3,883	3,083	0,026	0,046	0,557	0,418	49,283	25,428
6,623	4,393	2,803	0,020	0,045	0,455	0,418	49,745	8,631
6,763	4,353	3,253	0,025	0,048	0,520	0,418	52,122	20,097
6,933	4,793	3,253	0,029	0,055	0,523	0,418	53,821	20,642
6,863	4,443	2,763	0,029	0,036	0,817	0,418	49,705	49,133
7,143	3,623	3,103	0,033	0,056	0,579	0,418	48,260	28,343
6,723	3,733	2,873	0,030	0,046	0,646	0,418	47,504	35,672
7,043	3,763	3,163	0,024	0,043	0,556	0,418	49,187	25,307
6,653	4,463	3,573	0,029	0,050	0,581	0,418	54,232	28,532
6,763	4,663	3,363	0,036	0,057	0,626	0,418	53,924	33,765
6,383	3,653	3,323	0,030	0,050	0,593	0,418	49,515	29,996
7,223	4,193	3,293	0,026	0,047	0,555	0,418	51,689	25,131

Tabela A.I.5 - Dimensões, massa individual, volume individual, massa específica real, massa específica aparente, esfericidade e porosidade das sementes de juá revestidas de endocarpo com teor de água de 6% (b.u.)

A (mm)	B (mm)	C (mm)	MI (g)	VI (g/cm ³)	pr (kg.m ⁻³)	pa (kg.m ⁻³)	φ (%)	ε (%)
11,910	7,330	7,260	0,498	0,420	1,185	0,536	81,039	54,783
11,350	7,450	7,150	0,448	0,397	1,126	0,536	81,064	52,429
12,590	7,580	7,360	0,527	0,456	1,156	0,536	82,323	53,658
11,220	8,130	7,670	0,462	0,420	1,099	0,536	85,435	51,246
12,120	8,300	7,490	0,482	0,452	1,067	0,536	85,348	49,798
11,660	8,220	7,810	0,557	0,504	1,105	0,536	86,267	51,517
11,930	8,350	7,550	0,543	0,471	1,154	0,536	85,744	53,568
12,210	8,380	8,010	0,592	0,513	1,154	0,536	87,556	53,588
13,200	7,900	7,550	0,549	0,483	1,136	0,536	84,179	52,853
13,170	8,690	7,610	0,585	0,511	1,146	0,536	87,123	53,252
12,850	8,040	7,580	0,530	0,471	1,126	0,536	84,781	52,419
11,180	8,810	8,130	0,537	0,479	1,121	0,536	89,474	52,213
11,930	8,520	7,630	0,508	0,440	1,155	0,536	86,628	53,622
13,340	8,280	7,720	0,583	0,506	1,152	0,536	86,142	53,470
13,350	8,590	7,970	0,662	0,551	1,201	0,536	88,134	55,388
12,540	8,560	8,070	0,602	0,525	1,146	0,536	88,400	53,230
10,860	8,050	7,740	0,495	0,415	1,194	0,536	85,412	55,128
12,600	8,860	7,740	0,557	0,519	1,073	0,536	88,186	50,072
12,670	7,780	7,690	0,481	0,438	1,098	0,536	84,264	51,219
12,950	8,420	7,710	0,584	0,508	1,148	0,536	86,588	53,347
12,550	8,160	7,560	0,495	0,460	1,076	0,536	85,128	50,224
13,870	8,540	7,700	0,606	0,537	1,128	0,536	86,960	52,499
12,780	8,030	7,410	0,571	0,499	1,143	0,536	84,108	53,105
13,120	7,800	7,550	0,484	0,450	1,075	0,536	83,820	50,148
11,730	7,910	7,830	0,530	0,456	1,162	0,536	85,243	53,902
11,890	8,160	7,540	0,524	0,458	1,143	0,536	85,054	53,125
12,690	8,030	7,660	0,535	0,510	1,050	0,536	85,045	48,978
11,130	7,860	7,510	0,454	0,413	1,099	0,536	83,886	51,264
12,990	7,770	7,470	0,560	0,487	1,149	0,536	83,415	53,370
11,690	8,270	7,310	0,496	0,445	1,114	0,536	84,554	51,912

Tabela A.I.6 - Dimensões, massa individual, volume individual, massa específica real, massa específica aparente, esfericidade e porosidade das sementes de juá revestidas de endocarpo com teor de água de 9% (b.u.)

A (mm)	B (mm)	C (mm)	MI (g)	VI (g/cm ³)	pr (kg.m ⁻³)	pa (kg.m ⁻³)	φ (%)	ε (%)
12,387	7,807	7,737	0,514	0,436	1,177	0,538	84,530	54,264
11,827	7,927	7,627	0,461	0,413	1,119	0,538	84,558	51,865
13,067	8,057	7,837	0,543	0,473	1,149	0,538	85,790	53,150
11,697	8,607	8,147	0,476	0,436	1,092	0,538	88,841	50,687
12,597	8,777	7,967	0,497	0,469	1,061	0,538	88,761	49,245
12,137	8,697	8,287	0,575	0,523	1,099	0,538	89,657	51,014
12,407	8,827	8,027	0,560	0,488	1,147	0,538	89,148	53,068
12,687	8,857	8,487	0,610	0,532	1,148	0,538	90,925	53,111
13,677	8,377	8,027	0,566	0,501	1,130	0,538	87,608	52,352
13,647	9,167	8,087	0,604	0,529	1,140	0,538	90,503	52,771
13,327	8,517	8,057	0,546	0,488	1,119	0,538	88,203	51,906
11,657	9,287	8,607	0,554	0,497	1,115	0,538	92,805	51,703
12,407	8,997	8,107	0,524	0,456	1,148	0,538	90,017	53,103
13,817	8,757	8,197	0,601	0,524	1,145	0,538	89,537	52,988
13,827	9,067	8,447	0,682	0,571	1,195	0,538	91,494	54,947
13,017	9,037	8,547	0,620	0,544	1,140	0,538	91,752	52,756
11,337	8,527	8,217	0,511	0,430	1,186	0,538	88,820	54,609
13,077	9,337	8,217	0,574	0,538	1,067	0,538	91,545	49,562
13,147	8,257	8,167	0,496	0,454	1,091	0,538	87,690	50,672
13,427	8,897	8,187	0,602	0,527	1,142	0,538	89,975	52,865
13,027	8,637	8,037	0,510	0,477	1,070	0,538	88,545	49,681
14,347	9,017	8,177	0,624	0,556	1,122	0,538	90,340	52,022
13,257	8,507	7,887	0,588	0,518	1,136	0,538	87,543	52,616
13,597	8,277	8,027	0,499	0,467	1,068	0,538	87,259	49,598
12,207	8,387	8,307	0,546	0,473	1,155	0,538	88,651	53,397
12,367	8,637	8,017	0,540	0,475	1,136	0,538	88,468	52,613
13,167	8,507	8,137	0,552	0,528	1,044	0,538	88,459	48,452
11,607	8,337	7,987	0,468	0,429	1,092	0,538	87,325	50,699
13,467	8,247	7,947	0,577	0,505	1,143	0,538	86,863	52,877
12,167	8,747	7,787	0,511	0,462	1,107	0,538	87,984	51,378

Tabela A.I.7 - Dimensões, massa individual, volume individual, massa específica real, massa específica aparente, esfericidade e porosidade das sementes de juá revestidas de endocarpo com teor de água de 12% (b.u.)

A (mm)	B (mm)	C (mm)	MI (g)	VI (g/cm ³)	pr (kg.m ⁻³)	pa (kg.m ⁻³)	φ (%)	ε (%)
12,845	8,265	8,195	0,530	0,452	1,170	0,541	87,820	53,814
12,285	8,385	8,085	0,476	0,428	1,112	0,541	87,846	51,375
13,525	8,515	8,295	0,560	0,490	1,143	0,541	89,056	52,711
12,155	9,065	8,605	0,491	0,452	1,085	0,541	92,052	50,202
13,055	9,235	8,425	0,512	0,486	1,055	0,541	91,973	48,766
12,595	9,155	8,745	0,592	0,542	1,094	0,541	92,855	50,580
12,865	9,285	8,485	0,577	0,506	1,141	0,541	92,358	52,636
13,145	9,315	8,945	0,629	0,551	1,143	0,541	94,099	52,700
14,135	8,835	8,485	0,583	0,519	1,124	0,541	90,840	51,920
14,105	9,625	8,545	0,622	0,549	1,134	0,541	93,694	52,356
13,785	8,975	8,515	0,563	0,506	1,114	0,541	91,426	51,464
12,115	9,745	9,065	0,571	0,515	1,109	0,541	95,952	51,263
12,865	9,455	8,565	0,540	0,473	1,142	0,541	93,209	52,654
14,275	9,215	8,655	0,619	0,543	1,140	0,541	92,739	52,573
14,285	9,525	8,905	0,704	0,591	1,190	0,541	94,660	54,567
13,475	9,495	9,005	0,640	0,564	1,134	0,541	94,912	52,347
11,795	8,985	8,675	0,526	0,446	1,179	0,541	92,028	54,159
13,535	9,795	8,675	0,592	0,557	1,062	0,541	94,716	49,122
13,605	8,715	8,625	0,511	0,471	1,085	0,541	90,925	50,199
13,885	9,355	8,645	0,621	0,546	1,137	0,541	93,167	52,450
13,485	9,095	8,495	0,526	0,494	1,064	0,541	91,760	49,212
14,805	9,475	8,635	0,644	0,576	1,117	0,541	93,531	51,612
13,715	8,965	8,345	0,606	0,536	1,131	0,541	90,779	52,194
14,055	8,735	8,485	0,514	0,484	1,062	0,541	90,499	49,122
12,665	8,845	8,765	0,563	0,490	1,149	0,541	91,866	52,960
12,825	9,095	8,475	0,557	0,493	1,130	0,541	91,688	52,169
13,625	8,965	8,595	0,569	0,547	1,039	0,541	91,676	47,998
12,065	8,795	8,445	0,483	0,445	1,086	0,541	90,560	50,209
13,925	8,705	8,405	0,595	0,524	1,137	0,541	90,111	52,452
12,625	9,205	8,245	0,527	0,479	1,101	0,541	91,218	50,916

Tabela A.I.8 - Dimensões, massa individual, volume individual, massa específica real, massa específica aparente, esfericidade e porosidade das sementes de juá revestidas de endocarpo com teor de água de 15% (b.u.)

A (mm)	B (mm)	C (mm)	MI (g)	VI (g/cm ³)	pr (kg.m ⁻³)	pa (kg.m ⁻³)	φ (%)	ε (%)
13,290	8,710	8,640	0,546	0,469	1,164	0,541	90,957	53,504
12,730	8,830	8,530	0,490	0,444	1,105	0,541	90,985	51,034
13,970	8,960	8,740	0,577	0,508	1,137	0,541	92,173	52,413
12,600	9,510	9,050	0,506	0,469	1,080	0,541	95,123	49,867
13,500	9,680	8,870	0,528	0,503	1,050	0,541	95,045	48,441
13,040	9,600	9,190	0,611	0,561	1,089	0,541	95,908	50,293
13,310	9,730	8,930	0,595	0,524	1,136	0,541	95,424	52,345
13,590	9,760	9,390	0,649	0,570	1,138	0,541	97,135	52,428
14,580	9,280	8,930	0,601	0,538	1,119	0,541	93,929	51,630
14,550	10,070	8,990	0,642	0,568	1,129	0,541	96,738	52,081
14,230	9,420	8,960	0,581	0,524	1,108	0,541	94,503	51,165
12,560	10,190	9,510	0,588	0,533	1,104	0,541	98,959	50,967
13,310	9,900	9,010	0,557	0,490	1,136	0,541	96,262	52,347
14,720	9,660	9,100	0,638	0,563	1,135	0,541	95,796	52,297
14,730	9,970	9,350	0,725	0,612	1,185	0,541	97,687	54,319
13,920	9,940	9,450	0,659	0,584	1,129	0,541	97,934	52,078
12,240	9,430	9,120	0,543	0,463	1,173	0,541	95,097	53,848
13,980	10,240	9,120	0,610	0,577	1,058	0,541	97,746	48,832
14,050	9,160	9,070	0,527	0,488	1,080	0,541	94,008	49,875
14,330	9,800	9,090	0,640	0,565	1,132	0,541	96,219	52,174
13,930	9,540	8,940	0,542	0,512	1,059	0,541	94,834	48,894
15,250	9,920	9,080	0,664	0,597	1,112	0,541	96,574	51,343
14,160	9,410	8,790	0,625	0,556	1,125	0,541	93,868	51,914
14,500	9,180	8,930	0,530	0,502	1,057	0,541	93,591	48,798
13,110	9,290	9,210	0,581	0,508	1,143	0,541	94,934	52,664
13,270	9,540	8,920	0,574	0,510	1,124	0,541	94,764	51,869
14,070	9,410	9,040	0,587	0,567	1,035	0,541	94,753	47,698
12,510	9,240	8,890	0,498	0,461	1,080	0,541	93,652	49,870
14,370	9,150	8,850	0,614	0,542	1,131	0,541	93,209	52,168
13,070	9,650	8,690	0,543	0,496	1,096	0,541	94,301	50,601

PROTOCOLOS DE CRIOPRESERVAÇÃO DE SEMENTES DE ROMÃ E JUÁ

APÊNDICE A.II

(Dados referentes à cinética de congelamento: tempo, razão de temperatura e valores do resíduo versus valores preditos das curvas de congelamento de sementes de romã e juá a -170 °C e -196 °C em diferentes teores de água)

Tabela A.II.1 – Tempo em segundos e razão de temperatura (adimensional) da cinética de congelamento das sementes de romã nas temperaturas criogênicas de -170 e -196 °C em diferentes teores de água (b.u.)

Tempo (seg)	Temperaturas Criogênicas							
	-170 °C				-196 °C			
	Teores de Água (b.u.)							
	6%	9%	12%	15%	6%	9%	12%	15%
0	1	1	1	1	1	1	1	1
1	0,94439	0,97824	0,98965	0,99384	0,94209	0,96101	0,97361	0,98104
2	0,89082	0,95747	0,97821	0,98761	0,91387	0,92786	0,94535	0,95507
3	0,83802	0,93670	0,95220	0,97515	0,86111	0,88216	0,93099	0,92239
4	0,78628	0,90554	0,93400	0,96218	0,80589	0,85438	0,90721	0,89642
5	0,75507	0,88996	0,92048	0,95128	0,72166	0,76478	0,86773	0,87940
6	0,72386	0,85880	0,90539	0,94142	0,47121	0,52822	0,74122	0,85253
7	0,69266	0,82764	0,88667	0,92429	0,22704	0,27060	0,56894	0,75492
8	0,67185	0,80946	0,87419	0,90975	0,10473	0,14291	0,39443	0,60985
9	0,64585	0,79129	0,85859	0,90041	0,04066	0,07660	0,25714	0,52701
10	0,60944	0,77104	0,84298	0,88691	0,00840	0,04703	0,17190	0,30224
11	0,57824	0,76013	0,82218	0,87290	0	0,02329	0,10595	0,21000
12	0,54703	0,74455	0,79617	0,85837		0,01298	0,05481	0,15895
13	0,52623	0,73053	0,77537	0,84799		0,00626	0,03103	0,11104
14	0,50022	0,71080	0,75977	0,83241		0,00268	0,01982	0,06448
15	0,47942	0,68743	0,74416	0,81684		0	0,01443	0,04612
16	0,45341	0,66717	0,72336	0,80127			0,00815	0,02507
17	0,43261	0,65627	0,70256	0,78570			0	0,01254
18	0,40660	0,63913	0,67655	0,77013				0,00672
19	0,37540	0,62511	0,65575	0,75975				0,00313
20	0,35979	0,60641	0,64534	0,74418				0
21	0,34419	0,59135	0,61934	0,73068				
22	0,31819	0,57058	0,60374	0,71822				
23	0,30258	0,55240	0,58293	0,70836				
24	0,28178	0,52644	0,56213	0,69746				
25	0,26097	0,50047	0,55173	0,68500				

26	0,24537	0,47970	0,53092	0,66632
27	0,22457	0,45893	0,51532	0,64556
28	0,20896	0,43296	0,49452	0,61960
29	0,19336	0,41219	0,47891	0,59365
30	0,18296	0,39142	0,46331	0,58327
31	0,16216	0,37064	0,44771	0,55732
32	0,15175	0,34987	0,43210	0,54694
33	0,13615	0,33429	0,41130	0,52098
34	0,12055	0,30833	0,39570	0,50022
35	0,11015	0,29275	0,38529	0,46908
36	0,08414	0,27197	0,36449	0,44832
37	0,07374	0,25640	0,35409	0,43274
38	0,06334	0,23562	0,33328	0,41198
39	0,05293	0,22004	0,32288	0,39641
40	0,04773	0,20446	0,30208	0,37565
41	0,03733	0,18888	0,29168	0,35489
42	0,02693	0,16811	0,27607	0,34451
43	0,02173	0,15773	0,26047	0,32893
44	0,01133	0,14215	0,25007	0,31336
45	0,00613	0,13176	0,23967	0,29260
46	0	0,11099	0,22406	0,27703
47		0,10060	0,21366	0,26665
48		0,09021	0,20326	0,25108
49		0,07464	0,19286	0,24069
50		0,06425	0,17725	0,22512
51		0,05386	0,16685	0,21474
52		0,04348	0,15645	0,19917
53		0,03309	0,14605	0,18879
54		0,02270	0,13565	0,17841
55		0,01232	0,12524	0,16803
56		0,00193	0,11484	0,15246
57		0	0,10964	0,14727
58			0,09924	0,13169

59	0,08884	0,12131
60	0,08364	0,11612
61	0,07323	0,10574
62	0,06283	0,10055
63	0,05243	0,09017
64	0,04723	0,08498
65	0,03683	0,07460
66	0,02642	0,06941
67	0,02122	0,05903
68	0,01602	0,05384
69	0,01082	0,04345
70	0,00562	0,03826
71	0	0,03307
72		0,02788
73		0,02269
74		0,01750
75		0,01231
76		0,00712
77		0,00193
78		0

Tabela A.II.2 – Tempo em segundos e razão de temperatura (adimensional) da cinética de congelamento das sementes de juá revestidas de endocarpo nas temperaturas criogênicas de -170 e -196 °C em diferentes teores de água (b.u.)

Tempo (seg)	Temperaturas Criogênicas							
	-170 °C				-196 °C			
	Teores de Água (b.u.)							
	6%	9%	12%	15%	6%	9%	12%	15%
0	1	1	1	1	1	1	1	1
5	0,94284	0,97475	0,98586	0,98891	0,93873	0,95417	0,96624	0,97536
10	0,89074	0,95455	0,97475	0,98285	0,91060	0,92125	0,93819	0,94954
15	0,83966	0,93434	0,94949	0,97075	0,85357	0,87588	0,90605	0,92396
20	0,78907	0,90404	0,93182	0,95814	0,80301	0,84830	0,87800	0,90036

25	0,75873	0,88889	0,91869	0,94755	0,71908	0,75933	0,81664	0,87876
30	0,73343	0,85859	0,90404	0,93797	0,46953	0,56894	0,73561	0,84760
35	0,71320	0,82828	0,88586	0,92133	0,36016	0,35764	0,56464	0,75055
40	0,69297	0,81061	0,87374	0,90721	0,22623	0,27535	0,39144	0,60632
45	0,67274	0,79293	0,85859	0,89813	0,10435	0,14190	0,25520	0,52396
50	0,65250	0,77323	0,84343	0,88502	0,04051	0,07606	0,17060	0,30049
55	0,61710	0,76263	0,82323	0,87141	0,00837	0,04670	0,10515	0,20878
60	0,58675	0,74747	0,79798	0,85729	0	0,02312	0,05439	0,15803
65	0,55640	0,73384	0,77778	0,84720		0,01067	0,03080	0,11040
70	0,53617	0,71465	0,76263	0,83207		0,00266	0,01967	0,06410
75	0,51088	0,69192	0,74747	0,81694		0	0,01432	0,04585
80	0,49064	0,67222	0,72727	0,80182			0,00809	0,02493
85	0,46535	0,66162	0,70707	0,78669			0	0,01246
90	0,44512	0,64495	0,68182	0,77156				0,00668
95	0,41983	0,63131	0,66162	0,76147				0,00312
100	0,38948	0,61313	0,65152	0,74634				0
105	0,37430	0,59848	0,62626	0,73323				
110	0,35913	0,57828	0,61111	0,72113				
115	0,33384	0,56061	0,59091	0,71155				
120	0,31866	0,53535	0,57071	0,70096				
125	0,29843	0,51010	0,56061	0,68886				
130	0,27820	0,48990	0,54040	0,67070				
135	0,26302	0,46970	0,52525	0,65053				
140	0,24279	0,44444	0,50505	0,62532				
145	0,22762	0,42424	0,48990	0,60010				
150	0,21244	0,40404	0,47475	0,59002				
155	0,20233	0,38384	0,45960	0,56480				
160	0,18209	0,36364	0,44444	0,55472				
165	0,17198	0,34848	0,42424	0,52950				
170	0,15680	0,32323	0,40909	0,50933				
175	0,14163	0,30808	0,39899	0,47907				
180	0,13151	0,28788	0,37879	0,45890				
185	0,10622	0,27273	0,36869	0,44377				

190	0,09611	0,25253	0,34848	0,42360
195	0,08599	0,23737	0,33838	0,40847
200	0,07587	0,22222	0,31818	0,38830
205	0,07081	0,20707	0,30808	0,36813
210	0,06070	0,18687	0,29293	0,35804
215	0,05058	0,17677	0,27778	0,34291
220	0,04552	0,16162	0,26768	0,32779
225	0,03541	0,15152	0,25758	0,30761
230	0,03035	0,13131	0,24242	0,29249
235	0,02023	0,12121	0,23232	0,28240
240	0,01517	0,11111	0,22222	0,26727
245	0,01012	0,09596	0,21212	0,25719
250	0,00506	0,08586	0,19697	0,24206
255	0	0,07576	0,18687	0,23197
260		0,06566	0,17677	0,21684
265		0,05556	0,16667	0,20676
270		0,04545	0,15657	0,19667
275		0,03535	0,14646	0,18659
280		0,02525	0,13636	0,17146
285		0,02020	0,13131	0,16641
290		0,01010	0,12121	0,15129
295		0,00505	0,11111	0,14120
300		0	0,10606	0,13616
305			0,09596	0,12607
310			0,08586	0,12103
315			0,07576	0,11094
320			0,07071	0,10590
325			0,06061	0,09581
330			0,05051	0,09077
335			0,04545	0,08069
340			0,04040	0,07564
345			0,03535	0,06556
350			0,03030	0,06051

355	0,02525	0,05547
360	0,02020	0,05043
365	0,02020	0,04539
370	0,01515	0,04034
375	0,01010	0,03530
380	0,00505	0,03026
385	0	0,02521
390		0,02017
395		0,01513
400		0,01513
405		0,01009
410		0,00504
415		0

Figura A.II.1 - Valores do resíduo versus valores preditos das curvas de congelamento de sementes de romã a -170 °C em diferentes teores de água – Modelo de Fourier.

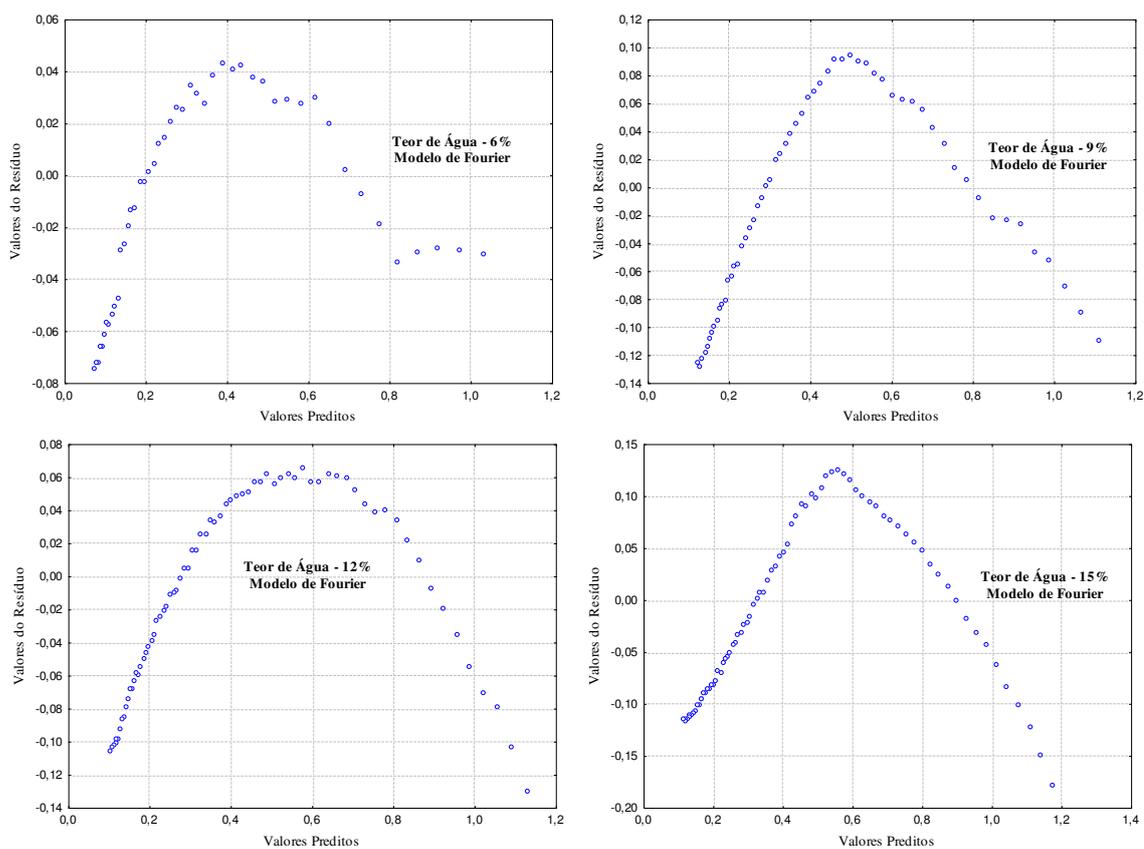


Figura A.II.2 - Valores do resíduo versus valores preditos das curvas de congelamento de sementes de romã a $-170\text{ }^{\circ}\text{C}$ em diferentes teores de água – Modelo I de Cavalcanti Mata.

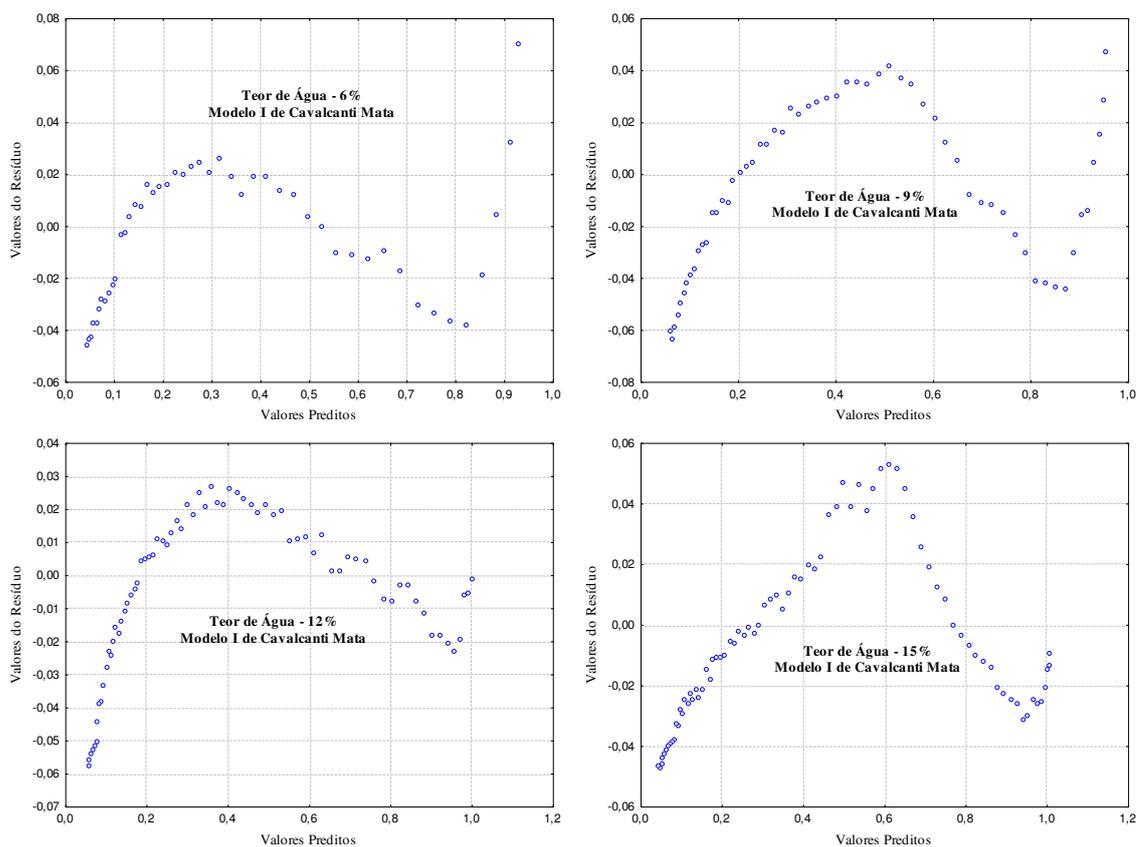
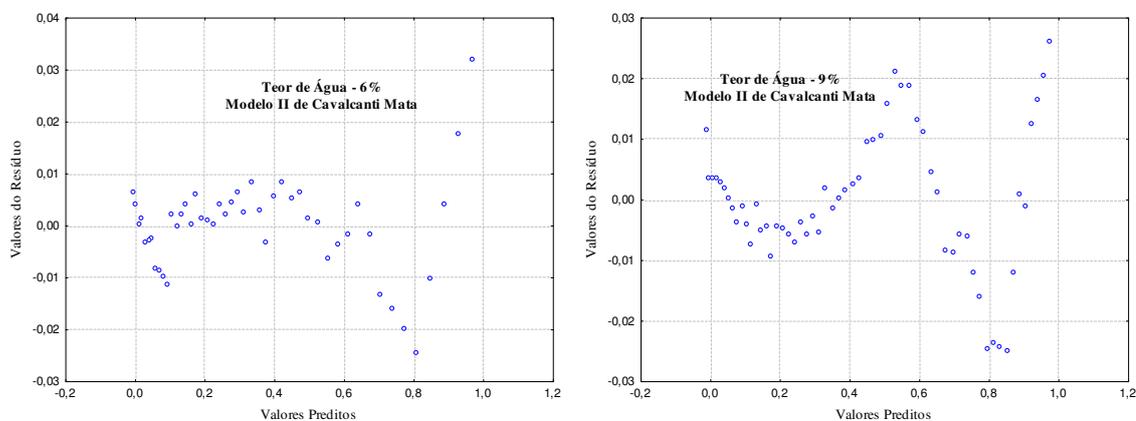


Figura A.II.3 - Valores do resíduo versus valores preditos das curvas de congelamento de sementes de romã a $-170\text{ }^{\circ}\text{C}$ em diferentes teores de água – Modelo II de Cavalcanti Mata



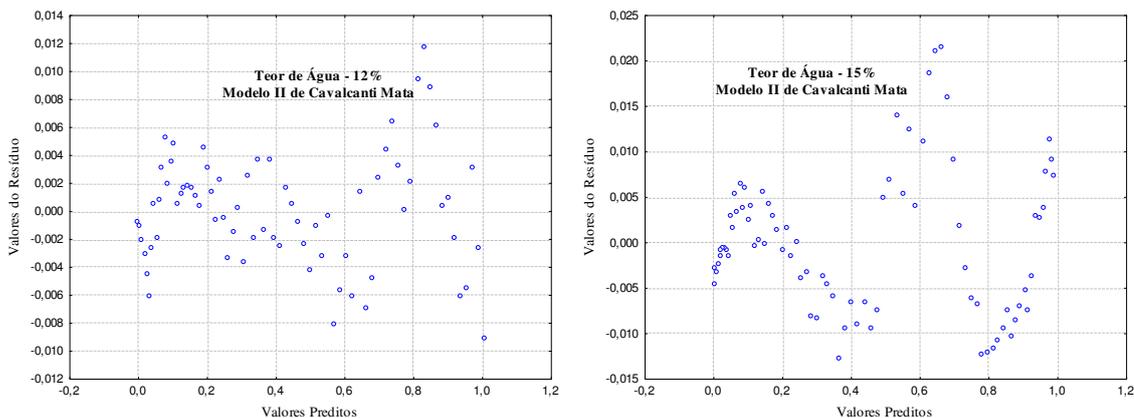


Figura A.II.4 - Valores do resíduo versus valores preditos das curvas de congelamento de sementes de romã a -196 °C em diferentes teores de água – Modelo de Fourier.

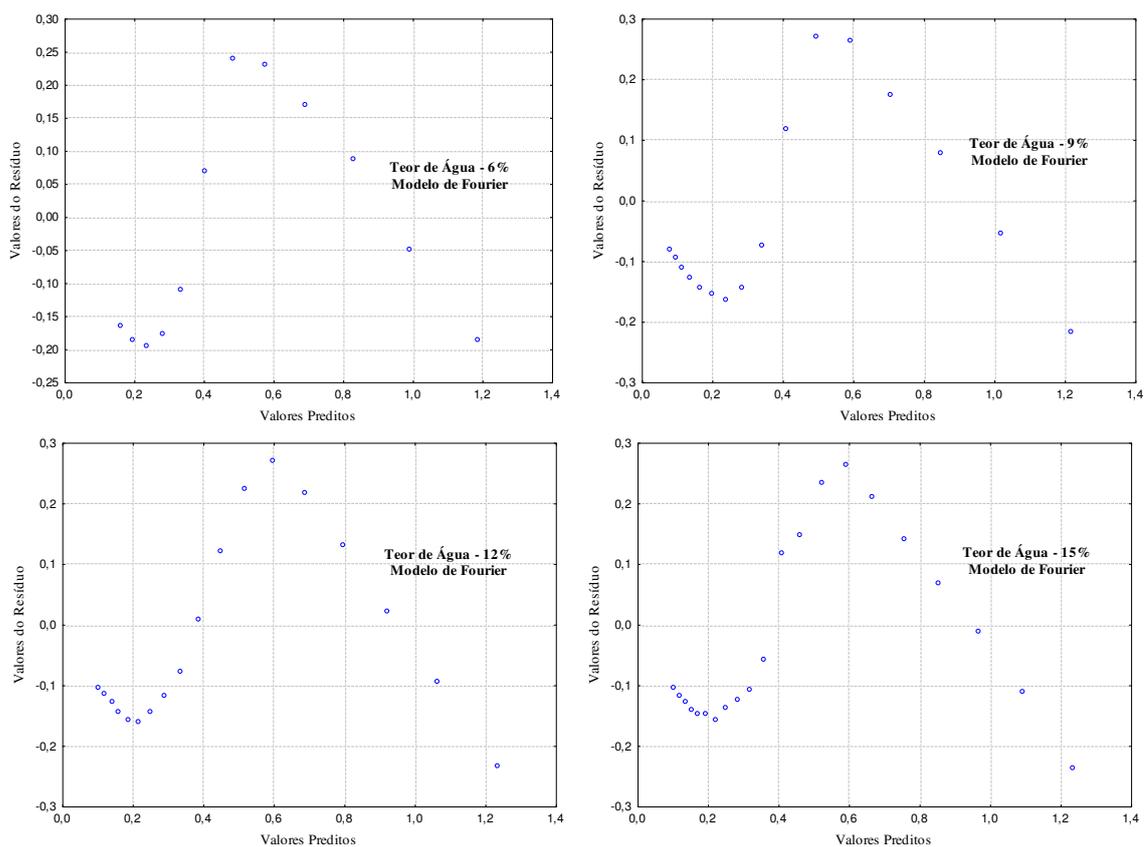


Figura A.II.5 - Valores do resíduo versus valores preditos das curvas de congelamento de sementes de romã a $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ em diferentes teores de água – Modelo I de Cavalcanti Mata.

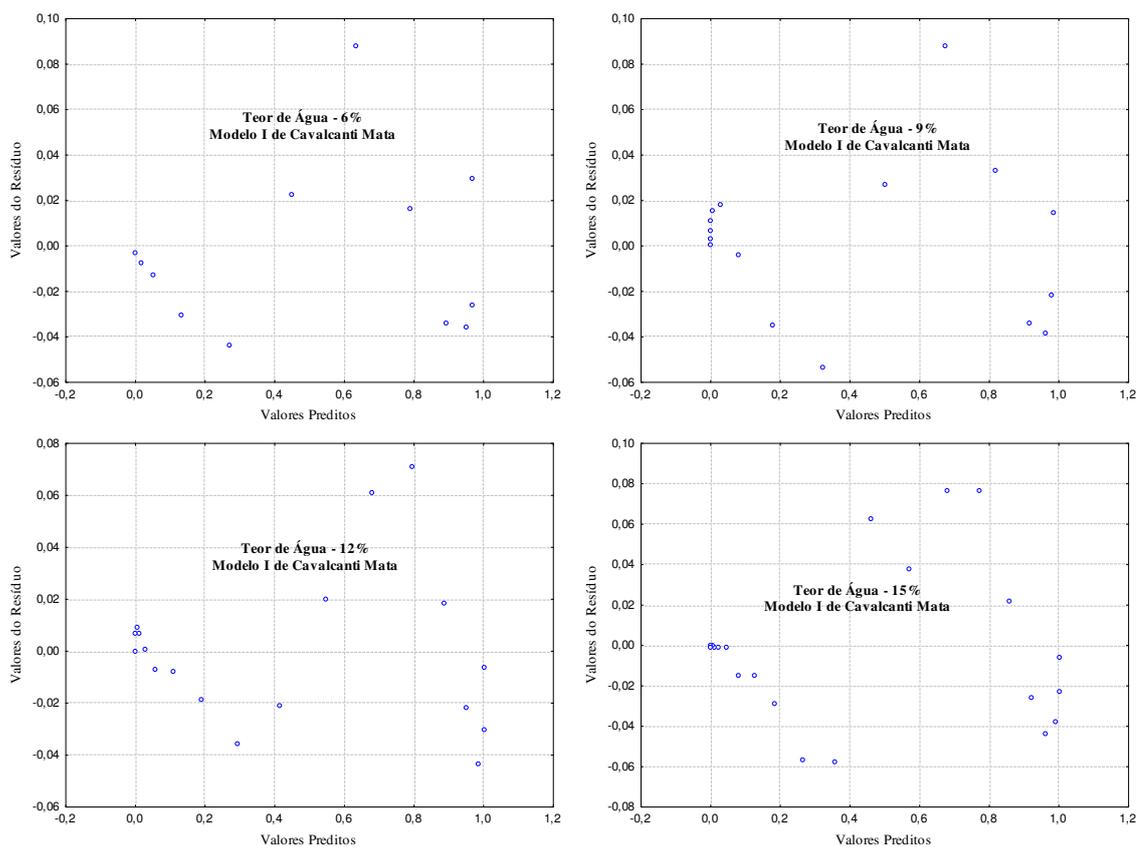
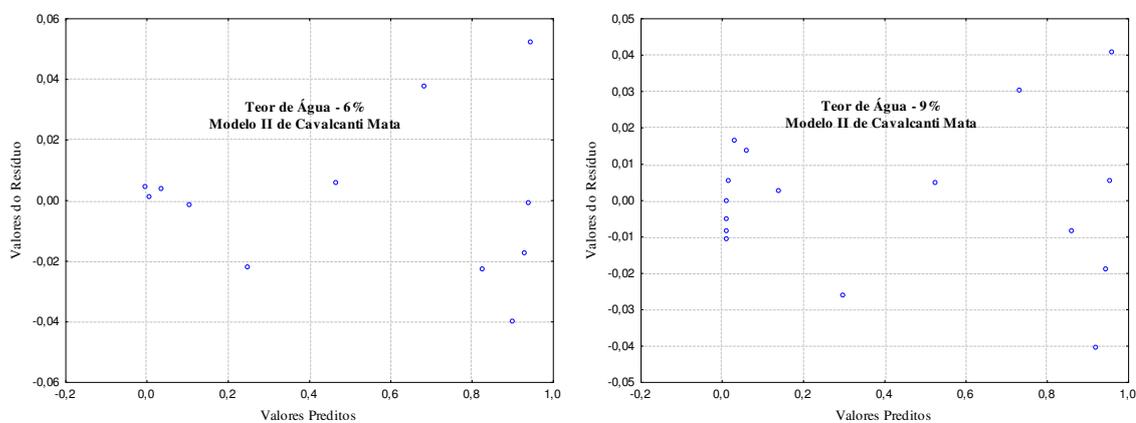


Figura A.II.6 - Valores do resíduo versus valores preditos das curvas de congelamento de sementes de romã a $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ em diferentes teores de água – Modelo II de Cavalcanti Mata.



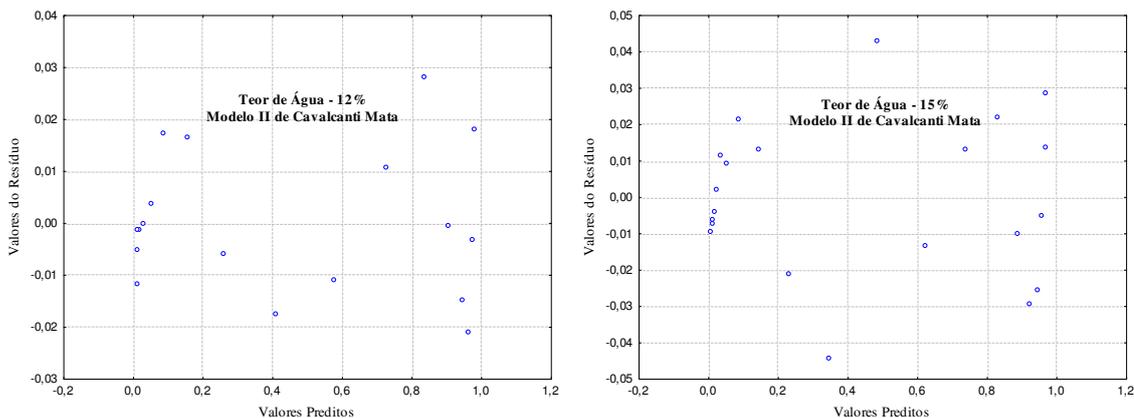


Figura A.II.7 - Valores do resíduo versus valores preditos das curvas de congelamento de sementes de juá revestidas de endocarpo a -170°C em diferentes teores de água – Modelo de Fourier.

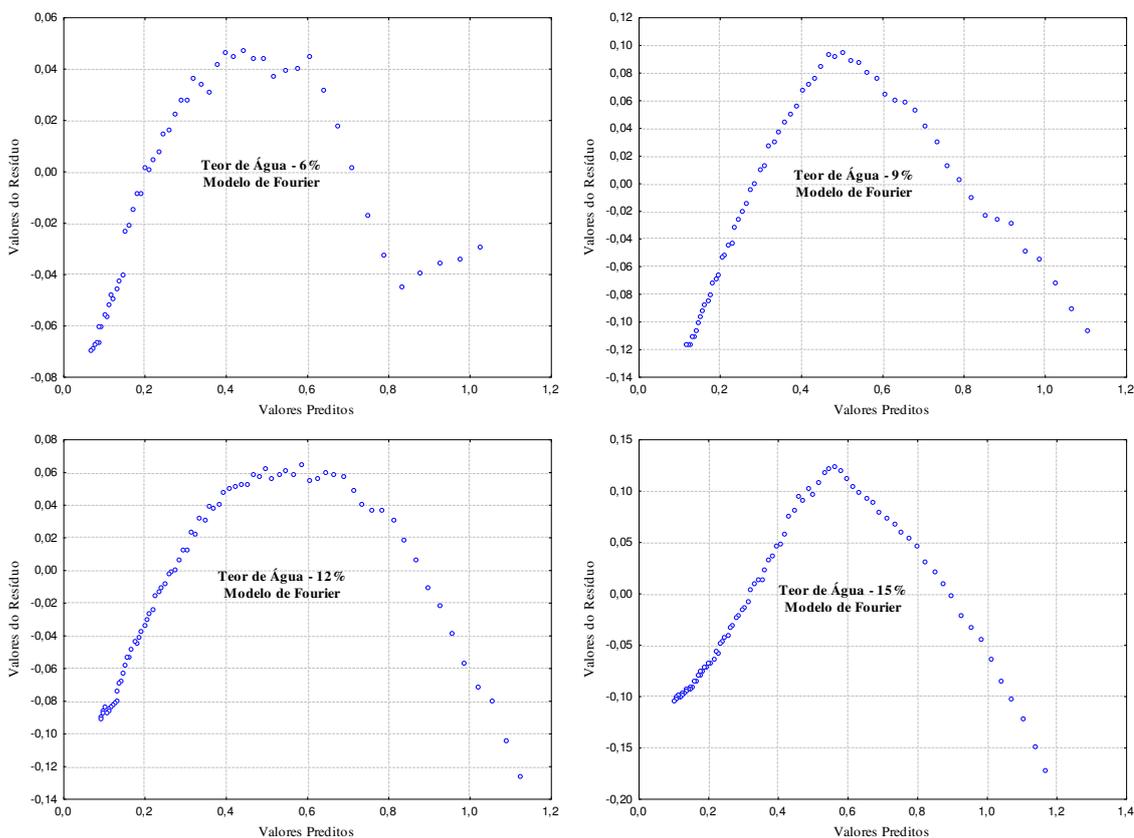


Figura A.II.8 - Valores do resíduo versus valores preditos das curvas de congelamento de sementes de juá revestidas de endocarpo a $-170\text{ }^{\circ}\text{C}$ em diferentes teores de água – Modelo I de Cavalcanti Mata.

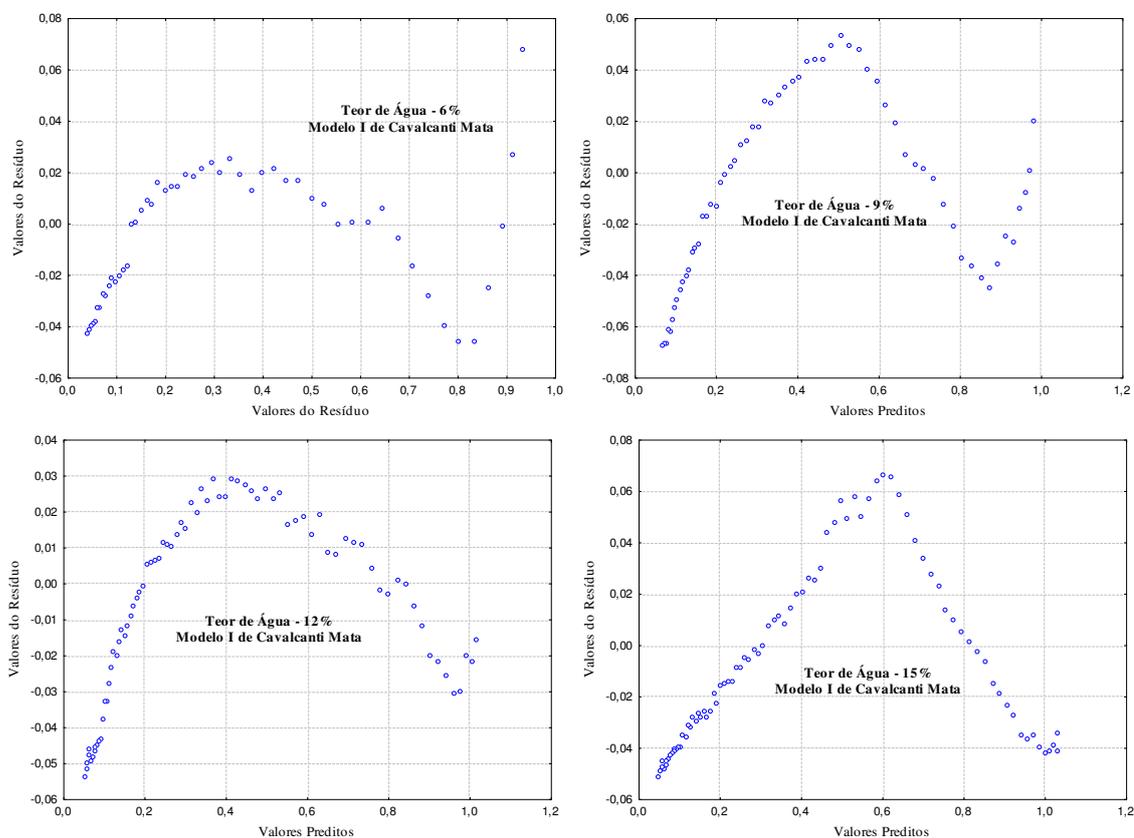
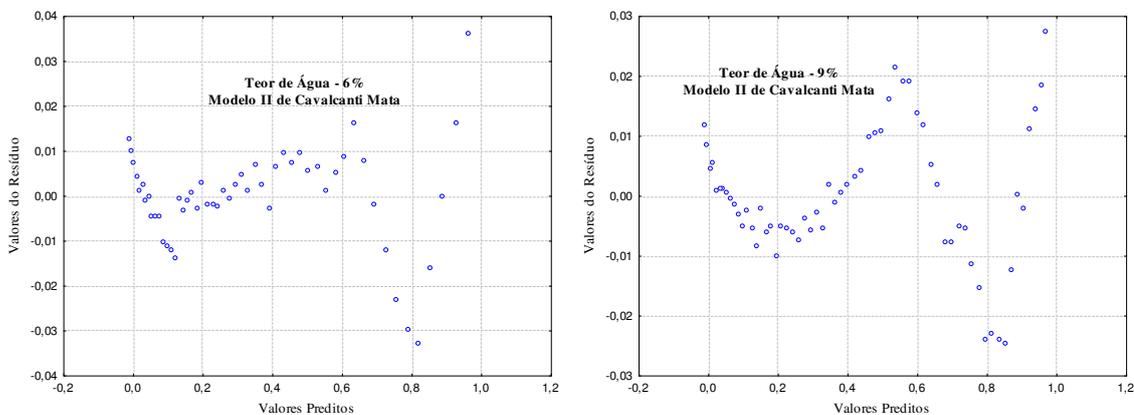


Figura A.II.9 - Valores do resíduo versus valores preditos das curvas de congelamento de sementes de juá revestidas de endocarpo a $-170\text{ }^{\circ}\text{C}$ em diferentes teores de água – Modelo II de Cavalcanti Mata.



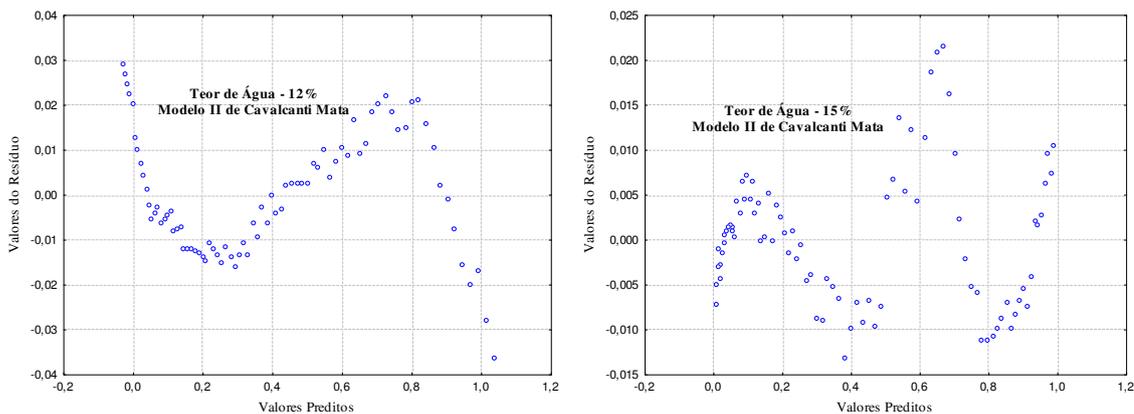


Figura A.II.10 - Valores do resíduo versus valores preditos das curvas de congelamento de sementes de juá revestidas de endocarpo a $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ em diferentes teores de água – Modelo de Fourier.

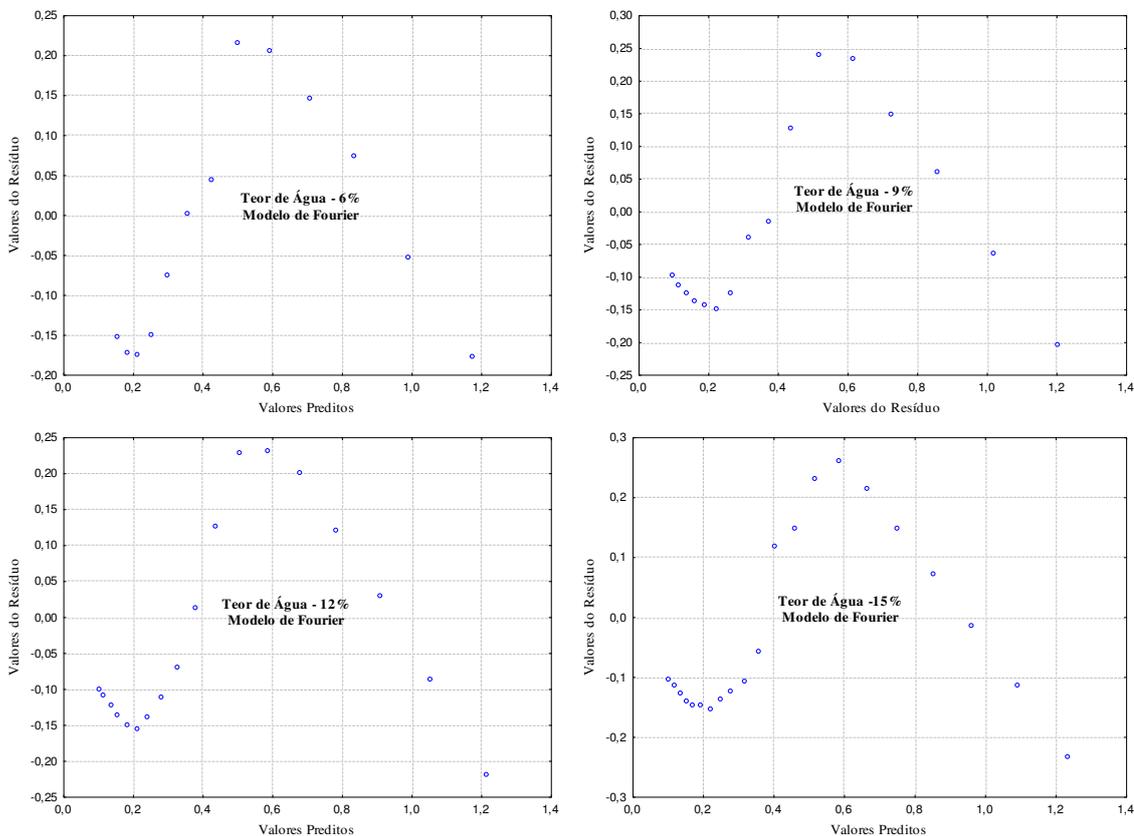


Figura A.II.11 - Valores do resíduo versus valores preditos das curvas de congelamento de sementes de juá revestidas de endocarpo a $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ em diferentes teores de água – Modelo I de Cavalcanti Mata.

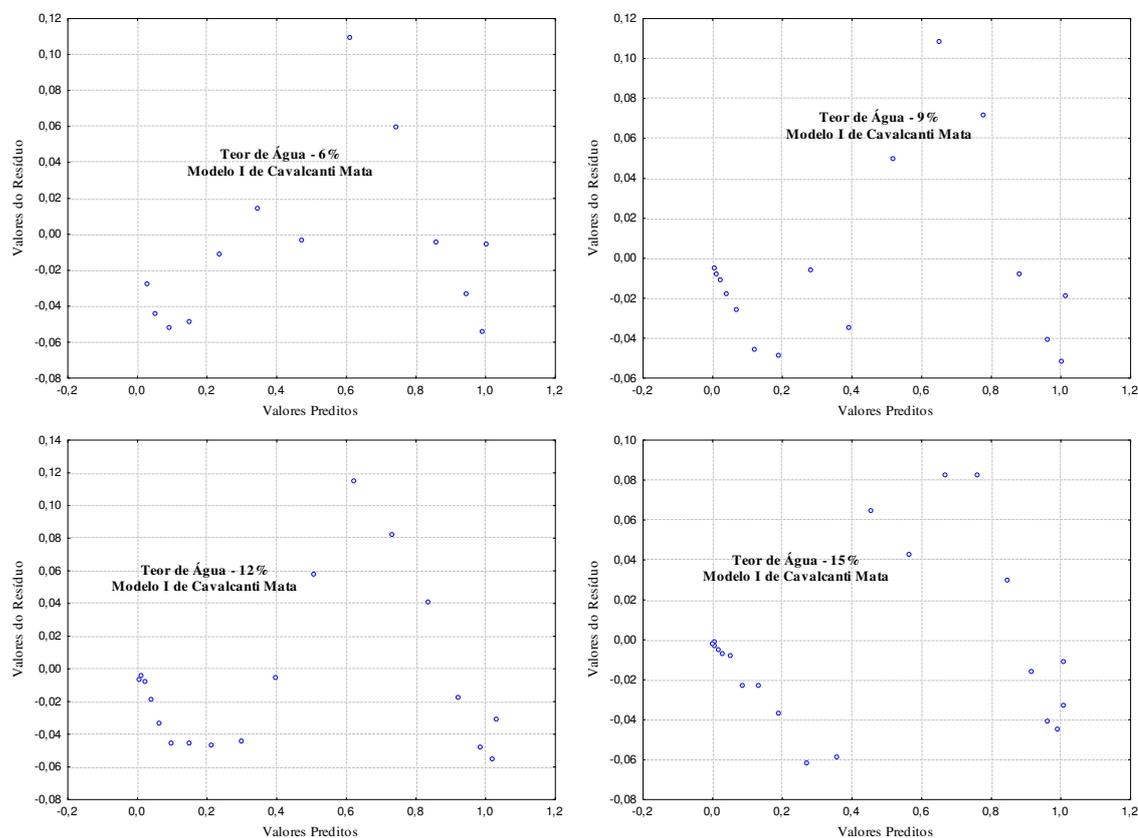
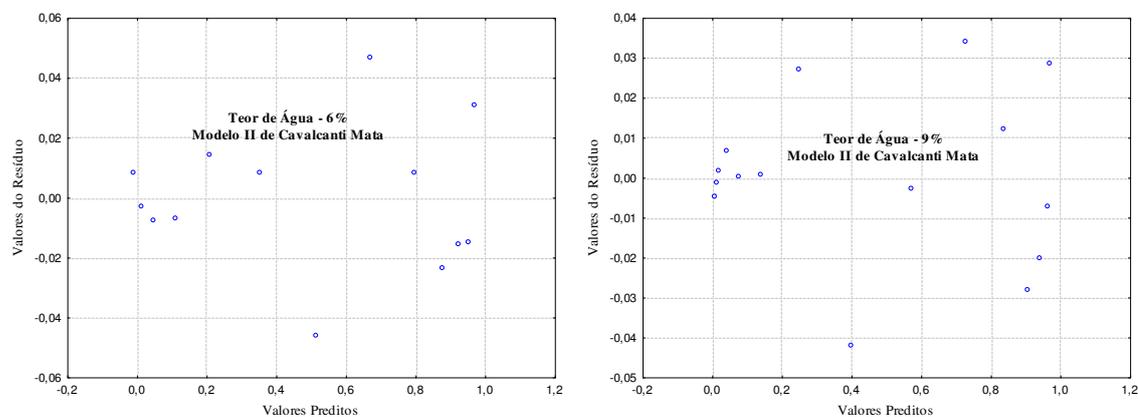
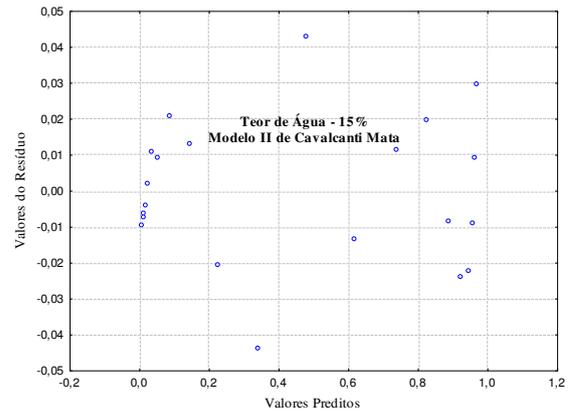
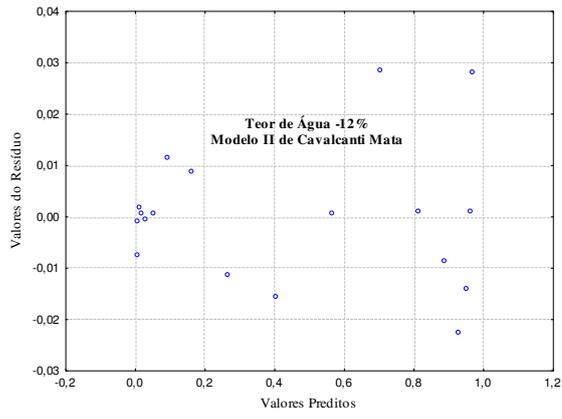


Figura A.II.12 - Valores do resíduo versus valores preditos das curvas de congelamento de sementes de juá revestidas de endocarpo a $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ em diferentes teores de água – Modelo II de Cavalcanti Mata.





PROCOLOS DE CRIOPRESERVAÇÃO DE SEMENTES DE ROMÃ E JUÁ

APÊNDICE A.III

**(Dados referentes à análise de variância: superação da dormência de sementes de juá
revestidas de endocarpo)**

Tabela A.III.1 – Análise de variância da germinação de sementes de juá revestidas de endocarpo submetidas a diferentes tratamentos pré-germinativos.

FV	GL	SQ	QM	F
Tratamentos	21	36572,77273	1741,56061	267,9324 **
Resíduo	66	429,00000	6,50000	
Total	87	37001,77273		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < 0,01$)

Tabela A.III.2 - Análise de variância do comprimento das plântulas de juá originadas de sementes revestidas de endocarpo submetidas a diferentes tratamentos pré-germinativos.

FV	GL	SQ	QM	F
Tratamentos	21	2360,25407	112,39305	40,7876 **
Resíduo	66	181,86762	2,75557	
Total	87	2542,12170		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < 0,01$)

Tabela A.III.3 - Análise de variância da matéria seca de plântulas de juá originadas de sementes revestidas de endocarpo submetidas a diferentes tratamentos pré-germinativos.

FV	GL	SQ	QM	F
Tratamentos	21	89,97487	4,28452	267,9324 **
Resíduo	66	1,05541	0,01599	
Total	87	91.03028		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < 0,01$)

PROTÓCOLOS DE CRIOPRESERVAÇÃO DE SEMENTES DE ROMÃ E JUÁ

APÊNDICE A.IV

(Dados referentes à análise de variância: qualidade fisiológica das sementes de romã e sementes de juá revestidas de endocarpo durante a determinação do Teor de Água Limite para Crioconservação)

Tabela A.IV.1 - Análise de variância da germinação de sementes de romã submetidas ao armazenamento nas temperaturas de 25, -170 e -196 °C, durante cinco dias.

FV	GL	SQ	QM	F
Temperaturas de Armazenamento (F1)	2	234,77778	117,38889	4,5279 *
Teores de Água (F2)	5	863,11111	172,62222	6,6583 **
Interação F1xF2	10	720,55556	72,05556	2,7793 **
Tratamentos	17	1818,44444	106,96732	4,1259 **
Resíduo	54	1400,00000	25,92593	
Total	71	3218,44444		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < 0,01$)

* significativo ao nível de 5% de probabilidade ($0,01 \leq p < 0,05$)

Tabela A.IV.2 - Análise de variância do vigor (comprimento de plântula) originadas de sementes de romã submetidas ao armazenamento nas temperaturas de 25, -170 e -196 °C, durante cinco dias.

FV	GL	SQ	QM	F
Temperaturas de Armazenamento (F1)	2	9,96952	4,98476	0,7259 ^{ns}
Teores de Água (F2)	5	38,47063	7,69413	1,1204 ^{ns}
Interação F1xF2	10	184,61061	18,46106	2,6882 **
Tratamentos	17	233,05076	13,70887	1,9962 *
Resíduo	54	370,83595	6,86733	
Total	71	603,88671		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < 0,01$)

* significativo ao nível de 5% de probabilidade ($0,01 \leq p < 0,05$)

^{ns} não significativo ($p \geq 0,05$)

Tabela A.IV.3 - Análise de variância do vigor (matéria seca de plântulas) originadas de sementes romã submetidas ao armazenamento nas temperaturas de 25, -170 e -196 °C, durante cinco dias.

FV	GL	SQ	QM	F
Temperaturas de Armazenamento (F1)	2	1,01393	0,50696	5971,4305 **
Teores de Água (F2)	5	2,28715	0,45743	5387,9796 **
Interação F1xF2	10	2,76275	0,27627	3254,1879 **

Tratamentos	17	6,06382	0,35670	4201,4493 **
Resíduo	54	0,00458	0,00008	
Total	71	6,06840		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < 0,01$)

Tabela A.IV.4 - Análise de variância da germinação de sementes de juá revestidas de endocarpo submetidas ao armazenamento nas temperaturas de 25, -170 e -196 °C, durante cinco dias.

FV	GL	SQ	QM	F
Temperaturas de Armazenamento (F1)	2	86,33333	43,16667	2.3713 ^{ns}
Teores de Água (F2)	5	3845,16667	769,03333	42.2460 **
Interação F1xF2	10	641,00000	64,10000	3.5213 **
Tratamentos	17	4572,50000	268,97059	14.7756 **
Resíduo	54	983,00000	18,20370	
Total	71	5555,50000		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < 0,01$)

^{ns} não significativo ($p \geq 0,05$)

Tabela A.IV.5 - Análise de variância do vigor (comprimento de plântula) originadas de sementes de juá revestidas de endocarpo submetidas ao armazenamento nas temperaturas de 25, -170 e -196 °C, durante cinco dias.

FV	GL	SQ	QM	F
Temperaturas de Armazenamento (F1)	2	176,33334	88,16667	23,8269 **
Teores de Água (F2)	5	97,07719	19,41544	5,2470 **
Interação F1xF2	10	80,81761	8,08176	2,1841 *
Tratamentos	17	354,22814	20,83695	5,6311 **
Resíduo	54	199,81650	3,70031	
Total	71	554,04464		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < 0,01$)

* significativo ao nível de 5% de probabilidade ($0,01 \leq p < 0,05$)

Tabela A.IV.6 - Análise de variância do vigor (matéria seca de plântulas) originadas de sementes de juá revestidas de endocarpo submetidas ao armazenamento nas temperaturas de 25, -170 e -196 °C, durante cinco dias.

FV	GL	SQ	QM	F
Temperaturas de Armazenamento (F1)	2	0,12701	0,06351	2,0171 ^{ns}
Teores de Água (F2)	5	5,72169	1,14434	36,3474 **
Interação F1xF2	10	0,94700	0,09470	3,0079 **
Tratamentos	17	6,79570	0,39975	12,6971 **
Resíduo	54	1,70010	0,03148	
Total	71	8,49580		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < 0,01$)

^{ns} não significativo ($p \geq 0,05$)

PROTÓCOLOS DE CRIOPRESERVAÇÃO DE SEMENTES DE ROMÃ E JUÁ

APÊNDICE A.V

(Dados referentes à análise de variância: armazenamento criogênico de sementes de romã e sementes de juá revestidas de endocarpo)

Tabela A.V.1 - Análise de variância da germinação de sementes de romã submetidas ao armazenamento criogênico nas temperaturas de -170 e -196 °C, durante 0, 30, 60 e 90 dias.

FV	GL	SQ	QM	F
Períodos de Armazenamento (F1)	3	8275,00	2758,33	355,9140**
Temperaturas de Armazenamento (F2)	1	112,50	112,50	14,5161**
Interação F1xF2	3	64,50	21,50	2,7742 ^{ns}
Tratamentos	7	8452,00	1207,43	155,7972**
Resíduo	24	186,00	7,75	
Total	31	8638,00		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < 0,01$)

^{ns} não significativo ($p \geq 0,05$)

Tabela A.V.2 - Análise de variância do vigor (comprimento de plântula) originadas de sementes de romã submetidas ao armazenamento criogênico nas temperaturas de -170 e -196 °C, durante 0, 30, 60 e 90 dias.

FV	GL	SQ	QM	F
Períodos de Armazenamento (F1)	3	14,4908	4,8603	5,0621**
Temperaturas de Armazenamento (F2)	1	4,0898	4,0898	4,2861*
Interação F1xF2	3	2,8688	0,9563	1,0022 ^{ns}
Tratamentos	7	21,4494	3,0642	3,2113*
Resíduo	24	22,9009	0,9542	
Total	31	44,3503		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < 0,01$)

* significativo ao nível de 5% de probabilidade ($0,01 \leq p < 0,05$)

^{ns} não significativo ($p \geq 0,05$)

Tabela A.V.3 - Análise de variância do vigor (matéria seca) originadas de sementes romã submetidas ao armazenamento criogênico nas temperaturas de -170 e -196 °C, durante 0, 30, 60 e 90 dias.

FV	GL	SQ	QM	F
Períodos de Armazenamento (F1)	3	2,3048	0,7683	206,2523**
Temperaturas de Armazenamento (F2)	1	0,0089	0,0089	2,4013 ^{ns}
Interação F1xF2	3	0,0074	0,0025	0,6595 ^{ns}

Tratamentos	7	2,3211	0,3316	89,0195**
Resíduo	24	0,0894	0,0037	
Total	31	2,4105		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < 0,01$)

^{ns} não significativo ($p \geq 0,05$)

Tabela A.V.4 - Análise de variância da germinação de sementes de juá revestidas de endocarpo submetidas ao armazenamento criogênico nas temperaturas -170 e -196 °C, durante 0, 30, 60 e 90 dias.

FV	GL	SQ	QM	F
Períodos de Armazenamento (F1)	3	450,00	150,00	4,8913**
Temperaturas de Armazenamento (F2)	1	8,00	8,00	0,2609 ^{ns}
Interação F1xF2	3	4,00	1,33	0,0435*
Tratamentos	7	462,00	66,00	2,1522 ^{ns}
Resíduo	24	462,00	30,67	
Total	31	1198,00		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < 0,01$)

* significativo ao nível de 5% de probabilidade ($0,01 \leq p < 0,05$)

^{ns} não significativo ($p \geq 0,05$)

Tabela A.V.5 - Análise de variância do vigor (comprimento de plântula) originadas de sementes de juá revestidas de endocarpo submetidas ao armazenamento criogênico nas temperaturas de -170 e -196 °C, durante 0, 30, 60 e 90 dias.

FV	GL	SQ	QM	F
Períodos de Armazenamento (F1)	3	12,3978	4,1326	1,1717 ^{ns}
Temperaturas de Armazenamento (F2)	1	2,9282	2,9282	0,8302 ^{ns}
Interação F1xF2	3	12,9613	4,3204	1,2249 ^{ns}
Tratamentos	7	28,2873	4,0411	1,1457 ^{ns}
Resíduo	24	84,6494	3,5271	
Total	31	112,9368		

^{ns} não significativo ($p \geq 0,05$)

Tabela A.V.6 - Análise de variância do vigor (matéria seca) originadas de sementes de juá revestidas de endocarpo submetidas ao armazenamento criogênico nas temperaturas de -170 e -196 °C, durante 0, 30, 60 e 90 dias.

FV	GL	SQ	QM	F
Períodos de Armazenamento (F1)	3	0,8317	0,2772	5,1338**
Temperaturas de Armazenamento (F2)	1	0,0359	0,0359	0,6665 ^{ns}
Interação F1xF2	3	0,0088	0,0029	0,0546*
Tratamentos	7	0,8765	0,1252	2,3188 ^{ns}
Resíduo	24	1,2960	0,0540	
Total	31	2,1725		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < 0,01$)

* significativo ao nível de 5% de probabilidade ($0,01 \leq p < 0,05$)

^{ns} não significativo ($p \geq 0,05$)