



PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
DOUTORADO EM AGRONOMIA

GIOVANA FERRARESI GUIMARÃES

GERMINAÇÃO, DORMÊNCIA, COMPOSIÇÃO LIPÍDICA E ALTERAÇÕES
BIOQUÍMICAS DE SEMENTES DE *Urochloa* spp. DURANTE O
ARMAZENAMENTO EM DUAS CONDIÇÕES

Presidente Prudente - SP
2024

GIOVANA FERRARESI GUIMARÃES

**GERMINAÇÃO, DORMÊNCIA, COMPOSIÇÃO LIPÍDICA E ALTERAÇÕES
BIOQUÍMICAS DE SEMENTES DE *Urochloa* spp. DURANTE O
ARMAZENAMENTO EM DUAS CONDIÇÕES**

Tese de doutorado apresentada Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Universidade do Oeste Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de doutor. – Área de concentração: Produção vegetal.

Orientador: Dr^a. Ceci Castilho Custódio
Coorientador: Dr. Alessandro de Lucca e Braccini - Dep. de Agronomia – Universidade Estadual de Maringá - UEM

630
F374g

Ferraresi Guimarães, Giovana.

Germinação, dormência, composição lipídica e alterações bioquímicas de sementes de *Urochloa* spp. durante o armazenamento em duas condições. / Giovana Ferraresi Guimarães – Presidente Prudente, 2024.

110 f.: il.

Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade do Oeste Paulista – Unoeste, Presidente Prudente, SP, 2024.

Bibliografia.

Orientador: Ceci Castilho Custódio.

1. *Urochloa* spp. 2. Lipídios. 3. Armazenamento I.
Título.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: “GERMINAÇÃO, DORMÊNCIA, COMPOSIÇÃO LIPÍDICA E ALTERAÇÕES BIOQUÍMICAS DE SEMENTES DE *Urochloa* spp. DURANTE O ARMAZENAMENTO EM DUAS CONDIÇÕES”

AUTOR(A): GIOVANA FERRARESI GUIMARÃES

ORIENTADOR(A): Profa. Dra. CECI CASTILHO CUSTÓDIO

Aprovado(a) como parte das exigências para obtenção do título de DOUTOR(A) em AGRONOMIA

Área de Concentração PRODUÇÃO VEGETAL, pela Comissão Examinadora:

Profa. Dra. CECI CASTILHO CUSTÓDIO

UNOESTE - Universidade do Oeste Paulista / Presidente Prudente (SP)

Profa. Dra. ANA CLAUDIA PACHECO SANTOS

UNOESTE - Universidade do Oeste Paulista / Presidente Prudente (SP)

Prof. Dr. TIAGO BENEDITO DOS SANTOS

UNOESTE - Universidade do Oeste Paulista / Presidente Prudente (SP)

Profa. Dra. MARTHA FREIRE DA SILVA

UEM – Universidade Estadual de Maringá (PR)

Prof. Dr. WANDERLEY DANTAS DOS SANTOS

UEM – Universidade Estadual de Maringá (PR)

Data da realização: Presidente Prudente, 28 de março de 2024.

DEDICATÓRIA

Eu não poderia dedicar este trabalho para outra pessoa além de ti, meu irmão (in memoriam). Foi você que esteve ao meu lado em todos os momentos, sejam eles bons ou ruins e sempre acreditou na minha capacidade de alcançar meus objetivos, tenho certeza que está orgulhoso de onde estiver, eu te amarei para sempre!

Dedico também aos meus pais, pois, se eu fui capaz de chegar até o doutorado foi graças a eles, que sempre me incentivaram a me dedicar ao estudo. Vocês sempre foram minha base na vida, no estudo e no mundo. Vocês são exemplos de que eu poderia chegar aonde quisesse e me dediquei especialmente para esse resultado todos os dias da minha vida. Esse doutorado é prova do amor e apoio incondicional de vocês. Certamente não chegaria até onde estou sem os pais dedicados e amorosos que tive. A vocês, meu muito obrigado!

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, gostaria de agradecer a Deus por todas as oportunidades concedidas a mim, pela força e tranquilidade nos momentos de fraqueza e dificuldades. Por me guiar, iluminar e me dar discernimento e sabedoria para seguir em frente com os meus objetivos e não desanimar com as dificuldades encontradas.

Agradeço a minha mãe Sr^a. Maria Conceição por sempre estar ao meu lado, ao meu pai Sr. Jerniel Guimarães, que mesmo em meio a períodos de dificuldade, sempre me incentivou a crescer cada vez mais. Obrigada pai e mãe, por sempre me motivarem, entenderem as minhas faltas e os momentos do qual precisei me afastar e me mostraram o quanto era importante estudar, eu amo muito vocês. Agradeço ao meu irmão Gustavo (ir memóriam) que durante toda a minha vida foi meu exemplo e hoje eu sei que, mesmo que não de forma presente, continua me ajudando e me apoiando, eu te sinto sempre.

Agradeço muito a minha orientadora Prof^a. Dr^a. Ceci Castilho Custódio. Resumi-la como minha orientadora é muito pouco, pois a importância que teve e tem para mim não foi somente na condução do trabalho, mas também como exemplo de pessoa, fazendo com que eu aprendesse e crescesse muito durante este período. Obrigada pela disponibilidade, aprendizado, críticas e sugestões ao longo da orientação.

Ao meu co-orientador Prof^o Dr. Alessandro Lucca Braccini por todos os ensinamentos, pelo auxílio nas correções durante todo o doutorado e pelas incansáveis discussões de resultados.

Ao professor Dr. Nelson Machado Barbosa Neto, por me ensinar como melhorar cada dia mais, com dicas, sugestões e ensinamentos que foram cruciais para minha melhoria científica. Além de toda ajuda com as análises, discussões de resultados e parceria. Sua participação foi de uma imensa importância.

Às minhas queridas amigas Camila Zaniboni e Estela Danelon pela parceria. À minha amiga Bruna Coelho, meu muito obrigada por ter me escutado tantas vezes, por sempre poder contar com você, principalmente nos momentos mais críticos. Você foi meu maior presente! Amigas, vocês foram essenciais. Obrigada por fazerem parte dessa etapa de minha vida, amo vocês.

Aos meus vizinhos, que foram como irmãos durante todo o doutorado, me ouvindo, ajudando, parceiros de estudo, de vários tererés e muita fofoca, em especial a Julia (Juliana) e Ricardo.

Aos laboratórios: de sementes e de cultura de tecidos, pela possibilidade de utilização de equipamentos e por todo conhecimento que pude adquirir durante esses 4 anos junto à equipe. Obrigada a todos pelo convívio, pelos momentos de descontração, conversas, desabafos e risadas. Principalmente, à técnica de laboratório Cristiane Pereira, que muitas vezes foi o abraço de mãe durante dias difíceis.

Aos colegas de laboratório, professores e alunos da graduação que me ajudaram durante o experimento.

A UNOESTE, instituição que concedeu subsídios à minha formação de Mestre e a CNPq que me ajudou disponibilizando a bolsa de estudo.

Enfim, obrigada a todos que de alguma forma cruzaram meu caminho durante esta etapa, com certeza me lembrarei com muito carinho de cada um.

Lembre da minha ordem: "Seja forte e corajoso! Não fique desanimado, nem tenha medo, porque eu, o SENHOR, seu Deus, estarei com você em qualquer lugar para onde você for! " (Josué 1:9).

RESUMO

Germinação, dormência, composição lipídica e alterações bioquímicas de sementes de *Urochloa* spp. durante o armazenamento em duas condições

A avaliação da qualidade das sementes é imprescindível, uma vez que permite obter informações referentes ao potencial de desempenho das plântulas sob diferentes condições de ambiente e para a seleção de lotes destinados à semeadura ou ao armazenamento. Espécies de *Urochloa* são de grande importância como forrageiras, sendo o Brasil um dos principais produtores e exportadores de sementes dessas espécies, mas, também, por atuarem como plantas de cobertura e/ou em consórcio com espécies cultivadas. A germinação de sementes é um processo crítico no ciclo vital das plantas superiores e muito susceptível às condições adversas do ambiente, as quais podem causar o estresse oxidativo, resultante do aumento de espécies reativas de oxigênio (ROS), que podem causar danos às proteínas e iniciar a peroxidação lipídica nas membranas celulares, formando hidroperóxidos de ácidos graxos. Diante disso, o presente trabalho teve como objetivo caracterizar o perfil lipídico das sementes de sete materiais genéticos de *Urochloa* durante o armazenamento, relacionando ao comportamento fisiológico de germinação e dormência. Os lotes de sementes foram divididos em duas porções. As porções foram colocadas em sacos de papel, que foram equilibrados sobre sílica gel branca (com sílica laranja usada como indicador), fornecendo 4,5% de umidade relativa (UR), bem como sobre uma solução de cloreto de lítio (36,4 g de LiCl em 100 mL de H₂O), fornecendo 50% UR. Foram realizadas as seguintes análises: viabilidade de sementes, germinação, quantificação de peróxido de hidrogênio (H₂O₂), extração enzimática, atividade da catalase (CAT, EC. 1.11.1.6), superóxido dismutase (SOD, EC.1.15.11), peroxidase (PRX, EC. 1.11.1.7), transesterificação de ácidos graxos e cromatografia gasosa (GC), além da composição lipídica. O experimento de armazenamento foi conduzido de acordo com um delineamento inteiramente casualizado, separadamente para cada genótipo, considerando duas condições de armazenamento (4,5 e 50% de UR) e 7 períodos de avaliação (0, 3, 6, 9, 12, 15 e 24 meses), em esquema fatorial 2 x 7. O programa estatístico SISVAR foi utilizado para a realização da análise de variância e para o agrupamento de médias por Scott-Knott, em nível de 5% de significância. Conclui-se que a umidade relativa e o

período de armazenamento imposto às sementes influência de forma direta em suas respostas fisiológicas, devido a danos oxidativos, que produzem as ROS e aumentam o nível de H_2O_2 . Os principais ácidos graxos detectados foram o ácido linoléico (C18:2), ácido oleico (C18:1) e o ácido palmítico (C16:0). O conteúdo de ácidos graxos insaturados foram predominantemente maiores do que os saturados, sendo o ácido linoléico majoritário em todos os genótipos deste estudo.

Palavras-chave: *Urochloa* spp. Lipídios. Armazenamento. Umidade relativa. Atividade enzimática.

ABSTRACT

Germination, dormancy, lipid composition and biochemical changes of *Urochloa* spp. seeds. during storage in two conditions

The evaluation of seed quality is essential, as it allows obtaining information regarding the potential performance of seedlings under different environmental conditions and for the selection of lots destined for sowing or storage. *Urochloa* species are of great importance as forage crops, with Brazil being one of the main producers and exporters of seeds of these species, but also because they act as cover plants and/or in consortium with cultivated species. Seed germination is a critical process in the life cycle of higher plants and is very susceptible to adverse environmental conditions, which can cause oxidative stress, resulting from an increase in reactive oxygen species (ROS), which can cause damage to proteins and initiate lipid peroxidation in cell membranes, forming fatty acid hydroperoxides. Therefore, the present work aimed to characterize the lipid profile of the seeds of seven *Urochloa* genetic materials during storage, relating it to the physiological behavior of germination and dormancy. The seed lots were divided into two portions. The portions were placed in paper bags, which were equilibrated over white silica gel (with orange silica used as an indicator), providing 4.5% relative humidity (RH), as well as over a lithium chloride solution (36.4 g of LiCl in 100 mL of H₂O), providing 50% RH. The following analyzes were performed: seed viability, germination, quantification of hydrogen peroxide (H₂O₂), enzymatic extraction, catalase activity (CAT, EC. 1.11.1.6), superoxide dismutase (SOD, EC.1.15.11), peroxidase (PRX, EC. 1.11.1.7), transesterification of fatty acids and gas chromatography (GC), in addition to lipid composition. The storage experiment was conducted according to a completely randomized design, separately for each genotype, considering two storage conditions (4.5 and 50% RH) and 7 evaluation periods (0, 3, 6, 9, 12, 15 and 24 months), in a 2 x 7 factorial scheme. The SISVAR statistical program was used to carry out the analysis of variance and the grouping of means by Scott-Knott, at a 5% level of significance. It is concluded that relative humidity and the storage period imposed on seeds directly influence their physiological responses, due to oxidative damage, which produces ROS and increases the level of H₂O₂. The main fatty acids

detected were linoleic acid (C18:2), oleic acid (C18:1) and palmitic acid (C16:0). The content of unsaturated fatty acids was predominantly higher than the saturated ones, with linoleic acid being the majority in all genotypes in this study.

Keywords: *Urochloa* spp. Lipids. Storage. Relative humidity. Enzymatic activity.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –	Caixas plásticas herméticas armazenadas a 20 ± 3 °C nos ambientes com 50% e 4,5% de umidade.....	37
Figura 2 –	Escala para classificação visual dos resultados do teste de tetrazólio em sementes de <i>Urochloa</i> spp.....	38
Figura 3 –	Espiguetas e cariopse das espécies de <i>Urochloa</i>	41
Figura 4 –	Cariopse cortada de <i>Urochloa brizantha</i> ‘Marandu’ mostrando a porção inferior (embrionária).....	41
Figura 5 –	Atividade da enzima Superóxido Dismutase (SOD) em sementes submetidas a diferentes umidades relativas (4,5% e 50%) e tempos de armazenamento (0, 3, 9 e 15 meses) nas espécies <i>Urochloa brizantha</i> ‘Marandu’, ‘Basilisk’, ‘MG5 Vitória’ e ‘BRS Piatã’, <i>U. humidicola</i> ‘Tully’ e ‘Llanero’ e <i>U. ruziziensis</i> ‘Kennedy’.....	54
Figura 6 –	Atividade da enzima Catalase (CAT) em sementes submetidas a diferentes umidades relativas (4,5% e 50%) e tempos de armazenamento (0, 3, 9 e 15 meses) nas espécies <i>Urochloa brizantha</i> ‘Marandu’, ‘Basilisk’, ‘MG5 Vitória’ e ‘BRS Piatã’, <i>U. humidicola</i> ‘Tully’ e ‘Llanero’ e <i>U. ruziziensis</i> ‘Kennedy’.....	56
Figura 7 –	Atividade da enzima Peroxidase (PRX) em sementes submetidas a diferentes umidades relativas (4,5% e 50%) e tempos de armazenamento (0, 3, 9 e 15 meses) nas espécies <i>Urochloa brizantha</i> ‘Marandu’, ‘Basilisk’, ‘MG5 Vitória’ e ‘BRS Piatã’, <i>U. humidicola</i> ‘Tully’ e ‘Llanero’ e <i>U. ruziziensis</i> ‘Kennedy’.....	58
Figura 8 –	Quantificação de Peróxido de Hidrogênio (H_2O_2) em sementes submetidas a diferentes umidades relativas (4,5% e 50%) e tempos de armazenamento (0, 3, 9, 15 e 24 meses) nas espécies <i>Urochloa brizantha</i> ‘Marandu’, ‘Basilisk’, ‘MG5 Vitória’ e ‘BRS Piatã’, <i>U. humidicola</i> ‘Tully’ e ‘Llanero’ e <i>U. ruziziensis</i> ‘Kennedy’.....	60
Figura 9 –	Cromatograma de análise por cromatografia em fase gasosa de ácidos graxos de amostras de <i>Urochloa brizantha</i> ‘Marandu’.....	62

LISTA DE TABELAS

Tabela 1-	Porcentagem de médias ($\pm$ DP) do teor de água das sementes de espécies de <i>Urochloa</i> com 4,5% e 50% de umidade relativa durante o período 0, 3, 6, 9, 12, 15 e 24 meses de armazenamento.....	43
Tabela 2-	Médias para porcentagem de germinação (G), índice de velocidade de germinação (IVG) e dormência (D) para sementes de <i>U. brizantha</i> 'Marandu' armazenadas em 4,5% e 50% de umidade relativa.....	45
Tabela 3-	Médias para porcentagem de germinação (G), índice de velocidade de germinação (IVG) e dormência (D) para sementes de <i>U. brizantha</i> 'Basilisk' armazenadas em 4,5% e 50% de umidade relativa.....	46
Tabela 4-	Médias para porcentagem de germinação (G), índice de velocidade de germinação (IVG) e dormência (D) para sementes de <i>U. brizantha</i> 'BRS Piatã' armazenadas em 4,5% e 50% de umidade relativa.....	47
Tabela 5-	Médias para porcentagem de germinação (G), índice de velocidade de germinação (IVG) e dormência (D) para sementes de <i>U. brizantha</i> 'MG5 Vitória' armazenadas em 4,5% e 50% de umidade relativa.....	48
Tabela 6-	Médias para porcentagem de germinação (G), índice de velocidade de germinação (IVG) e dormência (D) para sementes de <i>U. humidicola</i> 'Tully' armazenadas em 4,5% e 50% de umidade relativa.....	49
Tabela 7-	Médias para porcentagem de germinação (G), índice de velocidade de germinação (IVG) e dormência (D) para sementes de <i>U. humidicola</i> 'Llanero' armazenadas em 4,5% e 50% de umidade relativa.....	51
Tabela 8-	Médias para porcentagem de germinação (G), índice de velocidade de germinação (IVG) e dormência (D) para sementes de <i>U. ruziziensis</i> 'Kennedy' armazenadas em 4,5% e 50% de umidade relativa.....	52
Tabela 9-	Médias das massas da porção superior, porção inferior, cariopse e espiguetas das sementes e médias da porcentagem de lipídios de cada cultivar.....	64
Tabela 10-	Conteúdo percentual relativo de componente de ésteres metílicos de ácidos graxos na porção inferior da semente de <i>U. brizantha</i> cv. 'Marandu' e índices gerais relacionados à composição de ácidos graxos.....	66
Tabela 11-	Conteúdo percentual relativo de componente de ésteres metílicos de ácidos graxos na porção inferior da semente de <i>U. brizantha</i> cv. 'Basilisk' e índices gerais relacionados à composição de ácidos graxos.....	68
Tabela 12-	Conteúdo percentual relativo de componente de ésteres metílicos de ácidos graxos na porção inferior da semente de <i>U. brizantha</i> cv. 'BRS Piatã' e índices gerais relacionados à composição de ácidos graxos.....	69

Tabela 13-	Conteúdo percentual relativo de componente de ésteres metílicos de ácidos graxos na porção inferior da semente de <i>U. brizantha</i> cv. 'MG5 Vitória' e índices gerais relacionados à composição de ácidos graxos.....	70
Tabela 14-	Conteúdo percentual relativo de componente de ésteres metílicos de ácidos graxos na porção inferior da semente de <i>U. humidicola</i> cv. 'Tully' e índices gerais relacionados à composição de ácidos graxos.....	71
Tabela 15-	Conteúdo percentual relativo de componente de ésteres metílicos de ácidos graxos na porção inferior da semente de <i>U. humidicola</i> 'Llanero' e índices gerais relacionados à composição de ácidos graxos.....	72
Tabela 16-	Conteúdo percentual relativo de componente de ésteres metílicos de ácidos graxos na porção inferior da semente da <i>Urochloa ruziziensis</i> cv. 'Kennedy' e índices gerais relacionados à composição de ácidos graxos.....	73

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	18
2	REVISÃO DE LITERATURA	20
2.1	Produção de Sementes de Espécies Forrageiras	20
2.2	Importância das pastagens no Brasil	21
2.3	O gênero <i>Urochloa</i>	23
2.4	Germinação de sementes	24
2.5	Dormência em sementes	27
2.5.1	Tipos de dormência	28
2.6	Composição lipídica de sementes	30
3	HIPÓTESE	34
4	OBJETIVO	35
5	MATERIAL E MÉTODOS	36
5.1	Estudo do armazenamento de sementes	36
5.1.1	Seleção e condicionamento de sementes	36
5.1.2	Teor de água nas sementes	37
5.1.3	Germinação e viabilidade de sementes	37
5.2	Análises bioquímicas e alterações durante o armazenamento	38
5.2.1	Extração enzimática	38
5.2.2	Atividade da Superóxido dismutase (SOD, EC.1.15.11)	39
5.2.3	Atividade de Catalase (CAT, EC. 1.11.1.6)	39
5.2.4	Atividade da Guaiacol Peroxidase (PRX, EC. 1.11.1.7)	40
5.2.5	Quantificação de Peróxido de Hidrogênio (H ₂ O ₂)	40
5.3	Determinação da composição lipídica	40
5.3.1	Transesterificação de ácidos graxos e cromatografia gasosa (GC)	40
5.4	Análise estatística	42
6	RESULTADOS	43
6.1	Análise do grau de umidade nas diferentes condições e períodos de armazenamento	43
6.2	Caracterização da qualidade fisiológica e viabilidade das sementes	44
6.2.1	Germinação (G), índice de velocidade de germinação (IVG) e dormência (D) em sementes armazenadas com 4,5% e 50% de umidade relativa	44
6.3	Caracterização do perfil enzimático das sementes e alterações durante o armazenamento	52
6.3.1	Atividade da enzima Superóxido Dismutase (SOD)	52

6.3.2 Atividade da enzima Catalase (CAT)	55
6.3.3 Atividade da enzima Guaiacol Peroxidase (PRX)	57
6.3.4 Quantificação de Peróxido de Hidrogênio (H ₂ O ₂).....	59
6.4 Determinação da composição lipídica através da transesterificação de ácidos graxos e cromatografia gasosa (GC)	61
6.4.1 Determinação lipídica quantitativa através de análise prévia de amostras de espiguetas, parte superior e inferior da cariopse.....	61
6.4.2 Análise de massa de diferentes amostras da espiguetas e valor percentual de ácido graxo na porção inferior e cariopse	62
6.4.3 Componente de ésteres metílicos e índices gerais relacionados à composição de ácidos graxos	65
7 DISCUSSÃO	74
7.1 Grau de umidade, mudanças no comportamento fisiológico e viabilidade das sementes.....	74
7.2 Alterações na atividade enzimática e resposta antioxidante durante o armazenamento	77
7.3 Análise de massa e componente de ésteres metílicos e índices gerais relacionados à composição de ácidos graxos	82
8 CONCLUSÃO	86
REFERÊNCIAS.....	87
10 ANEXO.....	105

1 INTRODUÇÃO

As pastagens, formadas por espécies de gramíneas, herbáceas e arbustivas, ocupam cerca de 40% da superfície terrestre e são a principal fonte de alimento para a produção animal no planeta (Dagar; Gupta, 2020). Segundo os dados do Censo Agropecuário de 2017, as pastagens plantadas representam mais de 112 milhões de hectares e as pastagens naturais ocupam, aproximadamente, 47,3 milhões de hectares, correspondendo a, aproximadamente, 45% da área das propriedades agrícolas do país (IBGE, 2019a; 2019b).

O Brasil se destaca no cenário mundial como maior produtor, consumidor e exportador de sementes do gênero *Urochloa*. É notável o crescimento das pastagens formadas por espécies desse gênero nas duas últimas décadas (Silva *et al.*, 2013). É de crescente interesse, por parte dos pecuaristas, nas espécies desse gênero por elas apresentarem características agronômicas desejáveis, principalmente a rusticidade, permitindo adaptação às mais variadas condições, tanto de clima, quanto de solo (Vela *et al.*, 2018).

A qualidade das sementes é caracterizada por aspectos físicos, genéticos, sanitários e fisiológicos, tornando-se de fundamental importância para propagação de qualquer espécie vegetal, além de possuir influência direta no estabelecimento e no potencial produtivo de uma cultura (Marcos Filho, 2015).

A qualidade fisiológica, que merece especial atenção, é evidenciada pelo potencial de germinação e vigor. O potencial germinativo refere-se à capacidade intrínseca de uma semente em germinar e se desenvolver. Envolve a capacidade de superar a dormência, romper as camadas externas e desenvolver as estruturas embrionárias essenciais para o crescimento inicial da plântula, permitindo a expressão máxima da potencialidade da semente. Já o conceito de vigor é baseado na vitalidade da semente, ou seja, à sua robustez e capacidade de germinar de maneira rápida e uniforme, mesmo sob condições adversas, podendo ser mensurado por vários testes (Mondo *et al.*, 2012).

Porém, a germinação é um processo crítico e, sob condições desfavoráveis, pode ocorrer o estresse oxidativo, resultando no aumento de espécies reativas de oxigênio (ROS), as quais iniciam a peroxidação lipídica nas membranas celulares (Liu *et al.*, 2018; Yalamalle *et al.*, 2019).

A disponibilidade de nutrientes contribui na formação do embrião e dos órgãos de reserva, do mesmo modo que na composição química da semente, e, dessa forma, terá, conseqüentemente, efeitos sobre a qualidade fisiológica das sementes. Isso se deve ao fato de os aspectos nutricionais da planta estarem relacionados com o acúmulo de carboidratos, lipídios e proteínas na semente, influenciando no seu potencial fisiológico (Teixeira *et al.*, 2005). Além de proteínas, lipídios e carboidratos, as sementes contêm outros compostos, porém, em menor quantidade; contudo, estes não deixam de ser importantes, sendo alguns deles os minerais, taninos, lectinas, inibidores de proteinase e oligossacarídeos (Tava *et al.*, 2019).

Os lipídios juntamente com carboidratos e proteínas formam o grupo de compostos de maior importância nos alimentos e os mais frequentemente encontrados na natureza, tanto nos animais como nos vegetais. Desempenham papéis significativos em diversas funções biológicas e, também, se fazem presentes na composição de estruturas celulares, principalmente nas membranas (Bobbio; Bobbio, 2003). Os lipídios ocorrem nos vegetais, sendo mais frequentes nas sementes, frutos e folhas, e, em menor proporção, em raízes, caules e flores. As sementes são os órgãos mais ricos em lipídios, constituindo uma das principais formas de reserva para o embrião (Constantino *et al.*, 2014).

No decorrer do armazenamento, as próprias enzimas responsáveis pela remoção de ROS e proteção das sementes, como a superóxido dismutase, catalase e peroxidase, começam a se extinguir e a deterioração é acelerada (Shaban, 2013). Com a deterioração, a reserva nutricional da semente, incluindo lipídios, açúcares solúveis e proteínas acaba sendo reduzida; dessa maneira, o teor de aminoácidos livres e açúcares redutores aumentam, induzindo a degradação de proteínas (Murthy; Sun, 2000; Castellió *et al.*, 2010).

O presente trabalho caracterizou o perfil lipídico de sete cultivares de gramíneas forrageiras importantes no Brasil e a relação deste perfil com a conservação dessas sementes, em duas condições, 4,5 e 50% de UR (umidade relativa), na temperatura de 20° C, acompanhando as mudanças no perfil lipídico, no processo de oxidação, na resposta antioxidante e no comportamento fisiológico de germinação, dormência e deterioração, ao longo de 24 meses de armazenamento.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Produção de Sementes de Espécies Forrageiras

Os estudos realizados com diferentes cultivares de forrageiras priorizam a produção de forragem, em detrimento da produção de sementes. Isso se deve a diversas razões, dentre elas, a falta de incentivo na área e o desconhecimento de práticas de manejo e métodos de multiplicação de sementes, que acabam impedindo que espécies forrageiras expressem seu potencial de produção de sementes (Carneiro *et al.*, 2013). Com a crescente necessidade de incrementar a produção de alimentos para os animais, tendo em vista à produção de carne e leite, as áreas de pastagens cultivadas tornaram-se dependentes da produção de sementes de espécies forrageiras ao longo dos anos.

A qualidade das sementes é estabelecida como o conjunto de alguns fatores, sendo eles: genéticos, físicos, fisiológicos e sanitários. Estes fatores possuem influência direta sobre a capacidade das sementes em originar cultivos vigorosos e livre de plantas indesejáveis (Peske *et al.*, 2012).

Os principais fatores que afetam a longevidade das sementes são a umidade e a temperatura. Por isso, a necessidade de manter o ambiente de armazenamento seco e frio para alcançar melhores condições e, com isso, a manutenção da qualidade das sementes. O elevado grau de umidade da semente é o principal impedimento para se conseguir uma boa conservação. À medida que o teor de água aumenta, consequentemente, maior será a taxa respiratória da semente e ocorrerá maior consumo de reservas, o que conduz a um menor período de longevidade desta semente (Peske *et al.*, 2012).

Quanto maior for o potencial fisiológico das sementes, mais elevado será o estabelecimento do estande e o desenvolvimento inicial das plântulas em campo. A avaliação da qualidade das sementes é indispensável, pois possibilita obter informações referentes ao potencial de desempenho das plântulas sob diferentes condições de ambiente e para a seleção de lotes destinados à semeadura ou ao armazenamento (Martins, 2019).

Portanto, para que se desenvolvam novas técnicas de produção, bem como cultivares que alcancem maiores padrões produtivos, empresas especializadas

garantem produtos de melhor qualidade genética, o que torna imprescindível o conhecimento do produto adquirido, tal como a variedade, pureza e germinação do lote, bem como a procedência do mesmo (Ray *et al.*, 2019). Assim, torna-se de grande importância o fornecimento de sementes viáveis aos consumidores, pois é a forma de propagação mais eficiente para uma rápida disseminação de novos materiais, como, também, importante para o sucesso do estabelecimento de uma pastagem.

2.2 Importância das pastagens no Brasil

O avanço da pecuária brasileira nos últimos anos vem sendo acompanhado pela demanda na implantação de pastagens cultivadas no Brasil. A pecuária é uma das principais atividades econômicas brasileiras, devido a sua vasta extensão territorial e o clima favorável (ABIEC, 2015). Esse fato motiva a ocupação de cerca de 30% do território nacional com pastagens, o que corresponde a uma parcela de 30% do PIB do agronegócio (Sousa, 2017).

Atualmente, o Brasil ocupa uma posição de destaque no cenário mundial, em relação à produção de sementes de *Urochloa* spp., sendo atualmente o seu maior produtor, consumidor e exportador (Vilela, 2005; Pereira *et al.*, 2011).

A importância econômica e social da pecuária no Brasil deve-se ao fato de que 90% do rebanho bovino é criado e terminado em áreas de pastagem (Ferraz; Felício, 2010), as quais ocupam 21% do território nacional (~175 milhões de hectares) (Arantes, 2017). Estima-se que cerca de 56% dos 175 milhões de hectares de pastagens no Brasil sejam cultivadas (Araújo *et al.*, 2017), sendo que das áreas de pastagem cultivadas, 95% são de origem Africana dos gêneros *Urochloa* e *Panicum* (Valle *et al.*, 2011). Por ser a pecuária brasileira uma atividade a pasto, esta é altamente competitiva com o mercado externo, pois os custos envolvendo transporte, armazenamento e alimentação são minimizados (Torres Júnior; Aguiar, 2013).

O cultivo de pastagens tropicais no Brasil é relativamente recente, tendo sido iniciado a partir da década de 70, proporcionando uma grande contribuição com a pecuária (Machado; Pereira, 2021). A substituição do plantio de mudas pela propagação de sementes fez com que as áreas de pastagens aumentassem. Esse processo de formação proporciona uma cobertura mais homogênea do solo, além de

diminuir a quantidade de plantas invasoras e reduzir os processos erosivos (Machado; Pereira, 2021). No Brasil, a produção de ruminantes ocorre predominantemente em sistema de cultivo extensivo, em regime de pastagem, diferentemente dos outros países que são produtores de carne bovina (Sversutti; Yada, 2019; Pezzopane *et al.*, 2019). Além da grande importância na pecuária, as forrageiras apresentam significativas vantagens quando utilizada em áreas degradadas.

Compreende-se por degradação do solo a perda de uma ou mais de suas qualidades (seja de natureza física, química ou microbiológica) que asseguram sua capacidade produtiva, por meio de diferentes processos, como erosão hídrica, erosão eólica, desertificação, salinização, degradação física, química e biológica (Tavares Filho, 2016). Dados da FAO (2013) apontam que 30% das terras agricultáveis do mundo apresentam algum estágio de degradação, com perdas anuais de, aproximadamente, 24 bilhões de toneladas de solos férteis, que repercutem diretamente na eficiência da agricultura e pecuária modernas (Roberts; Ryan, 2015).

Estudos têm demonstrado a viabilidade técnica do consórcio de forrageiras com cereais nos sistemas de Integração Lavoura-Pecuária (ILP), havendo destaque para a cultura do milho (Costa *et al.*, 2013). Dentre as formas de cultivo mais difundidas para o sistema ILP, destaca-se o consórcio do milho com forrageiras (*Urochloa* spp. e *Panicum* spp.), como, por exemplo, o Sistema Santa Brígida, proposto em 2010, que objetiva incorporar as leguminosas consorciadas, principalmente na cultura do milho e da *Urochloa*. Segundo Oliveira *et al.* (2010), essa incorporação tem como propósito o aumento do aporte de nitrogênio ao solo, via fixação biológica do nitrogênio atmosférico.

Gramíneas do gênero *Urochloa* representam a preferência entre os produtores, devido às características, tais como: limites mais amplos de altura de pastejo, maior capacidade de rebrota e de cobertura do solo, menor formação de touceiras (Kichel *et al.*, 2009), fácil manejo, em função do porte pequeno, tanto para pastejo, quanto para dessecação e plantio direto das culturas em sucessão (Zimmer, 2015).

Segundo Fagundes *et al.* (2006), há necessidade de conhecimentos mais detalhados sobre as plantas forrageiras, considerando-se que mudanças

morfológicas e estruturais no pasto ocorrem ao longo do tempo. A utilização de espécies e ou cultivares de *Urochloa* em sistemas de produção de ruminantes em pastejo foi proporcionada pelo conjunto de características desejáveis dessas forrageiras, que vem a ocorrer devido a sua adaptação a variadas condições de solo e clima (Fagundes *et al.*, 2006).

Bottega *et al.* (2017), avaliando o crescimento dos capins *U. brizantha* cv. Xaraés, *U. brizantha* cv. Marandu e *U. ruziziensis* cv. Ruziziensis e sua influência sobre o rendimento do milho, em função do sistema de semeadura, observaram que maior porcentagem de folhas e a maior relação folha:colmo no capim Xaraés: 55,57% e 1,27%, respectivamente. Apesar de ter sido observada menor massa de forragem total, a maior parte foi composta por folhas, característica desejável, quando o objetivo é a formação de pastagem.

Portanto, a utilização de plantas de cobertura é uma alternativa para simular os ambientes naturais empregando o máximo de estratégias para reverter os problemas oriundos de manejos convencionais do solo. E isso, somente é possível, com uso da palhada na superfície do solo, responsável por aumentar a biodiversidade, além da qualidade do solo (Leandro, 2006).

2.3 O gênero *Urochloa*

Urochloa spp. (sinonímia *Brachiaria*) faz parte de um pequeno grupo de gêneros que inclui *Eriochloa* Kunth 1815 e *Panicum* Linnaeus, 1929, pertencentes à tribo Paniceae Reichenbach, 1828, subfamília Panicoideae Braun, 1864, família Poaceae. Esse gênero abrange cerca de 100 espécies distribuídas pelos trópicos, especialmente na África, região dada como seu centro de origem. Estima-se que 40 milhões de hectares das pastagens na região central do Brasil sejam formadas por esse gênero, sendo cultivada em todas as regiões e ocupam uma posição de destaque na pecuária, por ter boas características produtivas e por se adaptarem em solos de baixa fertilidade (Nani, 2015; Sousa *et al.*, 2007).

Devido a uma mudança de nomenclatura, o gênero *Brachiaria* é atualmente conhecido taxonomicamente como gênero *Urochloa*, pois alguns autores questionam a validade do nome Braquiária (Rodrigues-da-Silva, 2003; Velasco, 2011).

É o mais cultivado em relação às demais gramíneas forrageiras, devido a sua rusticidade, alta adaptabilidade em diversas regiões, com variações de clima e solo. Atualmente, o país é o maior produtor e exportador de sementes de gramíneas forrageiras tropicais, no qual cerca de 40 países importam sementes (Cardoso *et al.*, 2014). Os principais importadores são países da América Central e América do Sul (Favoreto *et al.*, 2011; Santos *et al.*, 2014).

Caracteriza-se por ser uma gramínea perene, com hábito de crescimento semiereto a prostrado, podendo alcançar até 1 metro de altura, com raízes bem resistentes, de ótima fixação ao solo, seus colmos são em formatos cilíndricos a ovulados de pigmentação verde escura, correspondente a alta concentração de clorofila, suas folhas medem de 20 a 40 centímetros de comprimento, largura entre 10 a 20 milímetros levemente ásperas, suas inflorescências são do tipo panículas racemosas formadas de dois a cinco racemos com sementes arredondadas de fácil disseminação (Bergamaschine *et al.*, 2006; Valle *et al.*; 2011; Velasco, 2011).

As espécies *U. decumbens*, *U. ruziziensis*, *U. humidicola* e *U. brizantha* podem ser consideradas as mais cultivadas no Brasil (Soares Filho, 1994). A espécie com maior destaque no Brasil é a *Urochloa brizantha* (Pedreira *et al.*, 2009), e as principais cultivares da espécie são 'Marandu', 'BRS Piatã', 'La Libertad' e 'Xaraés', apresentando grande potencial de adaptação às condições tropicais brasileiras (Valle *et al.*, 2011).

A utilização dessa forrageira obteve destaque, devido as suas propriedades nutricionais na alimentação animal, sendo responsável pelo fornecimento de fibras, energia, proteínas, minerais e vitaminas (Pereira, 2019).

O sucesso do cultivo da pastagem desse gênero está ligado a fácil adaptabilidade aos diversos sistemas de produção e tipos de solo, até ácidos, com baixa e média fertilidade, em várzeas inundáveis, margens de florestas pouco densas, regiões semidesérticas e, principalmente, a sua resistência à cigarrinha das pastagens. Portanto, desponta-se como uma das mais utilizadas no mercado nacional (Vilela, 2005; Pereira *et al.*, 2011).

2.4 Germinação de sementes

A germinação de sementes é um processo que se inicia com a retomada do crescimento do embrião. Para que uma semente possa germinar é necessário que

lhe seja dada todas as condições favoráveis, como, por exemplo, água, luz, temperatura, etc. As sementes de cerca de um terço das espécies germinam imediatamente em condições favoráveis, mas as demais apresentam algum grau de dormência (Ribeiro, 2014). Nas Regras para Análise de Sementes (Brasil, 2009) existem normas para a condução do teste de germinação de um grande número de espécies cultiváveis.

O teste de germinação é realizado com o objetivo de estabelecer o potencial de germinação de um lote de sementes, sendo aplicado para fins comparativos de lotes distintos e estabelecer o valor da densidade de semeadura no campo. O teste é realizado rotineiramente em laboratório e seu valor é obtido da porcentagem de plântulas consideradas normais, germinadas, em relação ao total de sementes utilizadas no teste, sob condições e períodos específicos para cada espécie (Brasil, 2009).

A qualidade fisiológica das sementes é caracterizada pela germinação e pelo vigor. Em tecnologia de sementes, a germinação é definida como a emergência e o desenvolvimento das estruturas essenciais do embrião, originando uma plântula normal, sob condições ambientais favoráveis (Brasil, 2009). Já vigor de sementes é definido pela *International Seed Testing Association* (ISTA, 2014) como “o conjunto de propriedades que determinam a atividade e o desempenho de lotes de sementes com germinação aceitável, sob ampla variação de condições de ambiente”.

A qualidade das sementes de *Urochloa* são usualmente avaliadas pelo teste de germinação e, de acordo com as Regras para Análise de Sementes (Brasil, 2009), o período previsto para a realização desse teste é de 21 dias, podendo ser prolongado por até 28 dias. As temperaturas alternadas para germinação das sementes de *Urochloa* consideradas ótimas são de 15 – 35 °C ou 20 – 35 °C (Brasil, 2009).

As sementes secas, além de seu estado metabolicamente quiescente, podem suportar várias reações oxidativas não enzimáticas, causando o acúmulo progressivo de danos associados as espécies reativas de oxigênio (ROS), durante o armazenamento. Isso resulta em uma fragilidade que pode ser fatal para o embrião durante a embebição. Caso a semente encontre condições adequadas para a germinação durante a sua vida, pode, se ainda viável, cumprir a sua finalidade e liberar a plântula jovem. Mas, como consequência do processo de envelhecimento, o

vigor das sementes pode ser severamente afetado. Como o processo de germinação de sementes depende principalmente de mRNA e proteínas armazenadas (Rajjou *et al.*, 2012), os danos em nível de DNA podem resultar em um desenvolvimento de aberrações morfológicas ou plântulas anormais.

A oxidação leva ao acúmulo de ROS durante o armazenamento, que são altamente reativas e podem modificar e inativar proteínas, lipídios, DNA e RNA, além de induzir disfunções celulares (Moller *et al.*, 2007). O estudo de danos mediados por ROS e reparação nas sementes é complexo, especialmente quando estão em estado desidratado. A adição de água para as sementes secas poderia desencadear processos de germinação, o que posteriormente ativaria o mecanismo de defesa antioxidante (Clerkx *et al.*, 2004).

Sementes de várias espécies de plantas são extremamente tolerantes a condições ambientais severas, desde que estejam num estado de dessecação. De acordo com Landjeva *et al.* (2010), a semente em “estado seco” reduz a atividade metabólica para um nível muito baixo, mantendo a sua capacidade de germinar durante períodos consideráveis. Esta capacidade de retenção da germinação, após determinado período de armazenamento, que as sementes apresentam, é um componente da “longevidade de sementes”, que pode ser definido com o período em que a semente consegue permanecer viável (Sano *et al.*, 2016).

A disparidade no estado de espécies reativas de oxigênio (ROS) intracelular e os consequentes danos oxidativos têm sido relacionados à perda de viabilidade das sementes (Morscher *et al.*, 2015; Sano *et al.*, 2016). Durante a deterioração da semente ocorre um acúmulo de ROS, como oxigênio singlete (1O_2), radicais superóxido ($O_2^{\cdot -}$), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e radicais hidroxila ($OH^{\cdot}$). As ROS são moléculas altamente reativas e tóxicas, com potencial para deteriorar membranas celulares, ácidos nucleicos, proteínas, carboidratos e lipídios, causando danos irreversíveis aos sistemas celulares (Gill; Tuteja, 2010; Sharma *et al.*, 2012). Desse modo, o rompimento das membranas celulares e a peroxidação lipídica, mediada por radicais, foram demonstrados como sendo o principal dano durante a deterioração (Fu *et al.*, 2015). Além disso, alguns autores afirmam que primeiro evento no envelhecimento é a peroxidação lipídica (Delouche; Baskin, 2021).

No campo, inúmeras restrições, como o pH do solo, salinidade, disponibilidade de oxigênio, luz, presença de compostos tóxicos e microrganismos

podem promover o envelhecimento das sementes. Em plantas, tem sido descrito que processos de desenvolvimento e / ou tensões ambientais podem induzir a produção de ROS endógena, embora os mecanismos envolvidos na sua geração em sementes ortodoxas permaneçam, ainda, indescritíveis (Bewley; Black, 2012).

Embora potentes agentes de deterioração celular, a produção de ROS está envolvida na sinalização e funções fisiológicas em respostas de estresse abiótico (Gill; Tuteja, 2010) durante a germinação e dormência de sementes (Bailly, 2004; El-Maarouf-Bouteau; Bailly *et al.*, 2008; Kranner *et al.*, 2010; El-Maarouf-Bouteau *et al.*, 2013; Diaz-Vivancos *et al.*, 2013).

A maioria das gramíneas forrageiras tropicais apresenta dormência nas suas sementes o que dificulta a avaliação da qualidade fisiológica, a emergência das plântulas no campo e, conseqüentemente, afeta o estabelecimento das pastagens (Costa *et al.*, 2012). Trombeta (2013) define dormência como um fenômeno natural, no qual a germinação não ocorre, mesmo com todas as condições ambientais ideais para que isso aconteça.

2.5 Dormência em sementes

A dormência é definida segundo Almeida (2004), como fenômeno pelo qual as sementes, apesar de viáveis e dispondo de condições ambientais favoráveis, não germinam.

Para superar essa incapacidade momentânea da semente para completar o processo de germinação é necessário que as sementes sejam expostas a condições ambientais especiais, diferentes das exigidas por sementes quiescentes da mesma espécie (Marcos Filho, 2015).

Dentre os diversos gêneros de gramíneas forrageiras que se apresentam como opções para a formação de pastagem, o gênero *Urochloa* destaca-se como um dos mais cultivados, devido à sua adaptação às diferentes condições edafoclimáticas e de manejo da pastagem (Cardoso *et al.*, 2014; Porto, 2017). Além disso, a pastagem com espécies desse gênero, quando bem manejada, dispõe de valores nutricionais capazes de proporcionar ganho animal, oferecendo maior viabilidade econômica (Crispim; Branco, 2002).

No entanto, assim como a maioria das gramíneas forrageiras, as sementes do gênero *Urochloa* normalmente apresentam dormência, o que impede a

germinação e emergência das plântulas no campo e, conseqüentemente, afeta o estabelecimento das pastagens (Lima *et al.*, 2015).

De acordo com Lima *et al.* (2015), as sementes desse gênero apresentam dificuldades para germinar, tanto em laboratório quanto no campo, e o principal fator que contribui para que isto ocorra é a presença da dormência. As causas para dormência em sementes são variadas.

Libório *et al.* (2018) cita que as sementes do gênero *Urochloa* podem ter a dormência justificada pelos seus envoltórios (gluma, pálea e lema), onde constituem um empecilho para germinação, por restringir as trocas gasosas e fornecer uma barreira mecânica, além da dormência de natureza fisiológica atribuída ao embrião. Devido a esse fato, se faz necessário o uso de técnicas que possam superar a dormência das sementes desses gêneros.

2.5.1 Tipos de dormência

A dormência, com base na origem, pode ser classificada como primária ou secundária, sendo a dormência primária aquela que já está presente nas sementes colhidas e a dormência secundária está relacionada à incapacidade de germinar e é ocasionada por alterações fisiológicas provocadas por exposição a condições adversas à germinação, após a colheita (Libório *et al.*, 2018). O autor também aponta que a dormência ainda pode ser classificada com base nos mecanismos como endógena e exógena. A dormência endógena ou embrionária é causada, geralmente, por embrião imaturo (dormência morfológica) ou mecanismos fisiológicos de inibição que impedem seu desenvolvimento (dormência fisiológica). E, no caso da dormência exógena ou tegumentar, existe algum impedimento causado pelos tecidos que envolvem a semente (extraembrionário), como o tegumento ou partes do fruto, sendo superada se o embrião for isolado, podendo ser associada a fatores físicos, químicos ou mecânicos.

Fowler e Bianchett (2000) abordam que na dormência tegumentar ou exógena a germinação das sementes é bloqueada pelos seguintes fatores: i) interferência na absorção de água; ii) impedimento mecânico, em que vários tecidos ao redor do embrião são extremamente resistentes, e se o embrião não conseguir rompe-lo, ele não germina; e iii) interferência nas trocas gasosas: os tecidos

impermeáveis que circundam o embrião limitam sua capacidade de trocas gasosas, impedindo a entrada do oxigênio, limitante à germinação, mantendo-a dormente.

De acordo com Cardoso (2009), a dormência física é causada por uma ou mais camadas de células impermeáveis à água e/ou às trocas gasosas situadas no tegumento ou nos envoltórios da semente, em geral. A dormência química se manifesta a partir da ação de substâncias inibidoras de crescimento, que estão presentes no pericarpo ou nas partes internas da semente (Vivian *et al.*, 2008). A dormência mecânica, por sua vez, ocorre quando há absorção de água e de oxigênio, mas a expansão do embrião é limitada pela resistência exercida pelo tegumento das sementes, pericarpo ou pelas paredes celulares do tecido de reserva (Marcos Filho, 2015). As causas e os tipos de dormência variam de acordo com a espécie, podendo ocorrer isoladamente ou em combinação (Figueiredo *et al.*, 2015).

Existem alguns métodos recomendados para a superação total da “dureza” das sementes. A eficiência de cada tratamento é variável, segundo a espécie (Lacerda *et al.*, 2010). Os métodos mais usuais empregados são: a escarificação química com ácido sulfúrico concentrado, embebição com nitrato de potássio (Brasil, 2009) e período de armazenamento, em associação à altas temperaturas (Trombetta, 2013).

A atuação da escarificação mecânica ou química com ácido sulfúrico na superação da dormência de sementes de *Urochloa* spp. seria por meio da remoção total ou parcial das estruturas externas das sementes, como gluma, pálea e lema (Usberti; Martins, 2007; Brasil, 2009; Martins *et al.*, 2013). Tais estruturas estariam associadas à dormência por causa da impermeabilidade à água e resistência ao desenvolvimento do embrião (Ajala-Luccas *et al.*, 2018), baixa permeabilidade às trocas gasosas (Meschede *et al.*, 2004; Libório *et al.*, 2017) e presença de substâncias inibidoras da germinação (Martins; Silva, 2001; Câmara; Stacciarini-Seraphin, 2002).

O crescimento de um segmento consumidor mais instruído e rigoroso vêm estimulando mudanças em relação aos métodos de superação da dormência de sementes de forrageiras (Vigna *et al.*, 2011; Libório *et al.*, 2017).

2.6 Composição lipídica de sementes

O papel dos nutrientes é indispensável na formação das sementes, principalmente no que se refere à constituição de membranas e acúmulo de carboidratos, lipídios e proteínas. As funções de ativação de enzimas, síntese de proteínas, transferência de energia e regulação hormonal, são características fundamentais do aspecto de formação, desenvolvimento e maturação das sementes e, assim, tanto macro como micronutrientes apresentam importância semelhante nesses episódios (Sá, 1994).

A composição de ácidos graxos pode interferir com o comportamento fisiológico da semente, seja ela, recalcitrante, intermediária ou ortodoxa. Quanto mais ácidos graxos saturados presentes na semente, mais recalcitrante elas são, ao passo que, quanto mais insaturados, mais ortodoxas (Liu *et al.*, 2007; Crane *et al.*, 2006, Mello *et al.*, 2010).

No estado vítreo, estes oligossacarídeos são eficazes contra danos a membrana, devido a desidratação, impedindo a fusão das vesículas adjacentes durante a secagem e mantendo lipídios em uma fase fluída durante a dessecação. Os açúcares também ajudam a proteger a estrutura e funcionamento de proteínas lábeis (Imamura *et al.*, 2003). O estado vítreo impede eventos prejudiciais, como reação de Maillard, onde as rafinoses têm sido associadas a proteção de danos oxidativos, possivelmente por eliminação de radicais hidroxilas (Nishizawa *et al.*, 2008). No citoplasma em estado vítreo também se encontra abundância de proteínas LEA (“late embryonic abundant proteins”), que estão associadas a tolerância a dessecação e ao estresse, por serem extremamente hidrofílicas.

A membrana plasmática corresponde a uma bicamada fluida de fosfolipídios descontínuos com proteínas globulares parcialmente incorporadas a essa matriz (Sych *et al.*, 2018). Essas proteínas desempenham um papel vital na proteção da integridade do interior da célula e regulam minuciosamente a importação e exportação de várias substâncias (Sych *et al.*, 2018). A peroxidação lipídica que causa danos à membrana é a formação de hidroperóxidos, por meio da reação entre moléculas de oxigênio e ácidos graxos insaturados (Gaschler; Stockwell, 2017), modificando a permeabilidade da membrana, levando, assim, a sua desestruturação (Ali *et al.*, 2017).

O dano à membrana plasmática da semente não só proporciona uma troca inadequada de solutos entre a célula e o ambiente externo, mas também leva a um aumento dos danos ao material genético pelo malondialdeído (MDA), aumentando o consumo de reservas. Desse modo, as sementes com lesão na membrana plasmática apresentam perdas mais consideráveis de vigor e viabilidade (Pádua, 2019).

A deterioração das sementes é um processo degenerativo irreversível e cumulativo (Kapoor *et al.*, 2011), que se origina no ponto de maturidade fisiológica, com a semente ainda ligada à planta e termina com a sua morte, isto é, com a perda da capacidade de germinar. Danos de caráter ultra estrutural e bioquímico ocorrem antes mesmo que sejam percebidos pelo teste de germinação, como a danificação dos sistemas de membranas, do DNA e de outros constituintes celulares (Walters *et al.*, 2010).

As principais substâncias de reserva das sementes consistem de proteínas, carboidratos (principalmente amido) e / ou lipídeos (triglicerídeos ou ácidos graxos). Moléculas de carbono em ácidos graxos são altamente reduzidas, então, a oxidação de reserva lipídica durante a germinação libera mais que o dobro de energia que a oxidação de carboidratos e proteínas de reserva, em base de grama por grama (Graham, 2008; Baud; Lepiniec, 2010; Bewley; Black, 2012). O processo de biossíntese de ácidos graxos começa no início da fase de maturação, logo que a morfogênese é finalizada (Baud; Lepiniec, 2010).

Os lipídios são definidos como compostos insolúveis em água constituídos por diversas substâncias, estando entre elas os ácidos graxos, que são ácidos carboxílicos com cadeias hidrocarbonadas, que podem apresentar diferentes comprimentos de cadeia de carbonos (cadeia curta, média e longa); essas podem apresentar ou não duplas ligações (saturados e insaturados), além de possuírem diferentes configurações das duplas ligações (cis e trans). Os ácidos graxos insaturados contêm uma ou mais duplas ligações na cadeia hidrocarbonada e são classificados em monoinsaturados ou poliinsaturados e pertencem a diferentes séries, sendo denominados como ômega-3, ômega-6 e ômega-9 (Nasciutti *et al.*, 2015).

Alguns estudos relataram que sementes contendo lipídios como o principal componente de armazenamento possuem vida mais curta do que sementes com

principal componente as proteínas ou reservas de carboidratos (Nagel; Börner, 2010), enquanto outros não encontraram associação entre as reservas de armazenamento de sementes e a sua longevidade (Walters *et al.*, 2005; Probert *et al.*, 2009). No entanto, a capacidade de armazenamento da semente pode estar relacionada à composição lipídica, ao invés do conteúdo lipídico, particularmente em relação à estabilidade lipídica (Ponquett *et al.*, 1992) e propriedades térmicas (Crane *et al.*, 2003; 2006).

No armazenamento, as sementes sofrem alterações progressivas em seus constituintes celulares (proteínas, lipídios, ácidos nucleicos, açúcares, etc.), em função do processo de oxidação, como a reação de Maillard e Amadori (Murthy; Sun, 2000), peroxidação lipídica (Wilson Jr.; McDonald Jr., 1986) ou carbonilação de proteínas (Arc *et al.*, 2011). No início do armazenamento ocorre a liberação da dormência e um aumento na germinação das sementes. Consequentemente, com o prolongamento do armazenamento em condições não ideais, ocorre um acúmulo do dano celular oxidativo, induzindo a perda do vigor das sementes e levando a incapacidade de germinação (Sano *et al.*, 2016).

As baixas taxas de respiração e metabolismo, inferidas pelo decréscimo de compostos intermediários do ciclo do ácido tricarboxílico, caracterizam a permanência das sementes em estado de criptobiose (Fait *et al.* 2006; Hell, 2014; Marcos Filho, 2015). Fait *et al.* (2006) observaram alterações no perfil metabólico e de transcritos durante o desenvolvimento de sementes de *Arabidopsis thaliana*, considerada ortodoxa, indicando redução no metabolismo durante a fase de secagem.

Em sementes ortodoxas secas observa-se, ainda, acúmulo de proteínas LEA (“Late Embryogenesis Abundant”) e de açúcares não redutores, como a sacarose e oligossacarídeos da série da rafinose (OSR) em quantidades relativamente elevadas (Hoekstra *et al.*, 2001; Baud *et al.*, 2002; Angelovici *et al.*, 2010).

Durante o período no qual as sementes mantêm intensa atividade metabólica, mas não completam a germinação, o metabolismo pode ser desordenado, com consumo de reservas e liberação de radicais livres. Ambas as atividades prejudicam a manutenção da viabilidade das sementes durante o armazenamento e, consequentemente, favorecem sua rápida deterioração (Barbedo; Marcos Filho, 1998; Berjak; Pammenter, 2008). Outra possibilidade seria a presença de reações

oxidativas, que não a respiração, tais como a peroxidação de lipídios e oxidação de compostos fenólicos, que podem estar envolvidos com a deterioração das sementes (Hendry, 1993; McDonald, 1999; Bailly, 2004; Berjak; Pammenter, 2008; Roach *et al.*, 2010).

Se os ácidos graxos são de um tipo ou outro (insaturados ou saturados) suas concentrações têm consequências para o comportamento de armazenamento (Walters *et al.*, 2004; Crane *et al.*, 2006; Walters *et al.*, 2015). As sementes são mortas se expostas à água livre, enquanto seus triacilgliceróis estão cristalizados (Crane *et al.*, 2003; Volk *et al.*, 2006). Assim, sementes, com altas concentrações de lipídeos saturados, os quais não se liquefazem à temperatura de 25 °C, normalmente utilizada para germinação no laboratório ou em campo e que foram armazenadas a temperatura subzero, podem necessitar de um tratamento térmico, para que os lipídeos voltem à conformação original, antes de serem postas a germinar. A água livre poderá induzir danos às membranas das sementes e ocasionar perda dos compostos solúveis, especialmente em sementes de comportamento intermediário e recalcitrante, que apresentam uma maior percentagem de ácidos graxos saturados de cadeia longa (Ellis *et al.*, 1990; Sacandé *et al.*, 2000).

O processo de deterioração da semente ainda é mal compreendido, sendo, então, uma importante área de pesquisa (Hu *et al.*, 2012). Portanto, estudos com informações sobre a capacidade de armazenamento de sementes tornam-se relevantes e podem auxiliar a definir estratégias de conservação, o que é particularmente essencial para o estabelecimento de novos campos de produção por agricultores de baixa tecnologia, que são predominantes no Brasil (Arruda *et al.*, 2004).

3 HIPÓTESE

Durante o período de armazenamento, o metabolismo é reduzido, porém, ocorre consumo de reservas e liberação de radicais livres. Com isso, ocorrem alterações na resposta fisiológica da semente, em relação a dormência, germinação e deterioração, que se acentuam quanto maior o teor de água das sementes. Supõe-se, então, que, quanto maior o período de armazenamento e maior o teor de água da semente, ocorrerá alteração no perfil lipídico, na relação ácidos graxos insaturados por saturados, no processo oxidativo e na resposta antioxidante, com reflexos no comportamento fisiológico da semente.

4 OBJETIVO

O objetivo foi caracterizar o comportamento das sementes de espécies de *Urochloa* e seus respectivos cultivares, durante o armazenamento das sementes em ambiente a 4,5 e 50% de umidade relativa, relacionando ao comportamento fisiológico de germinação, dormência, processo oxidativo, na resposta antioxidante e na alteração do perfil lipídico.

5 MATERIAL E MÉTODOS

5.1 Estudo do armazenamento de sementes

5.1.1 Seleção e condicionamento de sementes

O presente experimento foi conduzido com um lote de sementes puras de cada cultivar provenientes de associados da ANPROSEM - Associação Nacional de Produtores de Sementes de Gramíneas e Leguminosas Forrageiras, localizada no município de Presidente Prudente – SP.

Foram utilizadas sementes das seguintes espécies e respectivos cultivares: *Urochloa brizantha* cv. 'Marandu', 'Basilisk', 'MG5 Vitória' e 'BRS Piatã', *U. humidicola* cv. 'Tully' e 'Llanero' e *U. ruziziensis* cv. 'Kennedy'

As sementes foram selecionadas por fluxo de ar em um soprador de sementes do modelo South Dakota (DeLeo, Porto Alegre - RS) e, em seguida, manualmente usando pinça para comporem porções de sementes puras, uma vez que as sementes solicitadas e recebidas das empresas foram as colhidas no campo de produção e não foram beneficiadas.

Os lotes de sementes de cada cultivar foram divididos em duas porções. As porções foram colocadas em sacos de papel que foram equilibrados sobre sílica gel branca (com sílica laranja usada como indicador), fornecendo 4,5% de umidade relativa (UR), e outra sobre uma solução de cloreto de lítio (36,4 g de LiCl em 100 mL de H₂O), fornecendo 50% UR (Hay *et al.*, 2008).

As sementes equilibradas foram mantidas em duas caixas plásticas herméticas com vedação de borracha (28,5 x 10,0 x 21,5 cm) durante o período de armazenamento de 24 meses, a temperatura de 20 ± 3 °C nos ambientes com 4,5 e 50% de UR (Figura 1), verificadas com termohigrômetro digital periodicamente.

As sementes foram amostradas em intervalos de 90 dias (0, 3, 6, 9, 12, 15 e 24 meses) ao longo do período de armazenamento. A UR foi verificada usando um potenciômetro WP4T Dew Point (Decagon Devices Inc., Pullman, WA, EUA), que mede o potencial da água (MPa), o qual foi posteriormente convertido em UR (%).

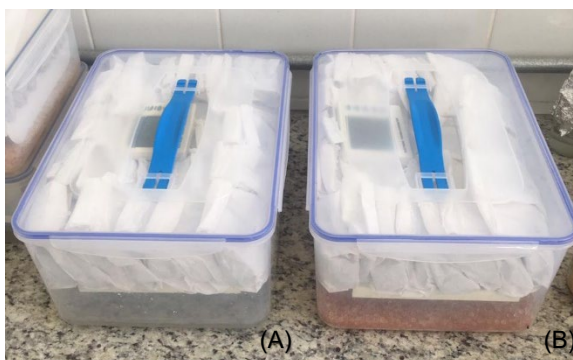


Figura 1 - Caixas plásticas herméticas armazenadas a temperatura de 20 ± 3 °C nos ambientes com 50% (A) e 4,5% (B) de umidade relativa. Fonte: Autor.

5.1.2 Teor de água nas sementes

O teor de água foi determinado gravimetricamente uma semana após o equilíbrio das sementes e depois a cada período de avaliação; para isso, um grama de sementes por tratamento (duas repetições cada) foi colocado em uma estufa sem fluxo de ar a temperatura de 105 ± 3 °C por 24 h (Brasil, 2009).

5.1.3 Germinação e viabilidade de sementes

O teste de germinação foi realizado com quatro subamostras de 100 sementes para cada período de armazenamento e umidade relativa. As sementeiras foram realizadas sobre duas toalhas de papel toalha (tipo germitest), dentro de caixas plásticas transparentes, que foram posteriormente mantidas em um germinador, regulado para fornecer a temperatura alternada de 15-35 °C, com um fotoperíodo de oito horas, coincidindo com a maior temperatura (Brasil, 2009). A germinação foi mensurada a cada dois dias, durante 21 dias após a sementeira, e as sementes foram consideradas germinadas quando a protrusão radicular primária atingiu 2 mm.

Ao final do teste de germinação, as sementes restantes foram submetidas ao teste de tetrazólio (TZ), de acordo com Abrantes *et al.* (2020) com modificações, para determinar a porcentagem de sementes dormentes (coloridas por TZ) e mortas (não coloridas por TZ). Para isso, as sementes foram embebidas por 16 h em papel umedecido com água na proporção de 2,5 vezes a massa do papel seco e depois cortadas manualmente (longitudinalmente até dois terços, atingindo o embrião e

parte do endosperma) foram imersas em solução de cloreto de 2,3,5-trifenil tetrazólio a 0,1% por 5 horas a 40 °C no escuro. Posteriormente, a solução foi descartada, as sementes foram enxaguadas e os embriões considerados viáveis quando as partes vitais estavam coloridas de vermelho. Os resultados foram expressos em porcentagem de sementes viáveis.

A classificação visual da imagem do teste de tetrazólio foi realizada para cada fragmento de semente, baseando-se na classificação proposta pelas Regras para Análise de Sementes (Brasil, 2009), para a espécie em estudo (Figura 2). Considerando-se a localização e a intensidade da coloração, foi possível identificar duas categorias: viáveis e não viáveis.

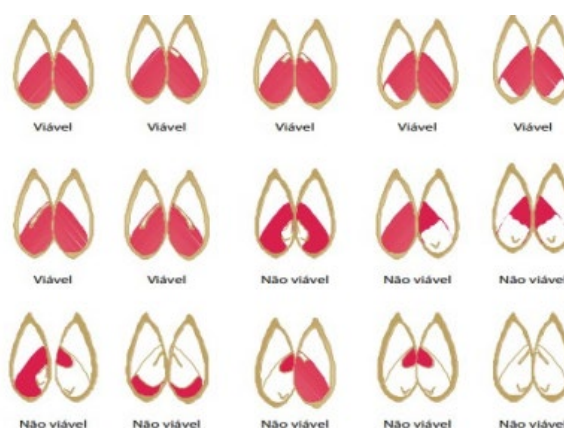


Figura 2 - Escala para classificação visual dos resultados do teste de tetrazólio em sementes de *Urochloa* spp. Fonte: Brasil (2009).

Durante cada período de armazenamento, uma porção de sementes foi submetida as análises bioquímicas para quantificação de H_2O_2 , atividade de superóxido dismutase (SOD), atividade de catalase (CAT), atividade de guaiacol peroxidase (PRX) e determinação do conteúdo lipídico (transesterificação de ácidos graxos e cromatografia gasosa (GC)).

5.2 Análises bioquímicas e alterações durante o armazenamento

5.2.1 Extração enzimática

Quatro subamostras de, aproximadamente, 0,2 g de sementes secas de cada tratamento foram congeladas em nitrogênio líquido e, depois, moídas com um

almofariz e pilão. Posteriormente, foi adicionado tampão fosfato de sódio 0,1 M (pH 7,8), contendo 0,4 g de polivinilpirrolidona e consistindo em ditioneitol 2 mM, EDTA 0,1 mM e PEG4000 1,25 mM a 4 °C. Em seguida, o conteúdo foi bem misturado. Sementes secas foram utilizadas para medir a atividade enzimática, na ausência de qualquer síntese de novo. Os extratos foram centrifugados a 12.000 rpm por 20 minutos e o sobrenadante foi dividido em quatro alíquotas, uma das quais foi usada para quantificação de proteínas (Bradford, 1976).

As restantes alíquotas foram imediatamente analisadas ou armazenadas a -80 °C e, depois, utilizadas para medir a atividade enzimática.

5.2.2 Atividade da Superóxido dismutase (SOD, EC.1.15.11)

A atividade da SOD foi medida de acordo com o método utilizado por Moriya *et al.* (2015). Uma unidade de SOD (por mg de proteína⁻¹) foi definida como a atividade enzimática capaz de inibir a fotoredução do nitro azul tetrazólio (NBT) em formazan azul em 50%.

Cinquenta microlitros do extrato foram adicionados ao tampão fosfato 0,1 M (pH 7,8), adicionado de 1,3 µM de riboflavina, 13 mM de metionina e 63 µM de NBT. Os tubos foram incubados a temperatura de 25 °C por 15 minutos sob luz fluorescente, após o qual a absorbância foi medida a 560 nm. Tubos contendo a mesma mistura e 50 µL do tampão de extração e sem extratos de amostra foram utilizados como controle. Os dados da atividade da SOD foram normalizados para o teor de proteínas, de acordo com o método de Bradford (1976) e expressos em unidades de SOD por miligrama de proteína (Lei *et al.*, 2005).

5.2.3 Atividade de Catalase (CAT, EC. 1.11.1.6)

Duzentos microlitros do sobrenadante do extrato foram adicionados a 4,3 mL de tampão fosfato 50 mM (pH 7,0) contendo 3,125 mM de H₂O₂. A atividade da CAT foi medida usando o decaimento de H₂O₂, medindo a absorbância a 240 nm e foi expressa como nmol de decaimento de H₂O₂ (mg de proteína⁻¹ min⁻¹) (Lei *et al.*, 2005).

5.2.4 Atividade da Guaiacol Peroxidase (PRX, EC. 1.11.1.7)

Um micrograma de proteína, ajustado para 10 µL de extrato, foi adicionado a 2,5 mL de tampão fosfato 0,1 M (pH 7,8), contendo 13 mM de guaiacol e peróxido de hidrogênio a 5 mM, e a mistura foi incubada por 20 minutos a temperatura de 30°C; a absorbância foi medida a 470 nm, usando o procedimento de Putter (1974).

5.2.5 Quantificação de Peróxido de Hidrogênio (H₂O₂)

Foi quantificado segundo o protocolo de Alexieva *et al.* (2001). As amostras de sementes foram maceradas com TCA 0,1% na relação de 100 mg mL⁻¹ (m/v); transferidas para microtubos e centrifugados a 10000 rpm por 15 min a 4°C. A 200 µL do sobrenadante foi adicionado 200 µL de tampão fosfato de potássio 100 mM (pH 7,8) e 800 µL de iodeto de potássio 1 M. Os tubos com a reação foram colocados no gelo e permaneceram no escuro, durante uma hora. Para estabilizar a reação, as amostras permaneceram 20 min no escuro e em temperatura ambiente, sendo posteriormente, realizada a leitura em espectrofotômetro a 390 nm. A quantidade de H₂O₂ foi expressa em µmol g⁻¹ de massa fresca.

5.3 Determinação da composição lipídica

5.3.1 Transesterificação de ácidos graxos e cromatografia gasosa (GC)

Para esta determinação, no período inicial (0 meses) e período final (24 meses) foram armazenadas 20 unidades de espiguetas (Figura 3A) de cada cultivar e cariopses que foram divididas em duas porções, sendo a porção superior (endosperma) e a porção inferior (embrionária).

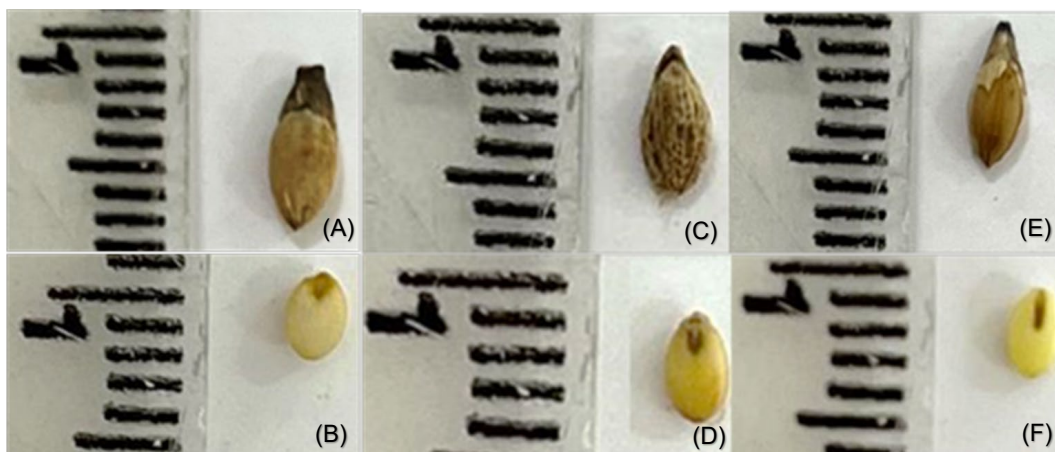


Figura 3 - Espiguetas e cariopse das espécies de *Urochloa*.

Espiguetas (A) e cariopse (B) de *Urochloa brizantha* cv. 'Marandu', espiguetas (C) e cariopse (D) de *U. humidicola* cv. 'Llanero' e espiguetas (E) e cariopse (F) de *U. ruziziensis* cv. 'Kennedy'. Fonte: Autor.

As espiguetas e divisão da cariopse (Figura 4) foram armazenadas em ultrafreezer à -80°C para que não ocorresse interferência no processo de transesterificação de ácidos graxos e impedir a recuperação dos mesmos.

Ao fim do período de armazenamento, foi realizada uma análise prévia de transesterificação de ácidos graxos e cromatografia gasosa, para determinação de qual amostra apresentaria maior porcentagem de ácidos graxos na composição. A partir disso, a metodologia selecionada para a análise foi com a porção inferior macerada.

Por causa da facilidade e alto conteúdo recuperado, a transesterificação direta, tendo ácido sulfúrico em metanol como catalisador (Cavonius *et al.*, 2014), foi utilizada neste estudo, seguindo a metodologia adaptada de Colville *et al.* (2016).

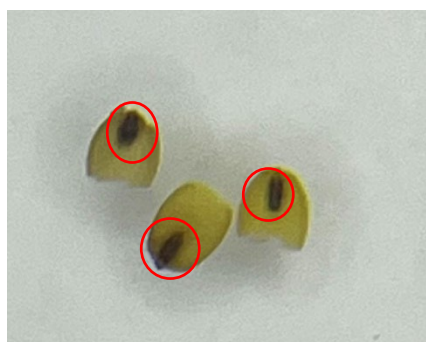


Figura 4 - Cariopse cortada de *Urochloa brizantha* cv. 'Marandu' mostrando a porção inferior (embrionária). Fonte: Autor.

Os dados de composição percentual de lipídeos foram agrupados em categorias: a) saturados e b) insaturados, os quais foram por sua vez divididos em b1) monoinsaturados e b2) polinsaturados. Com estes dados foram calculados os valores de DBI (Double Bond Index) (Pamplona *et al.*, 1998) através da fórmula:

DBI = $\sum \text{mol\% of unsaturated fatty acids} \times \text{number of each unsaturated}$ e PI (Peroxidation index, Pamplona *et al.*, 1998):

PI = ($\% \text{ monoenoic acid} \times 0,025 + \% \text{ dienoic acid} \times 1 + \% \text{ trienoic acid} \times 2$), os quais juntamente com a relação de $\frac{\sum \text{insaturado}}{\sum \text{saturado}}$, permitiram a classificação das sementes em categorias.

Os ácidos graxos saturados foram calculados como SFA= $\Sigma\%$ (16:0+18:0). Os ácidos graxos insaturados foram calculados como UFA= $\Sigma\%$ (monoinsaturados + poliinsaturados). Os ácidos graxos monoinsaturados foram calculados como MUFA = $\Sigma\%$ (16:1+18:1). Os ácidos graxos polinsaturados foram calculados como PUFA = $\Sigma\%$ (18:2).

5.4 Análise estatística

O experimento de armazenamento foi conduzido de acordo com um delineamento inteiramente casualizado, separadamente para cada genótipo, considerando duas condições de armazenamento (4,5 e 50% de UR) e 7 períodos de armazenamento (0, 3, 6, 9, 12, 15 e 24 meses), em esquema fatorial 2 x 7. O programa estatístico SISVAR foi utilizado para a realização das análises e verificação da distribuição normal pelo teste de Shapiro-Wilk para decisão sobre necessidade de transformação dos dados de alguma variável.

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA). Quando significativos, de acordo com o teste F, as médias dos tratamentos foram agrupadas pelo teste de Scott-Knott ($p \leq 0,05$).

6 RESULTADOS

6.1 Análise do grau de umidade nas diferentes condições e períodos de armazenamento

Dentre os fatores que afetam a conservação de sementes, são de grande importância, a umidade relativa do ar e a temperatura, pois caso sejam desfavoráveis, causam redução do potencial fisiológico das sementes.

Na Tabela 1, é possível perceber que no ambiente de 4,5% de UR, a umidade das sementes permaneceu entre 6 e 7%. Nas sementes armazenadas à 50% de UR, os valores de umidade da semente se mantiveram estáveis ao longo do período de armazenamento, ficando entre 10 a 13% de teor de água.

Tabela 1 - Porcentagem de médias ($\pm$ DP) do teor de água das sementes de espécies de *Urochloa* com 4,5% e 50% de umidade relativa, durante os períodos de 0, 3, 6, 9, 12, 15 e 24 meses de armazenamento.

Armazenamento com 4,5% de UR							
U _{BS} (%)							
Período de armazenamento (meses)							
Cultivar	0	3	6	9	12	15	24
Marandu	5.85 $\pm$ 0.63	5.50 $\pm$ 0.29	6.71 $\pm$ 3.93	9.12 $\pm$ 0.77	6.56 $\pm$ 0.50	6.83 $\pm$ 0.17	6.69 $\pm$ 0.59
Basilisk	6.79 $\pm$ 0.20	6.34 $\pm$ 0.23	8.54 $\pm$ 0.15	8.61 $\pm$ 0.32	7.19 $\pm$ 0.77	6.61 $\pm$ 0.38	6.61 $\pm$ 0.63
BRS Piatã	5.72 $\pm$ 0.54	5.63 $\pm$ 0.43	7.01 $\pm$ 0.81	9.32 $\pm$ 0.31	7.96 $\pm$ 0.59	6.47 $\pm$ 0.31	6.46 $\pm$ 0.58
MG5 V.	6.02 $\pm$ 0.54	5.58 $\pm$ 0.40	8.14 $\pm$ 1.31	8.40 $\pm$ 0.61	8.48 $\pm$ 1.03	7.43 $\pm$ 0.70	7.04 $\pm$ 0.70
Tully	6.04 $\pm$ 0.09	4.95 $\pm$ 0.78	7.02 $\pm$ 3.04	8.71 $\pm$ 0.58	6.65 $\pm$ 1.05	5.61 $\pm$ 1.20	8.96 $\pm$ 0.68
Llanero	5.13 $\pm$ 0.20	6.67 $\pm$ 1.87	7.28 $\pm$ 0.76	9.43 $\pm$ 1.51	6.77 $\pm$ 1.53	6.09 $\pm$ 0.12	6.57 $\pm$ 0.91
Kennedy	6.12 $\pm$ 0.67	5.41 $\pm$ 0.49	8.32 $\pm$ 1.84	8.50 $\pm$ 0.17	7.18 $\pm$ 0.25	6.69 $\pm$ 0.25	7.87 $\pm$ 0.74
Armazenamento com 50% de UR							
U _{BS} (%)							
Período de armazenamento (meses)							
Cultivar	0	3	6	9	12	15	24
Marandu	10.10 $\pm$ 1.62	10.16 $\pm$ 0.49	11.39 $\pm$ 0.07	9.27 $\pm$ 0.15	11.61 $\pm$ 1.27	11.05 $\pm$ 0.40	11.20 $\pm$ 0.86
Basilisk	10.10 $\pm$ 0.08	10.14 $\pm$ 0.36	11.58 $\pm$ 0.46	10.83 $\pm$ 0.86	11.46 $\pm$ 0.49	10.90 $\pm$ 0.22	10.30 $\pm$ 0.43
BRS Piatã	12.52 $\pm$ 1.18	12.21 $\pm$ 3.42	10.89 $\pm$ 0.41	10.72 $\pm$ 0.20	12.78 $\pm$ 0.39	11.42 $\pm$ 0.23	10.83 $\pm$ 0.74
MG5 V.	10.14 $\pm$ 0.43	9.71 $\pm$ 0.32	12.50 $\pm$ 2.44	10.21 $\pm$ 0.74	12.60 $\pm$ 0.46	11.38 $\pm$ 0.22	11.20 $\pm$ 0.28
Tully	11.07 $\pm$ 0.63	10.28 $\pm$ 0.96	11.70 $\pm$ 0.43	9.93 $\pm$ 0.69	12.48 $\pm$ 0.63	9.93 $\pm$ 0.34	10.69 $\pm$ 0.46
Llanero	10.32 $\pm$ 0.57	9.99 $\pm$ 0.28	11.59 $\pm$ 0.41	10.75 $\pm$ 0.41	13.35 $\pm$ 0.13	11.42 $\pm$ 1.33	10.32 $\pm$ 0.30
Kennedy	9.68 $\pm$ 1.46	9.73 $\pm$ 0.20	11.10 $\pm$ 1.77	10.31 $\pm$ 0.38	13.25 $\pm$ 0.86	10.93 $\pm$ 0.64	10.89 $\pm$ 0.55

Umidade em base úmida (U_{BS}). Fonte: Autor.

Vale ressaltar que as sementes se mantiveram em temperatura constante de 20°C durante todo o armazenamento, em ambas as umidades relativas que lhe foram impostas. Quanto maior a temperatura, em especial entre 21 e 27°C, maior a

taxa respiratória das sementes e a atividade de fungos, ao passo que, quanto mais baixa, maior será a probabilidade de manter uma boa conservação (Peske *et al.*, 2012).

6.2 Caracterização da qualidade fisiológica e viabilidade das sementes

6.2.1 Germinação (G), índice de velocidade de germinação (IVG) e dormência (D) em sementes armazenadas com 4,5% e 50% de umidade relativa

No cultivar 'Marandu' (Tabela 2) pode-se observar um aumento na G, em ambas as condições, com o avanço no período de armazenamento, ocorrendo um decréscimo no 3º, 12º e último mês para as sementes na condição de 4,5%, e no 3º mês, nas sementes a 50% de UR, chegando a 55% de G. A maior porcentagem de G nas sementes à 50% de UR ocorreu no 15º mês (85,7%), período em que houve um menor valor de H_2O_2 presente nas amostras desse cultivar, sinalizando um estresse oxidativo menos pronunciado.

O IVG diminuiu somente no 12º mês nas sementes armazenadas com menor umidade relativa (4,5%), confirmando o menor valor de G no período, bem como o aumento na porcentagem de dormência (Tabela 2). Os maiores valores de IVG foram observados no 15º mês, em ambas as condições, assim como observado nos resultados de G.

Como as sementes ficaram armazenadas no estado seco, o baixo teor de água na semente impediu a atividade metabólica, aumentando a quantidade de espécies reativas de oxigênio (ROS), promovendo a liberação da dormência após determinado período.

Tabela 2 - Médias da porcentagem de germinação (G), índice de velocidade de germinação (IVG) e dormência (D) para sementes de *U. brizantha* cv. 'Marandu', armazenadas com 4,5% e 50% de umidade relativa, em diferentes períodos de armazenamento.

<i>Urochloa brizantha</i> cv. Marandu								
G (%)								
Período de Armazenamento (meses)								
UR	0	3	6	9	12	15	24	Médias
4,5%	65,5 Aa	55,2 Ba	66,7 Aa	69,2 Aa	42,7 Bb	78,0 Aa	47,0 Bb	60,6
50%	66,7 Ba	55,0 Ba	66,0 Ba	72,5 Aa	67,7 Ba	85,7 Aa	74,2 Aa	69,6
Médias	66,1	55,1	65,8	71,0	55,2	81,7	60,6	
IVG								
UR	0	3	6	9	12	15	24	Médias
4,5%	7,0 Aa	5,7 Aa	6,8 Aa	7,3 Aa	3,5 Bb	8,8 Aa	3,7 Bb	6,1
50%	7,1 Ba	5,2 Ba	5,4 Ba	8,3 Aa	6,0 Ba	9,7 Aa	6,3 Ba	6,9
Médias	7,1	5,5	6,1	7,8	4,7	9,3	5,0	
D (%)								
UR	0	3	6	9	12	15	24	Médias
4,5%	8,5 Ab	9,2 Aa	2,2 Ba	2,7 Ba	7,7 Aa	3,0 Ba	1,2 Ba	4,9
50%	12,0 Aa	12,0 Aa	4,0 Ba	4,0 Ba	3,2 Ba	1,2 Ba	1,0 Ba	5,3
Médias	10,2	10,6	3,1	3,3	5,5	2,1	1,1	

Letras maiúsculas comparam os períodos e letras minúsculas comparam os níveis de umidade relativa.

Letras iguais não apresentam diferença pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade de erro.

O percentual germinativo do cultivar Basilisk (Tabela 3) permaneceu em alta durante todos os períodos de armazenamento, sendo maior no 15º mês, nas duas condições de UR, com valores de 87 e 86,5% de G, nas condições de 4,5 e 50% de UR, respectivamente.

O IVG apresentou diferença estatística entre os tratamentos, onde o maior valor, na condição de armazenamento com 4,5% de umidade relativa ocorreu no 15º mês de avaliação. Nas sementes armazenadas a 50% de UR, o maior valor foi observado no primeiro mês, quando comparado aos meses seguintes.

Um aumento da dormência pode ser verificado no último mês de avaliação nas sementes à 50% de UR, ocorrendo a diminuição na germinação dessas sementes, provavelmente ocorrida por danos oxidativos (deterioração).

Tabela 3 - Médias para porcentagem de germinação (G), índice de velocidade de germinação (IVG) e dormência (D) para sementes de *U. brizantha* cv. 'Basilisk', armazenadas com 4,5% e 50% de umidade relativa, em diferentes períodos de armazenamento.

<i>Urochloa brizantha</i> cv. Basilisk								
G (%)								
Período de Armazenamento (meses)								
UR	0	3	6	9	12	15	24	Médias
4,5%	80,0	85,2	81,0	76,2	79,5	87,0	83,5	81,8 a
50%	86,0	84,2	79,0	83,5	76,2	86,5	79,0	82,0 a
Médias	83,2 A	85,0 A	80,0 B	80,0 B	78,0 B	87,0 A	81,2 B	
IVG								
UR	0	3	6	9	12	15	24	Médias
4,5%	11Ab	6,5 Ba	5,9 Ba	7,4 Ba	1,7 Db	11,9 Aa	4,1 Ca	6,9
50%	14,4 Aa	6,7 Da	5,5 Da	9,3 Ca	4,9 Da	11,4 Ba	4,4 Da	8,1
Médias	13,0	7,0	6,0	8,3	3,3	12,0	4,2	
D (%)								
UR	0	3	6	9	12	15	24	Médias
4,5%	2,0 Aa	0,5 Aa	1,0 Aa	1,5 Aa	1,0 Aa	1,5 Aa	0,2 Ab	1,0
50%	0,2 Bb	1,0 Ba	1,0 Ba	0,2 Ba	0,5 Ba	0,2 Ba	4,5 Aa	1,1
Médias	1,1	0,7	0,8	0,8	0,7	0,8	2,3	

Letras maiúsculas comparam os períodos e letras minúsculas comparam os níveis de umidade relativa. Letras iguais não apresentam diferença pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade de erro.

Nos primeiros meses de armazenamento (0 e 3 meses) das sementes à 4,5% de UR, do cultivar BRS Piatã (Tabela 4), a germinação se manteve entre 75 e 78%, aumentando no mês seguinte, chegando a 83%. Porém, nos próximos dois meses (9 e 12 meses) ocorreu uma diminuição, sendo essa, abaixo de 70%. No 15º mês de armazenamento, as sementes apresentaram, novamente, um percentual maior de germinação (82%), quando comparado com os outros períodos avaliados.

Em relação as sementes que estavam à 50% de UR, a germinação se manteve acima de 70% nos períodos de 0 a 15 meses, apresentando uma grande diminuição no último mês, ficando com 57,5%. No 15º mês ocorreu o maior percentual de germinação (90%), assim como o IVG, que também foi maior neste mesmo período.

A redução na germinação no último período das sementes armazenadas à 50% de UR, pode estar relacionada ao alto grau de umidade das sementes, uma vez que sementes com maior grau de umidade absorvem água mais rapidamente, levando à deterioração, em comparação com sementes com menor teor de água (Morais; Rossetto, 2013).

Tabela 4 - Médias para porcentagem de germinação (G), índice de velocidade de germinação (IVG) e dormência (D) para sementes de *U. brizantha* cv. 'BRS Piatã', armazenadas com 4,5% e 50% de umidade relativa, em diferentes períodos de armazenamento.

<i>Urochloa brizantha</i> cv. BRS Piatã								
G (%)								
Período de Armazenamento (meses)								
UR	0	3	6	9	12	15	24	Médias
4,5%	75,5 Ba	78,0 Bb	83,0 Aa	68,5 Cb	69,0 Cb	82,0 Ab	72,0 Ca	75,2
50%	74,2 Ca	86,5 Aa	82,2 Ba	82,5 Ba	73,0 Ca	90,0 Aa	57,5 Db	78,0
Médias	74,8	82,2	82,5	75,5	70,8	86,0	64,6	
IVG								
UR	0	3	6	9	12	15	24	Médias
4,5%	11,1	6,1	7,9	6,6	3,2	10,5	1,2	6,7 a
50%	11,4	7,0	6,2	6,3	4,6	12,1	4,9	7,5 a
Médias	11,3 A	6,5 B	7,1 B	6,5 B	4,0 B	11,3 A	3,0 C	
D (%)								
UR	0	3	6	9	12	15	24	Médias
4,5%	4,0	3,0	1,5	1,2	0,8	0,2	0,2	1,5 a
50%	2,0	2,7	0,5	0,7	0,0	1,2	0,0	1,0 a
Médias	2,8 A	3,0 A	1,0 B	1,0 B	0,3 B	0,7 B	0,1 B	

Letras maiúsculas comparam os períodos e letras minúsculas comparam os níveis de umidade relativa. Letras iguais não apresentam diferença pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade de erro.

O IVG, em ambas as condições de umidade, foi maior no primeiro e no 15º mês de armazenamento, condizendo com os resultados da germinação do 15º mês. Assim como apresentou um menor percentual de germinação no 12º mês, o IVG também foi menor nas sementes à 4,5% e à 50% de UR. Isso ocorreu também no último período de armazenamento (24 meses).

As sementes apresentaram maior percentual de dormência no primeiro e no 3º mês de avaliação, nas duas condições de UR, chegando a 4% nas sementes à 4,5% de UR.

A umidade das sementes no 6º e 9º período podem ter influenciado os resultados de germinação e dormência, como pôde ser observado na Tabela 1.

O maior valor de G nas sementes de *U. brizantha* cv. 'MG5 Vitória' (Tabela 5) ocorreu no primeiro mês de avaliação, nas duas condições de UR, sendo ele de 74,2 e 81,7% nas UR de 4,5 e 50%, respectivamente. No último mês de avaliação, houve uma grande diminuição na G, em ambas as UR, ficando abaixo de 50%, coincidindo com o período em que ocorreu maior acúmulo de H₂O₂.

Os resultados de IVG reafirmam os da G, onde na primeira avaliação, os valores foram maiores, quando comparados com os meses subsequentes, tendo somente apresentado um aumento no 15º mês.

A dormência, quando comparado o primeiro mês de armazenamento dos seguintes, diminuiu. Porém, quando se compara os resultados do 9º e do 15º mês, em ambas as cultivares, observa-se um aumento, sendo ele de 57,1% e mais de 100% nas sementes armazenadas a 4,5% e 50% de UR, respectivamente (Tabela 5).

Tabela 5 - Médias para porcentagem de germinação (G), índice de velocidade de germinação (IVG) e dormência (D) para sementes de *U. brizantha* cv. 'MG5 Vitória', armazenadas com 4,5% e 50% de umidade relativa, em diferentes períodos de armazenamento.

<i>Urochloa brizantha</i> cv. MG5 Vitória								
G (%)								
Período de Armazenamento (meses)								
UR	0	3	6	9	12	15	24	Médias
4,5%	74,2 Aa	51,5 Ba	66,5 Aa	36,2 Cb	47,7 Ba	72,7 Aa	27,5 Cb	53,7
50%	81,7 Aa	53,2 Ba	53,7 Ba	54,5 Ba	52,5 Ba	68,0 Aa	50,0 Ba	59,1
Médias	78,0	52,3	60,1	45,3	50,1	70,3	38,7	
IVG								
UR	0	3	6	9	12	15	24	Médias
4,5%	7,3	4,1	7,0	3,6	3,7	8,5	2,7	5,3 a
50%	8,2	4,4	4,4	5,9	5,8	8,1	4,3	5,9 a
Médias	7,7 A	4,3 B	5,7 B	4,7 B	4,7 B	8,3 A	3,5 B	
D (%)								
UR	0	3	6	9	12	15	24	Médias
4,5%	13,2 Aa	11,0 Aa	1,2 Cb	3,5 Ba	3,0 Ba	5,5 Ba	0,0 Cb	5,3
50%	3,0 Cb	7,5 Ab	4,7 Ba	1,2 Ca	2,0 Ca	4,5 Ba	4,0 Ba	3,8
Médias	8,1	9,2	3,0	2,3	2,5	5,0	2,0	

Letras maiúsculas comparam os períodos e letras minúsculas comparam os níveis de umidade relativa. Letras iguais não apresentam diferença pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade de erro.

No 12º mês de avaliação também ocorreu um decréscimo significativo no IVG, nas sementes a 4,5% de UR, tendo esse valor aumentado no mês seguinte, ficando próximo ao maior valor observado (12 e 13,2% à 4,5 e 50% de UR, respectivamente), que foi no primeiro mês de avaliação, nas duas condições de armazenamento.

A G das sementes de *U. humidicola* cv. 'Tully' (Tabela 6), na condição de 4,5% de UR, foi maior no 6º mês de avaliação e menor no 9º mês. Diferentemente, as sementes armazenadas a 50% de UR, apresentaram um aumento na G, com o período de armazenamento, chegando a 90% no 15º mês, mesmo período onde

ocorreu o acúmulo da enzima peroxidase, quando comparadas as umidades neste período. O IVG também aumentou.

Tabela 6 - Médias para porcentagem de germinação (G), índice de velocidade de germinação (IVG) e dormência (D) para sementes de *U. humidicola* cv. 'Tully', armazenadas com 4,5% e 50% de umidade relativa, em diferentes períodos de armazenamento.

<i>Urochloa humidicola</i> cv. Tully								
G (%)								
Período de Armazenamento (meses)								
UR	0	3	6	9	12	15	24	Médias
4,5%	75,5 Ba	78,0 Bb	82,7 Aa	68,5 Cb	68,7 Cb	81,7 Ab	71,7 Ca	75,2
50%	74,2 Ca	86,3 Aa	82,2 Ba	82,5 Ba	73,0 Ca	90,0 Aa	57,5 Db	78,0
Médias	74,8	82,2	85,5	75,5	70,8	85,8	64,6	
IVG								
UR	0	3	6	9	12	15	24	Médias
4,5%	11,1	6,1	7,9	6,9	3,2	10,5	1,2	6,7 a
50%	11,4	6,9	6,2	6,3	4,7	12,1	4,9	7,5 a
Médias	11,3 A	6,5 B	7,1 B	6,5 B	4,0 C	11,3 A	3,0 C	
D (%)								
UR	0	3	6	9	12	15	24	Médias
4,5%	3,7	3,0	1,5	1,2	0,7	0,2	0,2	1,5 a
50%	2,0	2,7	0,5	0,7	0,0	1,2	0,0	1,0 a
Médias	2,8 A	2,8 A	1,0 B	1,0 B	0,3 B	0,7 B	0,1 B	

Letras maiúsculas comparam os períodos e letras minúsculas comparam os níveis de umidade relativa. Letras iguais não apresentam diferença pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade de erro.

A dormência pode ser citada como um dos principais fatores que dificultam a utilização das sementes de *U. humidicola* e sua incidência pode depender da safra, local e cultivar, de modo semelhante ao verificado para outras espécies do mesmo gênero (Moreira, 2014).

Os valores de D diminuíram com o tempo de armazenamento, chegando a não apresentar dormência nos períodos de 12 e 24 meses, na condição de 50% de UR. Nas sementes à 4,5 de UR a dormência diminuiu de forma gradual, com o período de armazenamento.

O armazenamento adequado visa manter o potencial fisiológico das sementes, reduzindo a deterioração e, além disso, pelos dados obtidos, verificou-se que o armazenamento influenciou, também, na superação da dormência que as sementes de *Urochloa humidicola* possuem. Consequentemente, aumentou a germinação, até o 15º período de avaliação.

Estudos evidenciaram variações nos percentuais de germinação de sementes de *U. brizantha*, ressaltando a heterogeneidade entre amostras de procedências diferentes. Alguns estudos indicaram maiores porcentagens de germinação, variando de 75 a mais de 90% (Custódio *et al.*, 2012), enquanto outros apresentaram desempenho intermediário, ao redor de 50%.

A *Urochloa humidicola* cv. 'Llanero' apresentou um percentual de germinação maior no último mês de avaliação, alcançando 64,2% nas sementes, a 4,5% de UR, assim como as sementes que estavam na condição de 50%, que alcançaram um percentual de 81,5%. Comparando-se as médias, de acordo com cada condição de armazenamento, não houve diferença entre os percentuais germinativos com o período de armazenamento (Tabela 7).

O IVG apresentou um aumento significativo no 15º mês, sendo este em ambas as condições de umidade relativa em que as sementes foram impostas (Tabela 7).

Os percentuais de dormência foram maiores no primeiro mês de avaliação, na condição de 4,5% de UR, sendo esse resultado condizente com o observado para G. Sementes à 50% de UR apresentaram maior dormência no primeiro e no 12º mês, corroborando com os percentuais germinativos desses mesmos períodos.

Tabela 7 - Médias para porcentagem de germinação (G), índice de velocidade de germinação (IVG) e dormência (D) para sementes de *U. humidicola* cv. 'Llanero', armazenadas com 4,5% e 50% de umidade relativa, em diferentes períodos de armazenamento.

<i>Urochloa humidicola</i> cv. Llanero								
G (%)								
Período de Armazenamento (meses)								
UR	0	3	6	9	12	15	24	Médias
4,5%	26,0 Da	41,2 Ca	64,2 Ba	45,7 Cb	54,0 Ba	56,0 Ba	76,7 Aa	52,0
50%	20,5 Ca	48,5 Ba	50,5 Bb	72,7 Aa	43,0 Bb	54,0 Ba	81,5 Aa	52,9
Médias	23,2	44,8	57,3	59,2	48,5	55,0	79,1	
IVG								
UR	0	3	6	9	12	15	24	Médias
4,5%	3,4 Ba	1,5 Ca	3,8 Ba	3,6 Bb	2,5 Ba	7,9 Aa	0,9 Ca	3,4
50%	2,8 Ca	2,7 Ba	2,6 Ba	8,3 Aa	2,9 Ba	7,3 Aa	1,9 Ba	4,1
Médias	3,1	2,1	3,2	6,0	2,7	7,6	1,4	
D (%)								
UR	0	3	6	9	12	15	24	Médias
4,5%	50,0 Aa	16,7 Ba	1,5 Da	6,5 Ca	4,7 Cb	13,0 Ba	0,0 Da	13,2
50%	9,2 Bb	15,5 Aa	4,0 Ca	3,7 Ca	10,2 Ba	5,2 Cb	0,5 Ca	6,9
Médias	29,6	16,1	2,7	5,1	7,5	9,1	0,2	

Letras maiúsculas comparam os períodos e letras minúsculas comparam os níveis de umidade relativa. Letras iguais não apresentam diferença pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade de erro.

Com isso, é possível perceber que no primeiro mês as sementes estavam dormentes e não conseguiram germinar, o que mudou com o período de armazenamento.

Para *Urochloa ruziziensis* cv. Kennedy (Tabela 8), observa-se que a porcentagem de germinação apresentou valores maiores na maioria dos períodos nas sementes armazenadas a 4,5% de UR, quando comparados os valores com os das sementes na condição de 50% de UR, sendo o maior valor no 3º mês (82,2%).

Esse aumento na germinação pode ser atribuído ao papel das ROS como sinalizadores moleculares que desencadeiam a liberação da dormência das sementes. Além disso, o aumento no teor de H₂O₂ pode estimular o crescimento das raízes e das plântulas, contribuindo para o aumento na germinação (Abrantes *et al.*, 2020).

Tabela 8 - Médias para porcentagem de germinação (G), índice de velocidade de germinação (IVG) e dormência (D) para sementes de *U. ruziziensis* cv. 'Kennedy', armazenadas com 4,5% e 50% de umidade relativa, em diferentes períodos de armazenamento.

<i>Urochloa ruziziensis</i> cv. Kennedy								
G (%)								
Período de Armazenamento (meses)								
UR	0	3	6	9	12	15	24	Médias
4,5%	85,5 Aa	77,2 Ba	82,2 Ba	74,2 Ba	90,0 Aa	78,2 Ba	80,1 Ba	81,2
50%	77,5 Ab	82,2 Aa	76,5 Aa	78,7 Aa	69,2 Ab	77,2 Aa	78,0 Aa	77,0
Médias	81,5	79,7	79,3	76,5	79,6	77,7	79,5	
IVG								
UR	0	3	6	9	12	15	24	Médias
4,5%	11,6 Aa	6,4 Ca	8,1 Ba	6,7 Ca	1,6 Db	10,8 Aa	4,5 Ca	7,1
50%	13,2 Aa	6,9 Ba	6,4 Ba	5,4 Ba	7,1 Ba	10,7 Aa	3,7 Ba	7,6
Médias	12,4	6,7	4,2	6,1	4,4	10,7	4,1	
D (%)								
UR	0	3	6	9	12	15	24	Médias
4,5%	2,5	0,2	0,7	2,0	1,0	1,5	0,5	1,1 b
50%	5,0	2,7	3,0	1,2	3,2	2,5	0,2	2,5 a
Médias	3,6 A	1,5 B	1,8 B	1,6 B	2,1 B	2,0 B	0,3 B	

Letras maiúsculas comparam os períodos e letras minúsculas comparam os níveis de umidade relativa.
Letras iguais não apresentam diferença pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade de erro.

O IVG não apresentou diferenças estatísticas nesse cultivar.

A dormência diminuiu no terceiro mês, se mantendo baixa nos meses seguintes nas sementes em condição de 4,5% de UR. O maior valor observado nas duas condições ocorreu no primeiro período, porém, a maior diminuição da D nas sementes a 50% de UR ocorreu somente no último período.

6.3 Caracterização do perfil enzimático das sementes e alterações durante o armazenamento

6.3.1 Atividade da Enzima Superóxido Dismutase (SOD)

A superóxido dismutases (SOD) é a primeira linha de defesa contra as ROS, acumuladas principalmente em situações de estresse, por serem metaloenzimas que catalisam a dismutação do radical superóxido ($O_2^{\bullet-}$) em peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (Gill *et al.*, 2015).

Os cultivares BRS Piatã (Figura 5d), Tully (Figura 5e) e Llanero (Figura 5f) não diferiram significativamente, podendo-se considerar o fato do $O_2^{\bullet-}$ ser uma molécula instável, de meia vida curta (1 a 4 μs), e que por meio de enzimas ou

espontaneamente é convertido em H_2O_2 rapidamente (Gill; Tuteja, 2010; Mittler, 2017).

Pode-se observar que o cultivar Basilisk (Figura 5b) apresentou uma diminuição da atividade da enzima nos períodos do 3º e 9º mês de avaliação, nas sementes armazenadas em 4,5% de UR, ao contrário do que ocorreu à 50% de UR, que demonstraram um aumento na atividade enzimática nesses períodos.

A atividade da enzima aumentou, quando observado o cultivar Marandu (Figura 5a), no mesmo período em que a cv. Basilisk (Figura 5b), nas sementes à 4,5% de UR. Já nas sementes que estavam armazenadas à 50%, o aumento ocorreu nos dois primeiros períodos de avaliação, possivelmente devido a deterioração por umidade. No 15º mês, houve um decréscimo de 20,9%, assim como na germinação.

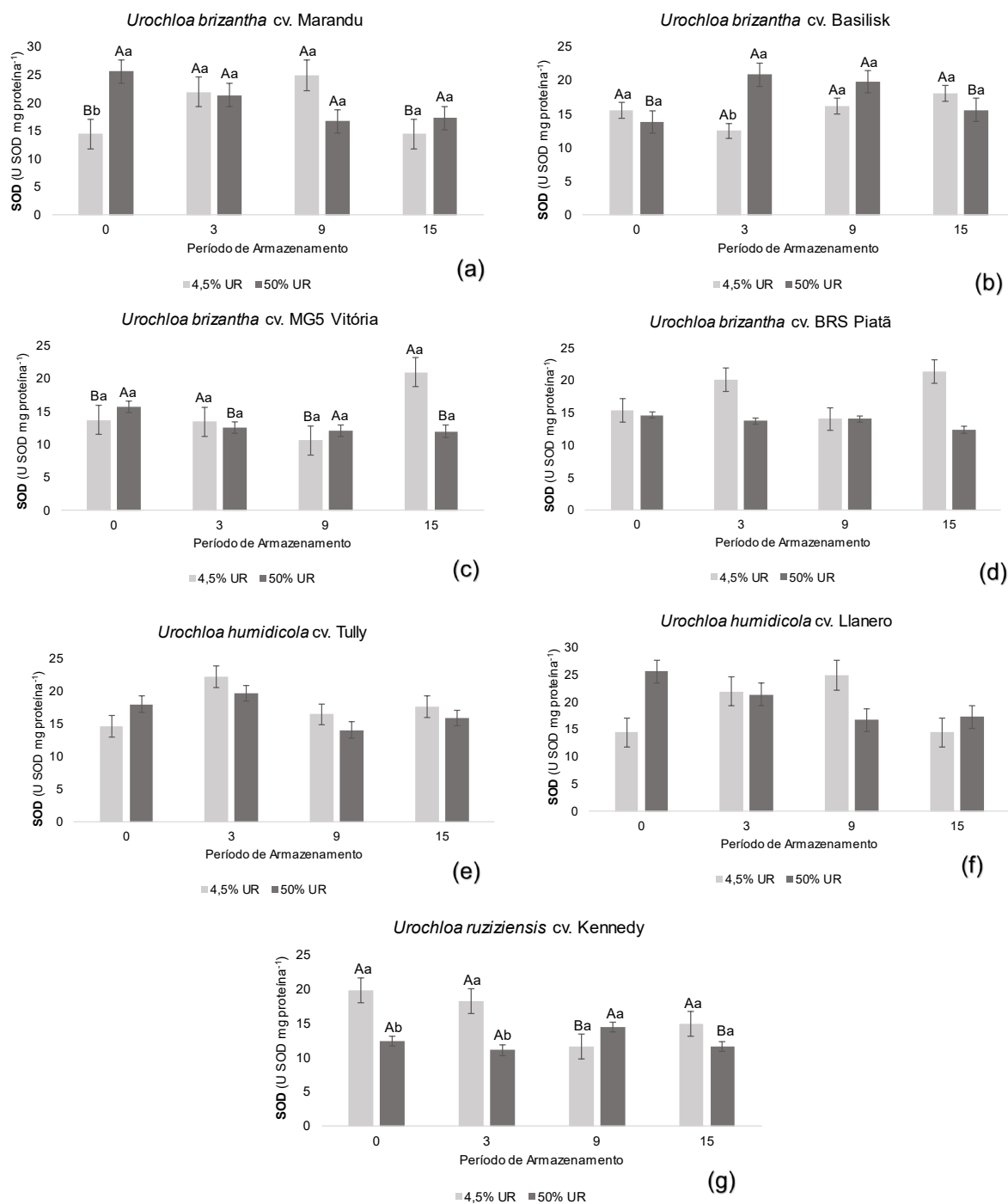


Figura 5 - Atividade da enzima SOD em sementes submetidas a diferentes umidades relativas (4,5% e 50%) e períodos de armazenamento (0, 3, 9 e 15 meses) nas espécies *Urochloa brizantha* 'Marandu' (a), 'Basilisk' (b), 'MG5 Vitória' (c) e 'BRS Piatã' (d), *U. humidicola* 'Tully' (e) e 'Llanero' (f) e *U. ruziziensis* 'Kennedy' (g).

Letras maiúsculas comparam os períodos e letras minúsculas comparam as umidades relativas. Letras iguais não apresentam diferença pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade de erro. Barras de erro sem letras não apresentaram interação entre os fatores.

6.3.2 Atividade da enzima Catalase (CAT)

Na Figura 6 é possível observar que não ocorreram diferenças estatísticas em nenhuma das condições de umidade relativa e, também, no período de armazenamento das sementes das cultivares BRS Piatã, Basilisk, Tully, Llanero e Kennedy (Figuras 6d, 6b, 6e e 6g, respectivamente).

A atividade da enzima CAT é eficaz, especialmente em concentrações relativamente altas de H_2O_2 , sendo, portanto, considerado indispensável para a desintoxicação de ROS, quando os níveis de H_2O_2 são elevados (Melo *et al.*, 2021).

A menor atividade da enzima foi observada no 3º mês e a maior no 9º mês, nas sementes da cv. Marandu (Figura 6a) armazenadas à 4,5% de UR. Na outra condição, a maior atividade de CAT ocorreu no 3º mês.

No cultivar MG5 Vitória (Figura 6d), a atividade da CAT somente apresentou diferença estatística entre os resultados no último período de avaliação, sendo essa diminuição condizente com o resultado de germinação desse período, onde ocorreu a menor percentagem, quando comparado com os períodos anteriores, em ambas as condições de umidade relativa.

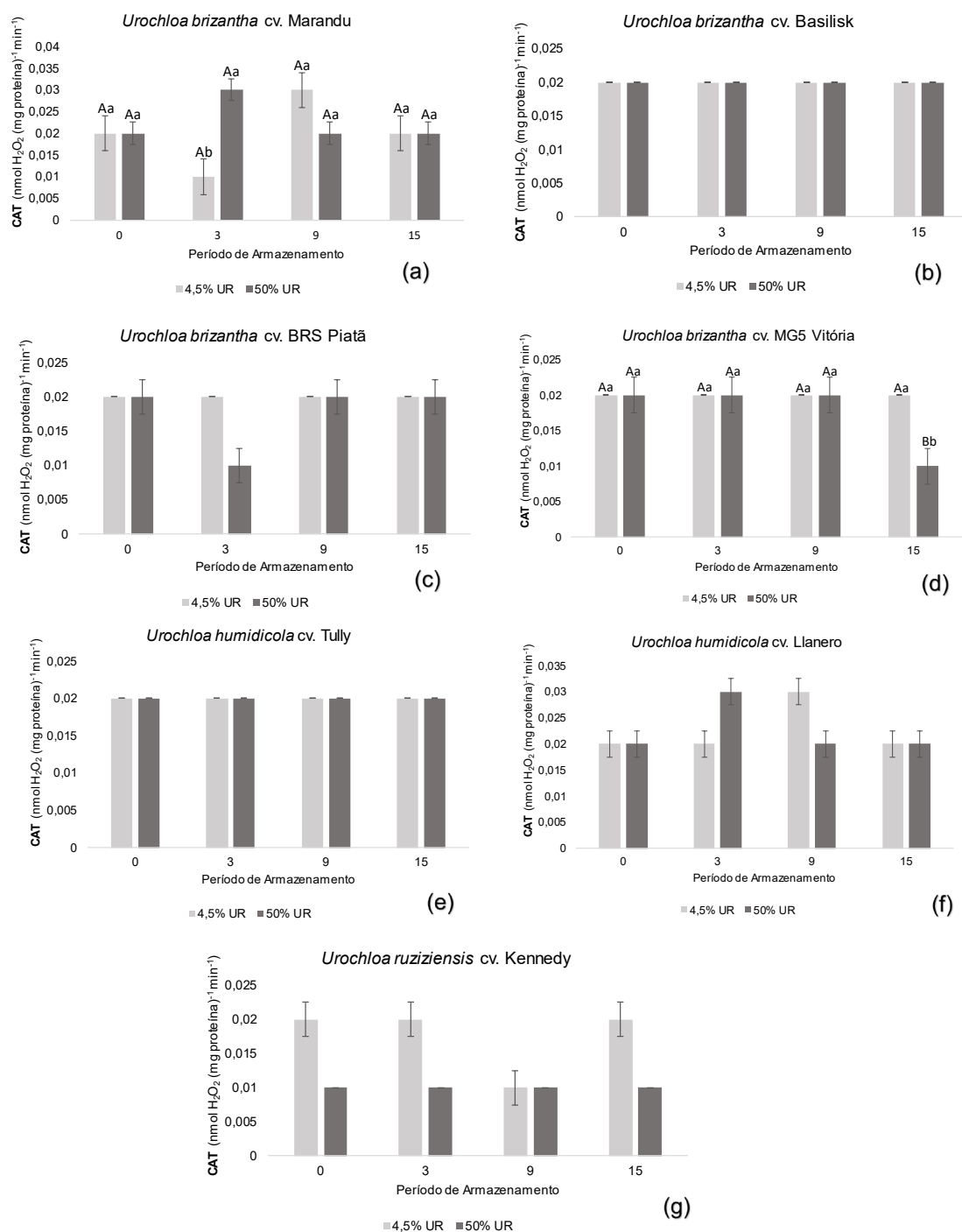


Figura 6 - Atividade da catalase (CAT) em sementes submetidas a diferentes umidades relativas (4,5% e 50%) e períodos de armazenamento (0, 3, 9 e 15 meses) nas espécies *Urochloa brizantha* 'Marandu' (a), 'Basilisk' (b), 'MG5 Vitória' (c) e 'BRS Piatã' (d), *U. humidicola* 'Tully' (e) e 'Llanero' (f) e *U. ruzizensis* 'Kennedy' (g).

Letras maiúsculas comparam os períodos e letras minúsculas comparam as umidades relativas. Letras iguais não apresentam diferença pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade de erro. Barras de erro sem letras não apresentaram interação entre os fatores.

6.3.3 Atividade da enzima Guaiacol Peroxidase (PRX)

A atividade da PRX estatisticamente não apresentou diferenças entre as condições de umidade relativa e períodos de armazenamento das cultivares BRS Piatã (Figura 7d), Basilisk (Figura 7b), Llanero (Figura 7f), MG5 Vitória (Figura 7c) e Kennedy (Figura 7g).

No cultivar Tully (Figura 7e) houve um aumento da atividade da enzima, em ambas as condições de umidade, no período de 9 meses de armazenamento. Em relação ao primeiro período, o aumento foi de 78,4% nas sementes à 4,5% de UR e de 34,4%, na condição de 50% de UR.

Já no cultivar Marandu (Figura 7a), a atividade da enzima PRX aumentou no período de 9 meses nas sementes à 4,5% e no período de 3 meses na condição de 50% de UR. Quando comparados ao primeiro período, o aumento foi de 75,2% e 71,1%, respectivamente. Esse aumento da atividade da enzima ocorreu justamente nos períodos em que o percentual germinativo do cultivar foi menor.

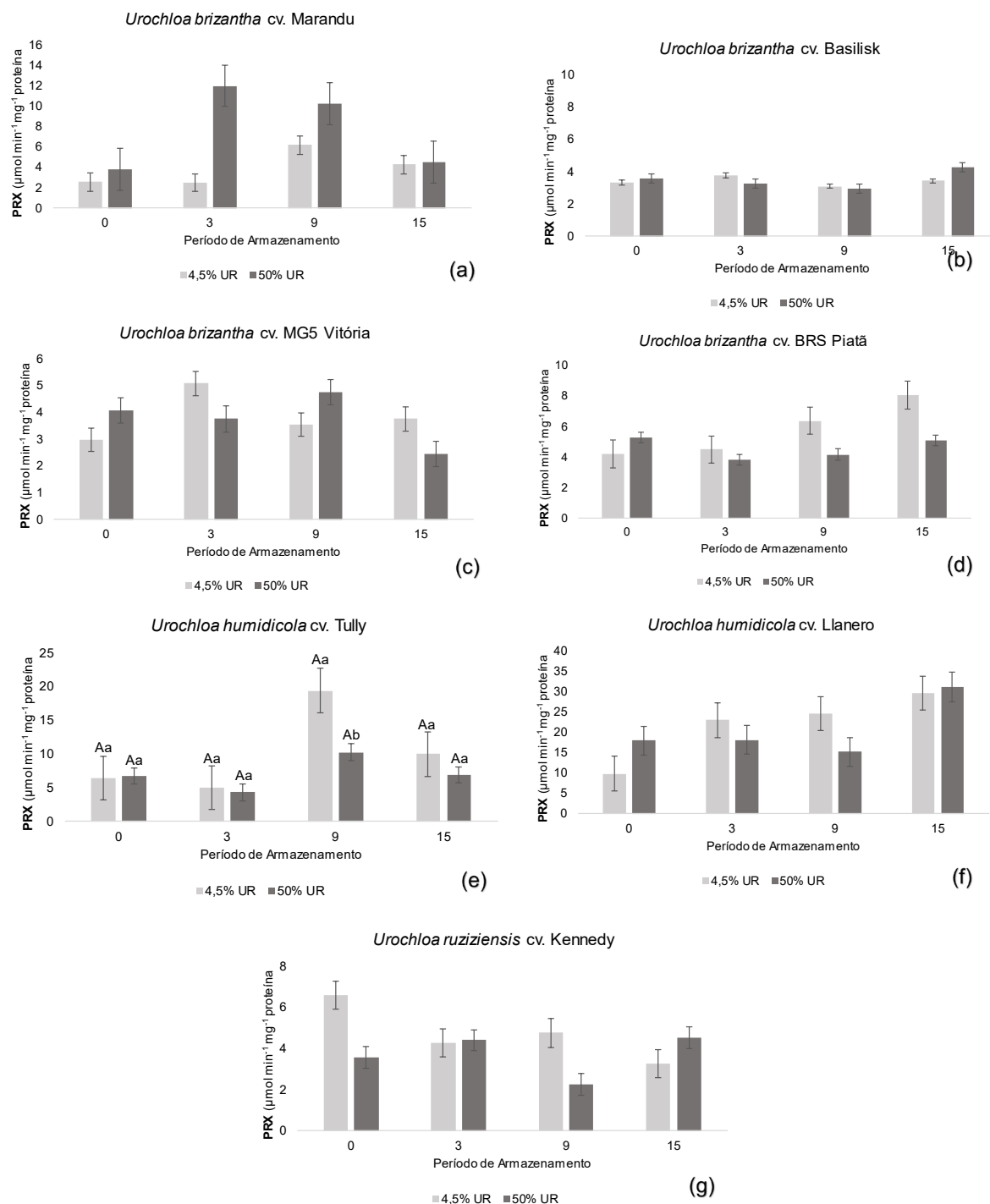


Figura 7 - Atividade da enzima PRX em sementes submetidas a diferentes umidades relativas (4,5% e 50%) e períodos de armazenamento (0, 3, 9 e 15 meses) nas espécies *Urochloa brizantha* 'Marandu' (a), 'Basilisk' (b), 'MG5 Vitória' (c) e 'BRS Piatã' (d), *U. humidicola* 'Tully' (e) e 'Llanero' (f) e *U. ruziziensis* 'Kennedy' (g).

Letras maiúsculas comparam os períodos e letras minúsculas comparam as umidades relativas. Letras iguais não apresentam diferença pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade de erro. Barras de erro sem letras não apresentaram interação entre os fatores.

6.3.4 Quantificação de Peróxido de Hidrogênio (H_2O_2)

As ROS, como o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), são moléculas fortemente reativas e oxidativas que danificam, afetam a função e produzem reações em cascata, que amplificam o estresse oxidativo nas células, levando à morte celular. O acúmulo dessas moléculas pode ser promovido pelo estresse ambiental, resultando em perdas de produtividade das culturas (Gill *et al.*, 2012).

No cultivar BRS Piatã (Figura 8d), a quantidade de H_2O_2 aumentou no último período de análise, em ambas as condições de UR e períodos de armazenamento, corroborando com os resultados de germinação, que foram menores nesse mesmo período, quando comparado com mês anterior, onde ocorreu a maior porcentagem germinativa. Quando comparado os valores do primeiro com o último período, é possível observar um aumento de 46,7 e 92,3%, nas URs de 4,5% e 50%, respectivamente.

Nas sementes do cultivar Basilisk (Figura 8b), o maior valor também pode ser observado no último período, sendo ele de 20% maior nas sementes à 4,5% de UR e de 56,9% nas sementes à 50% de UR.

Um aumento de H_2O_2 foi observado nas sementes à 50% de UR nos cultivares Tully (Figura 8e) e Llanero (Figura 8f).

O cultivar Marandu (Figura 8a) demonstrou um aumento de 69,7% e 60,2% nas umidades relativas de 4,5% e 50%, respectivamente, corroborando com os resultados da germinação, onde neste período apresentou um menor percentual.

Nesse mesmo período também pôde ser observado maiores valores de H_2O_2 nas sementes das cultivares MG5 Vitória (Figura 8c) e Kennedy (Figura 8g).

O cultivar MG5 Vitória (Figura 8c) apresentou baixo percentual germinativo no último período, o que pode ser explicado pela alta quantidade de H_2O_2 .

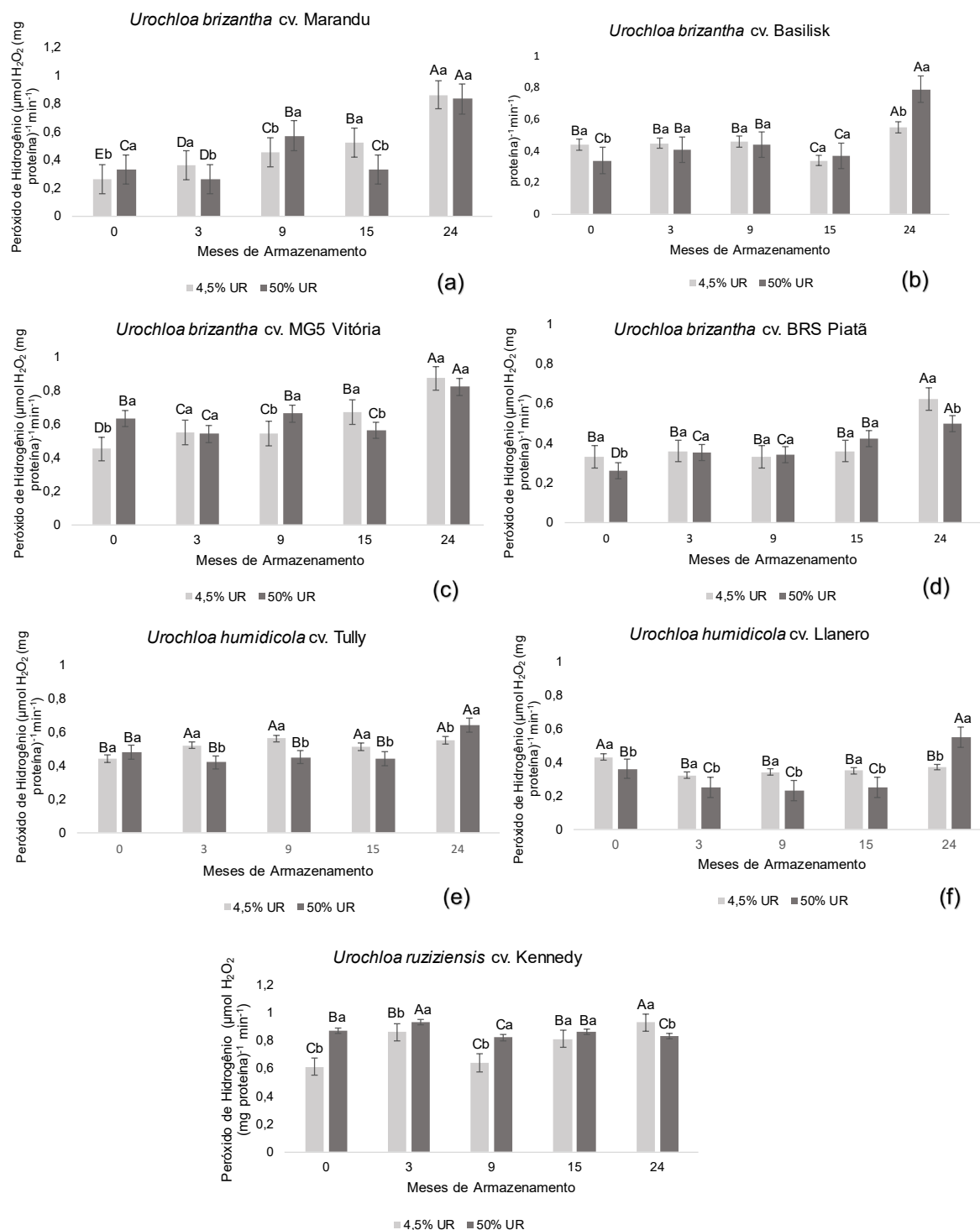


Figura 8 - Quantificação de Peróxido de Hidrogênio (H_2O_2) em sementes submetidas a diferentes umidades relativas (4,5% e 50%) e períodos de armazenamento (0, 3, 9, 15 e 24 meses) nas espécies *Urochloa brizantha* 'Marandu' (a), 'Basilisk' (b), 'MG5 Vitória' (c) e 'BRS Piatã' (d), *U. humidicola* 'Tully' (e) e 'Llanero' (f) e *U. ruziziensis* 'Kennedy' (g).

Letras maiúsculas comparam os períodos e letras minúsculas comparam as umidades relativas. Letras iguais não apresentam diferença pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade de erro. Barras de erro sem letras não apresentaram interação entre os fatores.

Neste estudo houve acúmulo de H_2O_2 em ‘Marandu’, ‘Basilisk’, ‘BRS Piatã’, ‘MG5 Vitória’, ‘Tully’ e ‘Llanero’ (ANEXO – Figura 1 a 6 suplementar). No cultivar Kennedy houve aumento apenas na condição de 4,5% de UR (ANEXO – Figura 7 suplementar). No entanto, quando se observa, em paralelo, o comportamento da germinação foi possível notar que quando os níveis de H_2O_2 são baixos as sementes estão na fase de perda de dormência (pós-amadurecimento) ou no ápice da germinação com o armazenamento. Acima desse nível observa-se que o acúmulo de H_2O_2 deixa de ser sinalizadora e passa a ser deteriorativa, no entanto esses limiares são dependentes dos cultivares.

No cultivar ‘Llanero’ a germinação aumentou linearmente saindo de uma faixa de abaixo de 50% e atingindo valores acima de 70% ao final dos 24 meses e com tendência de aumentar ainda mais devido à perda de dormência. Nesse mesmo cultivar os níveis de H_2O_2 variaram de 0,4 a 0,6, valores baixos considerando os valores atingidos por outros cultivares (ANEXO – Figura 6 suplementar). Por outro lado, no cultivar ‘MG5 Vitória’, a germinação atingiu valores mais elevados no início do armazenamento e declínio principalmente após os 15 meses de armazenamento quando os valores de H_2O_2 ficaram acima de 0,6 (ANEXO – Figura 4 suplementar).

6.4 Determinação da composição lipídica através da transesterificação de ácidos graxos e cromatografia gasosa (GC)

6.4.1 Determinação lipídica quantitativa através de análise prévia de amostras de espiguetas, parte superior e inferior da cariopse

Após transesterificação e análise de cromatografia gasosa (GC) realizada com amostras de espiguetas e porção inferior e superior da cariopse, podendo ser elas representadas pela parte endospermática e embrionária, respectivamente, e método de extração, sendo eles, com amostras maceradas e não maceradas de sementes de *Urochloa brizantha* cv. Marandu, foi possível definir em que tipo de amostra estavam presentes maiores teores de ácidos graxos, como pode-se observar no cromatograma da Figura 9.

As amostras de espiguetas maceradas e não maceradas foram as que apresentaram menores picos, o que significa que, quando realizada a análise com esse tipo de amostra, a quantidade de ácido graxo é baixa (Figura 9).

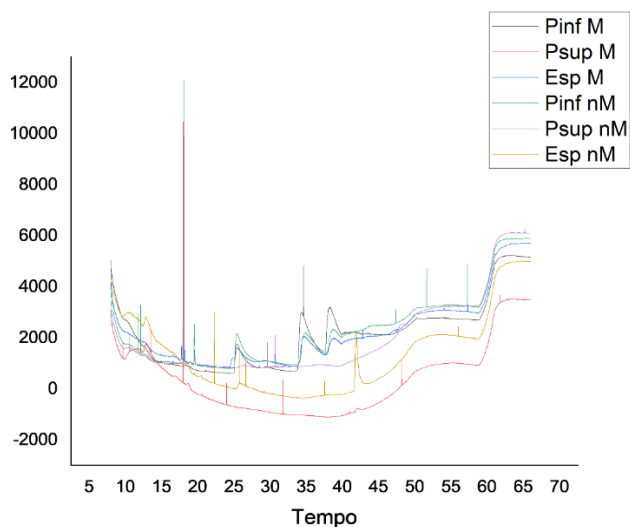


Figura 9 - Cromatograma de análise por cromatografia em fase gasosa de ácidos graxos de amostras de *Urochloa brizantha* cv. 'Marandu'.

Quantificação de ácidos graxos no cultivar *Urochloa brizantha* cv. Marandu através das amostras: porção inferior macerada (Pinf M), porção superior macerada (Psup M), espiguetas maceradas (Esp M), porção inferior não macerada (Pinf nM), porção superior não macerada (Psup nM) e espiguetas não maceradas (Esp nM).

As amostras da porção inferior, que corresponde a parte onde se encontra o embrião, apresentaram maiores teores e diversidade de ácidos graxos, sendo ainda maiores nas amostras que foram maceradas (Pinf M).

As espiguetas que não foram maceradas possuem a presença de estruturas, como a gluma, lema e pálea, que podem ocasionar um impedimento mecânico e restringir a recuperação dos ácidos graxos na amostra.

Com esse resultado do cromatograma, foi possível concluir que as amostras da parte inferior seriam melhores para serem analisadas e identificar os ácidos graxos presentes e sua concentração em cada cultivar que foi analisada.

6.4.2 Análise de massa de diferentes amostras da espiguetas e valor percentual de ácido graxo na porção inferior e cariopse

Os resultados em relação a massa foram obtidos através da pesagem de 20 unidades de cada amostra. As amostras da porção inferior possuem maior peso do que a porção superior, visto que foi definido um corte no meio da semente.

As sementes que apresentaram maior massa foram as dos cultivares BRS Piatã, Marandu e MG5 Vitória, ao passo que as menores foram dos cultivares

Llanero e Tully. Esses últimos, já demonstram um peso menor, quando observado os valores das espiguetas e quando comparadas com as sementes de maior peso. Esse resultado é observado, também, nas amostras da porção inferior e da cariopse.

Através dos resultados quantitativos, foi estabelecido que seriam usadas as amostras da porção inferior, que contêm o embrião e, também, a cariopse para a realização da análise cromatográfica para a determinação lipídica.

Deste modo, é apresentado na Tabela 9, as massas de cada porção que foi analisada, dentro de cada cultivar, sendo elas a média incluindo o período final e inicial e as duas umidades relativas que foram impostas as sementes e, também, a porcentagem de conteúdo lipídico das amostras da porção inferior e da cariopse das espiguetas.

As sementes da *U. brizantha* cv. 'Basilisk', 'BRS Piatã' e *U. humidicola* cv. 'Tully' foram as que apresentaram maiores porcentagens de ácidos graxos, em ambas as amostras que foram analisadas (porção inferior e cariopse), sendo eles, 2,11%, 1,90% e 1,91%, respectivamente. Diferentemente da *U. brizantha* cv. 'MG5 Vitória' e *U. ruziziensis* cv. 'Kennedy', onde o percentual de conteúdo lipídico foi de 1,61% e 1,54%, respectivamente.

As porcentagens de ácido graxos da *U. humidicola* cv. 'Llanero' foi de 1,72% e da *U. brizantha* cv. 'Marandu' de 1,76%, também em ambas as amostras que foram utilizadas para os cálculos.

Tabela 9 - Médias das massas da porção superior, porção inferior, cariopse e espiguetas das sementes e médias da porcentagem de lipídios de cada cultivar.

Cultivar	Amostra	Massa e porcentagem de lipídios	
		Massa ¹ (g±DP)	Lipídios (%±DP)
<i>U. brizantha</i> 'Marandu'	Porção superior	0,03±0,00	
	Porção inferior	0,06±0,00	1,76±0,59
	Cariopse	0,10±0,00	1,14±0,38
	Espiguetas	0,18±0,00	
<i>U. brizantha</i> 'Basilisk'	Porção superior	0,04±0,00	
	Porção inferior	0,06±0,00	2,11±1,04
	Cariopse	0,10±0,00	1,20±0,59
	Espiguetas	0,12±0,00	
<i>U. brizantha</i> 'MG5 Vitória'	Porção superior	0,05±0,00	
	Porção inferior	0,08±0,00	1,61±0,53
	Cariopse	0,13±0,00	0,99±0,32
	Espiguetas	0,18±0,00	
<i>U. brizantha</i> 'BRS Piatã'	Porção superior	0,05±0,00	
	Porção inferior	0,09±0,00	1,90±0,52
	Cariopse	0,14±0,00	1,21±0,33
	Espiguetas	0,19±0,00	
<i>U. humidicola</i> 'Tully'	Porção superior	0,02±0,00	
	Porção inferior	0,03±0,00	1,91±0,54
	Cariopse	0,06±0,00	1,20±0,34
	Espiguetas	0,07±0,00	
<i>U. humidicola</i> 'Llanero'	Porção superior	0,02±0,00	
	Porção inferior	0,04±0,00	1,72±0,35
	Cariopse	0,06±0,00	1,13±0,23
	Espiguetas	0,09±0,00	
<i>U. ruziziensis</i> 'Kennedy'	Porção superior	0,03±0,00	
	Porção inferior	0,06±0,00	1,54±0,22
	Cariopse	0,09±0,00	1,02±0,14
	Espiguetas	0,13±0,00	

Os resultados são expressos como média ± desvio padrão. ¹: Massa de 20 unidades por repetição.

Com isso, pode-se dizer que a análise da composição das sementes, especificamente no que diz respeito aos ácidos graxos, pode variar em diferentes partes da semente, como a porção inferior e superior da cariopse. Os resultados indicam que contêm uma maior concentração de lipídios especificamente na porção inferior, que constitui o embrião.

6.4.3 Componente de ésteres metílicos e índices gerais relacionados à composição de ácidos graxos

Os ácidos graxos são os principais componentes da membrana e dos lipídios de armazenamento. Os mais comuns, tanto na membrana, quanto nos lipídios de armazenamento, contêm 16 ou 18 carbonos, que são saturados ou insaturados (Sanchez *et al.*, 2019).

Os lipídios são constituintes encontrados em todas as partes das sementes, ocorrendo em maior porcentagem no embrião (cotilédones) ou no endosperma sendo predominantemente nas sementes, os ácidos graxos insaturados (Barros Neto *et al.*, 2014).

A análise da composição de ácidos graxos na porção inferior da semente apontou que existem 4 principais ésteres metílicos: os saturados – SFA (C16:0 e C18:0), monoinsaturados – MUFA (C18:1) e poliinsaturados – PUFA (C18:2).

Os resultados do cultivar Marandu demonstram que os ácidos predominantes foram os mesmo que o estudo de Pellegrini *et al.*, (2018), sendo o ácido esteárico (C18:0) aquele que apresentou as menores porcentagens, independentemente do período de armazenamento e condição de umidade relativa (Tabela 10).

Tabela 10 - Conteúdo percentual relativo de componente de ésteres metílicos de ácidos graxos na porção inferior da semente de *U. brizantha* cv. 'Marandu' e índices gerais relacionados à composição de ácidos graxos.

<i>Urochloa brizantha</i> cv. Marandu				
UR	Período de Armazenamento			
	0 meses		24 meses	
	4,5%	50%	4,5%	50%
Ácido palmítico (C16:0)	15,4 Aa	15,1 Ba	18,0 Ab	26,8 Aa
Ácido esteárico (C18:0)	3,9 Ba	4,7 Aa	18,4 Aa	7,0 Ab
Ácido oleico (C18:1)	40,3 Aa	40,2 Aa	26,3 Bb	36,0 Aa
Ácido linoleico (C18:2)	38,1 Aa	26,4 Bb	36,3 Aa	35,9 Aa
DBI	116,6	113,0	79,2	108,0
PI	39,2	37,4	27,1	36,9
SFA	19,3	19,8	36,6	33,9
UFA	78,5	76,6	52,8	72,0
MUFA	40,4	40,3	26,3	36,0
PUFA	38,1	36,4	26,5	36,0
UFA/SFA	4,1	3,9	1,4	2,1

Concentração do ácido graxo em porcentagem em função do padrão do ácido graxo heptadecanóico em sementes armazenadas em umidade relativa de 4,5% e 50%, analisadas no período inicial (0 meses) e final (24 meses) de armazenamento. Abreviaturas: DBI: índice de ligações duplas; PI: índice de peroxidabilidade SFA, ácidos graxos saturados; UFA, ácidos graxos insaturados; MUFA, ácidos graxos monoinsaturados; PUFA, ácidos graxos poliinsaturados; UFA/SFA: razão saturado/insaturado. Letras maiúsculas comparam os períodos e letras minúsculas comparam as umidades relativas. Letras iguais não apresentam diferença pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade de erro.

O percentual de ácido palmítico aumentou com o tempo de armazenamento, em ambas as umidades relativas, sendo eles, 18% e 26,8%, em 4,5% e 50% de UR, respectivamente, no período de 24 meses. Já, em relação ao ácido oleico, ocorreu uma diminuição no último período.

O número total de ligações duplas foi maior que o índice de peroxidabilidade, quando comparados os dois períodos de avaliação e as umidades relativas. O índice de peroxidabilidade, que leva em conta que a sensibilidade dos ácidos graxos à peroxidação, aumenta exponencialmente em função do número de ligações duplas por molécula de ácido graxo. Dessa forma, quando ocorreu uma queda de DBI com 24 meses de armazenamento à 4,5% de UR (79,2), também diminuiu o PI (27,1).

Os ácidos graxos saturados (SFA) apresentaram menores valores em ambas as condições de umidade e períodos de armazenamento, diferentemente dos insaturados, que apresentaram os maiores valores, tanto nos monoinsaturados (MUFA), como nos poliinsaturados (PUFA).

Sementes de forrageiras possuem altos níveis de ácidos graxos, sendo que, geralmente, há predominância de ácidos graxos poli-insaturados (PUFAs) (Capstaff; Miller, 2018).

No cultivar Basilisk (Tabela 11), houve predominância do ácido linoléico (C18:2), em ambas as condições de umidade relativa e período de armazenamento. Os ácidos graxos poliinsaturados (PUFA) são comumente encontrados nas sementes, sendo o ácido linoléico o principal PUFA na maioria das sementes testadas (Carvalho *et al.*, 2010).

A porcentagem do ácido palmítico aumentou no período final, em ambas as condições de armazenamento, sendo ele maior nas sementes armazenadas com maior umidade relativa, visto que sementes armazenadas em condições de alta umidade relativa podem sofrer deterioração e perda de qualidade ao longo do tempo (Golldfarb; Queiroga, 2013).

As concentrações do ácido palmitoleico (C16:1), mesmo que baixa, quando comparada com as concentrações dos demais ácidos, diminuiu ainda mais com o período de armazenamento, nas sementes que foram armazenadas à 4,5% de UR. Na outra condição, o valor se manteve em 0,3%.

Um aumento do percentual do ácido esteárico (C18:0) pode ser observado na condição de 50% de UR, quando comparado aos dois períodos analisados. O ácido oleico (C18:1) não apresentou diferenças estatísticas em nenhuma das condições de armazenamento e umidade relativa.

Tabela 11 - Conteúdo percentual relativo de componente de ésteres metílicos de ácidos graxos na porção inferior da semente de *U. brizantha* cv. 'Basilisk' e índices gerais relacionados à composição de ácidos graxos.

<i>Urochloa brizantha</i> cv. Basilisk				
UR	Período de Armazenamento			
	0 meses		24 meses	
	4,5%	50%	4,5%	50%
Ácido palmítico (C16:0)	13,3 Bb	19,2 Aa	21,7 Aa	23,3 Aa
Ácido palmitoleico (C16:1)	11,2 Aa	0,3 Ab	0,1 Ba	0,3 Aa
Ácido esteárico (C18:0)	9,1 Aa	4,9 Bb	11,3 Aa	13,2 Aa
Ácido oleico (C18:1)	27,2 ns	33,0 ns	20,5 ns	24,7 ns
Ácido linoleico (C18:2)	33,4 Aa	33,9 Aa	39,9 Aa	31,4 Ba
DBI	105,3	113,3	109,2	100,6
PI	34,4	40,7	34,9	32,4
SFA	17,3	24,2	11,3	30,9
UFA	71,9	73,3	75,3	69,2
MUFA	38,4	33,4	41,3	37,75
PUFA	33,4	39,9	33,9	31,4
UFA/SFA	4,13	3,0	6,6	2,2

Concentração do ácido graxo em porcentagem em função do padrão do ácido graxo heptadecanóico em sementes armazenadas em umidade relativa de 4,5% e 50%, analisadas no período inicial (0 meses) e final (24 meses) de armazenamento. Abreviaturas: DBI: índice de ligações duplas; PI: índice de peroxidabilidade SFA, ácidos graxos saturados; UFA, ácidos graxos insaturados; MUFA, ácidos graxos monoinsaturados; PUFA, ácidos graxos poliinsaturados; UFA/SFA: razão saturado/insaturado. Letras maiúsculas comparam os períodos e letras minúsculas comparam as umidades relativas. Letras iguais não apresentam diferença pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade de erro.

O índice de DBI foi maior que o de PI, em ambas as condições e períodos de armazenamento, e os valores de UFAs maiores que o de SFAs. As concentrações de UFAs e SFAs afetam o comportamento de armazenamento das sementes (Walters *et al.*, 2004; Volk *et al.*, 2006; Walters *et al.*, 2015). Nenhuma das espécies exibiu maiores quantidades de SFAs do que de UFAs, o que foi consistente com o perfil das sementes ortodoxas.

Tabela 12 - Conteúdo percentual relativo de componente de ésteres metílicos de ácidos graxos na porção inferior da semente de *U. brizantha* cv. 'BRS Piatã' e índices gerais relacionados à composição de ácidos graxos.

<i>Urochloa brizantha</i> cv. BRS Piatã				
UR	Período de Armazenamento			
	0 meses	50%	24 meses	50%
	4,5%		4,5%	
Ácido palmítico (C16:0)	19,4 Aa	17,4 Aa	16,9 Ab	20,8 Aa
Ácido esteárico (C18:0)	7,9 Aa	8,8 Ba	6,9 Ab	14,9 Aa
Ácido oleico (C18:1)	23,5 Bb	35,9 Aa	37,7 Aa	30,8 Ab
Ácido linoleico (C18:2)	30,4 Aa	33,7 Aa	35,6 Aa	27,0 Bb
DBI	92,1	103,5	109,1	84,9
PI	34,8	34,6	36,6	27,8
SFA	19,4	26,3	23,9	35,7
UFA	23,6	69,7	73,5	57,9
MUFA	23,6	35,9	37,8	30,8
PUFA	0,0	33,8	35,7	27,1
UFA/SFA	1,2	2,6	3,1	1,6

Concentração do ácido graxo em porcentagem em função do padrão do ácido graxo heptadecanóico em sementes armazenadas em umidade relativa de 4,5% e 50% analisadas no período inicial (0 meses) e final (24 meses) de armazenamento. Abreviaturas: DBI: índice de ligações duplas; PI: índice de peroxidabilidade SFA, ácidos graxos saturados; UFA, ácidos graxos insaturados; MUFA, ácidos graxos monoinsaturados; PUFA, ácidos graxos poliinsaturados; UFA/SFA: razão saturado/insaturado. Letras maiúsculas comparam os períodos e letras minúsculas comparam as umidades relativas. Letras iguais não apresentam diferença pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade de erro.

Assim como no cultivar Basilisk, no cultivar BRS Piatã, o ácido linoléico (C18:2) foi predominante, tendo diminuído somente na maior umidade relativa do último período de avaliação (Tabela 12).

Uma diminuição na porcentagem do ácido palmítico (C16:0) ocorreu no último período de armazenamento nas sementes que estavam à 4,5% de UR, não ocorrendo diferenças estatísticas no primeiro período e na umidade relativa de 50%.

Também, no cultivar analisado, o ácido esteárico (C18:0) apresentou percentuais baixos, quando comparado com os demais ácidos, em ambas as condições que foram impostas de período e umidade, demonstrando um aumento somente no último período na condição de 50%, em relação ao primeiro período.

O cultivar MG5 Vitória não apresentou resultados significativos estatisticamente nos percentuais de ácido palmítico (C16:0), ácido esteárico (C18:0) e ácido linoléico (C18:2) (Tabela 13).

A porcentagem de ácido oleico (C18:1) na umidade relativa de 4,5% diminuiu 26,4%, quando analisados os dois períodos de armazenamento. Na outra condição, não houve diferença estatística.

Assim como o cultivar Basilisk, o cultivar MG5 Vitória apresentou maiores índices de DBI do que em ambas as condições e períodos de armazenamento. Como o esperado, quando DBI diminui, o PI também diminui. Os valores de UFAs foram maiores que o de SFAs. Esses resultados dos índices ocorrem em todas as cultivares analisadas.

Tabela 13 - Conteúdo percentual relativo de componente de ésteres metílicos de ácidos graxos na porção inferior da semente de *U. brizantha* cv. 'MG5 Vitória' e índices gerais relacionados à composição de ácidos graxos.

<i>Urochloa brizantha</i> cv. MG5 Vitória				
UR	Período de Armazenamento			
	0 meses		24 meses	
	4,5%	50%	4,5%	50%
Ácido palmítico (C16:0)	17,0 ns	20,3 ns	20,5 ns	20,7 ns
Ácido esteárico (C18:0)	6,8 ns	12,0 ns	15,6 ns	10,5 ns
Ácido oleico (C18:1)	36,8 Aa	31,4 Aa	29,1 Ba	31,2 Aa
Ácido linoleico (C18:2)	36,7 ns	32,8 ns	30,2 ns	32,9 ns
DBI	110,4	97,2	89,7	99,0
PI	36,8	33,6	31,0	33,7
SFA	23,9	32,4	36,2	31,3
UFA	73,6	64,4	59,5	66,1
MUFA	36,8	31,5	29,2	33,2
PUFA	36,8	32,9	30,3	32,9
UFA/SFA	3,1	2,0	1,6	2,1

Concentração do ácido graxo em porcentagem em função do padrão do ácido graxo heptadecanóico em sementes armazenadas em umidade relativa de 4,5% e 50% analisadas no período inicial (0 meses) e final (24 meses) de armazenamento. Abreviaturas: DBI: índice de ligações duplas; PI: índice de peroxidabilidade SFA, ácidos graxos saturados; UFA, ácidos graxos insaturados; MUFA, ácidos graxos monoinsaturados; PUFA, ácidos graxos poliinsaturados; UFA/SFA: razão saturado/insaturado. Letras maiúsculas comparam os períodos e letras minúsculas comparam as umidades relativas. Letras iguais não apresentam diferença pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade de erro.

A porcentagem de ácido oleico (C18:1) aumentou estatisticamente na condição de 50% de UR, quando analisadas as porcentagens dos períodos de armazenamento, de 18,9% para 27,1%. Já, na condição com 4,5% de umidade relativa, houve uma diminuição, onde o valor de 37,7% foi para 27,5%.

Os maiores valores observados foram de ácidos graxos insaturados, sendo que o que apresentou valores mais altos foram os poliinsaturados.

Tabela 14 - Conteúdo percentual relativo de componente de ésteres metílicos de ácidos graxos na porção inferior da semente de *U. humidicola* cv. 'Tully' e índices gerais relacionados à composição de ácidos graxos.

<i>Urochloa humidicola</i> cv. Tully				
UR	Período de Armazenamento			
	0 meses		24 meses	
	4,5%	50%	4,5%	50%
Ácido palmítico (C16:0)	16,2 ns	22,4 ns	17,3 ns	14,2 ns
Ácido esteárico (C18:0)	4,0 Ab	16,6 Aa	4,5 Ab	14,0 Ba
Ácido oleico (C18:1)	37,7 Aa	18,9 Bb	27,6 Aa	27,1 Aa
Ácido linoleico (C18:2)	37,7 Ba	30,7 Ab	40,5 Aa	31,6 Ab
DBI	113,2	80,5	105,4	90,5
PI	38,7	38,7	41,2	41,2
SFA	20,3	39,1	21,9	28,3
UFA	75,5	49,7	64,8	58,8
MUFA	37,7	19,0	24,3	27,1
PUFA	37,8	30,8	40,5	31,7
UFA/SFA	3,7	1,3	3,0	2,1

Concentração do ácido graxo em porcentagem em função do padrão do ácido graxo heptadecanóico em sementes armazenadas em umidade relativa de 4,5% e 50% analisadas no período inicial (0 meses) e final (24 meses) de armazenamento. Abreviaturas: DBI: índice de ligações duplas; PI: índice de peroxidabilidade SFA, ácidos graxos saturados; UFA, ácidos graxos insaturados; MUFA, ácidos graxos monoinsaturados; PUFA, ácidos graxos poliinsaturados; UFA/SFA: razão saturado/insaturado. Letras maiúsculas comparam os períodos e letras minúsculas comparam as umidades relativas. Letras iguais não apresentam diferença pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade de erro.

Os teores de MUFA e PUFA aumentaram à 4,5% de UR e diminuíram à 50% de UR, com o período de armazenamento. A presença de ácido graxos insaturados foi predominante nas sementes das cultivares utilizadas no estudo.

O conteúdo percentual de ácido graxos no cultivar Llanero (Tabela 15) demonstrou resultados semelhantes ao das cultivares anteriores, onde o ácido linoléico (C18:2) apresentou maiores porcentagens, em ambos os tratamentos, quando comparado com os outros ácidos, ocorrendo uma diminuição somente no último período à 50% de UR.

O ácido esteárico (C18:0) apresentou os menores percentuais, porém, não foi significativo estatisticamente. O ácido palmítico (C16:0) não apresentou diferenças estatísticas, assim como o ácido oleico (C18:1).

Tabela 15 - Conteúdo percentual relativo de componente de ésteres metílicos de ácidos graxos na porção inferior da semente de *U. humidicola* cv. 'Llanero' e índices gerais relacionados à composição de ácidos graxos.

<i>Urochloa humidicola</i> cv. Llanero				
UR	Período de Armazenamento			
	0 meses		24 meses	
	4,5%	50%	4,5%	50%
Ácido palmítico (C16:0)	15,5 ns	16,9 ns	16,0 ns	19,3 ns
Ácido esteárico (C18:0)	7,2 ns	8,3 ns	5,0 ns	11,7 ns
Ácido oleico (C18:1)	40,7 ns	35,9 ns	37,9 ns	34,3 ns
Ácido linoleico (C18:2)	32,7 Aa	34,8 Aa	37,6 Aa	30,4 Ab
DBI	106,2	105,7	113,3	95,2
PI	33,8	35,8	38,6	31,3
SFA	22,8	25,3	21,1	31,1
UFA	73,5	70,8	75,6	64,7
MUFA	40,7	35,9	37,9	34,3
PUFA	32,8	34,3	37,7	30,4
UFA/SFA	3,2	2,8	3,6	2,1

Concentração do ácido graxo em porcentagem em função do padrão do ácido graxo heptadecanóico em sementes armazenadas em umidade relativa de 4,5% e 50% analisadas no período inicial de armazenamento (0 meses) e final (24 meses) Abreviaturas: DBI: índice de ligações duplas; PI: índice de peroxidabilidade SFA, ácidos graxos saturados; UFA, ácidos graxos insaturados; MUFA, ácidos graxos monoinsaturados; PUFA, ácidos graxos poliinsaturados; UFA/SFA: razão saturado/insaturado. Letras maiúsculas comparam os períodos e letras minúsculas comparam os teores de umidade relativa. Letras iguais não apresentam diferença pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade de erro.

As maiores porcentagens no cultivar Kennedy foram do ácido oleico (C18:1) e linoléico (C18:2), nos dois períodos de armazenamento e condições de umidade relativa, quando comparados com os percentuais dos outros ácidos graxos, assim como as cultivares anteriores. Da mesma forma, o ácido esteárico foi aquele que teve o menor percentual (Tabela 16).

O ácido palmítico (C16:0) aumentou na umidade relativa de 4,5% e diminuiu na de 50%. Do mesmo modo, ocorreu um aumento no ácido esteárico (C18:0) à 4,5% e diminuição à 50% de UR.

Os teores de PI foram menores do que o de DBI e de ácidos insaturados (UFA) maiores do que de ácidos saturados (SFA). Um DBI elevado indica a presença de lipídios de membrana mais altamente insaturados (Zheng *et al.*, 2016).

Tabela 16 - Conteúdo percentual relativo de componente de ésteres metílicos de ácidos graxos na porção inferior da semente da *Urochloa ruziziensis* cv. 'Kennedy' e índices gerais relacionados à composição de ácidos graxos.

<i>Urochloa ruziziensis</i> cv. Kennedy				
UR	Período de Armazenamento			
	0	24	0	24
	4,5%	50%	4,5%	50%
Ácido palmítico (C16:0)	18,0 Ba	18,4 Aa	22,9 Aa	17,7 Ab
Ácido esteárico (C18:0)	5,3 Ba	5,3 Aa	15,0 Aa	5,0 Ab
Ácido oleico (C18:1)	33,6 Aa	32,7 Ba	27,1 Bb	34,5 Aa
Ácido linoleico (C18:2)	39,9 Aa	39,8 Aa	28,9 Bb	39,6 Aa
DBI	113,5	112,4	85,1	113,8
PI	40,8	40,7	29,7	40,5
SFA	23,5	23,8	38,1	22,7
UFA	73,6	72,6	56,1	74,2
MUFA	33,6	32,7	27,1	34,5
PUFA	40,0	39,9	29,0	39,6
UFA/SFA	3,1	3,1	1,5	3,3

Concentração do ácido graxo em porcentagem em função do padrão do ácido graxo heptadecanóico em sementes armazenadas em umidade relativa de 4,5% e 50% analisadas no período inicial de armazenamento (0 meses) e final (24 meses) Abreviaturas: DBI: índice de ligações duplas; PI: índice de peroxidabilidade SFA, ácidos graxos saturados; UFA, ácidos graxos insaturados; MUFA, ácidos graxos monoinsaturados; PUFA, ácidos graxos poliinsaturados; UFA/SFA: razão saturado/insaturado. Letras maiúsculas comparam os períodos e letras minúsculas comparam as umidades relativas. Letras iguais não apresentam diferença pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade de erro.

O período de armazenamento causou uma redução no teor de PUFA e MUFA na maioria das cultivares, predominantemente impulsionado pelos compostos mais abundantes em cada categoria (ácido palmítico, oleico e linoléico).

O PUFA diminuiu à 4,5% de UR, a categoria mais abundante. Isto não é surpreendente, uma vez que os PUFAs são propensos à peroxidação e hidrólise enzimática, como resultado de baixos pontos de fusão e baixa energia necessária para o catabolismo, enquanto que os ácidos graxos monoinsaturados e saturados são mais estáveis (Linder, 2000; Wiebach *et al.* 2020).

7 DISCUSSÃO

7.1 Grau de umidade, mudanças no comportamento fisiológico e viabilidade das sementes

A umidade relativa do ar influencia diretamente no grau de umidade das sementes e, com isso, uma série de processos metabólicos são desencadeados, reduzindo a viabilidade das sementes (Pascuali, 2012).

Quanto maior for o grau de umidade, maior será a taxa respiratória da semente. Com isso, ocorrerá maior consumo de reservas, acarretando em um menor tempo de vida desta semente, além de desencadear doenças (Peske *et al.*, 2012). A higroscopicidade das sementes, ou seja, sua capacidade de troca de umidade com o ambiente, é um fator importante a ser considerado no armazenamento de sementes. Sementes com teor de água superior a 12% são mais propensas a absorver umidade do ar, o que pode levar à deterioração e à perda de qualidade (Peske *et al.*, 2012; Costa; Silva; Magalhães Junior, 2023).

O estresse oxidativo ocorre quando a quantidade de ROS produzida é maior do que a capacidade do tecido de eliminá-las. Há relatos em que a germinação das sementes está ligada ao conteúdo interno de ROS e às atividades do sistema antioxidante (El-Maarouf-Bouteau *et al.*, 2015; Noctor; Foyer, 2016; Foyer *et al.*, 2017; Miter, 2017). Assim, essas moléculas também atuam como moléculas sinalizadoras em processos biológicos, como a germinação de sementes.

Em estudo realizado por Câmara e Stacciarini-Seraphin (2002) observou-se um aumento na porcentagem de germinação das sementes de *Urochloa brizantha* cv. Marandu durante o período de armazenamento, diminuindo após 16 meses. Esses resultados sugerem que, no caso deste estudo, o armazenamento prolongado das sementes favoreceu a germinação, e as taxas de germinação aumentaram com o período de armazenamento, alcançando um pico de germinação e, apresentando uma diminuição após atingí-lo.

A dormência é geralmente classificada nas categorias fisiológica, física, química, morfológica e morfofisiológica, sendo a dormência fisiológica abundante no banco de sementes do solo e sua liberação é governada principalmente pelos processos de pós-amadurecimento e estratificação. Já a estratificação ocorre quando as sementes passam por um período de umidade fria, que quebra a

dormência, e o pós-amadurecimento ocorre quando uma semente perde gradualmente a dormência durante um período de armazenamento a seco (Katsuya-Gaviria, 2020), como o caso do presente estudo.

Observa-se que, para sementes dormentes armazenadas, à medida em que a dormência vai sendo superada, a porcentagem de germinação vai aumentando, até atingir o valor máximo, onde este começa a decair, conforme a semente vai envelhecendo. O valor máximo de germinação e o momento em que ocorrem são variáveis e, através do armazenamento convencional e alguns testes, pode ocorrer dentro de alguns dias ou até mesmo após vários anos, de acordo com a espécie e as condições de armazenamento (Hopkinson *et al.*, 1996).

Isso pôde ser observado nas duas condições de umidade na cv. Marandu, onde a D apresentou maiores percentuais no primeiro mês, sendo superada com o período de armazenamento, ficando em torno de 1% no último período.

Há trabalhos com sementes de *Urochloa* em que os autores observaram que, no decorrer do período de armazenamento em ambiente natural, a porcentagem de germinação aumentou; este fato pode estar diretamente relacionado a dormência das sementes deste gênero (Costa; Araújo; Villas Bôas, 2011).

Segundo estes autores, no decorrer do período de armazenamento, os envoltórios das sementes de *Urochloa*, considerados inibidores da germinação, vão se deteriorando, ocorrendo a superação da dormência.

Segundo Ribeiro *et al.* (2019), a absorção de água pelas sementes ativa o metabolismo e, quanto mais água estiver disponível, mais processos de pré-germinação podem ser ativados.

As sementes forrageiras são comercializadas com base no valor de cultivo, levando em consideração a porcentagem de germinação e pureza (Brasil, 2008). No entanto, os resultados de germinação obtidos em laboratório nem sempre se reproduzem em campo. Desta forma, é imprescindível identificar características de vigor das mesmas, como o índice de velocidade de germinação (IVG), visto que são respostas variáveis que estarão mais próximas do desempenho real das sementes no campo (Marcos Filho, 2015).

A dormência está associada a causas físicas, provavelmente associadas a restrições impostas pela cobertura da semente (lema, pálea, pericarpo e tegumento)

à entrada de oxigênio e causas fisiológicas presentes em sementes recém-colhidas, progressivamente suprimidas durante o armazenamento (Cardoso *et al.*, 2014).

Estudos realizados em outras espécies indicam que uma faixa específica de teor de água das sementes é necessária para a secagem acelerada, após o amadurecimento em altas temperaturas (Bazin *et al.*, 2011). Acima ou abaixo deste valor limite de umidade crítico específico da espécie, a perda de dormência, devido à maturação seca pode ser inibida ou retardada (Bewley; Black, 2012).

O método de colheita das sementes de *U. humidicola* pode favorecer o recolhimento de sementes imaturas e com alta porcentagem de dormência (Pereira, 2020). Este fato pode ser verificado na maioria dos lotes recém-colhidos, que apresentam valores acima de 40% de sementes dormentes, baixa germinação e vigor, se comparadas a sementes de outras espécies de braquiárias (Libório *et al.*, 2017).

Estudos evidenciaram variações nos percentuais de germinação de sementes de *U. brizantha*, ressaltando a heterogeneidade entre amostras de procedências diferentes. Alguns estudos indicaram maiores porcentagens de germinação, variando de 75 a mais de 90% (Custódio *et al.*, 2012), enquanto outros apresentaram desempenho intermediário, ao redor de 50%.

Abrantes *et al.* (2020), estudando a germinação de sementes do cultivar Llanero, em dois ambientes diferentes de armazenamento, também observou que a germinação máxima das espiguetas foi alcançada após 12 meses de armazenamento, independente da UR de armazenamento. Contudo, a liberação da dormência foi mais rápida no ambiente úmido, do que no seco.

É importante ressaltar que a qualidade das sementes não pode ser melhorada pelo armazenamento, mas sim preservada com o intuito de que a mesma tenha a menor deterioração possível (Goldfarb; Queiroga, 2013).

Tanto a condição de armazenamento, como o tempo em que a semente é armazenada, promovem influência significativa na qualidade fisiológica das sementes das espécies *Urochloa ruziziensis* e *Urochloa brizantha* (Masetto *et al.*, 2013). Ainda segundo o autor, tanto o período de armazenamento, quanto as condições de armazenamento, desempenham papéis fundamentais no potencial germinativo das sementes.

Sementes de várias espécies de plantas são extremamente tolerantes a condições ambientais severas, desde que estejam num estado de dessecação. De acordo com Landjeva *et al.* (2010), a semente em “estado seco” reduz a atividade metabólica para um nível muito baixo, mantendo a sua capacidade de germinar durante grandes períodos. Esta capacidade de retenção da germinação, após determinado período de armazenamento, pode ser definida como o período em que a semente consegue permanecer viável, sendo um componente da “longevidade de sementes” (Sano *et al.*, 2016).

7.2 Alterações na atividade enzimática e resposta antioxidante durante o armazenamento

A SOD, juntamente com a CAT, são as principais enzimas envolvidas na manutenção da longevidade das sementes. Como resultado da ação das SODs na proteção oxidativa, ocorre a produção imediata do H₂O₂, outro tipo de ROS que é removido da célula pela ação de diferentes peroxidases (Chen; Arora, 2011).

Esses resultados podem ser explicados pelo alto vigor das sementes utilizadas, pois, o setor produtivo de sementes busca cada vez mais colocar no mercado sementes com alto padrão, corroborando com os resultados da germinação.

Reduções na atividade da SOD por meio da deterioração já foram observadas em sementes de girassol (Carneiro *et al.*, 2011) e de soja (Xin *et al.*, 2014), com estes efeitos atribuídos à perda de vigor. No entanto, Huth *et al.* (2016) avaliando a deterioração por umidade em sementes de soja, observaram que a atividade da SOD não diferiu significativamente em diferentes cultivares.

As ROS podem ser um dos sinais responsáveis pela indução da expressão gênica antioxidante, causando um aumento substancial das respectivas atividades enzimáticas das SODs nas sementes de milho em desenvolvimento e germinadas (Noctor; Foyer, 2005). Assim, a produção de ROS é provavelmente contínua e em sementes maduras, é iniciada imediatamente após a colheita.

Sharma *et al.* (2018) observaram que a atividade da SOD e CAT diminuíram significativamente em sementes de feijão musgo submetidas à deterioração. Estes autores ainda citam que a atividade destas enzimas está diretamente relacionada à integridade das mitocôndrias durante o processo germinativo.

Existe uma faixa, chamada de “janela oxidativa”, onde é necessária uma certa quantidade de ROS para que ocorra a germinação. Quando o valor está abaixo dessa faixa, a dormência se mantém e, acima dele, as sementes começam a se deteriorar (Jeevan Kumar *et al.*, 2015).

A atividade da SOD e CAT está diretamente relacionada à integridade das mitocôndrias durante o processo germinativo, no entanto, Yin *et al.* (2015) não observaram alterações nas atividades da SOD e CAT em sementes de colza submetidas ao envelhecimento artificial quando comparadas ao controle (sementes não envelhecidas), sendo atribuído outros fatores para estas respostas, como a atuação do ABA.

As enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e guaiacol peroxidase (PRX) constituem o sistema antioxidante, que atua na remoção de ROS e na proteção das células contra danos oxidativos (Chen; Arora, 2011).

O desenvolvimento das sementes, a germinação e o crescimento pós-germinação das plântulas são processos bem regulados que envolvem alta atividade metabólica e geração de espécies reativas de oxigênio (ROS) (Bailly, 2004).

Durante a dessecação, as sementes devem enfrentar estresse oxidativo severo e apresentar níveis particularmente elevados de expressão de genes envolvidos na desintoxicação de ROS, como catalases e superóxido dismutase (SOD) (Bailly, 2004; Bailly *et al.*, 2008).

A CAT converte o H_2O_2 em H_2O e O_2 , desempenhando papel fundamental nos sistemas de proteção e reparo durante a deterioração associada ao acúmulo de H_2O_2 (Kibinza *et al.*, 2011). Desta forma, considerando que a deterioração por umidade ocasionou queda no vigor das sementes, espera-se que a atividade da CAT seja também reduzida (Bailly, 2004).

Embora a baixa atividade da CAT possa sugerir a possibilidade de estresse oxidativo, a alta taxa de germinação nessas cultivares pode indicar que outros mecanismos de defesa antioxidante ou compensatórios estão operando, ajudando a mitigar os efeitos negativos do estresse.

A produção de ROS durante o armazenamento de sementes no estado seco foi documentada por Pukacka e Ratajczak (2005). O acúmulo de ROS durante a maturação das sementes tem sido associado à dessecação das sementes e durante a germinação à atividade metabólica, expressão gênica e à morte celular

programada (PCD) na camada de aleurona das sementes de trigo (Pulido *et al.*, 2009).

A enzima PRX faz parte de um amplo grupo de enzimas peroxidases que atuam na neutralização do H_2O_2 e em diversos outros processos fisiológicos (Gara, 2004). Pode-se ressaltar que PRX não é a única peroxidase ativa nas células vegetais, uma vez que outras enzimas como glutathione redutase, peroxirredoxina e guaiacol peroxidase, atuam no processo antioxidativo de sementes (Sethy; Ghosh, 2013).

Um estudo com *Urochloa humidicola* cv. Llanero relatou que a atividade da guaiacol peroxidase (PRX) diminuiu durante o armazenamento, o que foi associado à liberação de dormência. Também analisou o papel da atividade da peroxidase na germinação de sementes e descobriu que a peroxidase apoplástica desempenha um papel no crescimento durante os estágios de germinação e pós-germinação (Abrantes *et al.*, 2020).

A enzima peroxidase reduz o H_2O_2 em H_2O utilizando o ácido ascórbico como doador específico de elétrons. Um estudo de Gara (2004) cita que o ascorbato envolvido na reação da PRX, além de atuar na remoção do H_2O_2 , atua como redutor na homeostase celular e tem papel chave em vias de sinalização redox. Consequentemente, diferentes isoformas da PRX estão presentes nas células, principalmente em paredes celulares, cloroplastos, mitocôndrias, peroxissomos e citosol (Caverzan *et al.*, 2012).

Avaliando a atividade de PRX mitocondriais, em outro estudo, foi observado reduções de até 77% em sementes de soja deterioradas por meio de envelhecimento artificial; porém, foi avaliada a atividade em células do embrião como um todo, sem considerar organelas específicas (Xin *et al.*, (2014).

Com esses resultados, fica claro a importância da quantificação da atividade enzimática, por ser um dos principais indicadores de alterações degenerativas nas sementes. Dessa forma, pode-se utilizar marcadores isoenzimáticos como ferramenta na determinação das alterações bioquímicas durante o processo de deterioração das sementes (Carvalho *et al.*, 2010; Abreu *et al.*, 2014). Além disso, os marcadores isoenzimáticos podem ser considerados outro fator relevante para a caracterização do perfil bioquímico na qualidade sementes, servindo como sinalização no início do estresse oxidativo das células, onde outros testes comumente usados não são capazes de detectar.

A manutenção das sementes no campo, durante o pós-amadurecimento, pode levar à geração de espécies reativas de oxigênio (ROS), tanto devido ao envelhecimento natural das sementes, quanto às condições de estresse, como alta umidade relativa (UR) e alta temperatura. Em um estudo que envolveu sementes armazenadas em dois ambientes distintos - um com maior umidade relativa (50% UR) e outro com menor umidade relativa (4,5% UR), porém, na mesma temperatura - foi relatado que a geração de ROS pode estar associada a um aumento gradual na germinação das sementes, devido à liberação de dormência e ao aumento no teor de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (Abrantes *et al.*, 2020).

Pinheiro (2019) observou que a deterioração por umidade provocou redução da atividade das enzimas que atuam como peroxidases em sementes de soja analisadas na pré-colheita. Oscilações no grau da umidade das sementes antes da colheita é considerada um dos principais fatores relacionados à deterioração em campo e que contribui significativamente para redução da germinação e do vigor (França-Neto *et al.*, 2016).

De acordo com Bailly *et al.* (2008), dependendo da quantidade de H_2O_2 acumulada nas células embrionárias, este pode superar a dormência ou causar deterioração das sementes. Os autores propuseram uma “janela oxidativa” que estabelece um nível mínimo e crítico de ROS, que previne ou promove a germinação; isto é, a semente não pode germinar se o nível de ROS estiver abaixo do mínimo ou acima do máximo. Abaixo do mínimo, o impedimento seria devido à dormência das sementes e, acima do máximo, ao envelhecimento ou deterioração das sementes.

O aumento de H_2O_2 durante o armazenamento é efeito de uma produção relativamente alta de ROS e está relacionado a uma diminuição na atividade sequestrante (PRX) durante o armazenamento. Como resultado, ocorre uma liberação de dormência durante o período de armazenamento (pós-maturação), seguido pelo início da diminuição da germinação; esse desequilíbrio do sistema antioxidante e da produção de ROS é uma caracterização do estresse oxidativo (El-Maarouf-Bouteau; Bailly, 2008; Mittler, 2017).

O acúmulo de H_2O_2 está envolvido na liberação da dormência, porque ativa enzimas degradadoras de ABA (Barba-Espín *et al.*, 2011). No arroz, a atividade

desta enzima, tanto no grão, quanto no tegumento, foi diferente, pois diminuiu no tegumento (Hanumanthappa *et al.*, 2015).

Durante o armazenamento, o reservatório da enzima se esgotou, pois, houve uma diminuição notável nas medições posteriores. Isto pode ser explicado pelo estado seco das sementes, em que nenhuma síntese é possível, devido ao estado vítreo. Portanto, as enzimas que foram armazenadas durante as etapas finais de maturação poderiam ser degradadas durante o armazenamento, permitindo condições para um desequilíbrio no acúmulo/degradação de ROS, que poderia levar a dois eventos: sinalização para liberação de dormência ou degradação de estruturas bioquímicas, que levarão a célula à morte (Kranner *et al.*, 2010; Mittler, 2017).

Em nível celular, as ROS também são conhecidas por regular o estado redox celular, por causarem a oxidação de proteínas e por desencadear a expressão genética específica. Propomos aqui que as ROS também desempenhem um papel fundamental na conclusão da germinação e que devem ser considerados mensageiros ou transmissores de sinais ambientais durante a germinação das sementes (Bailly *et al.*, 2008).

Entre estes mecanismos, os sistemas antioxidantes parecem desempenhar um papel fundamental. Durante a maturação-secagem, por exemplo, o teor de H_2O_2 do embrião diminui no girassol (Bailly *et al.*, 2004) ou permanece muito baixo no trigo (Lehner, 2006). Isso ocorre, provavelmente, devido a uma redução da atividade mitocondrial, a principal fonte de geração de H_2O_2 , e a um sistema de defesa antioxidante suficientemente eficiente para controlar o acúmulo de ROS durante a perda de água.

Além disso, no girassol, nossos resultados sugerem que o H_2O_2 também pode desempenhar um papel na regulação da expressão do gene CAT e na via de transdução do sinal de desidratação, provavelmente através de um mecanismo próximo ao descrito por Polidoros e Scandalios (1999). No feijão (*Phaseolus vulgaris*), a aquisição da tolerância à secagem também está relacionada com uma reorientação do sistema enzimático de defesa antioxidante, em que sementes secas tolerantes à secagem apresentam alta atividade de CAT e baixas atividades de SOD e APX (ascorbato peroxidase), enquanto o oposto é observado em sementes secas imaturas.

7.3 Análise de massa e componente de ésteres metílicos e índices gerais relacionados à composição de ácidos graxos

Estudos foram conduzidos para analisar a composição de ácidos graxos da fração lipídica em componentes embrionários específicos de sementes. A composição de ácidos graxos nos lipídios de sementes de milho e arroz foi identificada principalmente na região externa do endosperma (aleurona), na camada do endosperma que envolve o embrião e no próprio embrião. Durante a maturação, houve um aumento substancial nos níveis lipídicos em todo o embrião. Esses resultados são consistentes com estudos que avaliaram ácidos graxos livres como indicadores de qualidade em sementes de milho (Walter *et al.*, 2008).

Um estudo avaliou o peso de sementes e observou uma variação numérica entre as espécies, sendo a *U. brizantha* é a espécie que apresenta maior peso, quando comparada com sementes de *U. humidicola* (Dias Filho; Lopes, 2019). Esse parâmetro está diretamente relacionado ao potencial germinativo das sementes, uma vez que sementes com maior massa disponibilizam maiores quantidades de fotoassimilados para o embrião no momento da retomada do seu crescimento, o que culmina com a germinação (Ferreira; Borguetti, 2004). Portanto, a massa da semente é um indicador importante do potencial germinativo e do sucesso da germinação das sementes.

A composição de ácidos graxos das sementes varia dependendo da espécie de planta (Coutinho, 2013). Alguns dos ácidos graxos de cadeia longa saturados e insaturados mais prevalentes encontrados nas sementes incluem o ácido linolênico, ácido oleico, ácido palmítico e ácido esteárico (Carvalho *et al.*, 2010).

As sementes contêm lipídios, que desempenham vários papéis essenciais no processo de germinação das sementes e no crescimento das plantas. Os lipídios são uma classe de moléculas que incluem gorduras, óleos e outros compostos relacionados (Somerville, 2000).

Sementes de forrageiras possuem altos níveis de ácidos graxos, sendo que, geralmente, há predominância de ácidos graxos poli-insaturados (PUFAs) (Capstaff; Miller, 2018).

É relatado em um estudo que com sementes de cártamo (*Carthamus tinctorius L.*), que, durante a maturidade das sementes, os genótipos e suas interações com fatores ambientais, nomeadamente umidade e temperatura,

impactam a síntese de ácidos graxos e a proporção de ácidos oleico e linoléico na semente (Yeilaghi *et al.*, 2012).

Mudanças no grau de dessaturação de ácidos graxos estão relacionadas nas respostas da semente ao período de armazenamento que foi imposto, além da maior umidade relativa, que acelera o processo de deterioração da semente.

Mudanças no grau de dessaturação de ácidos graxos estão implicadas nas respostas da semente ao tempo de armazenamento que foi imposto, além da maior umidade relativa, que acelera o processo de deterioração da semente.

A quantidade de ácidos graxos nas sementes também afeta o sucesso da germinação, onde, à medida que a quantidade de ácidos graxos nas sementes reduz, o sucesso da germinação diminui (Özel *et al.*, 2022).

Quando analisados estudos com outras espécies, como por exemplo, o teor lipídico e a composição de ácidos graxos das sementes de *Jatropha curcas* L. foi constatado que o teor lipídico foi de 50,6% e os principais ácidos graxos foram o ácido oleico, ácido linoléico e ácido palmítico (Felix, 2011).

Os principais ácidos graxos no arroz são os ácidos palmítico (16:0), oléico (18:1) e linoléico (18:2), correspondendo a aproximadamente 95% dos ácidos graxos presentes nos lipídios totais, contendo uma proporção significativa de ácidos graxos insaturados, que possuem papel importante em vários processos fisiológicos (Walter *et al.*, 2008)

O ácido palmítico é o ácido graxo saturado mais abundante nos organismos, não só nos lipídios vegetais, mas também em óleos de peixes e gorduras animais, sendo o ácido esteárico, menos comum (Gunstone, 1996). Entretanto, em vários trabalhos (Bagci *et al.*, 2004; Mayworm *et al.*, 2004) e nos levantamentos bibliográficos feitos por Wolff e Kwolek (1971) e Mayworm (1994) observa-se que a proporção dos ácidos palmítico e esteárico varia (com algumas exceções) em torno de 5-20% e 4-6,5%.

Os resultados do cv. MG5 Vitória sugere que as sementes desse cultivar já apresentavam uma deterioração no início das avaliações, podendo ser comprovado através dos resultados das análises fisiológicas, deste modo, as reações ao longo do tempo de armazenamento foram menos expressivas. Isto poderia ter implicações para o armazenamento de sementes, porque se considera que a peroxidação

lipídica desempenha um papel na deterioração das sementes durante o armazenamento (Goel; Sheoran, 2003; Rataiczak; Pukacka, 2005).

Quando esses resultados são comparados com a germinação do cultivar, esperava-se um aumento dos ácidos graxos presentes, teria acarretado na deterioração e por isso ocorreu uma queda na germinação no último período de avaliação. Acredita-se que a variação na composição de ácidos graxos seja um fator significativo, que determina o envelhecimento e a vida útil das sementes. Isto se deve à degradação lipídica por oxidação ou hidrólise enzimática, tanto *in situ*, quanto sob condições de armazenamento *ex situ* (Oenel *et al.*, 2017; Wiebach *et al.*, 2020).

Variações no óleo de semente afetam a composição lipídica da membrana em termos de função e permeabilidade da membrana, o que afeta a germinação, o estabelecimento e a tolerância aos estresses ambientais (Sun *et al.*, 2014).

Um estudo revelou que ocorreu uma diminuição significativa na quantidade de ácidos graxos nas sementes de pinhão-mansão, que foram armazenadas por dois anos, em comparação com as sementes recém-colhidas. Isso pode ser atribuído a vários fatores associados ao armazenamento prolongado (Özel *et al.*, 2012).

O resultado encontrado no estudo é semelhante com o de um estudo sobre o efeito da baixa temperatura no perfil de ácidos graxos e na expressão de genes lipogênicos em sementes anuais de azevém, que descobriu que a composição lipídica era composta principalmente de ácidos graxos polinsaturados, como ácido linolênico (C18:3) e ácido linoléico (C18:2) (Wiggers, 2022).

Em um estudo realizado por Pellegrini (2018), o autor demonstrou que nas amostras de sementes de quinoa, os principais ácidos graxos detectados também foram o ácido linoléico (C18:2), ácido oleico (C18:1) e o ácido palmítico (C16:0). Esses resultados foram concordantes com os relatados por Peiretti *et al.* (2013) e Tang *et al.* (2015a), que relataram que esses ácidos graxos são os principais componentes dos óleos de quinoa.

Um estudo com pseudocereais indicou que a participação de MUFA (principalmente ácido oleico) no conteúdo total de ácidos graxos ficou entre 6 e 40% nas sementes testadas, incluindo linhaça, chia e cânhamo.

As sementes deste estudo são ricas em ácido linoléico, um ácido graxo poliinsaturado ômega-6 (18:2). O ácido linoléico também é muito abundante ($\geq 60\%$) em sementes de outras espécies, como uva (*Vitis vinifera*), prímula (*Oenothera*

biennis), melão (*Cucumis melo*), tabaco (*Nicotiana tabacum*), páprica (*Capsicum annuum*) e groselha preta (*Ribes nigrum*), que coletivamente são classificadas nos PUFA, subclasse do ácido linoléico por Dubois *et al.* (2007). Altos níveis de PUFA também foram relatados para espécies de orquídeas, por exemplo, *Grammatophyllum speciosum* e *Dactylorhiza fuchsii* (67–78% de ácido linoléico) (Colville *et al.*, 2016).

8 CONCLUSÃO

Concluiu-se que a umidade relativa e o período de armazenamento imposto as sementes influência de forma direta em suas respostas fisiológicas, devido a danos oxidativos, que produzem as ROS e aumentam o nível de H_2O_2 . De forma geral, o armazenamento até o 15^a mês favoreceu na conservação das sementes que estavam armazenadas em na umidade relativa de 4,5%, porém, os resultados variam de cultivar para cultivar. Com isso, também devido a esses danos, ocorre mudança na proporção de ácidos graxos na porção inferior da semente, como consequência das condições de umidade e período de armazenamento que estavam as sementes. O conteúdo de ácidos graxos insaturados foram predominantemente maior do que os saturados, sendo o ácido linoléico (um ácido graxo poliinsaturado), o ácido graxo majoritário em todos os cultivares deste estudo.

REFERÊNCIAS

- ABIEC. **Exportações brasileiras de carne bovina**. Relatório Anual. 2015. 19 p. Disponível em: <http://www.abiec.com.br/download/relatorio-anual-2015.pdf>. Acesso em: 14 abr. 2020.
- ABRANTES, F. L.; MACHADO-NETO, N. B.; CUSTÓDIO, C. C. Seed moisture content can be used to accelerate dormancy release during after-ripening of *Urochloa humidicola* cv. Llanero spikelets. **Ciência Rural**, v. 51, n. 1, 2020.
- ABREU, L. A. S.; VEIGA, A. D.; PINHO, E. V. R. V.; MONTEIRO, F. F.; ROSA, S. D. V. F. Comportamento de sementes de cafeeiro quanto à tolerância à dessecação e ao armazenamento. **Journal of Seed Science**, v. 36, n. 4, p. 399-406, 2014.
- AJALA-LUCCAS, D.; RIBEIRO-OLIVEIRA, J. P.; DUARTE L. E. S.; SILVA, E. A. A. An integrative insight on dormancy alleviation in diaspores of *Urochloa humidicola* (Rendle) Morrone & Zuloaga, a tropical grass with great economic and ecological impact. **Plant Biology**, v. 20, n. 2, p. 252-262, 2018.
- ALEXIEVA, V.; SERGIEV, I.; MAPELLI, S.; KARANOV, E. The effect of drought and ultraviolet radiation on growth and stress markers in pea and wheat. **Plant, Cell and Environment**, v. 24, p. 1337–1344, 2001.
- ALI, I. M.; NULIT, R.; IBRAHIM, M. H.; UDDIN, M. K. Uddin et al. Deterioração da qualidade de sementes de soja (*Glycine max* (L.) Merr. AGS 190) nas fases de colheita, umidade das sementes e temperatura de armazenamento na Malásia. **International Journal of Biosciences**, v. 10, n. 5, p. 372-381, 2017.
- ALMEIDA, C. R.; SILVA, W. R. Comportamento da dormência em sementes de *Brachiaria dictyoneura* cv. Llanero submetidas às ações do calor e do ácido sulfúrico. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 26, n. 1, p. 44-49, 2004.
- ANGELOVICI, R.; GALILI, G.; FERNIE, A. R.; FAIT, A. Seed desiccation: a bridge between maturation and germination. **Trends in Plant Science**, v. 15, n. 4, p. 211-218, 2010.
- ARANTES, A. E. **Caracterização biofísica e potencial à intensificação sustentável da pecuária brasileira em pastagens**. 2017. 136 f. Tese (Doutorado em Ciências Ambientais) - Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2017.
- ARC, E.; GALLAND, M.; CUEFF, G.; GODIN, B.; LOUNIFI, I.; JOB, D.; RAJJOU, L. Reboot the system thanks to protein post-translational modifications and proteome diversity: how quiescent seeds restart their metabolism to prepare seedling establishment. **Proteomics**, v. 11, n. 9, p. 1606-1618, 2011.

BAGCI, E.; BRUEHL, L.; OZÇELIK, H.; AITZETMÜLLER, K.; VURAL, M.; SAHIM, A. A study of the fatty acid and tocopherol patterns of some Fabaceae (Leguminosae) plants from Turkey. **Grasas y Aceites**, v. 55, p. 378-384, 2004.

BAILLY, C. Active oxygen species and antioxidants in seed biology. **Seed Science Research**, v. 14, n. 2, p. 93-107, 2004.

BAILLY, C.; EL-MAAROUF-BOUTEAU, H.; CORBINEAU, F. From intracellular signaling networks to cell death: the dual role of reactive oxygen species in seed physiology. **Comptes Rendus Biologies**, v. 331, n. 10, p. 806-814, 2008.

BAILLY, C.; LEYMARIE, J.; LEHNER, A.; ROUSSEAU, S.; CÔME, D.; CORBINEAU, F. Corbineau Catalase activity and expression in developing sunflower seeds as related to drying. **Journal of Experimental Botany**, v. 55, n. 396, p. 475-483, 2004.

BARBA-ESPÍN, G.; DIAZ-VIVANCOS, P.; CLEMENTE-MORENO, M. J.; ALBACETE, A.; FAIZE, L.; FAIZE, M.; HERNÁNDEZ, J. A. Interaction between hydrogen peroxide and plant hormones during germination and the early growth of pea seedlings. **Plant, Cell & Environment**, v. 33, n. 6, p. 981-994, 2010.

BARBA-ESPÍN, G.; DIAZ-VIVANCOS, P.; JOB, D.; BELGHAZI, M.; JOB, C.; HERNÁNDEZ, J. A. Understanding the role of H₂O₂ during pea seed germination: a combined proteomic and hormone profiling approach. **Plant, Cell & Environment**, v. 34, n. 11, p. 1907-1919, 2011.

BARBEDO, C. J.; MARCOS FILHO, J. Tolerância à dessecação em sementes. **Acta Botanica Brasilica**, v. 12, n. 2, p. 145-164, 1998.

BARROS NETO, J. J. D. S.; ALMEIDA, F. D. A. C.; QUEIROGA, V. D. P.; GONÇALVES, C. C. **Sementes: estudos tecnológicos**. Aracaju: IFS, 2014. p. 285.

BAUD, S.; BOUTIN, J. P.; MIGUEL, M.; LEPINIEC, L.; ROCHAT, C. An integrated overview of seed development in *Arabidopsis thaliana* ecotype WS. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 40, n. 2, p. 151-160, 2002.

BAUD, S.; LEPINIEC, L. Physiological and developmental regulation of seed oil production. **Progress in Lipid Research**, v. 49, n. 3, p. 235-249, 2010.

BAZIN, J.; BATLLA, D.; DUSSERT, S.; EL-MAAROUF-BOUTEAU, H.; BAILLY, C. Role of relative humidity, temperature, and water status in dormancy alleviation of sunflower seeds during dry after-ripening. **Journal of Experimental Botany**, v. 62, n. 2, p. 627-640, 2011.

BERGAMASCHINE, A. F.; PASSIPIÉRI, M.; VERIANO FILHO, W. V.; ISEPON, O. J.; CORREA, L. D. A. Qualidade e valor nutritivo de silagens de capim-marandu (B.

brizantha cv. Marandu) produzidas com aditivos ou forragem emurchecida. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, n. 4, p. 1454-1462, 2006.

BERJAK, P.; PAMMENTER, N. W. De Avicennia a Zizania: recalcitrância de sementes em perspectiva. **Annals of Botany**, v. 101, n. 2, p. 213-228, 2008.

BEWLEY, J. D.; BLACK, M. **Physiology and biochemistry of seeds in relation to germination**: volume 2: viability, dormancy, and environmental control. Berlin; Heidelberg; New York: Springer, 2012.

BOBBIO, F. O.; BOBBIO, P. A. Carboidratos. *In*: BOBBIO, F. O.; BOBBIO, P. A. (Ed.). **Polissacarídeos**: introdução à química de alimentos. 3. ed. São Paulo: Varela, 2003. cap. 4, p. 55-80.

BORISKUJ, L.; NEUBERGER, T.; SCHWENDER, J.; HEINZEL, N.; SUNDERHAUS, S.; FUCHS, J.; ROLLETSCHEK, H. Seed architecture shapes embryo metabolism in oilseed rape. **The Plant Cell**, v. 25, n. 5, p. 1625-1640, 2013.

BOTTEGA, E. L.; BASSO, K. C.; PIVA, J. T.; MORAES, R. F. Cultivo de milho em consórcio com capins tropicais. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v. 16, n. 1, p. 18-25, 2017.

BRADFORD, M. M. Um método rápido e sensível para a quantificação de quantidades de microgramas de proteína utilizando o princípio da ligação proteína-corante. **Bioquímica Analítica**, v. 72, n. 1-2, pág. 248-254, 1976.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 30, de 21 de maio de 2008. **Diário Oficial da União**, p. 45-45, 2008.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Brasília: MAPA/ACS, 2009.

CÂMARA, H. H. L. L.; STACCIARINI-SERAPHIN, E. Germinação de sementes de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu sob diferentes períodos de armazenamento e tratamento hormonal. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 32, n. 1, p. 21-28, 2002. Disponível em: <https://www.revistas.ufg.br/pat/article/view/2436>. Acesso em: 10 jun. 2023.

CAPSTAFF, N. M.; MILLER, A. J. Melhorando o rendimento e a qualidade nutricional das culturas forrageiras. **Fronteiras na Ciência Vegetal**, v. 535, 2018.

CARDOSO, E. D.; SÁ, M. E.; HAGA, K. I.; SILVA, B. F. F., NOGUEIRA, D. C.; VALÉRIO FILHO, W. V. Desempenho fisiológico e superação de dormência em sementes de *Brachiaria brizantha* submetidas a tratamento químico e envelhecimento artificial. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 35, n. 1, p. 21-37, 2014.

CARDOSO, V. J. M. Conceito e classificação da dormência em eementes. **Oecologia Brasiliensis**, v. 13, n. 4, p. 619-631, 2009.

CARNEIRO, B.; PEDREIRA, R. A. C.; OLIVEIRA JUNIOR, D. B. A. A. Boas práticas em manejo de pastagens. *In*: GUERIN, N.; ISERNHAGEN, I. **Plantar, criar e conservar**: unindo produtividade e meio ambiente. São Paulo: Instituto Socioambiental, 2013. p. 67-82.

CARNEIRO, M. M. L. C.; DEUNER, S.; OLIVEIRA, P. V. D.; TEIXEIRA, S. B.; SOUSA, C. P.; BACARIN, M. A.; MORAES, D. M. D. Antioxidant activity and the viability of sunflower seeds after saline and water stress. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 33, p. 752-761, 2011.

CARVALHO, P. R. N.; SILVA, M. G. D.; FABRI, E. G.; TAVARES, P. E. D. R.; MARTINS, A. L. M.; SPATTI, L. R. Concentração de bixina e lipídios em sementes de urucum da coleção do Instituto Agrônômico (IAC). **Bragantia**, v. 69, p. 519-524, 2010.

CASTELLIÓN, M.; MATIACEVICH, S.; BUERA, P. MALDONADO, S. Protein deterioration and longevity of quinoa seeds during long-term storage. **Food Chemistry**, v. 121, n. 4, p. 952-958, 2010.

CAVERZAN, A.; PASSAIA, G.; ROSA, S. B.; RIBEIRO, C. W.; LAZZAROTTO, F.; MARGIS-PINHEIRO, M. Plant responses to stresses: role of ascorbate peroxidase in the antioxidant protection. **Genetics and Molecular Biology**, v. 35, p. 1011-1019, 2012.

CAVONIUS, L. R.; CARLSSON, N.-G.; UNDELAND, I. Quantification of total fatty acids in microalgae: comparison of extraction and transesterification methods. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 406, n. 28, p. 7313-7322, 2014.

CHEN, K.; ARORA, R. Dynamics of the antioxidant system during seed osmopriming, post-priming germination, and seedling establishment in Spinach (*Spinacia oleracea*). **Plant Science**, v. 180, n. 2, p. 212-220, 2011.

CLERKX, E. J. M. *et al.* Genetic differences in seed longevity of various Arabidopsis mutants. **Physiologia Plantarum**, v. 121, n. 3, p. 448-461, 2004.

COLVILLE, L. *et al.* Development of a reliable GC-MS method for fatty acid profiling using direct transesterification of minimal quantities of microscopic orchid seeds. **Seed Science Research**, v. 26, n. 1, p. 84, 2016.

CONSTANTINO, A. F.; LACERDA JR., V.; SANTOS, R. B. D.; GRECO, S. J.; SILVA, R. C. C.; NETO, Á.; FREITAS, J. C. Analysis of oil content and oil quality in oilseeds by low-field nmr. **Química Nova**, v. 37, p. 10-17, 2014.

COSTA, C. J.; ARAÚJO, R. B.; VILLAS BÔAS, H. D. C. Tratamentos para a superação de dormência em sementes de *Brachiaria humidicola* (Rendle) Schweick. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 41, p. 519-524, 2011.

COSTA, A. M.; SPEHAR, C. R.; SERENO, J. R. B. **Conservação de recursos genéticos no Brasil**. Brasília: Embrapa Cerrados-Livro Científico (ALICE), 2012.

COSTA, N. R.; OLIVEIRA, P. S. R.; GUALBERTO, R.; SOUZA, L. S.; MONTALVÃO, P. C. Densidades e formas de semeadura do capim-braquiária e produtividade do milho na integração lavoura pecuária. **Tecnologia & Ciência Agropecuária**, v. 7, n. 4, p. 61-68, 2013.

COSTA, S. V.; SILVA, R. S.; MAGALHÃES JUNIOR, A. M. **Cultivo do arroz**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2023.

COUTINHO, D. J. G. **Lipídios de sementes**: potencial econômico e quimio sistemático. 2013. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Pernambuco, 2013.

CRANE, J.; KOVACH, D.; GARDNER, C.; WALTERS, C. Triacylglycerol phase and 'intermediate' seed storage physiology: a study of *Cuphea carthagenensis*. **Planta**, v. 223, n. 5, p. 1081-1089, 2006.

CRANE, J.; MILLER, A. L.; VAN ROEKEL, J. W.; WALTERS, C. Triacylglycerols determine the unusual storage physiology of *Cuphea* seed. **Planta**, v. 217, n. 5, p. 699-708, 2003.

CRISPIM, S. M. A.; DOMINGOS BRANCO, O. **Aspectos gerais das braquiárias e suas características na sub-região da Nhecolândia, Pantanal, MS**. Corumbá: Embrapa Pantanal-Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento (INFOTECA-E), 2002.

CUSTÓDIO, C. C.; DAMASCENO, R. L.; MACHADO NETO, N. B. Imagens digitalizadas na interpretação do teste de tetrazólio em sementes de *Brachiaria brizantha*. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 34, p. 334-341, 2012.

DAGAR, J. C.; GUPTA, S. R. Opções silvipastoris para aumentar a produtividade biológica de pastagens/pastagens degradadas: uma visão geral. *In*: **Agrossilvicultura para paisagens degradadas**: avanços recentes e desafios emergentes. 2020. v. 2, p. 163-227

DELOUCHE, J. C.; BASKIN, C. C. **Accelerated aging techniques for predicting the relative storability of seed lots**. Seed Technology Papers, n. 10, 2021.

DIAS FILHO, M. B.; LOPES, M. J. S. **Respostas de cultivares de *Brachiaria humidicola* e de *Brachiaria brizantha* 'Marandu' ao alagamento do solo**. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 2019.

DIAZ-VIVANCOS, P.; FAIZE, M.; BARBA-ESPIN, G.; FAIZE, L.; PETRI, C.; HERNÁNDEZ, J. A.; BURGOS, L. Ectopic expression of cytosolic superoxide

dismutase and ascorbate peroxidase leads to salt stress tolerance in transgenic plums. **Plant Biotechnology Journal**, v. 11, n. 8, p. 976-985, 2013.

DUBOIS, V.; BRETON, S.; LINDER, M.; FANNI, J.; PARMENTIER, M. Fatty acid profiles of 80 vegetable oils with regard to their nutritional potential. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 109, n. 7, p. 710-732, 2007.

ELLIS, R. H.; HONG, T. D.; ROBERTS, E. H. An intermediate category of seed storage behaviour? I. Coffee. **Journal of Experimental Botany**, v. 41, n. 9, p. 1167-1174, 1990.

EL-MAAROUF-BOUTEAU, H.; BAILLY, C. Oxidative signaling in seed germination and dormancy. **Plant Signaling & Behavior**, v. 3, n. 3, p. 175-182, 2008.

EL-MAAROUF-BOUTEAU, H.; MEIMOUN, P.; JOB, C.; JOB, D.; BAILLY, C. Role of protein and mRNA oxidation in seed dormancy and germination. **Frontiers of Plant Science**, v. 4, p. 1-5, 2013.

EL-MAAROUF-BOUTEAU, H. *et al.* Reactive oxygen species, abscisic acid and ethylene interact to regulate sunflower seed germination. **Plant, cell & environment**, v. 38, n. 2, p. 364-374, 2015.

FAGUNDES, J. L. FAGUNDES, J. L.; FONSECA, D. M. D.; MORAIS, R. V. D.; MISTURA, C.; VITOR, C. M. T.; GOMIDE, J. A.; LAMBERTUCCI, D. M. Avaliação das características estruturais do capim-braquiária em pastagens adubadas com nitrogênio nas quatro estações do ano. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, n. 1, p. 30-37, 2006.

FAIT, A.; ANGELOVICI, R.; LESS, H.; OHAD, I.; URBANCZYK-WOCHNIAK, E.; FERNIE, A. R.; GALILI, G. Arabidopsis seed development and germination is associated with temporally distinct metabolic switches. **Plant Physiology**, v. 142, n. 3, p. 839-854, 2006.

FAO. **World agriculture: statistics**. Roma: FAO, 2013.

FAVORETO, L.; SANTOS, J. M.; CALZAVARA, S. A.; LARA, L. A. Estudo fitossanitário, multiplicação e taxonomia de nematoides encontrados em sementes de gramíneas forrageiras no Brasil. **Nematologia Brasileira** v. 35, n. 1-2, p. 20-35, 2011.

FELIX, R. A. Z. **Mobilização de reservas orgânicas em sementes tratadas com extratos de *Amburana cearensis* (Fr. All.) AC Smith**. 2011. Tese (Doutorado) - Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2011.

FERRAZ, J. B. S.; DE FELÍCIO, P. E. Production systems – an example from Brazil. **Meat Science**, v. 84, n. 2, p. 238-243, 2010.

FIGUEIREDO, P. A. M.; VIANA, R. D. S.; LISBOA, L. A.; DE ASSUNPÇÃO, A. C. N. D. Superação da dormência em sementes de *Brachiaria brizantha* cv. Xaraés com a utilização de auxina sintética e seu efeito no desenvolvimento inicial da planta. **Revista Mirante**, v. 7, n. 2, p. 145-156, 2015.

FOWLER, J. A. P.; BIANCHETTI, A. **Dormência em sementes florestais**. Colombo: Embrapa Florestas-Documents (INFOTECA-E), 2000.

FU, Y.-B.; AHMED, Z.; DIEDERICHSEN, A. Towards a better monitoring of seed ageing under ex situ seed conservation. **Conservation Physiology**, v. 3, n. 1, p. cov026, 2015.

GARA, L. Class III peroxidases and ascorbate metabolism in lants. **Phytochemistry Reviews**, v. 3, n. 1-2, p. 195-205, 2004.

GASCHLER, M. M.; STOCKWELL, B. R. Peroxidação lipídica na morte celular. **Comunicações de Pesquisa Bioquímica e Biofísica**, v. 482, n. 3, pág. 419-425, 2017.

GILL, S. S.; TUTEJA, N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 48, n. 12, p. 909-930, 2010.

GILL, T.; DOGRA, V.; KUMAR, S.; AHUJA, P. S.; SREENIVASULU, Y. Protein dynamics during seed germination under copper stress in Arabidopsis over-expressing Potentilla superoxide dismutase. **Journal of Plant Research**, v. 125, p. 165-172, 2012.

GILL, S. S. *et al.* Superoxide dismutase—mentor of abiotic stress tolerance in crop plants. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 22, p. 10375-10394, 2015.

GOEL, A.; SHEORAN, I. S. Lipid peroxidation and peroxide-scavenging enzymes in cotton seeds under natural ageing. **Biologia Plantarum**, v. 46, p. 429-434, 2003.

GOLDFARB, M.; QUEIROGA, V. P. Considerações sobre o armazenamento de sementes. **Tecnologia e Ciência Agropecuária**, v. 7, n. 3, p. 71-74, 2013.

GRAHAM, I. A. Seed storage oil mobilization. **Annual Review of Plant Biology**, v. 59, p. 115-142, 2008.

GUNSTONE, F. D. **Fatty acid and lipid chemistry**. London: Blackie, 1996.

HANUMANTHAPPA, D.; VASUDEVAN, S. N.; IBRAHIM, M.; SHAKUNTALA, N. M.; AMAREGOUDA, A.; DODDAGOUDAR, S. R. Studies on seed dormancy in paddy genotypes. **The Ecoscan**, v. 9, p. 261-263, 2015.

HAY, F. R.; ADAMS, J.; MANGER, K.; PROBERT, R. The use of non-saturated lithium chloride solutions for experimental control of seed water content. **Seed Science and Technology**, v. 36, n. 3, p. 737-746, 2008.

HELL, A. F. **Alterações metabólicas em função de variáveis ambientais e sua contribuição para a tolerância à perda de água em sementes de *Eugenia Pyriformis* cambess.** 97f. 2014. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Botânica da Secretaria de Estado do Meio Ambiente, 2014.

HENDRY, G. A. F. Evolutionary origins and natural functions of fructans—a climatological, biogeographic and mechanistic appraisal. **New Phytologist**, v. 123, n. 1, p. 3-14, 1993.

HOEKSTRA, F. A.; GOLOVINA, E. A.; TETTEROO, F. A.; WOLKERS, W. F. Induction of desiccation tolerance in plant somatic embryos: how exclusive is the protective role of sugars? **Cryobiology**, v. 43, n. 2, p. 140-150, 2001.

HOPKINSON, J. M. *et al.* **Reproductive physiology, seed production, and seed quality of *Brachiaria*.** Colombia: Cauca Department, 1996.

HU, D.; MA, G.; WANG, Q.; YAO, J.; WANG, Y. U.; PRITCHARD, H. W.; WANG, X. Spatial and temporal nature of reactive oxygen species production and programmed cell death in elm (*Ulmus pumila* L.) seeds during controlled deterioration. **Plant, Cell & Environment**, v. 35, n. 11, p. 2045-2059, 2012.

HUTH, C.; MERTZ-HENNING, L. M.; LOPES, S. J.; TABALDI, L. A.; ROSSATO, L. V.; KRZYZANOWSKI, F. C.; HENNING, F. A. Suscetibilidade à deterioração por umidade e ao estresse oxidativo em sementes de soja com variação no conteúdo de lignina no tegumento. **Journal of Seed Science**, v. 38, p. 296-304, 2016.

IBGE. **Censo Agropecuário 2017: resultados definitivos.** Rio de Janeiro: IBGE, 2019a. v. 8, 105 p. Disponível em: https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/3096/agro_2017_resultados_definitivos.pdf. Acesso em: 24 jan. 2021.

IBGE. **Estabelecimentos agropecuários.** Rio de Janeiro: IBGE, 2019b. Disponível em: https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/3096/agro_2017_estabelecimentos_agropecuarios.pdf. Acesso em: 26 jan. 2021.

IMAMURA, K.; GAWA, T.; SAKIYAMA, T.; NAKANISHI, K. Efeitos dos tipos de açúcar na estabilização da proteína no estado seco. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 92, n. 2, p. 266-274, 2003.

ISTA. **International rules for seed testing.** Basserdorf: ISTA, 2014. p. 1-15.

JEEVAN KUMAR, S. P.; RAJENDRA, P. S.; BANERJEE, R.; THAMMINENI, C. Seed birth to death: dual functions of reactive oxygen species in seed physiology. **Annals of Botany**, v. 116, n. 4, p. 663-668, 2015.

KAPOOR, N.; ARYA, A.; SIDDIQUI, M. A.; KUMAR, H.; AMIR, A. Physiological and biochemical changes during seed deterioration in aged seeds of rice (*Oryza sativa* L.). **American Journal of Plant Physiology**, v. 6, n. 1, p. 28-35, 2011.

KATSUYA-GAVIRIA, Kai. *et al.* Reactive oxygen species (ROS) and nucleic acid modifications during seed dormancy. **Plants**, v. 9, n. 6, p. 679, 2020.

KIBINZA, S.; BAZIN, J.; BAILLY, C.; FARRANT, J. M.; CORBINEAU, F.; EL-MAAROUF-BOUTEAU, H. Catalase is a key enzyme in seed recovery from ageing during priming. **Plant Science**, v. 181, n. 3, p. 309-315, 2011.

KICHEL, A. N.; COSTA, J. A. A.; DE ALMEIDA, R. G. **Cultivo simultâneo de capins com milho na safrinha**: produção de grãos, de forragem e de palhada para plantio direto. Campo Grande: Embrapa Gado de Corte-Documents (INFOTECA-E), 2009.

KRANNER, I.; MINIBAYEVA, F. V.; BECKETT, R. P.; SEAL, C. E. What is stress? Concepts, definitions and applications in seed science. **New Phytologist**, v. 188, n. 3, p. 655-673, 2010.

LACERDA, M. J. R.; CABRAL, J. S. R.; DE FÁTIMA S. J.; FREITAS, K. R.; FONTES, A. J. Superação da dormência de sementes de *Brachiaria brizantha* cv. "Marandu". **Semina: Ciências Agrárias**, v. 31, n. 4, p. 823-827, 2010.

LANDJEVA, S.; LOHWASSER, U.; BÖRNER, A. Genetic mapping within the wheat D genome reveals QTL for germination, seed vigour and longevity, and early seedling growth. **Euphytica**, v. 171, n. 1, p. 129-143, 2010.

LEANDRO, W. M. Plantio direto garante, sustentabilidade a groecossistemas. **Visão Agrícola**, n. 5, p. 16-20, 2006.

LEHNER, A.; BAILLY, C.; FLECHEL, B.; POELS, P.; CÔME, D.; CORBINEAU, F. Changes in wheat seed germination ability, soluble carbohydrate and antioxidant enzyme activities in the embryo during the desiccation phase of maturation. **Journal of Cereal Science**, v. 43, n. 2, p. 175-182, 2006.

LEI, Y. B.; SONG, S. Q.; FU, J. R. Possível envolvimento de enzimas antioxidantes na tolerância cruzada da germinação / crescimento de sementes de trigo à salinidade e estresse por calor. **Journal of Integrative Plant Biology**, v. 47, n. 10, p. 1211-1219, 2005.

LIBÓRIO, C. B.; VERZIGNASSI, J. R.; FERNANDES, C. D.; DIAS, N. L. **Superação da dormência em sementes de *Brachiaria humidicola* cv. BRS Tupi pelo uso de ácido giberélico**. Campo Grande: Embrapa Gado de Corte-Artigo em periódico indexado (ALICE), 2018.

LIBÓRIO, C. B.; VERZIGNASSI, J. R.; FERNANDES, C. D.; VALLE, C. B. D.; LIMA, N. D.; MONTEIRO, L. C. Potassium nitrate on overcoming dormancy in *Brachiaria humidicola* 'BRS Tupi' seeds. **Ciência Rural**, v. 47, n. 6, 2017.

LIMA, K. N.; TEODORO, P. E.; PINHEIRO, G. S.; PEREIRA, A. C.; TORRES, F. E. Superação de dormência em capim-Braquiária. **Nucleus**, v. 12, n. 2, p. 167-174, 2015.

LIU, J.; QIAN, M.; CAI, G.; YANG, J.; ZHU, Q. Uptake and translocation of Cd in different rice cultivars and the relation with Cd accumulation in rice grain. **Journal of Hazardous Materials**, v. 143, n. 1-2, p. 443-447, 2007.

LIU, L.; XIA, W.; LI, H.; ZENG, H.; WEI, B.; HAN, S.; YIN, C. Salinity inhibits rice seed germination by reducing α -amylase activity via decreased bioactive gibberellin content. **Frontiers in Plant Science**, v. 9, p. 275, 2018.

MACHADO, J. C.; PEREIRA, J. F. Pastagens tropicais: opções de cultivo e os desafios no melhoramento das plantas. In: ANUÁRIO LEITE. Juiz de Fora: Texto Comunicação Corporativa, 2021.

MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Londrina: ABRATES, 2015.

MARTINS, C. C.; BOMBONATO, J.; MARTINS, D.; MARCUSSI, F. Effects of substratum, temperature, and treatments to overcome dormancy on the germination of *Fimbristylis dichotoma* seeds. **Revista de Ciências Agrárias Amazonian Journal of Agricultural and Environmental Sciences**, v. 56, n. supl., p. 44-48, 2013.

MARTINS, L.; SILVA, W. R. Comportamento da dormência em sementes de braquiária submetidas a tratamentos térmicos e químicos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 36, n. 7, p. 997-1003, 2001.

MARTINS, M. G. **Dormência e qualidade fisiológica de sementes de *Panicum maximum***. 2019. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, 2019.

MASETTO, T. E.; RIBEIRO, D. M.; REZENDE, R. K. S. Germinação de sementes de *Urochloa ruziziensis* em função da disponibilidade hídrica do substrato e teor de água das sementes. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 43, p. 385-391, 2013.

MAYWORM, M. A. S. **Ácidos graxos de sementes de plantas de cerrado**. 1994. Dissertação (Mestrado em Botânica), Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1994.

MAYWORM, M. A. S.; SALATINO, A.; BUCKERIDGE, M. S. Chemical composition of seeds of *Peltophorum dubium* Vog., a legume tree from the Brazilian Caatinga

vegetation with potential for sustainable use of biodiversity in semi-arid regions. **Hoehnea**, v. 31, p. 175-179, 2004.

MCDONALD, M. B. Seed deterioration: physiology, repair and assessment. **Seed Science and Technology**, v. 27, n. 1, p. 177-237, 1999.

MCDONALD, M. B. Seed quality assessment. **Seed Science Research**, v. 8, n. 2, p. 265-276, 1998.

MELLO, J. I. O.; BARBEDO, C. J.; SALATINO, A.; FIGUEIREDO-RIBEIRO, R. D. C. L. Reserve carbohydrates and lipids from the seeds of four tropical tree species with different sensitivity to desiccation. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 53, n. 4, p. 889-899, 2010.

MELO, G. M. D.; SANTOS, H. O. D.; OLIVEIRA, T. F.; CUNHA NETO, A. R. D.; PEREIRA, A. A. S.; GUARALDO, M. M. D. S. Effect of priming and different types of drying on the physiological quality of *Urochloa ruziziensis* seeds. **Journal of Seed Science**, v. 43, p. e202143021, 2021.

MESCHEDE, D K.; SANTOS, H. O. D.; OLIVEIRA, T. F.; CUNHA NETO, A. R. D.; PEREIRA, A. A. S.; GUARALDO, M. M. D. S. Tratamentos para superação da dormência das sementes de capim-braquiária cultivar Marandu. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 26, n. 2, p. 76-81, 2004.

MITTLER, R. ROS are good. **Trends in plant science**, v. 22, n. 1, p. 11-19, 2017.

MØLLER, I. M.; JENSEN, P. E.; HANSSON, A. Oxidative modifications to cellular components in plants. **Annual Review of Plant Biology**, v. 58, p. 459-481, 2007.

MONDO, V. H. V.; CICERO, S. M.; DOURADO-NETO, D.; PUPIM, T. L.; DIAS, M. A. N. Vigor de sementes e desempenho de plantas de milho. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 34, p. 143-155, 2012.

MORAIS, C. S. B.; ROSSETTO, C. A. V. Testes de deterioração controlada e envelhecimento acelerado para avaliação do vigor em nabo forrageiro. **Revista Ciência Agronômica**, v. 44, p. 703-713, 2013.

MOREIRA, D. A. L. **Superação da dormência em sementes de Brachiaria humidicola cv. BRS Tupi durante o armazenamento**. 2014. 55 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agronômicas de Botucatu, 2014.

MORIYA, L. M.; NETO, N. B. M.; MARKS, T. R.; CUSTODIO, C. C. Seed vigour better to be assessed by physiological markers rather than expression of antioxidant enzymes in the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Australian Journal of Crop Science**, v. 9, n. 1, p. 30, 2015.

MORSCHER, F.; KRANNER, I.; ARC, E.; BAILLY, C.; ROACH, T. Glutathione redox state, tocopherols, fatty acids, antioxidant enzymes and protein carbonylation in sunflower seed embryos associated with after-ripening and ageing. **Annals of Botany**, v. 116, n. 4, p. 669-678, 2015.

MURTHY, U. M. N.; SUN, W. Q. Cell and Molecular Biology, Biochemistry and Molecular Physiology-Protein modification by Amadori and Maillard reactions during seed storage: Roles of sugar hydrolysis and lipid peroxidation. **Journal of Experimental Botany**, v. 51, n. 348, p. 1221-1228, 2000.

NAGEL, M.; BÖRNER, A. The longevity of crop seeds stored under ambient conditions. **Seed Science Research**, v. 20, n. 1, p. 1, 2010.

NANI, T. F. **Citogenética de espécies de Brachiaria**: Contribuições para a construção de mapas físicos. Lavras: UFLA, 2015. 124 p.

NASCIUTTI, P. R.; COSTA, A. P.; JÚNIOR, M. S.; MELO, N.; CARVALHO, R. Ácidos graxos e o sistema cardiovascular. **Enciclopédia Biosfera**, v. 11, n. 22, 2015.

NISHIZAWA, A.; YABUTA, Y.; SHIGEOKA, S. Galactinol e rafinose constituem uma nova função para proteger as plantas dos danos oxidativos. **Fisiologia Vegetal**, v. 147, n. 3, pág. 1251-1263, 2008.

NOCTOR, G.; FOYER, C. H. Intracellular redox compartmentation and ROS-related communication in regulation and signaling. **Plant Physiology**, v. 171, n. 3, p. 1581-1592, 2016.

OENEL, A.; FEKETE, A.; KRISCHKE, M.; FAUL, S. C.; GRESSER, G.; HAYVAUX, M.; BERGER, S. Enzymatic and non-enzymatic mechanisms contribute to lipid oxidation during seed aging. **Plant and Cell Physiology**, v. 58, n. 5, p. 925-933, 2017.

OLIVEIRA, P.; KLUTHCOUSKI, J.; FAVARIN, J. L.; SANTOS, D. D. C. **Sistema Santa Brígida-Tecnologia Embrapa**: consorciação de milho com leguminosas. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão-Circular Técnica (INFOTECA-E), 2010.

ÖZEL, H. B.; ŞEVIK, H.; ONAT, S. M.; YIGIT, N. The effect of geographic location and seed storage time on the content of fatty acids in stone pine (*Pinus pinea* L.) seeds. **BioResources**, v. 17, n. 3, p. 5038, 2022.

PÁDUA, G.; OLIVEIRA, D.; FÉLIX, F.; MACÊDO, C.; VOIGT, E.; FERRARI, C.; PACHECO, M. V. Alterações fisiológicas e bioquímicas de sementes de *Acacia mangium* Willd. durante o armazenamento. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 42, n. 4, p. 1000-1009, 2019.

PAMPLONA, R.; PORTERO-OTIN, M.; RIBA, D.; RUIZ, C.; PRAT, J.; BELLMUNT, M. J.; BARJA, G. Mitochondrial membrane peroxidizability index is inversely related to maximum life span in mammals. **Journal of Lipid Research**, v. 39, n. 10, p. 1989-1994, 1998.

PASCUALI, L. C. **Estimativa do potencial de armazenamento de soja, através do vigor das sementes**. 2012. Tese (Doutorado em Ciências) - Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2012.

PEDREIRA, C. G. S.; TONATO, F.; LARA, M. A. S. Forrageiras: *Brachiaria*, *Panicum* e *Cynodon*. In: MONTEIRO, J. **Agrometeorologia dos cultivos, o fator meteorológico na produção agrícola**. Brasília: INMET, 2009. p. 427-447.

PEIRETTI, P. G.; GAI, F.; TASSONE, S. Fatty acid profile and nutritive value of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) seeds and plants at different growth stages. **Animal Feed Science and Technology**, v. 183, n. 1-2, p. 56-61, 2013.

PELLEGRINI, M.; LUCAS-GONZALES, R.; RICCI, A.; FONTECHA, J.; FERNANDEZ-LOPEZ, J.; PEREZ-ALVAREZ, J. Á.; VIUDA-MARTOS, M. Propriedades químicas, de ácidos graxos, polifenólicos, tecnofuncionais e antioxidantes de farinhas obtidas a partir de sementes de quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). **Culturas e Produtos Industriais**, v. 111, p. 38-46, 2018.

PEREIRA, C. E.; OLIVEIRA, J. A.; ROSA, M. C. M.; KIKUTI, A. L. P. Armazenamento de sementes de braquiária peletizadas e tratadas com fungicida e inseticida. **Ciência Rural**, v. 41, n. 12, p. 2060-2065, 2011.

PEREIRA, S.; RODRIGUES, A. D. A.; OLIVERIA, D.; LAURA, V.; COSTA, D. **Qualidade de sementes comercializadas de braquiárias: o que mudou após 10 anos?**. Campo Grande, MS: Embrapa Gado de Corte, 2019. 12 p.

PEREIRA, T. S. **Superação de dormência de sementes de capim humidícola**. 2019. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrônômicas de Jaboticabal, 2019.

PESKE, S. T.; VILLELA, F. A.; MENEGHELLO, G. E. **Sementes**: fundamentos científicos e tecnológicos. Pelotas: Editora Universitária/UFPel, 2012.

PEZZOPANE, J.R.M.; SANTOS, P. M.; BOSI, C.; EVANGELISTA, S.; PETRI, C.; CUADRA, S. Cenários futuros das pastagens no Brasil. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO ESTRATÉGICO DA PASTAGEM, 9., SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE PRODUÇÃO ANIMAL EM PASTEJO, 6., 2019, Viçosa, MG. **Anais [...]**. Viçosa: SIMFOR, 2019.

PINHEIRO, D. T. **Deterioração por umidade na pré-colheita de sementes de soja**: alterações físicas, fisiológicas e bioquímicas. 2019. 92 f. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. 2019.

POLIDOROS, A. N.; SCANDALIOS, J. G. Role of hydrogen peroxide and different classes of antioxidants in the regulation of catalase and glutathione S-transferase gene expression in maize (*Zea mays* L.). **Physiologia Plantarum**, v. 106, n. 1, p. 112-120, 1999.

PONQUETT, R. T.; SMITH, M. T.; ROSS, G. Lipid autoxidation and seed ageing: putative relationships between seed longevity and lipid stability. **Seed Science Research**, v. 2, n. 1, p. 51-54, 1992.

PORTO, E. M. V. Produção de biomassa de três cultivares do gênero *Brachiaria* spp. submetidos à adubação nitrogenada. **Agropecuária Científica no Semiárido**, v. 13, n. 1, p. 9-14, 2017.

PROBERT, R. J.; DAWS, M. I.; HAY, F. R. Ecological correlates of ex situ seed longevity: a comparative study on 195 species. **Annals of Botany**, v. 104, n. 1, p. 57-69, 2009.

PUKACKA, S.; RATAJCZAK, E. Production and scavenging of reactive oxygen species in *Fagus sylvatica* seeds during storage at varied temperature and humidity. **Journal of Plant Physiology**, v. 162, n. 8, p. 873-885, 2005.

PULIDO, P.; CAZALIS, R.; CEJUDO, F. J. An antioxidant redox system in the nucleus of wheat seed cells suffering oxidative stress. **The Plant Journal**, v. 57, n. 1, p. 132-145, 2009.

PÜTTER, J. Peroxidases. *In*: **Métodos de análise enzimática**. New York: Academic Press, 1974. v. 2, n. 2. p. 685-690.

RAJJOU, L.; DUVAL, M.; GALLARDO, K.; CATUSSE, J.; BALLY, J.; JOB, C.; JOB, D. Seed germination and vigor. **Annual Review of Plant Biology**, v. 63, p. 507-533, 2012.

RAY, D. K.; WEST, P. C.; CLARK, M.; GERBER, J. S.; PRISHCHEPOV, A. V.; CHATTERJEE, S. Climate change has likely already affected global food production. **PloS ONE**, v. 14, n. 5, p. e0217148, 2019.

RIBEIRO, O. M. D. **Qualidade física e fisiológica de sementes de Paricá (shizolobium parayba var. Amazonicum (HUBER EX DUCK) Barneby) após o armazenamento**. Belém, 2014.

ROACH, T. BECKETT, R. P.; MINIBAYEVA, F. V.; COLVILLE, L.; WHITAKER, C.; CHEN, H.; KRANNER, I. Extracellular superoxide production, viability and redox

poise in response to desiccation in recalcitrant *Castanea sativa* seeds. **Plant, Cell & Environment**, v. 33, n. 1, p. 59-75, 2010.

ROBERTS, T. L.; RYAN, J. **Solo e segurança alimentar**. Piracicaba: International Plant Nutrition Institute, 2015.

RODRIGUES-DA-SILVA, R.; FILGUEIRAS, T. S. Gramíneas (Poaceae) da área de relevante interesse ecológico (ARIE)" Santuário de vida Silvestre do Riacho Fundo", Distrito Federal, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 17, n. 3, p. 467-486, 2003.

SÁ, M. E. Importância da adubação na qualidade de sementes. *In: Importância da adubação na qualidade dos produtos agrícolas*. São Paulo: Ícone, 1994. p. 65-98.

SACANDÉ, M.; HOEKSTRA, F. A.; VAN AELST, A. C.; VOS, C. RIs oxidative stress involved in the loss of neem (*Azadirachta indica*) seed viability?. **Seed Science Research**, v. 10, p. 381-392, 2000.

SHARMA, S. N.; MAHESHWARI, A.; SHARMA, C.; SHUKLA, N. Gene expression patterns regulating the seed metabolism in relation to deterioration/ageing of primed mung bean (*Vigna radiata* L.) seeds. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 124, p. 40-49, 2018.

SANCHEZ, J.; MANGAT, P. K.; ANGELES-SHIM, R. B. Weathering the cold: Modifying membrane and storage fatty acid composition of seeds to improve cold germination ability in upland cotton (*Gossypium hirsutum* L.). **Agronomy**, v. 9, n. 11, p. 684, 2019.

SANO, N.; RAJJOU, L.; NORTH, H. M.; DEBEAUJON, I.; MARION-POLL, A.; SEO, M. Staying alive: molecular aspects of seed longevity. **Plant and Cell Physiology**, v. 57, n. 4, p. 660-674, 2016.

SETHY, S. K.; GHOSH, S. Effect of heavy metals on germination of seeds. **Journal of Natural Science, Biology, and Medicine**, v. 4, n. 2, p. 272, 2013.

SHABAN, M. Review on physiological aspects of seed deterioration. **International Journal of Agriculture and Crop Sciences**, v. 6, n. 11, p. 627-631, 2013.

SHARMA, P.; JHA, A. B.; DUBEY, R. S.; PESSARAKLI, M. Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. **Journal of Botany**, v. 2012, 2012.

SILVA, E. B.; JÚNIOR, L. G. F.; ANJOS, A. F.; MIZIARA, F. Análise da distribuição espaço-temporal das pastagens cultivadas no bioma Cerrado entre 1970 e 2006. **Revista IDeAS**, v. 7, n. 1, p. 174-209, 2013.

SOARES FILHO, C.V. Recomendações de espécies e variedades de *Brachiaria* para diferentes condições. *In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DA PASTAGEM 11.*, 1994, Piracicaba. **Anais [...]**. Piracicaba: FEALQ, 1994. p. 25-48.

SOMERVILLE, C.; BROWSE, J.; JAWORSKI, J. G.; OHLROGGE, J. B. Lipids. *In: BUCHANAN, B.; GRUISSEM, W.; JONES, R. (Eds). Biochemistry & molecular biology of plants*. Rockville: American Society of Plant Physiologists, 2000. v. 1, p. 456-527.

SOUSA, D. M. G.; MIRANDA, L. N.; OLIVEIRA, S. A. Acidez do solo e sua correção. *In: NOVAIS R. F. et al. Fertilidade do solo*. Viçosa: SBCS/UFV, 2007. p. 205-274.

SOUSA, S. B. **Dinâmica territorial e padrões espaciais da pecuária brasileira**. 2017. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2017.

SUN, S. M.; SPEARS, J. F.; ISLEIB, T. G.; JORDAN, D. L.; PENNY, B.; JOHNSON, D.; COPELAND, S. Effect of production environment on seed quality of normal and high-oleate large seeded Virginia-type peanut (*Arachis hypogaea* L.). **Peanut Science**, v. 41, n. 2, p. 90-99, 2014.

SVERSUTTI, P. E.; YADA, M. M. Criação extensiva de bovinos de corte. **SIMTEC - Simpósio de Tecnologia da Fatec Taquaritinga**, v. 5, n. 1, p. 382-391, 2019.

SYCH, T.; MÉLY, Y.; RÖMER, W. Auto-montagem de lipídios e reorganização da membrana plasmática induzida por lectina. **Transações Filosóficas da Royal Society B: Biological Sciences**, v. 373, n. 1747, 2018.

TANG, Y.; LI, X.; CHEN, P. X.; ZHANG, B.; HERNANDEZ, M.; ZHANG, H.; TSAO, R. Characterisation of fatty acid, carotenoid, tocopherol/tocotrienol compositions and antioxidant activities in seeds of three *Chenopodium quinoa* Willd. genotypes. **Food Chemistry**, v. 174, p. 502-508, 2015.

TAVA, A.; PECIO, L.; LO SCALZO, R.; STOCHMAL, A.; PECETTI, L. Phenolic content and antioxidant activity in *Trifolium* germplasm from different environments. **Molecules**, v. 24, n. 2, p. 298, 2019.

TAVARES FILHO, J. **Física e conservação do solo e água**. Londrina: SciELO-EDUEL, 2016.

TEIXEIRA, I. R.; BORÉM, A.; ARAÚJO, G. A. D. A.; ANDRADE, M. J. B. D. Teores de nutrientes e qualidade fisiológica de sementes de feijão em resposta à adubação foliar com mangans e zinco. **Bragantia**, v. 64, n. 1, p. 83-88, 2005.

TORRES JUNIOR, A. M.; AGUIAR, G. A. M. Pecuária de corte no Brasil: potencial e resultados econômicos. **Encontro de Adubação de Pastagens da Scot Consultoria-Tec-Fértil**, v. 1, n. 2013, p. 9-14, 2013.

TROMBETTA, C. G. **Dormência, vigor e estabelecimento inicial de braquiária e alfafinha**. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Sementes, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, 2013.

USBERTI, R.; MARTINS, L. Sulphuric acid scarification effects on *Brachiaria brizantha*, *B. humidicola* and *Panicum maximum* seed dormancy release. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 29, n. 2, p. 143-147, 2007.

VALLE, C. B.; JANK, L.; RESENDE, R. M. S. O melhoramento de forrageiras tropicais no Brasil. **Revista Ceres**, v. 56, n. 4, p. 460-472, 2009.

VALLE, C. B. Gênero *Brachiaria*. In: FONSECA, D. M.; MARTUSCELLO, J. A. **Plantas forrageiras**. Viçosa: UFV, 2011. p.30-77.

VELA, R. S.; MOTERLE, L. M.; SANTOS, R. F.; CHICHANOVSKI, C.; BRACCINI, A. L. Quebra de dormência em sementes de *Brachiaria brizantha* (Hochst. ex A. Rich.) Stapf. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 41, n. 2, p. 327-335, 2018.

VELASCO, F. O. **Valor nutricional da *Brachiaria decumbens* em três idades**. 2011. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Minas Gerais, 2011.

VIGNA, B. B. Z.; JUNGSMANN, L.; FRANCISO, P. M.; ZUCCHI, M. I.; VALLE, C. B.; SOUZA, A. P. Genetic diversity and population structure of the *Brachiaria brizantha* germplasm. **Tropical Plant Biology**, v. 4, n. 3, p. 157-169, 2011.

VILELA, H. **Pastagem**: seleção de plantas forrageiras, implantação e adubação. Viçosa: Aprender Fácil, 2005. p. 283.

VIVIAN, R. S. A. A.; SILVA, A. A.; GIMENES J. M.; FAGAN, E. B.; RUIZ, S. T.; LABONIA, V. Dormência em sementes de plantas daninhas como mecanismo de sobrevivência: breve revisão. **Planta Daninha**, 2008. p. 695-706.

VOLK, G. M.; CRANE, J.; CASPERSEN, A. M.; HILL, L. M.; GARDNER, C.; WALTERS, C. Massive cellular disruption occurs during early imbibition of *Cuphea* seeds containing crystallized triacylglycerols. **Planta**, v. 224, n. 6, p. 1415-1426, 2006.

WALTERS, C. Orthodoxy, recalcitrance and in-between: describing variation in seed storage characteristics using threshold responses to water loss. **Planta**, v. 242, n. 2, p. 397-406, 2015.

WALTERS, C.; BALLESTEROS, D.; VERTUCCI, V. A. Structural mechanics of seed deterioration: Standing the test of time. **Plant Science**, v. 179, p. 565-573, 2010.

WALTERS, C.; HILL, L. M.; WHEELER, L. J. Dying while dry: kinetics and mechanisms of deterioration in desiccated organisms. **Integrative and Comparative Biology**, v. 45, n. 5, p. 751-758, 2005.

WALTERS, C.; WHEELER, L.; STANWOOD, P. C. Longevity of cryogenically stored seeds. **Cryobiology**, v. 48, n. 3, p. 229-244, 2004.

WIEBACH, J.; NAGEL, M.; BÖRNER, A.; ALTMANN, T.; RIEWE, D. Age-dependent loss of seed viability is associated with increased lipid oxidation and hydrolysis. **Plant, Cell & Environment**, v. 43, n. 2, p. 303-314, 2020.

WIGGERS, G. R. **Efeito da baixa temperatura no perfil de ácidos graxos e expressão de genes lipogênicos do azevém anual (*L. multiflorum* L.)**. 2022. Dissertação (Mestrado) - Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages, 2022.

WILSON JR., D. O.; McDONALD JR., M. B. Lipid peroxidation model of seed ageing. **Seed Science and Technology**, 1986.

WOLFF, I. A.; KWOLEK, W. F. **Lipids of the Leguminosae**. In: HARBORNE, J. B.; BOULTER, D.; TURNER, B. L. (Eds.). *Chemotaxonomy of the Leguminosae*. London: Academic Press, 1971. p. 231-255.

XIN, X.; TIAN, Q.; YIN, G.; CHEN, X.; ZHANG, J.; NG, S.; LU, X. Reduced mitochondrial and ascorbate–glutathione activity after artificial ageing in soybean seed. **Journal of Plant Physiology**, v. 171, n. 2, p. 140-147, 2014.

YALAMALLE, V. R.; TOMAR, B. S.; JAIN, S. K.; ARORA, A.; KUMAR, A.; MUNSHI, A. D. Spermine induced protection of onion seed vigour and viability during accelerated ageing. **Journal of Environmental Biology**, v. 40, n. 5, p. 1079-1083, 2019.

YEILAGHI, Y. H.; ARZANI, A.; GHADERIAN, M.; FOTOVAT, R.; FEIZI, M.; POURDAD, S. S. Effect of salinity on seed oil content and fatty acid composition of safflower (*Carthamus tinctorius* L.) genotypes. **Food Chemistry**, v. 130, n. 3, p. 618-625, 2012.

YIN, X.; HE, D.; GUPTA, R.; YANG, P. Physiological and proteomic analyses on artificially aged *Brassica napus* seed. **Frontiers in Plant Science**, v. 6, p. 112, 2015.

ZHENG, G.; LI, L.; LI, W. Glycerolipidome responses to freezing-and chilling-induced injuries: examples in *Arabidopsis* and rice. **BMC Plant Biology**, v. 16, n. 1, p. 1-15, 2016.

ZIMMER, A. G. **Gramíneas forrageiras tropicais para integração lavoura pecuária**. Campo Grande: Embrapa Gado de Corte, 2015.

10 ANEXO

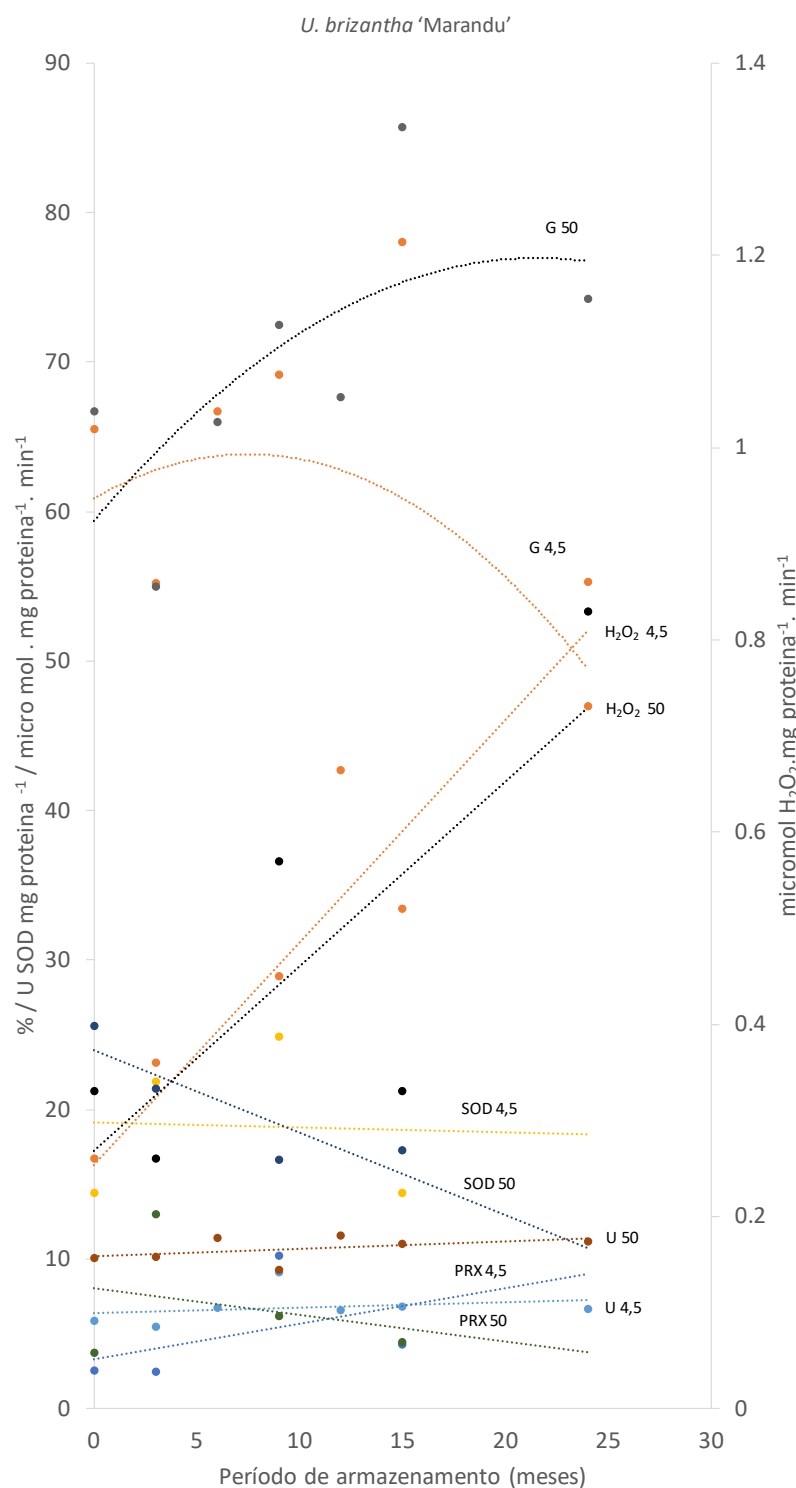


Figura 1 Suplementar - Linhas de tendências de *U. brizantha* 'Marandu' armazenadas em 4,5% e 50% de umidade relativa obtidas para porcentagem de germinação (G 4,5; G 50), conteúdo de peróxido de hidrogênio (H_2O_2 4,5 e H_2O_2 50), atividade de SOD (SOD 4,5 e SOD 50), atividade de peroxidase (PRX 4,5 e 50) e umidade da semente (U 4,5 e U 50).

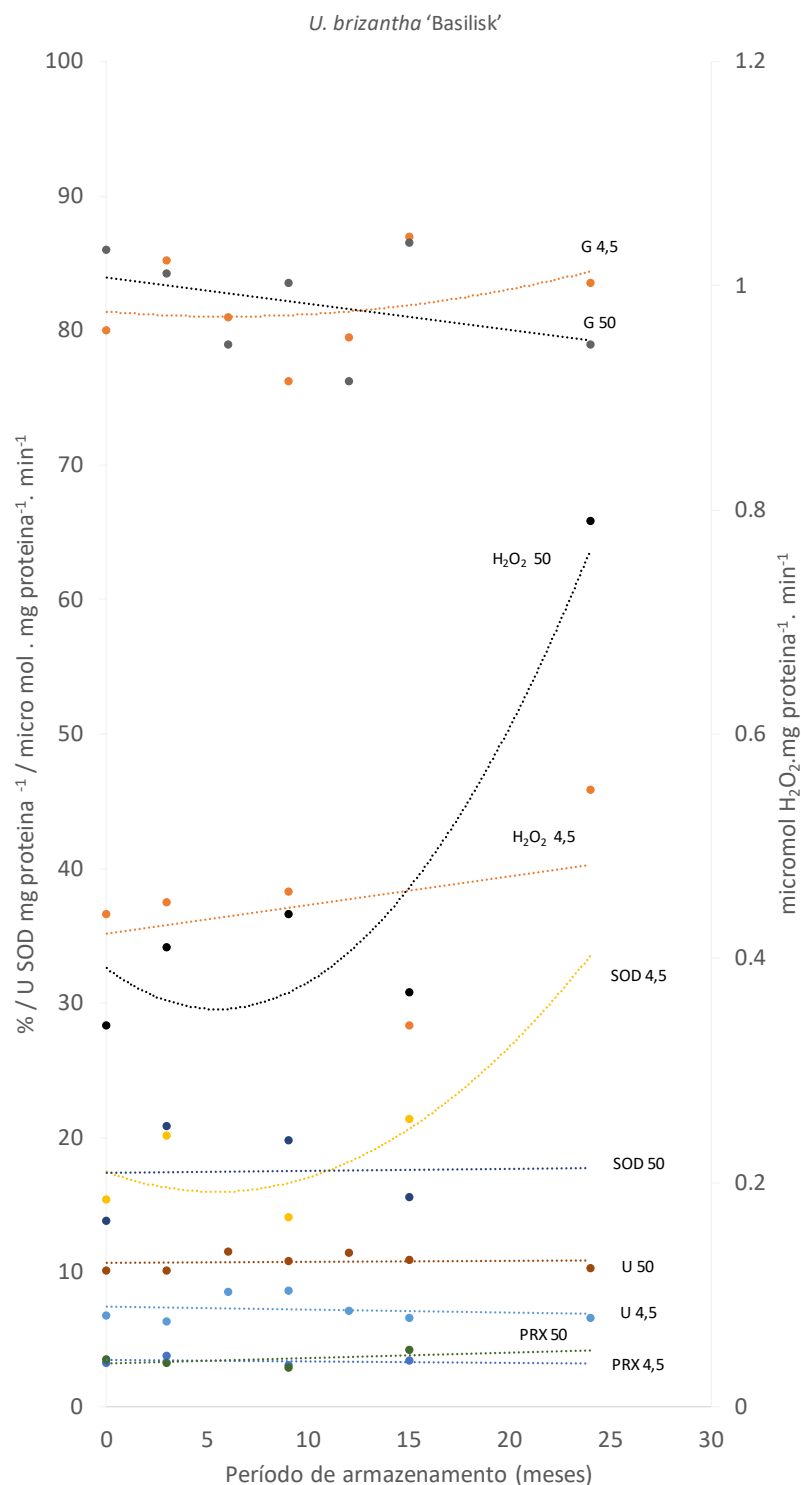


Figura 2 Suplementar - Linhas de tendências de *U. brizantha* 'Basilisk' armazenadas em 4,5% e 50% de umidade relativa obtidas para porcentagem de germinação (G 4,5; G 50), conteúdo de peróxido de hidrogênio (H₂O₂ 4,5 e H₂O₂ 50), atividade de SOD (SOD 4,5 e SOD 50), atividade de peroxidase (PRX 4,5 e 50) e umidade da semente (U 4,5 e U 50).

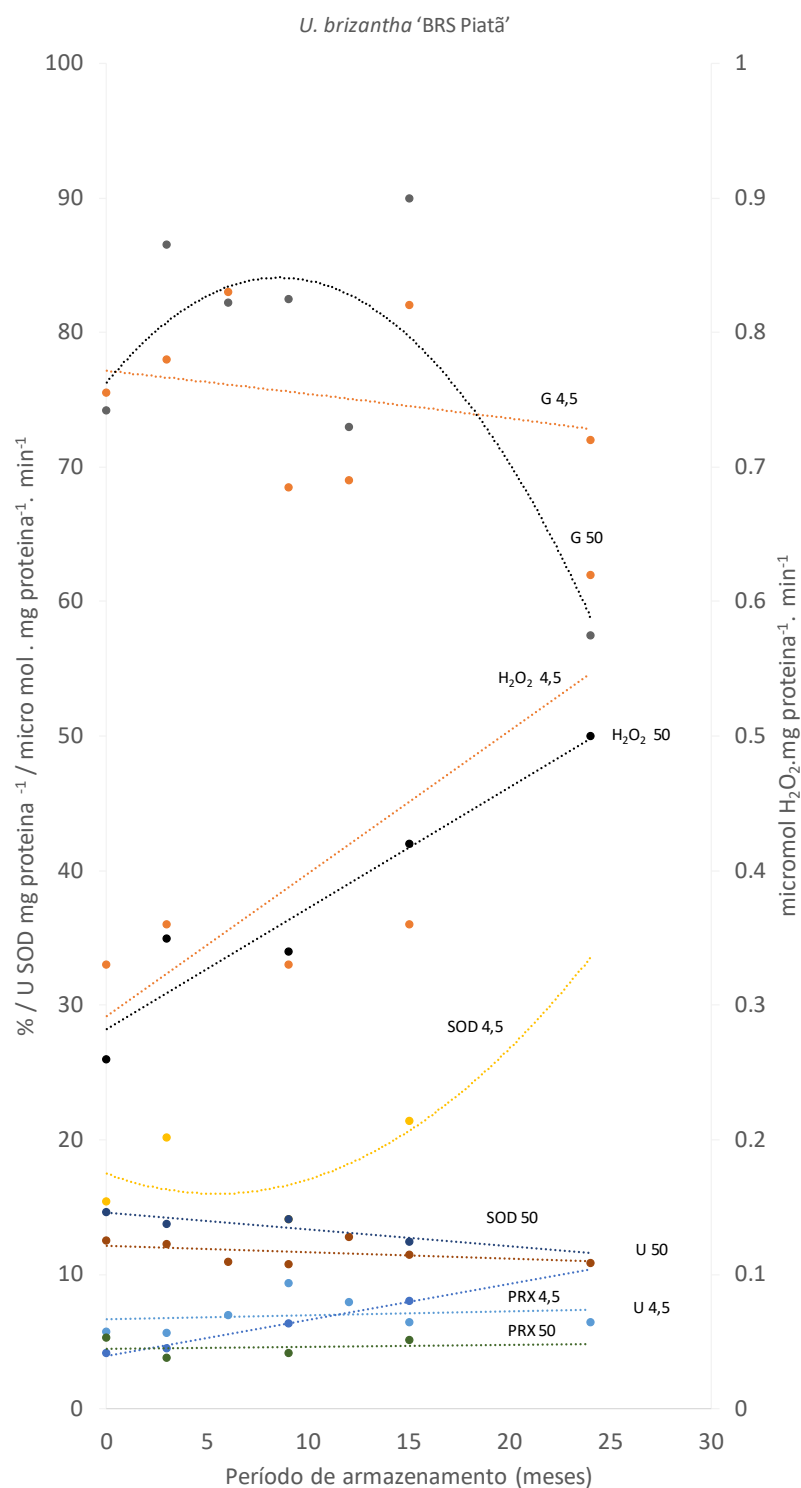


Figura 3 Suplementar - Linhas de tendências de *U. brizantha* 'Piatã' armazenadas em 4,5% e 50% de umidade relativa obtidas para porcentagem de germinação (G 4,5; G 50), conteúdo de peróxido de hidrogênio (H₂O₂ 4,5 e H₂O₂ 50), atividade de SOD (SOD 4,5 e SOD 50), atividade de peroxidase (PRX 4,5 e 50) e umidade da semente (U 4,5 e U 50).

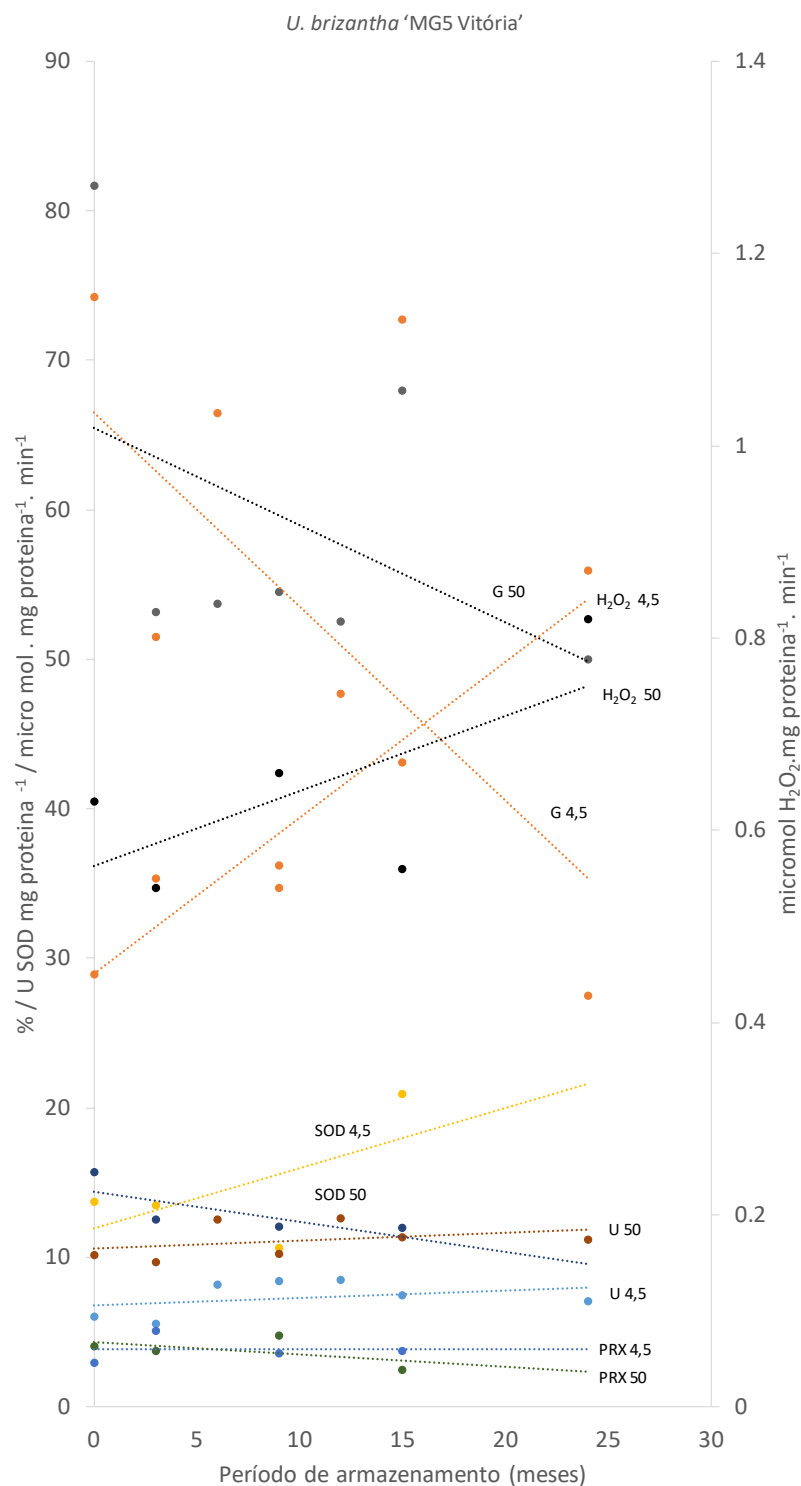


Figura 4 Suplementar - Linhas de tendências de *U. brizantha* 'MG5 Vitória' armazenadas em 4,5% e 50% de umidade relativa obtidas para porcentagem de germinação (G 4,5; G 50), conteúdo de peróxido de hidrogênio (H₂O₂ 4,5 e H₂O₂ 50), atividade de SOD (SOD 4,5 e SOD 50), atividade de peroxidase (PRX 4,5 e 50) e umidade da semente (U 4,5 e U 50).

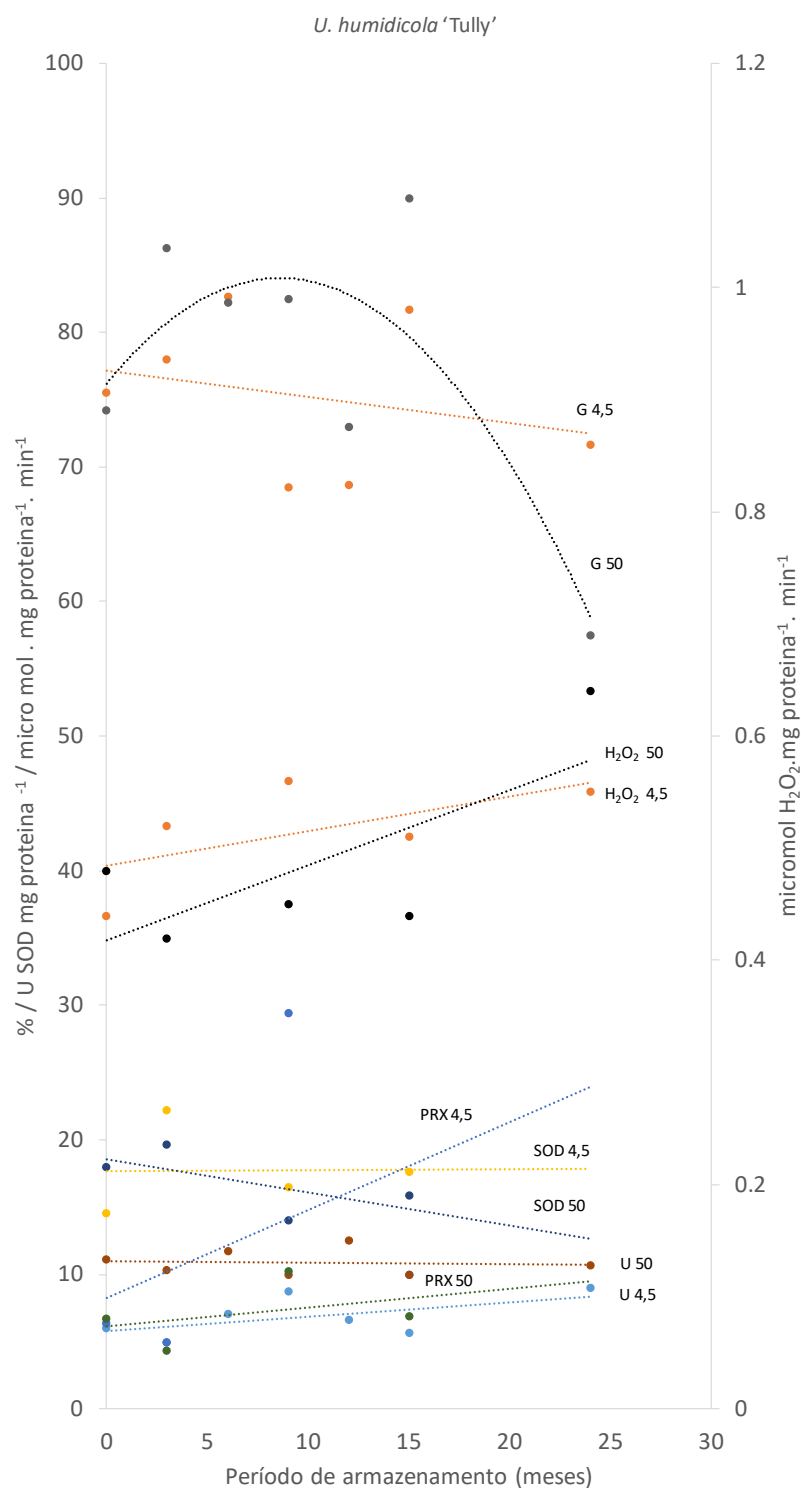


Figura 5 Suplementar - Linhas de tendências de *U. humidicola* 'Tully' armazenadas em 4,5% e 50% de umidade relativa obtidas para porcentagem de germinação (G 4,5; G 50), conteúdo de peróxido de hidrogênio (H₂O₂ 4,5 e H₂O₂ 50), atividade de SOD (SOD 4,5 e SOD 50), atividade de peroxidase (PRX 4,5 e 50) e umidade da semente (U 4,5 e U 50).

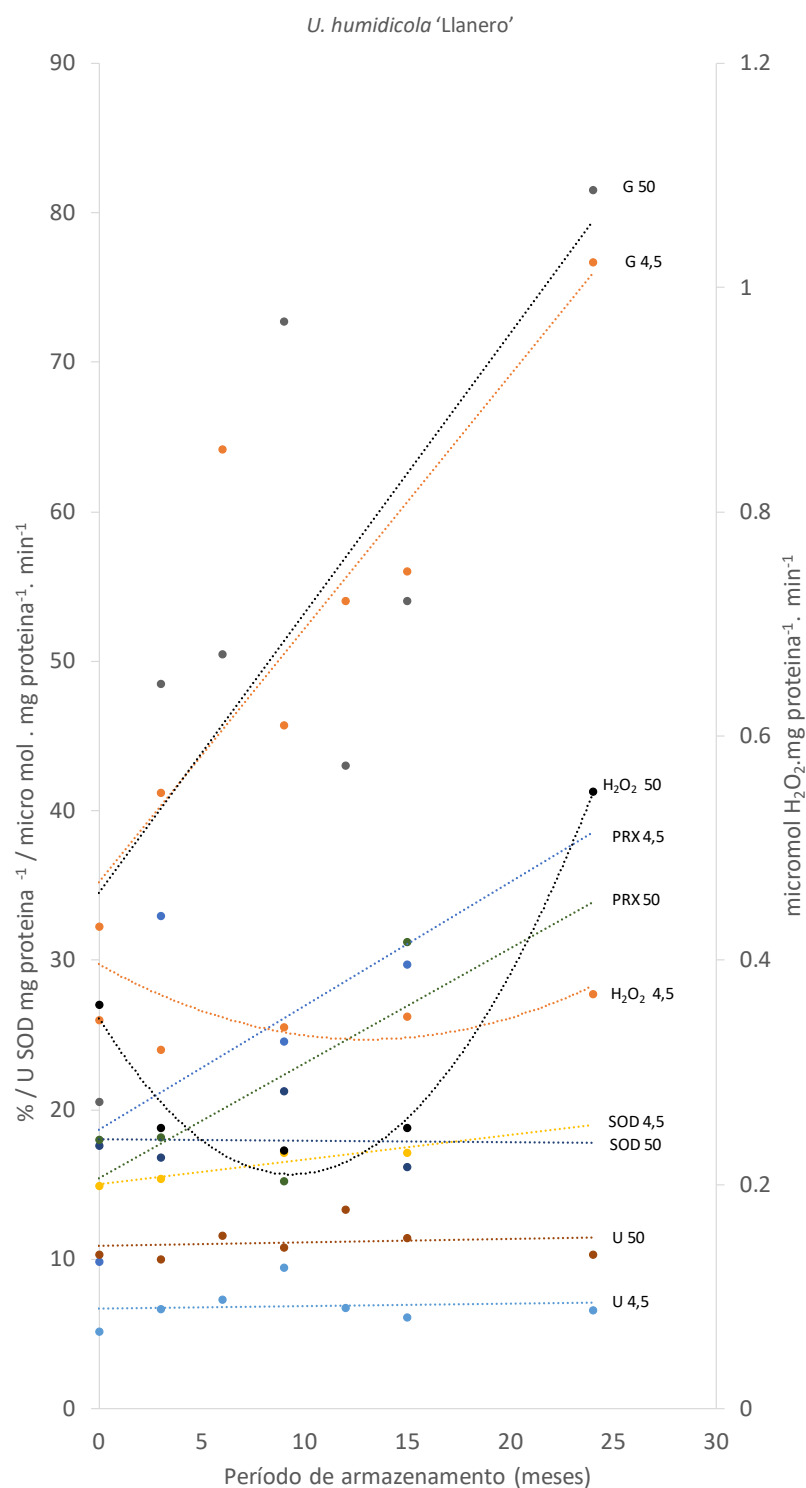


Figura 6 Suplementar - Linhas de tendências de *U. humidicola* 'Llanero' armazenadas em 4,5% e 50% de umidade relativa obtidas para porcentagem de germinação (G 4,5; G 50), conteúdo de peróxido de hidrogênio (H₂O₂ 4,5 e H₂O₂ 50), atividade de SOD (SOD 4,5 e SOD 50), atividade de peroxidase (PRX 4,5 e 50) e umidade da semente (U 4,5 e U 50).

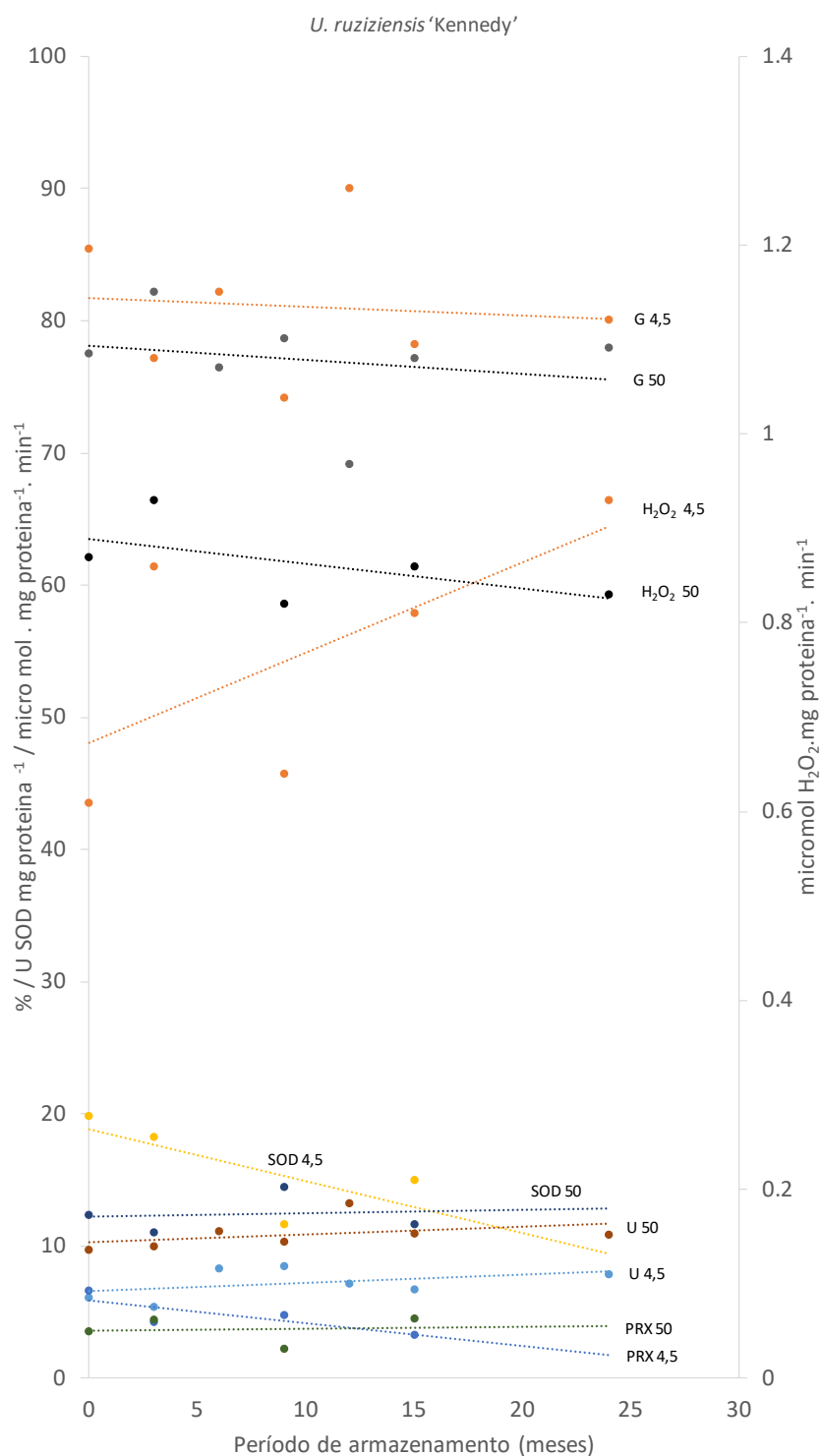


Figura 7 Suplementar - Linhas de tendências de *U. ruziziensis* 'Kennedy' armazenadas em 4,5% e 50% de umidade relativa obtidas para porcentagem de germinação (G 4,5; G 50), conteúdo de peróxido de hidrogênio (H_2O_2 4,5 e H_2O_2 50), atividade de SOD (SOD 4,5 e SOD 50), atividade de peroxidase (PRX 4,5 e 50) e umidade da semente (U 4,5 e U 50).