ISSN 1517-2228



Dezembro, 1999

Número 12

ASPECTOS BIOQUÍMICOS E MOBILIZAÇÃO DE RESERVAS NA EMERGÊNCIA DE SEMENTES DE CUPUAÇUZEIRO



REPÚBLICA FEDERATIVA DO BRASIL

Presidente

Fernando Henrique Cardoso

MINISTÈRIO DA AGRICULTURA E DO ABASTECIMENTO

Ministro

Marcus Vinicius Pratini de Moraes

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA

Presidente

Alberto Duque Portugal

Diretores

Dante Daniel Giacomellí Scolari Elza Àngela Battaggia Brito da Cunha José Roberto Rodrigues Peres

Chefia da Embrapa Amazônia Oriental

Emanuel Adilson Souza Serrão - Chefe Geral Jorge Alberto Gazel Yared - Chefe Adjunto de Pesquisa e Desenvolvimento Antonio Carlos Paula Neves da Rocha - Chefe Adjunto de Comunicação, Negócios e Apoio Antonio Ronaldo Teixeira Jatene - Chefe Adjunto de Administração

Dezembro, 1999

ASPECTOS BIOQUÍMICOS E MOBILIZAÇÃO DE RESERVAS NA EMERGÊNCIA DE SEMENTES DE CUPUAÇUZEIRO

Francisco José Câmara Figueirêdo Cláudio José Reis de Carvalho Olinto Gomes da Rocha Neto



Exemplares desta publicação podem ser solicitados à:

Embrapa Amazônia Oriental Trav. Dr. Enéas Pinheiro, s/e

Telefones: (91) 276-6653, 276-6333

Fax: (91) 276-9845

e-mail: cpatu@cpatu.embrapa.br

Caixa Postal, 46

66095-100 - Belém, PA

Tiragem: 200 exemplares

Comité de Publicações

Leopoldo Brito Teixeira - Presidente

Antonio de Brito Silva

Antonio Pedro da S. Souza Filho Excedito Ubiraiara Paixoto Galvão Joaquim Ivanir Gomes

Maria do Socorro Padilha de Oliveira

Maria de N. M. dos Santos - Secretária Executiva

Revisores Técnicos

Joaquim de Carvalho Bayma - UFPa

Sérgio de Mello Alves - Embrapa Amazônia Oriental

Waterloo Napoleão de Lima - UFPa

Expediente

Coordenação Editorial: Leopoldo Brito Teixeira Normalização: Isanira Coutinho Vaz Pereira

Revisão Gramatical: Maria de Nazaré Magalhães dos Santos

Moacyr Bernardino Dias Filho (texto em Inglês)

Composição: Euclides Pereira dos Santos Filho

FIGUEIRÊDO, F.J.C.; CARVALHO, C.J.R. de; ROCHA NETO, O.G. da. Aspectos bioquímicos e mobilização de reservas na emergência de sementes de cupuaçuzeiro. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 1999. 39p. (Embrapa Amazônia Oriental, Boletim de Pesquisa, 12).

ISSN 1517-2228

- Cupuaçu.
 Germinação da semente.
 Bioquímica vegetal.
- 4. Condição ambiental. I. Carvalho, C.J.R., colab. II. Rocha Neto, O.G. da, colab. II. Embrapa. Centro de Pesquisa Agroflorestal da Amazônia Oriental (Belém, PA). IV. Título. V. Série.

CDD: 634.65

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	ε
MATERIAIS E MÉTODOS	10
RESULTADOS E DISCUSSÃO	15
CONCLUSÕES	31
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	32

ASPECTOS BIOQUÍMICOS E MOBILIZAÇÃO DE RESERVAS NA EMERGÊNCIA DE SEMENTES DE CUPUAÇUZEIRO

Francisco José Câmara Figueirēdo¹ Cláudio José Reis de Carvalho² Olinto Gomes da Rocha Neto¹

RESUMO: O cupuacuzeiro (Theobroma grandiflorum (Willd. ex. Spreng.) Schum.), espécie frutífera arbórea nativa do Pará, pertencente à família Sterculiaceae, pode ser encontrado em estado silvestre nas florestas tropicais úmidas de terra firme, na pré-amazônia maranhense e, espontaneamente ou cultivada, em toda a Amazônia brasileira, Venezuela, Equador, Costa Rica e Colômbia. O objetivo deste trabalho foi o de estudar os aspectos da mobilização de reservas (lipídios, carboidratos, proteínas e aminoácidos) na emergência de sementes de cupuacuzeiro, submetidas a condições adversas de temperatura e umidade relativa do ar, representadas pelas exposições a 16 ± 2 °C e 65 ± 2 % UR e 21 ± 2 °C e 45 ± 2 % UR. Os tratamentos estressantes causaram danos às sementes e a mobilização de reservas, foi influenciada negativamente a partir do início da emergência.

Termos para indexação: *Theobroma grandiflorum*, temperatura, umidade relativa, lipídios, ácidos graxos, amido, açúcares solúveis totais e redutores, proteínas, albumina, globulina, glutelina, aminoácidos.

¹Eng.-Agr., Doutor, Pesquisador da Embrapa Amazônia Oriental, Caixa Postal, 48, CEP 68017-970, Belém, PA, e-mail: fjcf@cpatu.embrapa.br e olinto@cpatu.embrapa.br

²Eng.-Agr., D.Sc., Pesquisador da Embrapa Amazônia Oriental, e-mail: carvalho@opatu.embrapa.br

BIOCHEMICAL ASPECTS AND RESERVE MOBILIZATION IN THE EMERGENCE OF *Theobroma* grandiflorum (Willd. ex. Spreng. Schum) SEEDS

ABSTRACT: *Theobroma grandiflorum* (Willd. ex. Spreng. Schum.), is a fruit tree species native to the State of Pará, Brazil, and member of the *Sterculiaceae*. It is found naturally, in the upland humid tropical forests, in the Amazon region of the State of Maranhão, and spontaneously or cultivated, in all the Brazilian Amazon, in Venezuela, Ecuador, Costa Rica and Colombia. The aim of this work was to study the aspects of reserves mobilization (lipids, carbohydrates, proteins and amino acids) in the emergence of seeds, subjeted to adverse conditions of temperature and relative humidity of 16 ± 2 °C and 65 ± 2 %, and 21 ± 2 °C and 45 ± 2 %. The treatments were harmful to the seeds, reducing emergence and reserve mobilization which were negatively influenced since the beginning of emergence.

Index terms: Temperature effects and relative humidity, lipid, fatty acid, starch, total soluble sugars and reducers, proteins, albumin, globulin, glutelin, amino acids.

INTRODUÇÃO

O cupuaçuzeiro (*Theobroma grandiflorum* [Wild. ex. Spreng.] Schum.) pertence à família *Sterculiaceae* e constitui-se numa das principais opções agrícolas para o desenvolvimento socioeconômico da região amazônica (Calzavara et al. 1984; Mota, 1990).

Segundo Villachica et al. (1996), o cupuaçuzeiro é uma planta que tem como habitat natural os bosques tropicais úmidos das terras altas não-inundáveis e pode alcançar a altura de 18 metros. Para Calzavara et al. (1984), as plantas dessa espécie podem atingir o porte de 6 m a 10 m quando cultivadas e de 15 m a 20 m quando encontradas espontaneamente em mata ou capoeira, principalmente quando localizadas em áreas de castanhais nativos.

As sementes do cupuaçuzeiro têm comportamento recalcitrante, pois perdem rapidamente a germinação quando expostas a condições ambientais com baixas temperatura e umidade relativa do ar (Villachica et al. 1996). Segundo esse autor, quando semeadas imediatamente após a maturação dos frutos, a emergência ocorre a partir 13º dia e, normalmente, se prolonga até o 25º dia após a semeadura, com percentual em torno de 90 %.

Segundo Borges & Rena (1993), quando da formação das sementes, os principais sítios de armazenamento de amido são os cotilédones e o endosperma. A degradação desse polissacarídio, que é armazenado na forma de grânulos, pode ter início a partir da ação das enzimas fosforilase e α e β -amilases, mas nos primeiros momentos não há consumo de ATP, uma vez que o fósforo é incorporado diretamente ao amido.

Nas sementes, o amido, principal forma de armazenamento de carboidratos, cuja quantidade é variável entre as diferentes espécies, ocorre nas formas de amilose e amilopectina que, ao serem hidrolisadas, são convertidas em oligossacarídeos utilizados no processo inicial de germinação (Halmer, 1985; Griffith et al. 1987a,b; Beck & Zeigler, 1989; Patrick, 1990; Farrant, 1991).

De acordo com Ventucci & Farrant (1995), ocorrem transformações na composição dos carboidratos a partir do desenvolvimento da semente e do pólen, assim como no decorrer da germinação. Os trabalhos de Castillo et al. (1990), Chen & Burris (1990), LePrince et al. (1992) e de Saranga et al. (1992) informam que, geralmente, nas sementes ou em pólens maduros, o conteúdo de monossacarídeos decresce e aumenta o de oligossacarídeos, mas que essa tendência é revertida quando da alongação do tubo polínico ou na germinação das sementes.

As substâncias de reservas de maior ocorrência na grande maioria das sementes são os carboidratos e os lipídios, mas, em algumas sementes predominam as reservas de proteínas, como nas de soja (Glycine max (L.) Marrill), com teor de 40 %, e Machaerium acutifolium, 66 % (Mayer & Poljakoff-Mayber, 1975). No caso de sementes de cupuaçuzeiro, as quantidades de gordura variaram de 50,80 % a 63,13 %; os carboidratos, de 15,90 % a 22,25 % e, as proteínas, de 11,86 % a 20,00 % (Philocreon, 1962; Chaar, 1980).

Os carboidratos são acumulados em várias partes do embrião de sementes de *Vigna quipedallis*, mas após o quarto dia de germinação as quantidades de açúcares solúveis decrescem no hipocótilo e passam a estar presentes no epicótilo, conforme refere-se Mayer & Poljakoff-Mayber (1975). Quando da germinação, os cotilédones foram as partes da semente daquela espécie que apresentaram a maior redução de peso seco e o maior ganho foi registrado pelo hipocótilo, o que evidencia o aproveitamento e a mobilização das reservas para a diferenciação das estruturas da plântula.

As sementes sempre acumulam lipídios na forma de triglicerídios e, nas oleaginosas, chegam a conter de 30 % a 40 % de seu peso. Para Borges & Rena (1993), os triglicerídios são os principais lipídios neutros saponificáveis presentes nas reservas das sementes e são formados pela esterificação de glicerol com diferentes ácidos graxos. A oxidação dos triglicerídios durante a germinação requer grande consumo energético, pois são substâncias que acumulam grandes quantidades de energia (Beevers, 1961). Essa propriedade química lhes confere a função de combustível, com vantagens significativas sobre os carboidratos, como o amido, pois a oxidação completa de um grama de triglicerídios libera uma quantidade de energia duas vezes maior que a liberada pela mesma massa de amido (Stumpf, 1980; Conn et al. 1987).

Na degradação dos lipídios, os triglicerídios, que são reservas insolúveis em água, são transformados em açúcares. A sacarose obtida é transportada para os tecidos de reservas da semente e embrião, porém a energia produzida e os esqueletos de carbono são utilizados no crescimento e na formação da planta (Borges & Rena, 1993).

As sementes contêm grande número de proteínas, como as albuminas, globulinas e glutelinas, separadas com base na solubilidade em diferentes solventes. Galleschi & Capochhi (1986) afirmam que a mobilização de reservas de proteínas durante a germinação de sementes favoreceu o crescimento das plântulas.

Segundo Rena (1987), as proteínas constituem-se na maior fonte de reservas nitrogenadas nas sementes, sendo restritas às subestruturas celulares conhecidas como corpos protéicos. Para Borges & Rena (1993), quando da germinação das sementes, ocorre o declínio do conteúdo de nitrogênio nos tecidos de reservas, com conseqüente aumento no embrião em desenvolvimento. Essa translocação do nitrogênio é acompanhada da diminuição do teor de proteínas das reservas, enquanto o nitrogênio solúvel passa a ser acumulado na forma de nitrogênio α-amino no embrião e em quantidades maiores do que no próprio tecido de reserva (Beevers, 1976).

Borges & Rena (1993) sugerem ainda que durante a germinação, as proteínas de reservas sejam hidrolisadas a aminoácidos e imediatamente translocadas para o embrião. Segundo Beevers (1976) e Bewley & Black (1985), os aminoácidos acumulados no embrião podem ser utilizados para a produção de novos aminoácidos e de novas proteínas, ou ainda para fornecer energia e esqueletos carbonados por meio da via respiratória.

As sementes, no decorrer do ciclo de vida das plantas, armazenam grandes quantidades de diversos tipos de proteínas que, segundo Farrant (1991), pouco variam entre

as espécies vegetais. De acordo com Brown et al. (1982) e Higgins (1984), os principais blocos construtivos das proteínas encontrados na composição das sementes são os aminoácidos asparagina, glutamina, arganina e prolina. Essas proteínas são acumuladas em discretas organelas vacuolar, que variam com o tipo de semente quanto à formação e ao modo de incorporação. Quando da hidrólise dessas proteínas, ocorrem a liberação de aminoácidos e de reservas de nitrogênio importante à germinação das sementes.

O objetivo deste trabalho foi o de estudar alguns aspectos bioquímicos da mobilização de reservas na emergência de sementes de cupuaçuzeiro, submetidas a condições adversas de temperatura e umidade relativa do ar.

MATERIAIS E MÉTODOS

As sementes de cupuaçuzeiro foram obtidas de frutos coletados na área de fruteiras tropicais da Embrapa Amazônia Oriental, em Belém, Estado do Pará. Após o beneficiamento, as sementes foram submetidas à seleção manual, tendo sido eliminadas as consideradas de tamanho pequeno, as murchas e as com danos mecânicos decorrentes do despolpamento.

Os tratamentos experimentais, estabelecidos a partir de resultados preliminares, após as sementes terem sido expostas às condições adversas de temperatura e umidade relativa do ar, foram os seguintes : T1) sementes despolpadas manualmente (controle 1); T2) sementes despolpadas mecanicamente (controle 2); T3) sementes despolpadas mecanicamente e conservadas por 48 horas, em câmara refrigerada (CF) a 16 ± 2 °C e 65 ± 2 % UR); T4) idem, por 72 horas; T5) idem, por 240 horas; T6) idem, por 480 horas; T7) sementes despolpadas mecanicamente e conservadas por 48 horas, em sala refrigerada (SF) a 21 ± 2 °C e 45 ± 2 % UR e T8) idem, por 72 horas.

As sementes dos tratamentos controles, antes da semeadura, e as dos demais, antes de serem submetidas às condições adversas de temperatura e umidade relativa do ar, foram tratadas com benlate mais talco inerte, na proporção volumétrica de 1:3, na dosagem de 3 g da mistura para um quilograma de sementes.

O grau médio de umidade, antes e após a aplicação dos tratamentos, foi estabelecido após a exposição das sementes por 24 horas, em estufa com circulação de ar, regulada à temperatura de 105 ± 3 °C.

Os testes de emergência foram conduzidos em sala de crescimento com luz artificial, mas sem controle de temperatura e umidade relativa do ar. O substrato de areia lavada e serragem curtida, misturadas na proporção volumétrica de 1:1, foi previamente esterilizado em estufa a 105 ± 3 °C, por 24 horas.

Os resultados de emergência foram expressos pela média de quatro repetições de 50 sementes, com base no número de plântula normal observado ao final dos testes, que tiveram a duração de 30 dias. Consideraram-se como plântulas normais aquelas que apresentavam perfeita diferenciação e desenvolvimento satisfatório de todas as suas estruturas - raiz, epicótilo e folhas primárias.

Os tratamentos foram distribuídos em delineamento completamente casualizado, com quatro repetições. A análise estatística foi realizada com o auxílio do programa ESTAT - Sistema para Análise Estatística, versão 2.0, 1997 (UNESP / FCAV - Campus de Jaboticabal, SP). Os valores em porcentagens, com vistas à homogeneização de variância, foram previamente transformados em valores do arco seno, onde $y = \arcsin\sqrt{\frac{9}{100}}$. A comparação entre as médias foi realizada pelo teste de Tukey, ao nível de 5 % de probabilidade.

Os estudos bioquímicos relacionados com a mobilização de reservas constaram de determinações de lipídios, carboidratos, proteínas e aminoácidos solúveis. Os materiais para análises constituíram-se de sementes, amostradas após o beneficiamento e depois de expostas às condições adversas de temperatura e umidade relativa do ar, e de cotilédones das plântulas aos 30 dias após a semeadura.

A matéria seca (MS), constituída de amostras compostas das diversas repetições, para as determinações de lipídios, carboidratos, proteínas e aminoácidos foi preparada com base na adaptação de procedimentos e recomendações de Lara et al. (1976), Williams (1984) e Passos (1996).

Os lipídios solúveis totais, obtidos em porcentagens, foram extraídos, com hexano a 80 °C, de 10 g de matéria seca (MS), com base nos protocolos propostos por Lara et al. (1976) e Williams (1984).

A extração de ácidos graxos livres, da amostra de 5 g de matéria seca, foi realizada com benzeno, a partir de ajustes dos procedimentos adotados por Baker (1964), Pearson (1970) e Williams (1984). A gordura retida no balão foi dissolvida em álcool etílico PA e titulada com NaOH 0,1 N na presença de solução de fenolftaleína, a 1 %. A acidez livre foi expressa em termos de ácido oléico, considerando-se o fator 0,0282 g para 1 mL de solução 0,1 N de NaOH. Os valores obtidos foram transformados em porcentagem, com base no peso da amostra de matéria seca.

As extrações de carboidratos foram realizadas com base nos procedimentos adotados por Santos (1985) e Guerrero Maradiaga (1997). Juntaram-se às 100 mg de matéria seca, 8 mL de álcool etílico, a 70 % nas duas primeiras etapas da extração, seguidas da última com 4 mL de água destilada, quando separaram-se o resíduo, contendo frações de amido, e o sobrenadante, constituído de açúcares e aminoácidos.

A dosagem de amido foi realizada a partir do roteiro adaptado do método de Yemm & Willis (1954). Antes, o resíduo obtido na extração de carboidratos foi ressuspenso com água destilada e ácido perclórico, a 35 %. A cada alíquota de 100 μL juntaram-se 900 μL de água destilada e mais 2 mL de reativo de antrona, a 0,2 % em ácido sulfúrico concentrado. Após o resfriamento sob condições de ambiente natural, por cerca de 15 minutos, procederam-se as leituras das duas repetições, em espectrofotômetro (CELM, modelo E-205-D) a 620 nm. Os resultados finais foram expressos em g.kg¹ MS e o padrão foi feito a partir de solução de glucose, em doses de 0,1 μg. mL¹ a 0,8 μg. mL¹ da amostra, sendo o branco constituído de 2,0 mL de água destilada, 2,5 mL de *Ba(OH)*₂ e 2,5 mL de *ZnSO*₄.

As dosagens de açúcares solúveis totais, a partir do sobrenadante obtido na separação de carboidratos e exposto ao banho-maria, a 70 °C, foram feitas após a diluição do resíduo obtido com 5 mL de água destilada, 2,5 mL de hidróxido de bário 0,3 N e 2,5 mL de sulfato de zinco 5 %. A dosagem também foi realizada a partir de adaptações do método proposto por Yemm & Willis (1954).

As dosagens de açúcares redutores foram realizadas a partir de adaptações do método de Somogyi-Nelson (Nelson, 1944). À solução obtida foi adicionado 1 mL do reagente de Nelson, em seguida incubada em banho-maria em ebulição, por 20 minutos. À solução resfriada foi adicionado 1 mL do reagente arseno-molibdico e, em seguida, submetida à leitura espectrofotométrica, a 540 nm. O padrão foi feito com solução de glucose, com alíquotas 0,1 µg.mL¹ a 1,0 µg.mL¹ e o branco foi constituído da mistura de 1,0 mL do reagente de Nelson, 1,0 mL do reagente arseno-molibdico e 2,0 mL de água destilada. Os resultados obtidos foram expressos em g.kg¹ MS.

As extrações das frações de proteínas solúveis foram realizadas com base em adaptações do método de Osborne, modificado por Sodek (1973). O resíduo obtido por centrifugação, a partir de 500 mg de matéria seca suspensa a vácuo em água destilada gelada (±10 °C), foi solubilizado com 10 mL de ácido tricloroacético (TCA). O sobrenadante, após ser mantido em repouso por doze horas em geladeira e centrifugado a 4 °C, por 15 minutos, a 10.000 rpm, contém frações de glutelinas e o novo resíduo obtido tratado com 5 mL de NaCl 0,5 M, para a determinação de albuminas, e 5 mL de NaOH a 0,2 %, para globulinas.

As dosagens de frações de proteínas foram conduzidas de acordo com o protocolo adaptado do método de Goa (1953). Aos resíduos foram adicionados 5 mL de NaOH, a 3 %, e das soluções assim obtidas foram tomadas alíquotas para as dosagens de albuminas, globulinas e glutelinas. A essas soluções foram adicionados 2,0 mL de NaOH a 6,0 % e 0,2 mL de reativo microbiureto de Goa. Após o período de repouso de 15 minutos, foram efetuadas as leituras espectrofotométricas, a 540 nm e os resultados finais de albuminas, globulinas e glutelinas expressos em g.kg⁻¹ MS. O padrão foi preparado com solução de BSA (soro-albumina-bovina), a partir de doses, 1,0 mg.mL⁻¹ a 5,0 mg.mL⁻¹, aos quais foram adicionados 2,0 mL de NaOH 6 % e 0,2 mL de microbiureto de Goa.

As determinações de aminoácidos solúveis totais foram realizadas com base no protocolo adaptado do método proposto por Yemm & Cocking (1955). Às soluções obtidas, a partir de matéria seca solubilizada com água destilada e centrifugada, adicionaram-se 0,5 mL de tampão citrato 0,2M, 0,2 mL de ninhidrina, a 5 %, em metilcelossolve, e mais 1,0 mL de cianeto de potássio 0,01 M também preparado em metilcelossolve. As soluções homogeneizadas foram expostas por 20 minutos, em banho-maria em ebulição, e em seguida resfriadas à temperatura ambiente. Posteriormente foi adicionado 1,0 mL de etanol, a 60 % e, logo em seguida, foram submetidas a leituras em espectrofotômetro, a 570 nm. Os resultados, expressos em µmol.mL⁻¹, foram transformados em g.kg⁻¹ MS, sendo o padrão preparado com solução de gli-

cina na concentração de 0,1 µmol.mL¹. Os pontos da curva padrão foram estabelecidos com base nas doses 0,02 µmol.mL¹ a 0,10 µmol.mL¹ e ao branco foram adicionados 0,5 mL da solução tampão, 0,2 mL de ninhidrina, 1,0 mL de KCN e 1,0 mL de etanol, a 60 %.

Os resultados obtidos foram submetidos à análise estatística descritiva, com informações sobre o desvio padrão da média e coeficiente de variação.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados de grau de umidade, antes das sementes de cupuaçuzeiro terem sido submetidas às condições adversas de temperatura e umidade relativa do ar, variaram de 49,5 % a 55,4 %, com média de 52,4 %, e o erro padrão da média situou-se a partir dos extremos de 0,20 a 0,81.

As sementes de cupuaçuzeiro, ao serem submetidas a condições adversas de temperatura e umidade relativa do ar, apresentaram variados níveis de reduções do conteúdo de água e, as maiores perdas, foram observadas em T5 (49,5 %) e T6 (66,1 %). Os tratamentos que causaram as menores perdas de água foram os T3 (10,6 %) e T7 (7,9 %), sendo a redução média de 27,9 %. O erro padrão da média variou, a partir dos extremos, de 0,03 a 1,03.

Com base na análise estatística dos dados de porcentagem de emergência, pode-se observar que houve diferença altamente significativa entre os tratamentos. O coeficiente de variação da média, o desvio padrão e a diferença média significativa foram de 5,4 %, 2,4 % e 5,7, respectivamente.

A Fig. 1 ilustra a tendência do comportamento de emergência das sementes de cupuaçuzeiro, em função das alterações do grau de umidade provocadas pelos tratamentos testados.

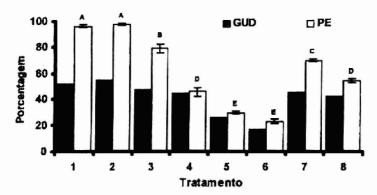


FIG. 1. Percentagens médias (n = 4) de emergência (PE)* e de grau de umidade de sementes de cupuaçuzeiro, após terem sido submetidas a condições adversas de temperatura e umidade relativa do ar, e representação gráfica (I) do desvio padrão da média.

*Colunas de PE com letras diversas foram diferentes estatisticamente entre si, Tukey 5 %.

Os tratamentos T1 e T2 foram estatisticamente superiores aos demais, com porcentagens de emergência acima de 95 %. As comparações de médias revelaram que os T3 e T7 foram significativamente diferentes entre si, mas ambos sendo superiores aos tratamentos T8, T4, T5 e T6. Estes dois últimos apresentaram os mais baixos porcentuais de emergência e foram estatisticamente iguais, porém diferiram dos T4 e T8.

Observou-se que as semente dos tratamentos T5 e T6 sofreram reduções acentuadas no conteúdo de água que, aparentemente, teve reflexo negativo sobre a emergência.

As porcentagens de emergência observadas nos tratamentos T1 (97 %) e T2 (98 %) estão de acordo com os resultados obtidos por Müller & Figueirêdo (1990), quando estudaram a emergência e o vigor em função do tamanho das

sementes; Venturieri et al. (1993), ao testar o efeito da presença e ausência de luz na germinação; e Garcia (1994) que verificou a influência da temperatura na germinação e vigor de plântulas de cupuaçuzeiro. Esses resultados indicam que as sementes dessa espécie apresentam boa viabilidade quando não são submetidas a condições que concorram para a perda de água. Os resultados alcançados foram concordantes com os de sementes de outras espécies tropicais, como a mangueira (Mangifera indica L.) e a pupunheira (Bactrix gasipaes Kunth), obtidos por Corbineau & Côme (1988) e Ferreira & Santos (1993), respectivamente.

As sementes que apresentam restrições à desidratação, como as de cupuaçuzeiro, quase sempre são tidas como de curta longevidade. Andrade et al. (1996) consideraram, entre essas, as sementes de seringueira (*Hevea* spp.), cacaueiro (*Theobroma cacau* L.) e mangueira, como espécies que não podem ser desidratadas abaixo de graus de umidade relativamente elevados, entre 12 % e 30 %, pois, quando tal fato acontece, a redução da viabilidade é imediata devido à ocorrência de danos subcelulares.

Ao compararem-se os resultados de porcentagem de emergência e o grau de umidade (Fig. 1), observou-se que a viabilidade das sementes de cupuaçuzeiro foi sensivelmente afetada pela redução do conteúdo de água. Verificou-se que as maiores reduções do grau de umidade equivaleram às maiores perdas de emergência.

Os valores de lipídios solúveis totais, expressos em porcentagem de matéria seca, estão representados na Fig. 2. Os coeficientes de variação foram de 2,06 % (AAT), 3,77 % (DAT) e 11,50 % (CLT).

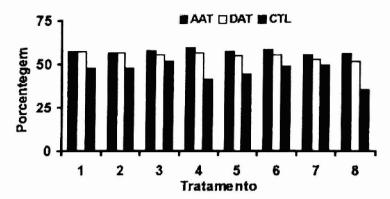


FIG. 2. Porcentagens de lipídios solúveis totais, antes (AAT) e depois (DAT) das sementes de cupuaçuzeiro terem sido submetidas às condições adversas de temperatura e umidade relativa do ar e de cotilédones (CTL) aos 30 dias após a semeadura.

O teor médio de lipídios solúveis totais nas sementes de cupuaçuzeiro cresceu entre as amostragens realizadas antes (AAT) e depois (DAT) da aplicação dos tratamentos, $55,13\pm2,08$ % e $57,33\pm1,18$ %, respectivamente. Nos cotilédones (CLT), aos 30 dias após a semeadura, o teor de lipídios foi de $45,91\pm5,28$ %.

Os teores de lipídios solúveis totais, obtidos de sementes de cupuaçuzeiro nos tratamentos controles, superiores a 55 %, foram compatíveis com os mencionados por Venturieri (1993). Por outro lado, a aplicação dos tratamentos provocou reduções no teor de lipídios que alcançou a taxa média de 8,3 %, tendo sido mais drástica no tratamento T6 (18,8 %). A partir da semeadura, as sementes vão perdendo as reservas de lipídios que são aproveitadas no processo de desenvolvimento da nova planta e, nos cotilédones, aos 30 dias após a semeadura, foram observadas reduções que variaram de 10,7 % (T5) a 36,9 % (T6).

Com base na biossíntese dos lipídios descrita por Ting (1982), pode-se pressupor que parte do conteúdo desses lipídios foi transformada em ácidos graxos para formar acetato, que ao final do processo resultará em sacarose.

Pode-se verificar que a redução do conteúdo de lipídios nos cotilédones de cupuaçuzeiro foi progressiva e, ao final de 30 dias após a semeadura, correspondia, em média, a 87,9 % do total médio dos tratamentos controles. Essa mobilização gluconeogênica é comum no decorrer do processo germinativo das sementes, como foi observado por Elamrani et al. (1994) que, ao estudarem a germinação de beterraba (Beta vulgaris L.), verificaram que essa transformação teve início no segundo dia após a semeadura e, no oitavo dia, o conteúdo de lipídios remanescente era de apenas 15 %.

Na Fig. 3 estão expressos, em porcentagem de matéria seca, os valores de ácidos graxos livres totais observados para cada tratamento experimental.

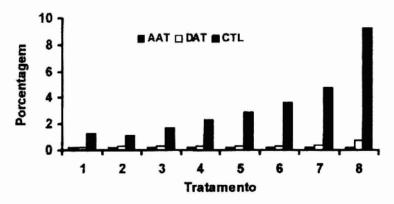


FIG. 3. Porcentagens de ácidos graxos livres, antes (AAT) e depois (DAT) das sementes de cupuaçuzeiro terem sido submetidas às condições adversas de temperatura e umidade relativa do ar, e de cotilédones (CTL), aos 30 dias após a semeadura.

A partir dos resultados da análise estatística descritiva de dados de teores de ácidos graxos livres, verificouse que os coeficientes de variação oscilaram de 9,55 % (AAT) a 79,02 % (CTL) e, na amostragem DAT, a variação foi de 49,99 %. Esses resultados são indicativos de que os tratamentos aplicados tiveram efeitos variáveis na mobilização ou aproveitamento das ácidos graxos.

O teor de ácidos graxos livres aumentou da amostragem de sementes AAT $(0.22\pm0.02~\%)$ para a DAT $(0.35\pm0.18~\%)$, e nos cotilédones que ainda persistem nas plântulas, aos 30 dias após a semeadura, o teor aumentara para $3.39\pm0.68\%$ de ácidos graxos livres.

As quantidades médias de ácidos graxos livres nas sementes de cupuaçuzeiro, antes (0,22 %) e depois (0,35 %) da aplicação dos tratamentos, foram insignificantes, se comparadas com as de lipídios 57,33 % e 55,14 %, respectivamente. Aqueles valores representam cerca de um terço dos encontrados, em sementes de cupuaçuzeiro, por Ribeiro et al. (1992). As sementes de cacaueiro, com base nos trabalhos de Ribeiro et al. (1995) e Pina & Dias (1995), apresentam teores médios de ácidos graxos de 0,70 % e 0,84 %, respectivamente, porcentagens bem maiores do que as observadas neste estudo.

Ao serem confrontados os resultados de emergência (Fig. 1) com os de ácidos graxos livres (Fig. 3), podese inferir que o aumento do teor de ácidos graxos, como está bem caracterizado no tratamento T6, não contribuiu para o aumento da porcentagem de emergência.

Este fato pode ter sido decorrente da manifestação do processo de deterioração nas sementes deste tratamento, que pode ter decorrido pelo aumento das concentrações de ácidos graxos, conforme relata Popinigis (1977), baseado em resultados observados em sementes de espécies oleaginosas. Os resultados obtidos estão, até certo ponto, de acordo com as conclusões de Ramos & Souza (1991), que atribuem ao aumento do teor de lipídios a perda da viabilidade de sementes *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Ktze e de Vidas et al. (1992), que afirmam que a hidroperoxidação dos lipídios se constitui num dos eventos mais importantes para a perda da viabilidade é vigor de sementes de soja.

Na Fig. 4 estão representados os valores de teores médios de amido em sementes e cotilédones de plântulas. A análise estatística descritiva determinou coeficientes de variação que se situaram a partir de 3,35 % (AAT) a 17,27 (CTL).

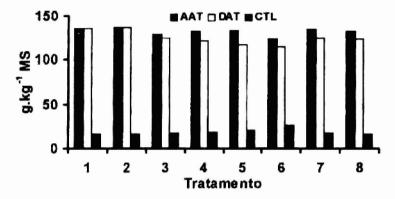


FIG. 4. Teor de amido, antes (AAT) e depois (DAT) das sementes de cupuaçuzeiro terem sido submetidas às condições adversas de temperatura e umidade relativa do ar, e de cotilédones (CTL) aos 30 dias após a semeadura.

O teor médio de amido encontrado nas sementes, antes de serem expostas aos tratamentos, foi de 132.3 ± 4.3 g.kg⁻¹ de MS, valor este que está contido a partir do intervalo de 123.6 g.kg⁻¹ (T6) a 137.2 g.kg⁻¹ (T2).

Pode-se observar que os tratamentos aplicados às sementes provocaram reduções nos teores de amido que variaram de 3,3 % (T3) a 12,8% (T5) e de 5,8 % entre as amostragens AAT e DAT. Rao & Kalpana (1994) observaram

que as sementes de feijão-de-porco (Cajanus cajan (L.) Millsp. cv. ICPL87), quando submetidas a diversos períodos de envelhecimento, tiveram as quantidades de amido do embrião reduzidas (13,8 %) e, conseqüentemente, a porcentagem de germinação.

Ao final dos testes de emergência, observou-se que as quantidades de amido, ainda constituíam-se como substâncias de reservas dos cotilédones e apresentavam porcentagens que correspondiam a apenas 12,1 % (T1) a 21,3 % (T6) quando comparada com a AAT.

A menor eficiência no aproveitamento do amido, certamente foi a responsável pela menor porcentagem de emergência (Fig. 1) ocorrida nos tratamentos T5 e T6. Esse fato indica que houve diferenças quanto ao aproveitamento do amido, entre a emergência e o desenvolvimento de plântulas de cupuaçuzeiro. As reduções gradativas verificadas são concordantes com as registradas durante a germinação de sementes de milho, Zea mays L., (Manoharan et al. 1981).

Na Fig. 5 estão representados os resultados médios de açúcares solúveis totais observados em amostras de sementes e de cotilédones de plântulas de cupuaçuzeiro. A análise estatística descritiva dos dados de açúcares solúveis totais, determinados de amostras de sementes e de cotilédones, permitiu observar que os coeficientes de variação foram de 2,66 % (AAT), 4,01 % (DAT) e 3,61 % (CTL).

As quantidades médias de açúcares solúveis totais presentes nas sementes da amostragem controle (AAT) foi de $81,5\pm2,2~{\rm g.kg^{-1}}$ e de $84,53\pm3,4~{\rm g.kg^{-1}}$ após terem sido expostas aos tratamentos (DAT). Estes valores ficaram situados entre os extremos de $78,9~{\rm g.kg^{-1}}$ (T1) e $84,9~{\rm g.kg^{-1}}$ (T7). Os tratamentos aplicados às sementes foram responsáveis por incrementos nas reservas de açúcares solúveis totais que variaram de 2,4~% (T7) a 9,6% (T6).

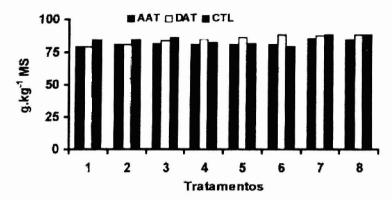


FIG. 5. Teor de açúcares solúveis totais, antes (AAT) e depois (DAT) das sementes de cupuaçuzeiro terem sido submetidas às condições adversas de temperatura e umidade relativa do ar, e de cotilédones (CTL) aos 30 dias após a semeadura.

Ao contrário do que ocorreu com as reservas de amido em sementes de cupuaçuzeiro, o teor médio de açúcares solúveis totais (81,51 g.kg⁻¹, AAT) aumentou em cerca de 3,7 % os submetidos à aplicação dos tratamentos (DAT). Para tanto, deve ter contribuído a oxidação dos ácidos graxos e a degradação do amido, como ocorreu com as sementes de araucária durante o armazenamento (Ramos & Souza, 1991). Essa tendência de aumento no teor de açúcares solúveis totais, também foi observada no endosperma de genótipos homozigotos de milho doce, quando Douglass et al. (1993) estudaram as variações de reservas de carboidratos; e na avaliação de sementes de cultivares de feijão-de-porco após dois dias de exposição a tratamentos de envelhecimento precoce (Rao & Kalpana, 1994).

Os valores médios observados neste experimento estão bem acima dos obtidos por Ribeiro et al. (1992), que referem-se às quantidades de açúcares solúveis totais que variaram de 1,1 a 4,2 mg.100 g⁻¹ de matéria seca. No entanto, têm certa coerência com a média dos valores registrados

para sementes de genótipos de cacaueiro, que variaram, em relação ao total de peso seco da amostra, de 8,04 % a 13,25 % (Pereira et al. 1994), mas foram inferiores aos obtidos por Berbert (1979), que oscilou de 14,25 % a 14,78 %.

Na amostragem de cotilédones (CTL), à exceção dos tratamentos T4 (81,9 g.kg⁻¹), T5 (81,3 g.kg⁻¹) e T6 (79,4 g.kg⁻¹), que continuavam acumulando as maiores quantidades de açúcares solúveis totais como substâncias de reservas, os teores destes variavam de 0,2 % (T8) a 6,7 % (T1). As elevadas quantidades de açúcares solúveis totais, sob a forma de reservas, observadas nos tratamentos T4, T5 e T6 podem justificar, também, as baixas porcentagens de emergências registradas (Tabela 1).

Os resultados de açúcares solúveis redutores estão representados na Fig. 6. Os coeficientes de variação e o desvio padrão da média foram de 13,36 % e 0,43; de 31,00 % e 1,26; e de 11,41 % e 4,78, para as amostragens AAT, DAT e CTL, respectivamente.

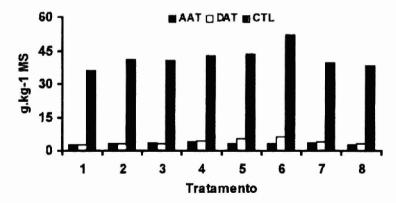


FIG. 6. Teor de açúcares redutores, antes (AAT) e depois (DAT) das sementes de cupuaçuzeiro terem sido submetidas às condições adversas de temperatura e umidade relativa do ar, e de cotilédones (CTL) aos 30 dias após a semeadura.

As quantidades de açúcares redutores variou de 2,70 g.kg⁻¹ (T1) a 3,94 g.kg⁻¹ (T4) na amostragem controle (AAT), e, após as sementes terem sido expostas aos tratamentos aplicados, os valores extremos foram de 3,19 g.kg⁻¹ (T3 e T8) e 6,22 g.kg⁻¹ (T6). Pode-se perceber que as condições de temperatura e umidade relativa do ar, impostas às sementes, provocaram aumentos nas reservas desses açúcares, que variaram de 9,4 % (T7) a 101,9% (T6).

Os teores de açúcares redutores nas sementes de cupuaçuzeiro, logo após o despolpamento (AAT), foram relativamente baixos, com ligeiros aumentos nos tecidos de reservas, a partir da aplicação dos tratamentos (DAT), e acentuadamente nos cotilédones, até 30 dias após a semeadura. Rao & Kalpana (1994) também observaram que os teores de açúcares redutores aumentaram em até seis vezes, quando sementes de feijão-de-porco, cultivar ICPL87, foram submetidas ao envelhecimento precoce.

As sementes e cotilédones, em termos médios, acumularam reservas de açúcares redutores de 22,0 \pm 3,5 g.kg⁻¹, que variaram de 3,2 \pm 0,43 g.kg⁻¹ (AAT) a 41,9 \pm 4,8 g.kg⁻¹ (CTL).

Ao final dos testes de emergência, os cotilédones acumulavam, como substâncias de reservas, quantidades de açúcares redutores que variaram de $36,28\pm4,8~\mathrm{g.kg^{-1}}$ (T1) a $52,19\pm4,8~\mathrm{g.kg^{-1}}$ (T6).

Em termos de sementes, o total médio de carboidratos foi de 216,97 g.kg¹ de MS. Esse resultado está contido entre os extremos obtidos por Chaar (1980) e Philocreon (1962), que variaram de 155,0 g.kg¹ a 242,5 g.kg¹, respectivamente.

Os valores extremos de coeficientes de variação foram de 5,95 % a 13,43 %, de 6,32 % a 6,93 % e 2,06 % a 25,08 %, para frações de albuminas, globulinas e glutelinas, para as amostras AAT e CTL, respectivamente.

Nas Figs. 7, 8 e 9 estão representados os valores médios de frações de proteínas dos grupos da albuminas, globulinas e glutelinas, obtidos de sementes amostradas antes (AAT) e depois (DAT) da aplicação dos tratamentos, e dos cotilédones (CTL) aos 30 dias após a semeadura.

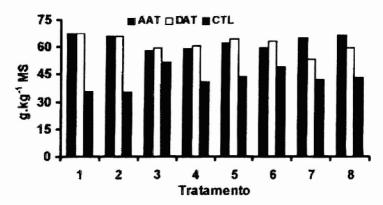


FIG. 7. Teor de proteínas do grupo das albuminas, antes (AAT) e depois (DAT) das sementes de cupuaçuzeiro terem sido submetidas às condições adversas de temperatura e umidade relativa do ar, e de cotilédones (CTL) aos 30 dias após a semeadura.

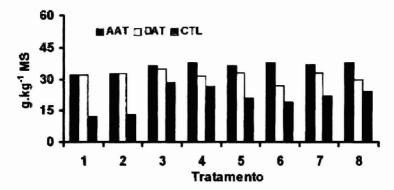


FIG. 8. Teor de proteínas do grupo das globulinas, antes (AAT) e depois (DAT) das sementes de cupuaçuzeiro terem sido submetidas às condições adversas de temperatura e umidade relativa do ar, e de cotilédones (CTL) aos 30 dias após a semeadura.

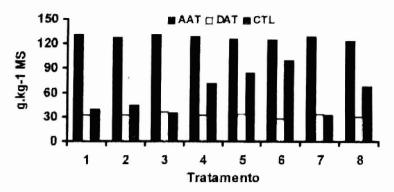


FIG. 9. Teor de proteínas do grupo das glutelinas, antes (AAT) e depois (DAT) das sementes de cupuaçuzeiro terem sido submetidas às condições adversas de temperatura e umidade relativa do ar, e de cotilédones (CTL) aos 30 dias após a semeadura.

Com base nos resultados, deduziu-se que, à exceção dos tratamentos T7 e T8, as quantidades de albuminas nas sementes foram sempre maiores na amostragem DAT. Quanto às globulinas e glutelinas, foram registradas, em todos os tratamentos, reduções nas quantidades que variaram de 3,5 % (T3) a 37,6 % (T7) e de 9,4 % (T8) a 26,0 % (T6), respectivamente, entre a primeira e a segunda amostragem. Ao estimarem-se os totais dessas frações de proteínas, também verificou-se que ocorreram reduções, entre a amostragem AAT e a DAT, de 6,7 % (T3) a 20,1 % (T7).

De acordo com esses resultados, pode-se deduzir que os tratamentos aplicados às sementes de cupuaçuzeiro provocaram variáveis níveis de degradação nas frações de proteínas, como pode ser constatado nas amostragens AAT e DAT, que alcançaram a taxa máxima de 12,0 % nas glutelinas. Pettipher (1990), ao estudar a extração e purificação de proteínas armazenadas em cacaueiro, observou que essas diminuíram quando da germinação ou fermentação das sementes, devido à degradação que ocorreu nas reservas cotiledonárias.

As frações de proteínas nas amostras podem apresentar resultados variáveis de acordo com a espécie em estudo. Desse modo, Sodek (1973) varificou que as glutelinas podem representar até 37,2 % do total de proteínas na cultivar de milho R802 Opaque-2. Por outro lado, Das & Mukherjee (1995), quando estudaram comparativamente as quantidades de proteínas em espécies do gênero *Ipomoea*, observaram que os totais de proteínas equivalem, em média, a 262,8 g.kg⁻¹, dos quais 90 % a 95 % foram representadas pelas globulinas.

Ainda com base nos resultados obtidos, pode-se inferir, também, que o total de frações de proteínas representou cerca de 22,7 % das reservas das sementes e que, somente as glutelinas, equivaleram a 56,3 % deste total. Esses resultados estão de acordo com Mayer & Poljakoff-Mayber (1975), que afirmam que as glutelinas, em algumas espécies de sementes, podem representar até 50 % do total da proteínas.

A somatória das frações de proteínas, 226,26 g.kg⁻¹ ou 22,3 % da matéria seca (Fig. 10), observada a partir de amostras de sementes de cupuaçuzeiro, está, até certo ponto, discordante do resultado de 11,9 % obtido por Philocreon (1962), mas guarda certa coerência com os 20,0 % alcançados por Chaar (1980) e Ribeiro et al. (1992), que obtiveram cerca de 24,2 % do total da matéria seca.

Essas variações podem ser decorrentes das diferenças de métodos de análise, das características físicoquímicas dos locais de cultivo e tipos genéticos. Portela
(1982), quando estudou sementes de 33 cultivares de soja,
procedentes de diferentes municípios produtores de Minas
Gerais, São Paulo, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do
Sul, encontrou teores de proteínas que variaram de 36,79 %
a 55,35 % do total de peso seco. O mesmo ocorreu no estudo de Maia et al. (1994), que observaram variações de
16,24 % a 21,90 % nos teores de proteínas em sementes de
cultivares de girassol (Helianthus annus L.).

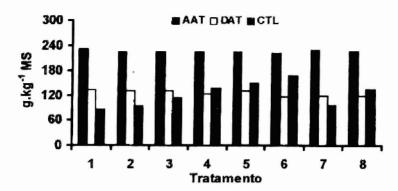


FIG. 10. Somatória de frações de proteínas, antes (AAT) e depois (DAT) das sementes de cupuaçuzeiro terem sido submetidas às condições adversas de temperatura e umidade relativa do ar, e de cotilédones (CTL) aos 30 dias após a semeadura.

Os tratamentos menos eficientes no aproveitamento dessas proteínas foram os T5 e T6, para tanto deve ter contribuído a desnaturação protéica que provocou a redução na porcentagem final da emergência. Dell'Aquila & Spada (1994) observaram que as temperaturas de 35 °C e 45 °C provocaram drásticas reduções na germinação de sementes de *Triticum durum* Desf. (espécie de adaptação de clima temperado), o mesmo deve ter ocorrido com as sementes de cupuaçuzeiro (espécie tropical) quando expostas a temperaturas mais baixas do que as de seu habitat natural.

Na Fig. 11 estão representados os dados de aminoácidos solúveis totais nas amostras de sementes (AAT e DAT) e de cotilédones (CTL), referentes aos diversos tratamentos aplicados. Os coeficientes de variação foram de 1,80 % (AAT), 4,06 % (DAT) e 3,16 % (CTL).

Os resultados médios de aminoácidos solúveis totais permitiram deduzir que, a partir o estádio de sementes, as quantidades de reservas nos cotilédones (CTL) aumentaram, em média, 174,3 %.

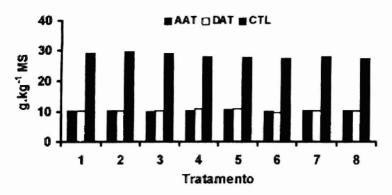


FIG. 11. Teores de aminoácidos solúveis totais, antes (AAT) e depois (DAT) das sementes de cupuaçuzeiro terem sido submetidas às condições adversas de temperatura e umidade relativa do ar, e de cotilédones (CTL) aos 30 dias após a semeadura.

De acordo com a Fig. 11, deduz-se que a disponibilidade de aminoácidos aumentou ligeiramente nas sementes após a aplicação dos tratamentos. Por outro lado, aumentos expressivos foram observados nos cotilédones na amostragem realizada ao final dos testes de emergência, em relação aos conteúdos contidos nessas estruturas das sementes após a aplicação dos tratamentos (DAT), que variaram de 149,1 % (T5) a 186,3 % (T1).

A tendência dos aminoácidos, a partir da semeadura, é a de aumentar as suas quantidades de reservas, até 30 dias após a semeadura, para tanto deve concorrer a hidrólise das proteínas para formar novos aminoácidos (Rena, 1987). Mancharan et al. (1981) observaram essa mesma tendência em sementes de milho até 120 horas após o início da germinação.

O aumento do teor de aminoácidos entre as fases AAT e DAT foi pouco expressivo (Fig. 11), mas decorreu da mobilização protéica estimulada por reações bioquímicas que se processaram neste intervalo. Halder & Gupta (1980) tam-

bém observaram, em sementes de girassol, a ocorrência de trocas bioquímicas internas, que resultaram do efeito do armazenamento e provocaram aumento nos níveis de aminoácidos. Resultados semelhantes também foram obtidos por Taylor et al. (1995), que observaram aumentos nas concentrações de aminoácidos livres em sementes envelhecidas de alho-porro (Allium porrum L.), cebola (Allium cepa L.), repolho (Brassica oleracea L. grupo capitata), tomate (Lycopersicon esculentum L.) e pimentão (Capsicum annum L.), notadamente nas que perderam a viabilidade.

CONCLUSÕES

A porcentagem de emergência de sementes de cupuaçuzeiro é sensivelmente afetada pela perda de água, logo devem ser semeadas imediatamente após o beneficiamento.

A exposição por 240 e 480 horas, sob condições de temperatura de $16\pm2\,^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa do ar de 65 %, provoca danos à qualidade fisiológica das sementes e reduz a porcentagem final de emergência.

As funções bioquímicas das sementes são modificadas pelas condições adversas de temperatura e umidade relativa do ar impostas às sementes e estão diretamente associadas aos aspectos fisiológicos, haja vista que a mobilização ou migração das reservas é mais efetiva nos tratamentos com maior porcentagem de emergência.

Os menores aproveitamentos de ácidos graxos, amido e açúcares solúveis totais na produção de energia têm reflexos negativos na porcentagem de emergência das sementes quando expostas por mais tempo à temperatura de 16 ± 2 °C.

As albuminas, entre as frações de proteínas, são as de menor mobilidade e, as glutelinas, a maior fonte de reservas protéicas, são mais rapidamente aproveitadas nas reações metabólicas necessárias à emergência e desenvolvimento das plântulas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDRADE, A.C.S. de; MALAVASI, M.M.; COSTA, F.A. da. Conservação de palmiteiro (*Euterpe edulis* Mart.): efeito da temperatura de armazenamento e do grau de umidade das sementes. **Revista Brasileira de Sementes**, v.18, n.2, p.149-155, 1996.
- BAKER, D. A colorimetric method for determining free fatty acids in vegetable oils. The Journal of the American Oil Chemists' Society. v.41, p.21-22, 1964.
- BECK, E.; ZEIGLER, P. Biosynthesis and degradation of starch in higher plants. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology, v.40, p.95-117, 1989.
- BEEVERS, H. Nitrogen metabolism in plants. London: E. Arnold, 1976. 333p.
- BEEVERS, H. Respiratory metabolism in plants. Berlin: R. Peterson, 1961. 232p.
- BERBERT, P.R.F. Contribuição para o conhecimento dos açúcares componentes da amêndoa e do mel de cacau. Revista Theobroma (Brasil), v.9, p.55-61, 1979.
- BEWLEY, J.D.; BLACK, M. Physiology and biochemistry of seeds. Berlin, Spinger-Verlag, 1985, 367p.
- BORGES, E.E. de L.; RENA, A.B. Germinação de sementes. In: AGUIAR, I.B. de; PIÑA-RODRIGUES, F.C.M.; FIGLIOLIA, M.B., eds., Sementes Florestais Tropicais. Brasília: ABRATES, 1993. p.83-135.
- BROWN, J.W.S.; ERSLAND, D.R.; HALL, T.C. Molecular aspects of the storage protein synthesis during seed development. In: KHAN, A.A. ed. The Physiology and Biochemistry of Seed Development, Dormancy and Germination. Elsevier: Biomedical Press, 1982. p.3-41.

- CALZAVARA, B.B.G.; MÜLLER, C.H.; KAHWAGE, O. de N. da C. Fruticultura tropical: o cupuaçuzeiro; cultivo, beneficiamento e utilização do fruto. Belém: EMBRAPA-CPATU, 1984. 101p. (EMBRAPA-CPATU. Documentos, 32).
- CASTILLO, E.M.; deLUMEN, B.O.; REYES, P.S.; LUMEN, H.Z. Raffinose synthase and galactinol synthase in developing seeds and leaves of legumes. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v.38, p.351-355, 1990.
- CHAAR, J.M. Composição do cupuaçu (Theobroma grandiflorum Schum) e conservação do seu néctar por meios físicos e químicos. Rio de Janeiro: UFRRJ, 1980. 98p. Tese de Mestrado.
- CHEN, Y.; BURRIS, J.S. Role of carbohydrates in desiccation tolerance and membrane behavior in maturing maize seed. **Crop Science**, v.30, n.7, p.971-975, 1990.
- CONN, E.C.; STUMPF, P.K.; BRUENING, G.; DOI, R. H. Outlines of biochemistry. New York: J. Wiley, 1987. 693p.
- CORBINEAU, F.; CÔME, D. Storage of recalcitrant seeds of four tropical species. **Seed Science and Technology**, v.16, n.1, p.97-103, 1988.
- DAS, S.; MUKHERJEE, K. K. Comparative study on seed proteins of *Ipomoea*. Seed Science & Technology, v.23, p.501-509, 1995.
- DELL'AQUILA, A.; SPADA, P. Effect of low and high temperatures on protein synthesis patterns of germinating wheat embryos. Plant Physiology and Biochemistry, v.32, n.1, p.65-73, 1994.
- DOUGLASS, S.K.; JUVIK, J.A.; SPLITTSTOESSER, W. E. Sweet corn seedling emergence and variation in carbohydrate reserves. **Seed Science & Technology**, v.**21**, p.433-445, 1993.

- ELAMRANI, A.; GUADILLÈRE, J.-P.; RAYMOND, P. Carbohydrate starvation is a major determinant of the loss of greening capacity in cotyledons of dark-grown sugar beet seedlings. **Physiologia Plantarum**, v.91, p.56-64, 1994.
- FARRANT, J. M. Some aspects of the development of the homoiohydrous (recalcitrant) seeds of *Avicennia marina* (Forssk.) Vierh. Durban: University of Natal, 1991. 201p.
- FERREIRA, S.A. do N.; SANTOS, L.A. dos. Efeito da velocidade de secagem sobre a emergência e vigor de sementes de pupunha (*Bactris gasipaes* Kunth). **Acta Amazonica**, v.23, n.1, p.3-8, 1993.
- GALLESCHI, L.; CAPOCCHI, A. Mobilization of storage proteins in xHaynaldoticum sardoum seeds. I. Purification and some properties of a serine carboxy-peptidase in germinating seeds. **Physiologie Végétale**, v.24, n.6, p.719-727, 1986.
- GARCIA, L. C. Influência da temperatura na germinação de sementes e no vigor de plântulas de cupuaçuzeiro (*Theobroma grandiflorum* (Willd. ex. Speng.) Scgum.). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.29, n.7, p.1145-1150, 1994.
- GOA, J. A micro biuret method for protein determination: determination of total protein in cerebrospinal fluid. Scandinavian Journal Clinical Laboratory Investigation, v.5, p.218-22, 1953.
- GRIFFITH, S.M.; JONES, R.J.; BRENNER, M. L. In vitro sugar transport in Zea mays, L. kernels. II. Characteristics of sugar absorption and metabolism by isolated developing embryos. Plant Physiology, v.84, p.472-475, 1987b.

- GRIFFITH, S.M.; JONES, R.J.; BRENNER, M.L. In vitro sugar transport in Zea mays, L. kernels. I. Characteristics of sugar absorption and metabolism by developing maize endosperm. Plant Physiology, v.84, p.467-471, 1987a.
- GUERRERO MARADIAGA, J.B.M. Doses de boro no desenvolvimento, metabolismo e nutrição mineral de plantas jovens de cupuaçuzeiro inoculadas e não-inoculadas com Crinipellis perniciosa (Stahel) Singer em casa de vegetação. Belém: FCAP, 1997. 150p. Dissertação Mestrado.
- HALDER, S.; GUPTA, K. Effect of storage of sunflower seeds in high and low relative humidity on solute leaching and internal biochemical changes. **Seed Science & Technology**, v.8, p.317-321, 1980.
- HALMER, P. The mobilization of storage carbohydrates in germinated seeds. **Physiologie Végétale**, v.23, n.1, p.107-125, 1985.
- HIGGINS, T.J.V. Synthesis and regulation of major proteins in seeds. Annual Review of Plant Physiology, v.35, p.191-221, 1984.
- LARA, A.B.W.H., NAZÁRIO, G. ALMEIDA, M.E.W. de; PREGNO LATTO, W., coord. Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz. 2. ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 1976. v.1: métodos químicos e físicos para análise de alimentos. 377p.
- Leprince, O.; Werf, A. van der; Deltour, R.; Lambers, H. Respiratory pathways in germinating maize radicles correlated with desiccation tolerance and soluble sugars. Physiologia Plantarum, v.84, p.581-588, 1992.
- MAIA, G.A.; ARAÚJO, C.N.L. de; NUNES, R.P.; GUEDES, Z.B. de L.; MONTEIRO, J. C. S. Composição química de doze cultivares de girassol obtidas sob condições climáticas do Estado do Ceará. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.29, n.8, p.1273-1280, 1994.

- MANOHARAN, T.H.; JAYACHANDRAN, N.; KARUNAGARAN, D.; NATARAJAN, K. R. Influence of fluchloralin on the growth and metabolism of maize seedlings. The Plant Biochemical Journal, v.8, n.2, p.103-116, 1981.
- MAYER, A.M.; POLJAKOFF-MAYBER, A. The germination of seeds. 2. ed. New: York, Pergamon Press, 1975. 192p.
- MOTA, P.P.C. da. **Cultura do cupuaçuzeiro: informações básicas**. Belém: CEPLAC/CORAM/COREX, 1990. 18p. (Cadernos de Extensão Rural da Amazônia, 6).
- MÜLLER, C.H.; FIGUEIRÊDO, F.J.C. **Tamanho de sementes de cupuaçuzeiro**, *Theobroma grandiflorum*: emergência e vigor. Belém: EMBRAPA-CPATU, 1990. 19p. (EMBRAPA-CPATU. Boletim de Pesquisa, 111).
- NELSON, N.N.A. A photometric adaptation of the Somogy method for the determination of glucose. **Journal of Biological Chemistry**. v.153, p.375-380, 1944.
- PASSOS, L.P. Métodos analíticos e laboratoriais em fisiologia vegetal. Coronel Pacheco: EMBRAPA, 1996. 223p.
- PATRICK, J.W. Sieve element unloading: cellular pathway, mechanism and control. **Physiologia Plantarum**, v.78, p.298-308, 1990.
- PEARSON, D. The chemical analysis of food. 6. ed. New York Chemical Publishing Company, 1970. 604p.
- PEREIRA, M.G.; MELO, G.R.P. de; PIRES, J.L.; RIBEIRO, N. C. de A. Influência do progenitor paterno sobre caracteres físicos e químicos da semente F₁ relacionados com a qualidade do cacau. **Agrotrópica**, v.6, n.2, p.31-40, 1994.
- PETTIPHER, G.L. The extraction and partial purification of cocoa storage proteins. Café Cacao Thé, v.34, n.1, p.23-26,1990.

- PHILOCREON, N.C. Frutos comestíveis do Brasil. Anais de Farmacologia Química, v.13, n.11/12, p.92-97, 1962.
- PINA, M.G.M.; DIAS, J. C. Características físicas e químicas de amêndoas de cacaueiros híbridos da ERJOH. Ilhéus: CEPLAC, 1995. p.100-101. (CEPLAC: Informe de Pesquisa, 1992/1993).
- POPINIGIS, F. **Fisiologia da semente**. Brasília: AGIPLAN, 1977. 289p.
- PORTELA, F. Teores protéicos e lipídicos nos grãos de variedades de soja em um ensaio nacional. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.17, n.3, p.345-350, 1982.
- RAMOS, A.; SOUZA, G.B. Utilização de reservas alimentícias de sementes de araucária durante o armazenamento. Colombo: EMBRAPA-CNPF, 1991. p.21-27. (EMBRAPA-CNPF, Boletim de Pesquisa Florestal, 22/23).
- RAO, K.V.M.; KALPANA, R. Carbohydrates and the aging process in seeds of pigeonpea (*Cajanus cajan* (L.) Millsp.) cultivars. Seed Science & Technology, v.22, p.495-501, 1994.
- RENA, A.B. Síntese e metabolismo das proteínas de reservas de sementes. In: Seminário de Biotecnologia Agrícola, 5. CROCOMO, O. J.; SILVEIRA, J.A.G., ed. Piracicaba, SP. Anais. Piracicaba, CEBE TEC / FESALQ ESALQ / USP, 1987. p.203-303.
- RIBEIRO, N.C. de A.; CAZORLA, I.M.; SANTOS FILHO, L.P. dos. Características físico-químicas do cacau brasileiro. Ilhéus: CEPLAC, 1995. p.289-292. (CEPLAC. Informe de Pesquisa, 1987/1990).
- RIBEIRO, N.C. de A.; SACRAMENTO, C.K. do; BARRETO, W.G.; SANTOS FILHO, L.P. Características físicas e químicas de frutos de cupuaçuzeiro (*Theobroma grandiflorum*) no sudeste da Bahia. **Agrotrópica**, v.4, n.2, p.33-37, 1992.

- SANTOS, D.S.B. dos. *Germinação* de sementes de *Beta vulgaris* L. cv. Kawemegamono. Campinas: Universidade Estadual de *Ca*mpinas, Instituto de Biologia, 1985. 166p. Tese de Doutorado.
- SARANGA, Y.; KIM, Y.H.; JANICK, J. Changes in tolerance to partial desiccation and in metabolite content of celeray somatic embryos induced by reduced osmotic potential. **Journal of the American Society of Horticultural Science**, v.117, p.342-345, 1992.
- SODEK, L. Corn proteins. Piracicaba: ESALQ, 1973. 78p.
- STUMPF, P.K. Lipids: structure and function. In: **The** biochemistry of plants: a comprehensive treatise. CONN, E. E.; STUMPF, P.K. ed., [s.t.: s.n.], 198, 693p.
- TAYLOR, A.G.; LEE, S.S.; BERESNIEWICZ, M.M.; PAINE, D. H. Amino acid leakage from aged vegetable seeds. **Seed Science & Technology**, v.23, p.113-122, 1995.
- TING, I. P. **Plant physiology**. London: Addison-Wesley Publishing Company, 1982, 642p.
- VENTUCCI, C.W.; FARRANT, J.M. Seed development and germination. In: KIGEL, J.; GALILI, G. Acquisition and Loss of Desiccation Tolerance. New York, Marcel Dekker, 1995. p.237-271.
- VENTURIERI, G.A.; RONCHI-TELES, B.; FERRAZ, I.D.K.; LOURDE, M.; HAMADA, N. Cupuaçu: a espécie, sua cultura, usos e processamento. Belém, Clube do Cupu, 1993. 108p.
- VIDAS, R.M.R.; MOREIRA, M.A.; PINHEIRO, W. J.; ROCHA, V.S., REZENDE, S.T.; SEDIYAMA, C.S. Relação entre vigor e alterações bioquímicas na germinação de sementes de soja. Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal, v.4, n.1, p.49-53, 1992.

- VILLACHICA, H.; CARVALHO, J.E.U. de; MÜLLER, C.H.; DÍAZ, S.C.; ALMANZA, M. Frutales y hortalizas promisorios de la Amazonia. Lima: Tratado de Cooperacion Amazonica, 1996. 367p.
- WILLIAMS S., ed. Official methods of analysis of the Association of official Analytical Chemists. 14 ed. Arlington: AOAC, 1984. 1141p.
- YEMM, E.W.; COCKING, E. C. The determination of amino acid with ninhydrin. Analyst, v.80, p.209-213, 1955.
- YEMM, E.W.; WILLIS, A.J. The estimation of carbohydrates in plant extracts by anthrone. **Biochemical Journal**, v.57, p.508-514, 1954.



Amazônia Oriental

Ministério da Agricultura e do Abastecimento Trav. Dr. Enéas Pinheiro s/n, Caixa Postal 48, Fax (91) 276-9845, Fone (91) 276-6333,CEP 66095-100 e-mail: cpatu@cpatu.embrapa.br

