



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



TESE DE DOUTORADO

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

ARMAZENAMENTO CRIOGÊNICO DE SEMENTES DE FEIJÃO-CAUPI

NARA WANDERLEY PIMENTEL FERREIRA

**CAMPINA GRANDE, PB
AGOSTO-2014**

ARMAZENAMENTO CRIOGÊNICO DE SEMENTES DE FEIJÃO-CAUPI

NARA WANDERLEY PIMENTEL FERREIRA

*Tese de Doutorado apresentado ao
Curso de Pós-Graduação em
Engenharia Agrícola da
Universidade Federal de Campina
Grande, em cumprimento as
exigências para obtenção do Grau de
Doutor em Engenharia Agrícola.*

ORIENTADORES:

Prof. Dr. Mario Eduardo Rangel Moreira Cavalcanti Mata

Prof^a. Dr^a. Maria Elita Martins Duarte

**CAMPINA GRANDE, PB
AGOSTO-2014**



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



**PARECER FINAL DO JULGAMENTO DA PROPOSTA DE TESE DA
DOUTORANDA**

NARA WANDERLEY PIMENTEL FERREIRA

ARMAZENAMENTO CRIOGÊNICO DE SEMENTES DE FEIJÃO-CAUPI

BANCA EXAMINADORA:

PARECER:

Prof. Dr. Mario Eduardo R. M. Cavalcanti Mata
Orientador DEAg/CTRN/UFPA

Prof^ª. Dr^ª. Maria Elita Martins Duarte
Orientadora DEAg/CTRN/UFPA

Prof^ª. Dr^ª. Deysi Gouveia
Examinador Externo DEAg/CTRN/UFPA

Pesquisador Dr. Renato Fonseca Aragão
Examinador Externo DEAg/CTRN/UFPA

Pesquisador Dr^ª. Severina Silva
Examinador Externo DEAg/CTRN/UFPA

Pesquisador Dr^ª. Hugo Miguel Lisboa Oliveira
Examinador Externo DEAg/CTRN/UFPA

**CAMPINA GRANDE, PB
AGOSTO-2014**

Com carinho,

Aos meus pais, Rui Vilarim Pimentel (*in memoriam*) e Lucia Vilar Wanderley Nóbrega. Ao meu amado filho, Davi. Aos meus queridos irmãos, Elthon, Roney e Lívia. A Admar Neto, esposo, amigo e companheiro.

Dedico.

AGRADECIMENTOS

“Rendei graças ao Senhor, porque ele é bom, porque a sua misericórdia dura para sempre”

Salmos 131:1

Agradeço inicialmente a Deus que renova minhas forças diariamente, dando-me força e coragem.

Ao meu pai Rui Vilarim Pimentel (*in memoriam*) que mesmo com sua ausência física, se faz sempre presente em meu coração. A minha querida mãe Lúcia Vilar Wanderley Nóbrega, pelo amor, força e incentivo.

Ao Prof. Dr. Mário Eduardo R. M. Cavalcanti Mata e à Prof^a. Dr^a. Maria Elita Martins Duarte, orientadores desta tese, por todo empenho, paciência, sabedoria, compreensão e sugestões que fizeram com que concluíssemos este trabalho.

Aos professores João Batista Queiroz de Carvalho e Ademir Montes Ferreira por sempre me incentivarem na busca do conhecimento, sendo exemplos de competência, perseverança e determinação.

A minha irmã Lívia Wanderley Pimentel pela preciosa ajuda na realização desta pesquisa. Ao meu esposo Admar Cássio Ferreira Neto, pelo amor, ajuda e incentivo. Ao meu filho Davi pelas inúmeras demonstrações de amor e carinho tornando meus dias ainda mais alegres. Aos meus familiares que sempre me deram amor e força.

Aos professores do Programna de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola pela oportunidade de crescimento e aprendizado.

Aos Funcionários do Bloco CZ, em especial a Silas e Rildo, pela hospitalidade, agilidade e auxílio que permitiram a realização deste estudo.

A todas as pessoas que, direta ou indiretamente, contribuíram para a execução desta Tese de Doutorado.

SUMÁRIO

	Pág.
LISTA DE FIGURAS.....	xi
LISTA DE TABELAS.....	xii
RESUMO GERAL	1
GENERAL ABSTRACT.....	2
APRESENTAÇÃO.....	3
CAPÍTULO I - CARACTERÍSTICAS FÍSICAS DE SEMENTES DE FEIJÃO-CAUPI	5
RESUMO.....	6
ABSTRACT.....	6
I.1 INTRODUÇÃO.....	7
1.2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	9
I.2.1 Características da planta do Feijão-caupi.....	10
I.2.2 Importância econômica do Feijão-caupi.....	8
I.2.3 Características físicas das sementes.....	11
I.2.3.1 Dimensões e esfericidade.....	11
I.2.3.2 Massa e volume.....	12
I.2.3.3 Massa específica real e aparente.....	13
I.2.3.4 Porosidade.....	13
I.3 MATERIAL E MÉTODOS.....	15
I.3.1 Características físicas das sementes.....	15

I.3.1.1 Massa de mil sementes.....	15
I.3.1.2 Dimensões mutualmente perpendiculares.....	16
I.3.1.3 Volume (V) e massa específica real (ρ_r).....	16
I.3.1.4 Massa específica aparente.....	17
I.3.1.5 Esfericidade.....	18
I.3.1.6 Porosidade.....	18
I.3.1.7 Análise estatística.....	19
I.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	20
I.5 CONCLUSÕES.....	31
I.6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	32
CAPÍTULO II - ATIVIDADE DE ÁGUA EM SEMENTES DE FELJÃO-CAUPI EM FUNÇÃO DO TEOR DE ÁGUA	38
RESUMO.....	39
ABSTRACT.....	39
II.1 INTRODUÇÃO.....	40
II.2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	42
II.2.1 Relação da água nas sementes.....	42
II.2.2 Equilíbrio higroscópico nas sementes.....	42
II.2.3 Tempo para atingir o equilíbrio higroscópico.....	43
II.2.4 Modelos matemáticos.....	44
II.3 MATERIAL E MÉTODOS.....	46
II.3.1 Equações para o equilíbrio higroscópico.....	46

II.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	49
II.5 CONCLUSÕES.....	59
II.6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	60
CAPÍTULO III - CINÉTICA DE CONGELAMENTO DE SEMENTES DE FEIJÃO-CAUPI	63
RESUMO.....	64
ABSTRACT.....	64
III.1 INTRODUÇÃO.....	65
III.2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	67
III.2.1 O processo de congelamento.....	67
III.2.2 Cristais de gelo e injúrias à estrutura celular.....	68
III.2.3 Difusividade térmica.....	69
III.3 MATERIAL E MÉTODOS.....	71
III.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	74
III.5 CONCLUSÕES.....	89
III.6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	90
CAPÍTULO IV - TEOR DE ÁGUA LIMITE PARA CRIOCONSERVAÇÃO DE SEMENTES DE FEIJÃO-CAUPI	95
RESUMO.....	96
ABSTRACT.....	76
IV.1 INTRODUÇÃO.....	97

IV.2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	98
IV.2.1 Teor de água nas sementes.....	98
IV.2.2 Comportamento das sementes durante o armazenamento.....	99
IV.2.3 Teor de água limite para crioconservação.....	101
IV.3 MATERIAL E MÉTODOS.....	103
IV.3.1 Determinação do teor de água limite para crioconservação.....	104
IV.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	107
IV.5 CONCLUSÕES.....	115
IV.6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	116
CAPÍTULO V - ARMAZENAMENTO CRIOGÊNICO DE SEMENTES DE FEIJÃO-CAUPI	121
RESUMO.....	122
ABSTRACT.....	122
V.1 INTRODUÇÃO.....	123
V.2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	1125
V.2.1 Conservação e armazenamento de sementes.....	125
V.2.2 Crioconservação.....	126
V.2.3 Fatores que afetam a sobrevivência à crioconservação.....	127
V.2.3.1 Desidratação.....	127
V.2.3.2 Congelamento e descongelamento.....	128
V.2.3.3 Regeneração.....	130
V.2.4 Fatores que afetam a germinação e o vigor.....	130

V.3 MATERIAL E MÉTODOS.....	133
V.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	135
V.5 CONCLUSÕES.....	150
V.6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	151
VI CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	161
APÊNDICE.....	162

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
CAPÍTULO I	
Figura I.1 Suporte para pesagem de uma semente submersa.....	16
Figura I.2 Peso de mil sementes para as sementes de feijão-caupi variedades Cauamê e Potengi em função do teor de água.....	21
Figura I.3 Características referentes ao comprimento, largura e espessura das sementes feijão-caupi variedade Cauamê em função do teor de água.....	22
Figura I.4 Características referentes ao comprimento, largura e espessura das sementes feijão-caupi variedade Potengi em função do teor de água.....	23
Figura I.5 Volume das sementes de feijão-caupi variedades Cauamê e Potengi em função do teor de água.	24
Figura I.6 Esfericidade das sementes de feijão-caupi variedades Cauamê e Potengi em função do teor de água.....	25
Figura I.7 Valores experimentais e estimados da massa específica real de sementes de feijão Cauamê e Potengi em função do teor de água (b.u.).....	26
Figura I.8 Valores experimentais e estimados da massa específica aparente de sementes de feijão variedades Cauamê e Potengi em função do teor de água (b.u.).....	27

Figura I.9	Porosidade das sementes de feijão-caupi variedades Cauamê e Potengi em função do teor de água.....	29
-------------------	----------------------------------------------------------------------------------------------------	----

CAPÍTULO II

Figura II.1	Valores experimentais e estimados do teor de água de equilíbrio para as sementes de feijão-caupi variedade Cauamê, utilizando-se o modelo de Henderson modificado por Cavalcanti-Mata.....	50
Figura II.2	Valores experimentais e estimados do teor de água de equilíbrio para as sementes de feijão-caupi variedade Cauamê, utilizando-se o modelo de Oswin.....	51
Figura II.3	Valores experimentais e estimados do teor de água de equilíbrio para as sementes de feijão-caupi variedade Cauamê, utilizando-se o modelo de Sigma-Copace.....	51
Figura II.4	Valores experimentais e estimados do teor de água de equilíbrio para as sementes de feijão-caupi variedade Cauamê, utilizando-se o modelo de Sabbah.....	52
Figura II.5	Valores experimentais e estimados do teor de água de equilíbrio para as sementes de feijão-caupi variedade Potengi, utilizando-se o modelo de Henderson modificado por Cavalcanti-Mata.....	52
Figura II.6	Valores experimentais e estimados do teor de água de equilíbrio para as sementes de feijão-caupi variedade Potengi, utilizando-se o modelo de Oswin.....	53
Figura II.7	Valores experimentais e estimados do teor de água de equilíbrio para as sementes de feijão-caupi variedade Potengi, utilizando-se o modelo de Sigma-Copace.....	53
Figura II.8	Valores experimentais e estimados do teor de água de equilíbrio para as sementes de feijão-caupi variedade Potengi, utilizando-se o modelo de Sabbah.....	54
Figura II.9	Distribuição dos resíduos para o modelo de Henderson modificado por Cavalcanti-Mata (A) e modelo de Oswin (B) utilizado nos dados das sementes de feijão-caupi variedade Cauamê.....	55

Figura II.10	Distribuição dos resíduos para o modelo de Sigma-Copace (A) e modelo de Sabbah (B) utilizado nos dados das sementes de feijão-caupi variedade Cauamê.....	55
Figura II.11	Distribuição dos resíduos para o modelo de Henderson modificado por Cavalcanti-Mata (A) e modelo de Oswin (B) utilizado nos dados das sementes de feijão-caupi variedade Potengi.....	56
Figura II.12	Distribuição dos resíduos para o modelo de Sigma-Copace (A) e modelo de Sabbah (B) utilizado nos dados das sementes de feijão-caupi variedade Potengi.....	56

CAPÍTULO III

Figura III.1	Curvas de congelamento de sementes de feijão-caupi variedade Cauamê para as temperaturas de -20, -60, -150 e -196°C com teor de água de 6% b.u.....	74
Figura III.2	Curvas de congelamento de sementes de feijão-caupi variedade Cauamê para as temperaturas de -20, -60, -150 e -196°C com teor de água de 8% b.u.	75
Figura III.3	Curvas de congelamento de sementes de feijão-caupi variedade Cauamê para as temperaturas de -20, -60, -150 e -196°C com teor de água de 10% b.u.	75
Figura III.4	Curvas de congelamento de sementes de feijão-caupi variedade Cauamê para as temperaturas de -20, -60, -150 e -196°C com teor de água de 12% b.u.	76
Figura III.5	Curvas de congelamento de sementes de feijão-caupi variedade Cauamê para as temperaturas de -20, -60, -150 e -196°C com teor de água de 14% b.u.	76
Figura III.6	Curvas de congelamento de sementes de feijão-caupi variedade Potengi para as temperaturas de -20, -60, -150 e -196°C com teor de água de 6% b.u.	77
Figura III.7	Curvas de congelamento de sementes de feijão-caupi variedade Potengi para as temperaturas de -20, -60, -150 e -196°C com teor de água de 8% b.u.	77

Figura III.8	Curvas de congelamento de sementes de feijão-caupi variedade Potengi para as temperaturas de -20, -60, -150 e -196°C com teor de água de 10% b.u.	78
Figura III.9	Curvas de congelamento de sementes de feijão-caupi variedade Potengi para as temperaturas de -20, -60, -150 e -196°C com teor de água de 12% b.u.	78
Figura III.10	Curvas de congelamento de sementes de feijão-caupi variedade Potengi para as temperaturas de -20, -60, -150 e -196°C com teor de água de 14% b.u.	79
Figura III.11	Varição da difusividade térmica de sementes de feijão-caupi variedade Cauamê com a temperatura e o teor de água.....	84
Figura III.12	Varição da difusividade térmica de sementes de feijão-caupi variedade Potengi com a temperatura e o teor de água.....	84
Figura III.13	Difusividade térmica efetiva da semente de feijão-caupi Cauamê e Potengi 6% b.u. em função da temperatura obtida do Modelo de Fourier	86
Figura III.14	Difusividade térmica efetiva da semente de feijão-caupi Cauamê e Potengi 8% b.u. em função da temperatura obtida do Modelo de Fourier.....	86
Figura III.15	Difusividade térmica efetiva da semente de feijão-caupi Cauamê e Potengi 10% b.u. em função da temperatura obtida do Modelo de Fourier	87
Figura III.16	Difusividade térmica efetiva da semente de feijão-caupi Cauamê e Potengi 12% b.u. em função da temperatura obtida do Modelo de Fourier.....	87
Figura III.17	Difusividade térmica efetiva da semente de feijão-caupi Cauamê e Potengi 14% b.u. em função da temperatura obtida do Modelo de Fourier.....	88

CAPÍTULO IV

Figura IV.1	Botijão criogênico. (a) Canister submerso em Nitrogênio Líquido (-196°C) e (b) Canister submerso em Vapor de Nitrogênio (-170°C).....	105
--------------------	---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-----

Figura IV.2	Plantas de feijão-caupi variedades Cauamê e Potengi no 10º dia após a semeadura.....	105
--------------------	-----------------------------------------------------------------------------------------	-----

CAPÍTULO V

Figura V.1	Plantas de feijão-caupi variedades Cauamê e Potengi no 10º dia após a semeadura.....	134
-------------------	-----------------------------------------------------------------------------------------	-----

LISTA DE TABELAS

	Pág.
CAPÍTULO I	
Tabela I.1	Médias do peso de mil sementes para as sementes de feijão caupi variedades Cauamê e Potengi em função do teor de água..... 20
Tabela I.2	Médias das três dimensões, a, b e c altura, largura e espessura, respectivamente, das sementes de feijão caupi variedades Cauamê e Potengi em milímetros (mm)..... 21
Tabela I.3	Características físicas médias das sementes de feijã-caupi variedades Cauamê e Potengi para diferentes teores de água..... 26
CAPÍTULO II	
Tabela II.1	Modelos matemáticos utilizados para o ajuste dos dados experimentais. 47
Tabela II.2	Coefficientes dos modelos ajustados aos teores de água de equilíbrio higroscópico para as sementes de feijão-caupi, com seus respectivos coeficientes de determinação (R^2), erros médios relativos (P), erros médios estimados (SE)..... 49
CAPÍTULO III	
Tabela III.1	Parâmetros das sementes de feijão-caupi variedade Cauamê e coeficientes dos modelos da cinética de congelamento a temperaturas criogênicas..... 81
Tabela III.2	Parâmetros das sementes de feijão-caupi variedade Potengi e coeficientes dos modelos da cinética de congelamento a temperaturas criogênicas..... 82
CAPÍTULO IV	
Tabela IV.1	Resumo da análise de variância da germinação de sementes feijão-caupi variedade Cauamê para a determinação do teor de água limite para crioconservação (TALC)..... 107

Tabela IV.2	Resumo da análise de variância da germinação de sementes feijão-caupi variedade Potengi para a determinação do teor de água limite para crioconservação (TALC).....	107
Tabela IV.3	Valores médios de germinação das sementes de feijão-caupi variedade Cauamê, para a interação teor de água versus temperatura após 5 dias de crioconservação.....	108
Tabela IV.4	Valores médios de germinação das sementes de feijão-caupi variedade Potengi, para a interação teor de água versus temperatura após 5 dias de crioconservação.....	109
Tabela IV.5	Valores médios do vigor (1ª contagem de germinação, comprimento de plântula e matéria seca) para sementes de feijão-caupi variedade Cauamê para os 6 teores de água depois de armazenadas a 25, -170 e -196 °C por 5 dias.....	111
Tabela IV.6	Valores médios do vigor (1ª contagem de germinação, comprimento de plântula e matéria seca) para sementes de feijão-caupi variedade Potengi para os 6 teores de água depois de armazenadas a 25,-170 e -196 °C por 5 dias.....	112
CAPÍTULO V		
Tabela V.1	Análise de variância da germinação das sementes de feijão-caupi variedade Cauamê para diferente temperaturas de congelamento e tempos de armazenagem.....	135
Tabela V.2	Análise de variância da germinação das sementes de feijão-caupi variedade Potengi para diferente temperaturas de congelamento e tempos de armazenagem.....	135
Tabela V.3	Valores médias de germinação das sementes de feijão-caupi variedade Cauamê em diferentes temperaturas e períodos de armazenamento.....	136
Tabela V.4	Síntese da análise de variância referente a 1ª contagem de germinação, comprimento da plântula e matéria seca das sementes de feijão-caupi variedade Cauamê crioarmazenadas durante 6 períodos.....	137
Tabela V.5	Valores médios do vigor (1ª contagem de germinação, comprimento de plântula e matéria seca) das sementes de feijão-caupi variedade Cauamê	141

	para os 6 períodos de armazenamento às temperaturas de 25, -20,-60, -150 e -196 °C.....	
Tabela V.6	Valores médias de germinação das sementes de feijão-caupi variedade Potengi em diferentes temperaturas e períodos de armazenamento.....	144
Tabela V.7	Síntese da análise de variância referente a 1 ^a contagem de germinação, comprimento da plântula e matéria seca das sementes de feijão-caupi variedade Potengi crioarmazenadas durante 6 períodos.....	145
Tabela V.8	Valores médios do vigor (1 ^a contagem de germinação, comprimento de plântula e matéria seca) das sementes de feijão-caupi variedade Potengi para os 6 períodos de armazenamento às temperaturas de 25, -20,-60, -150 e -196 °C.....	148

RESUMO GERAL

A crioconservação de sementes consiste na conservação do material vegetal em ultra baixas temperaturas por longos períodos. No entanto, para que a técnica de crioconservação seja efetivada é preciso realizar estudos relativos às sementes. Objetivou-se com este trabalho estudar as características físicas, a atividade de água, a cinética de congelamento criogênico em diferentes temperaturas e teores de água, a determinação do teor de água limite para a crioconservação (TALC), e o armazenamento criogênico por seis meses de sementes de feijão-caupi variedades Cauamê e Potengi. Para as características físicas determinou-se o peso de mil sementes através da pesagem de lotes de mil unidades em balança semi-analítica, as dimensões com o auxílio de um paquímetro digital o volume e a massa específica real das sementes pelo o método da medida de massa de água deslocada; a massa específica aparente, foi calculada pela relação entre a massa das sementes e o volume ocupado por estas sementes; a porosidade, através da relação entre a massa específica aparente e a massa específica real. Para a determinação do equilíbrio higroscópico ajustou-se a temperatura do aparelho Aqualab para 40 °C e foram feitas todas as leituras para as sementes com 4, 8, 10, 12 e 14% b.u, repetindo-se este procedimento, ajustando o aparelho nas outras temperaturas estudadas de 30, 20 e 15 °C. Para a cinética de congelamento foram utilizadas sementes com teor de água de 6, 8, 10, 12 e 14% b.u., um termopar foi inserido no centro geométrico de cada semente e outro termopar no interior do ambiente onde se dava cada leitura a -20 °C, -60 °C, balcão criogênico a -150 °C e nitrogênio líquido, -196°C. Para o teor de água limite as sementes foram secas e/ou umedecidas para obtenção dos teores de 4, 6, 8, 10,12, 14% b.u em seguida, crioconservadas em nitrogênio líquido, no vapor de nitrogênio (-170 °C) e em temperatura ambiente por um período de 5 dias e submetidas, após o descongelamento lento, aos testes de germinação e vigor e por fim, as sementes foram crioconservadas por 30, 60, 90, 120, 150 e 180 dias nas temperaturas de 25 °C, -20, 60, -150 e -196 °C e no final de cada período de armazenamento as sementes foram submetidas aos testes de germinação e vigor. As dimensões, o volume, a esfericidade e porosidade das sementes de feijão-caupi variedades Cauamê e Potengi aumentam com o acréscimo do teor de água. Com a elevação do teor de água, a massa específica real e a massa específica aparente sofreram redução de seus valores. A equação proposta por Sabbah foi a apresentou o maior coeficiente de determinação em relação aos demais modelos utilizados para as sementes de feijão-caupi variedades Cauamê e Potengi. Os melhores percentuais de germinação das sementes de feijão-caupi das duas variedades utilizadas foram obtidos quando essas sementes foram crioconservadas em vapor de nitrogênio (-170 °C) e nitrogênio líquido (-196°C), com um teor de água de 8% b.u. A qualidade fisiológica (germinação e vigor) das sementes feijão-caupi das variedades Cauamê e Potengi mostrou-se eficaz com a utilização dos métodos de crioconservação, apresentando um aumento no percentual em relação a temperatura ambiente. As curvas de congelamento criogênico são exponenciais e não se distinguem com clareza as três fases típicas; o modelo de Fourier descreve de forma satisfatória, o processo de cinética de congelamento para o feijão-caupi variedade Cauamê nas temperaturas de -20 °C e -60°C e na temperatura de -20°C para a variedade Potengi em todos os teores de água estudados, a difusividade térmica aumenta com a diminuição do teor de água em todas as temperaturas e teores de água.

GENERAL ABSTRACT

Cryopreservation of seeds is the conservation of plant material in ultra low temperatures for long periods. However, for the technique to be effective cryopreservation is necessary to conduct studies regarding seeds. The objective of this work was to study the physical characteristics, water activity, the kinetics of cryogenic freezing at different temperatures and moisture contents, the determination of water content limit for cryopreservation, and cryogenic storage for six months seeds of cowpea varieties Cauamê and Potengi. To the physical characteristics determined the thousand seed weight by weighing batches of a thousand units in a semi-analytical scale, the dimensions with the aid of a caliper and the volume specific mass of the seeds by the method of measurement mass of water displaced; the bulk density was calculated by the relationship between seed mass and the volume occupied by these seeds; porosity, as the ratio between the bulk density and the actual density. To determine the equilibrium moisture content was adjusted to apparatus for Aqualab temperature 40°C and all readings for the seeds with 4, 8, 10, 12 and 14% w.b. were made by repeating this procedure, the adjusting device other storage temperatures of 30, 20 and 15°C. Seeds containing more than 6, 8, 10, 12 and 14% w.b. water were used for the kinetics of freezing, a thermocouple was inserted into the geometric center of each seed and another thermocouple inside the environment in which each reading was given at -20°C, -60°C to -150°C cryogenic counter and liquid nitrogen, -196°C. To limit the water content of the seeds were dried and/or humidified to obtain the levels of 4, 6, 8, 10, 12, 14% w.b. then cryopreserved in liquid nitrogen to nitrogen vapor (-170°C) and at room temperature for a period of 5 days and submitted after slow thawing, the germination and vigor and finally tests, the seeds were cryopreserved for 30, 60, 90, 120, 150 and 180 days at 25°C, -20, 60, -150 and -196°C, and at the end of each storage period, seeds were subjected to germination and vigor tests. The dimensions, volume, sphericity and porosity of seeds of cowpea varieties Cauamê and Potengi increase with the increase of water content. With increasing water content, the actual density and the bulk density decreased by their values. The equation proposed by Sabbah was presented the highest coefficient of determination in relation to the other models used for the seeds of cowpea varieties and Cauamê and Potengi. The best percentage of germination of the two cowpea varieties were obtained when these seeds were cryopreserved in nitrogen vapor (-170°C) and liquid nitrogen (-196°C), with a water content of 8% w.b. Physiological quality (germination and vigor) seeds of cowpea varieties Cauamê and Potengi proved effective with the use of methods of cryopreservation, an increase in the percentage in relation to ambient temperature. Curves are exponential cryogenic freezing and not clearly distinguish the three typical phases; model Fourier satisfactorily describes the process for the kinetic freezing cowpea variety Cauamê at temperatures of -20°C to -60°C and -20°C for Potengi range at all levels water studied the thermal diffusivity increases with decreasing water content at all temperatures and water contents.

APRESENTAÇÃO

A conservação dos recursos genéticos vegetais é definida como o armazenamento de germoplasma vegetal de modo a assegurar a existência do material em condições viáveis e geneticamente íntegras para uso atual e futuro, garantindo o controle das condições de armazenamento de forma a reduzir a atividade metabólica e, com ela, os processos implicados na perda da viabilidade e do vigor das sementes.

Existem duas formas básicas de conservação que podem ser apontadas: a conservação *in situ* e a conservação *ex situ*. Na primeira, o material vegetal é mantido em reservas biológicas, em condições semelhantes às do seu habitat original, e monitorado periodicamente com o objetivo de se verificar os riscos de extinção dos recursos genéticos. Na conservação *ex situ*, as amostras (genes ou genótipos de plantas), são conservadas fora de seu habitat. Nesse tipo de conservação o material vegetal pode ser conservado sob diversas técnicas, como por exemplo: conservação em bancos de sementes mantidas a uma temperatura de 10°C e umidade relativa do ar de 40%, conservação de tecidos *in vitro*, conservação de plantas *in vivo* e atualmente destaca-se a crioconservação de sementes, que consiste na conservação do material vegetal em ultra baixas temperaturas por longos períodos.

No entanto, para que a técnica de crioconservação seja efetivada é preciso realizar estudos relativos às sementes, visto que, apenas as sementes ortodoxas podem ser desidratadas para baixos teores de água sem danos à sua estrutura, permitindo o armazenamento por períodos prolongados mantendo sua integridade genética.

O feijão-caupi é uma cultura de grande potencial atual e estratégico em razão da sua adaptação a uma ampla faixa de ambientes nas regiões tropicais e subtropicais do mundo, alto valor nutritivo, por ser um alimento básico em mais de 65 países, e ainda diante das perspectivas de mudanças climáticas e da necessidade de alimento em todo o mundo. Devido à importância das sementes de feijão faz-se necessário sua conservação em bancos criogênicos para que haja disponibilidade de sementes com condições fisiológicas adequadas por períodos de tempo praticamente indefinidos.

Todavia, em um banco criogênico, não só o processo de crioconservação, em si, deve ser levado em consideração, mas também alguns elementos como as características físicas da semente, a velocidade de congelamento, o teor de água limite para crioconservação e o potencial de armazenamento da semente.

Com base nos fatos tratados, estuda-se neste trabalho a crioconservação de sementes de feijão-caupi variedades Cauamê e Potengi. De tal maneira, o estudo foi dividido em cinco partes, buscando-se abranger as etapas para o estabelecimento de um protocolo de armazenamento a longo prazo a baixas temperaturas.

O primeiro capítulo aborda algumas características físicas das sementes, dimensões, massa de mil sementes, volume (V), massa específica real (ρ_r) e aparente (ρ_a), porosidade (ϵ), e esfericidade (ϕ), pois o conhecimento de tais características é importante para o manejo da espécie durante armazenamento.

No segundo capítulo, busca-se conhecer o equilíbrio higroscópico das sementes de feijão-caupi em diferentes temperaturas (15, 20, 30 e 40°C), que é de fundamental importância para manter o potencial fisiológico das sementes durante o armazenamento convencional.

No terceiro capítulo, busca-se conhecer a cinética de congelamento criogênico das sementes de feijão-caupi em diferentes temperaturas (-25, -60, -150 e -196°C), pois, a distribuição de temperatura no interior do produto durante o processo de congelamento varia consideravelmente, definindo as potencialidades de sua crioconservação.

O quarto capítulo trata da determinação do teor de água limite para a crioconservação das sementes feijão-caupi, fator primordial para garantir a qualidade e longevidade das sementes crioconservadas, podendo variar entre espécies e dentro da própria espécie.

O quinto capítulo aborda a crioconservação em si, ou seja, o armazenamento das sementes a baixas temperaturas avaliando a germinação e o vigor no decorrer de seis meses de armazenamento.

ARMAZENAMENTO CRIOGÊNICO DE SEMENTES DE FEIJÃO-CAUPI

CAPÍTULO I

CARACTERÍSTICAS FÍSICAS DE SEMENTES DE FEIJÃO-CAUPI

ARMAZENAMENTO CRIOGÊNICO DE SEMENTES DE FEIJÃO-CAUPI

CAPÍTULO I: CARACTERÍSTICAS FÍSICAS DE SEMENTES DE FEIJÃO-CAUPI

RESUMO

O feijão-caupi é uma das fontes alimentares mais importantes e estratégicas para as regiões tropicais e subtropicais do mundo, para garantir maior eficácia nas atividades de transporte e também qualidade no armazenamento do produto a curto, médio e longo prazo surge à importância do conhecimento das características físicas de suas sementes. Objetivou-se neste trabalho, determinar as seguintes características físicas das sementes feijão-caupi variedades Cauamê e Potengi: peso de mil sementes, dimensões mutuamente perpendiculares, volume, massa específica real e aparente, esfericidade e porosidade com diferentes teores de água (4, 8, 12, 16 e 20% b.u.). Para a determinação do volume e da massa específica real das sementes de feijão-caupi, foram realizadas três pesagens seguindo o método da medida de massa de água deslocada, a massa específica aparente foi calculada pela relação entre a massa das sementes e o volume ocupado por estas sementes. Através da relação entre a massa específica aparente e a massa específica real calculou-se a porosidade. A esfericidade foi obtida por meio da medição dos três eixos ortogonais. Concluiu-se que o aumento no teor de água pelo congelamento influencia nas características físicas das sementes, proporcionando o aumento do das dimensões, volume, da esfericidade; a massa específica real e aparente diminuíram com o aumento do teor de água.

Palavras-chave: *Vigna unguiculata* (L.) Walp, massa específica, porosidade.

ABSTRACT

The cowpea is one of the most important and strategic for tropical and subtropical regions of the world food supply, to ensure greater efficiency in transport activities and also quality in storage of the product in the short , medium and long term arises the importance of knowledge of physical characteristics of their seeds . The objective of this work was to determine the following physical characteristics of seeds cowpea varieties Cauamê and Potengi: mass of thousand seeds , mutually perpendicular dimensions, volume , real and apparent density, sphericity and porosity with different water contents (4, 8, 12, 16 and 20% w.b.). To determine the volume and specific mass of seeds of cowpea three weighings were performed following the method of measuring the mass of water displaced, the apparent specific gravity was calculated by the relationship between seed mass and volume occupied by these seeds. Through the relationship between the apparent specific gravity and true specific gravity was calculated porosity. The sphericity was obtained by measuring the three orthogonal axes is concluded that increasing the water content by freezing influences the physical characteristics of seeds, providing increased dimensions, volume, sphericity; the real and apparent density decreased with increasing water content.

Keywords: *Vigna unguiculata* (L.) Walp, density, porosity.

I.1 INTRODUÇÃO

O conhecimento das propriedades físicas das sementes e grãos além de ser útil na agricultura possui grande relevância na colheita, armazenamento ou no processamento, como secagem e congelamento (COSKUNER & KARABABA, 2007; SIRISOMBOON et al., 2007; DOBRZAŃSKI & STEPNIIEWSKI, 2013). Muitos estudos têm relatado a importância da determinação das características físicas de diversos produtos agrícolas, tais como sementes de alcaparra (DURSUN, 2006), cevada (OZTURK & EVEN, 2008), sementes de mamona (GONELI, 2008), trigo (KARIMI, et al., 2009), arroz (JOUKI & KHAZAEI, 2012).

O feijão-caupi é uma das fontes alimentares mais importantes e estratégicas para as regiões tropicais e subtropicais do mundo. No Brasil, principalmente nas regiões Norte e Nordeste além de sua expansão para a região Centro-Oeste, principalmente para o Estado de Mato Grosso, o feijão-caupi constitui uma das principais alternativas sociais e econômicas de suprimento alimentar e geração de emprego, especialmente para as populações rurais. Na região Nordeste, a produção tradicionalmente concentra-se nas áreas semiáridas, onde outras culturas leguminosas anuais, em razão da irregularidade das chuvas e das altas temperaturas, não se desenvolvem satisfatoriamente (FREIRE FILHO et al., 2011).

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

A redução ou aumento do teor de água dos grãos influencia diretamente na alteração das suas características físicas durante a secagem ou umedecimento, respectivamente (RESENDE et al., 2008). Esses processos influenciam diretamente nas características físicas das sementes, sendo dependentes da pressão de vapor de água no ar e no produto, fator este que se deve a propriedade higroscópica da mesma. É a característica higroscópica que confere as sementes à propriedade de ganhar umidade do ar e a de ceder ou perder umidade para o ar (ELIAS, 2007).

Considerando a importância da temática proposta e a variabilidade existente nas características físicas referentes a sementes, o trabalho apresentado neste capítulo, tem como objetivo analisar a forma, volume, massa específica real, massa específica aparente, porosidade e esfericidade de sementes de feijão-caupi das variedades Cauamê e Potengi ao longo do processo de umedecimento e secagem bem como, ajustar modelos matemáticos aos valores experimentais, de maneira que representem com exatidão as características físicas das sementes estudadas em função do teor de água.

I.2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

I.2.1 Características da planta do Feijão-caupi

O feijão-caupi é uma leguminosa anual, herbácea, produz frutos do tipo vagem e, dependendo da variedade, pode apresentar porte mais alto. As suas raízes podem atingir até 2 metros de profundidade no solo, o que torna a planta resistente à seca. As flores são hermafroditas e autoférteis. A planta se desenvolve bem em condições de alta temperatura, solos arenosos ou de textura média, com boa drenagem. A propagação é feita exclusivamente por sementes e a semeadura é direta no campo (KUROZAWA, 2007).

A classificação botânica aceita para o feijão-caupi é que ele seja uma planta Dicotyledonea, da ordem Fabales, família Fabaceae, subfamília Faboideae, tribo Phaseoleae, subtribo Phaseolineae, gênero *Vigna*, subgênero *Vigna*, seção *Catyang*, espécie *Vigna unguiculata* (L.) Walp. e subespécie *unguiculata* (VERDCOURT, 1970; SMARTT, 1990; PADULOSI, 1997).

As folhas são compostas, trifolioladas, longo-pecioladas, com folíolos de formato ovalado. As flores possuem cálice tubiforme, com dentes iguais e pontiagudos, corola com estandarte redondo e grande, com alas ovaladas, que não excedem ao estandarte em comprimento, quilha encurvada para dentro, coloração variável, segundo a variedade, podendo ser branca, amarela ou violácea (KUROZAWA, 2007).

O comprimento depende da cultivar, sendo geralmente de 18-30 cm, mas em certas cultivares pode chegar até 50 cm. As sementes são muito variáveis na forma, tamanho e coloração. A forma da semente pode ser alongada, alongada-reniforme, ovoide ou globosa-angular, levemente comprimidas ou, às vezes, cilíndricas e elípticas. O tegumento é coriáceo, com coloração que varia do branco creme, castanho-amarelado-claro, vermelho-escuro, castanho-purpúreo, preto ou bicolor e, variavelmente, marmoreada, com superfície glabra, levemente brilhante, lisa ou, às vezes, com fina rugosidade transversal (LORENZI, 2000).

É uma das leguminosas melhor adaptada, versátil e nutritiva entre as espécies cultivadas, sendo um importante alimento e componente essencial dos sistemas de

produção nas regiões secas dos trópicos, cobrindo parte da África, Ásia, Estados Unidos, Oriente Médio e Américas Central e do Sul (SINGH et al., 2002).

I.2.2 Importância econômica do Feijão-caupi

O feijão-caupi é uma cultura de origem africana, a qual foi introduzida no Brasil na segunda metade do século XVI pelos colonizadores portugueses no Estado da Bahia (FREIRE FILHO, 1988). A partir da Bahia, o feijão-caupi foi disseminado por todo o País. No Piauí, um estado que foi colonizado do sertão para o litoral, certamente a comunicação e o comércio com o sertão eram mais difíceis, e encontra-se a citação do cultivo de feijão em 1697 (DIAS, 2008), fato que sugere que houve uma intensa disseminação da cultura, principalmente na região Nordeste e da região Nordeste para todo o País.

O feijão-caupi, feijão-de-corda ou feijão-macassar (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) é uma excelente fonte de proteínas (23%-25% em média) e apresenta todos os aminoácidos essenciais, carboidratos (62%, em média), vitaminas e minerais, além de possuir grande quantidade de fibras dietéticas, baixa quantidade de gordura (teor de óleo de 2%, em média) e não conter colesterol. Apresenta ciclo curto, baixa exigência hídrica e rusticidade para se desenvolver em solos de baixa fertilidade e, por meio da simbiose com bactérias do gênero *Rhizobium* tem a habilidade para fixar nitrogênio do ar (ANDRADE JUNIOR et al., 2002; SINGH, 2007; FROTA et al., 2008).

De acordo com BARBOSA et al. (2010) e FREIRE FILHO (2011), o feijão-caupi é cultivado, basicamente, em regime de subsistência, nas regiões Norte e Nordeste, principalmente por sua adaptação às condições edafoclimáticas. Nessas regiões, esta cultura desempenha um papel importante na alimentação; na forma de vagens e sementes verdes e secas, que são utilizadas no preparo de diversos alimentos, e as folhas secas servem de suplemento nutritivo para animais; e na geração de empregos para a população de baixa renda. Possui ainda ampla variabilidade genética, vasta capacidade de adaptação, alto potencial produtivo e excelente valor nutritivo, características estas que conferem à cultura grande valor estratégico.

O feijão-caupi é um alimento com cozimento rápido, rico em proteína e minerais. Além disso, já tem cultivares ricas em proteína, ferro e zinco. Assim, as perspectivas são

de que, num breve espaço de tempo, sejam obtidas cultivares biofortificadas com esses minerais e que elas sejam disponibilizadas comercialmente (FREIRE FILHO, 2011)

O feijão-caupi, pela plasticidade, adaptação a uma ampla faixa de ambientes nas regiões tropicais e subtropicais do mundo, alto valor nutritivo, por ser um alimento básico em mais de 65 países (SINGH, 2007), e ainda diante das perspectivas de mudanças climáticas e da necessidade de alimento em todo o mundo, é uma cultura de grande potencial atual e estratégico. Considerando-se os interesses do Brasil, trata-se de um produto de grande valor social e econômico para o País e, além disso, pelo grande número de países que o consomem, pela sua excelente qualidade nutricional e escassez de alimentos no mundo, evidencia-se que o feijão-caupi tem uma excelente perspectiva no mercado internacional. O feijão-caupi, portanto, constitui uma importante oportunidade de negócio para os produtores e os agroindustriais brasileiros.

I.2.3 Características físicas das sementes

O estudo das características físicas das sementes ganhou grande reforço com o trabalho de Nuri N. Mohsenin em 1970, que sintetizou as características importantes que deveriam ser determinadas para a compreensão dos processos envolvidos no beneficiamento e conservação de sementes, constituindo um marco de interesse para diversos pesquisadores (DUARTE et al., 2006). De acordo com MOHSENIN (1978), as propriedades físicas dos produtos agrícolas variam de acordo com a mudança do seu teor de água.

I.2.3.1 Dimensões e esfericidade

Segundo DUARTE et al. (2006), as dimensões referentes ao comprimento, largura e espessura podem ser determinadas com um paquímetro, no entanto, nos casos de certas sementes de tamanhos diminutos estas medidas não são tão simples de se obter com precisão. Para certificar-se de que os diâmetros medidos são os máximos, em cada direção, costuma-se, também, fazer a projeção da semente em três planos, utilizando-se um retro projetor e uma escala milimétrica.

O tamanho das sementes deve ser levado em consideração, quando ocorre sua seleção para germinação, visto que esta é uma característica que pode afetar o vigor

(FENNER, 1993). Sementes maiores, com maior quantidade de reservas nutritivas, geralmente apresentam vantagens, em relação às pequenas, pois germinam mais rapidamente e são mais vigorosas, promovendo rápido crescimento das raízes (POLLOCK & ROOS, 1972).

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

OLIVEIRA NETO et al. (2010) estudando o efeito da variação do teor de água nas dimensões de sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) variedade “Emgopa 201 – ouro”, verificaram que houve uma diminuição das dimensões dos eixos ortogonais característicos (a, b e c), com a redução do teor de água e que a esfericidade é diretamente proporcional ao teor de água. JESUS et al. (2013), estudando algumas características físicas de sementes de feijão, constatou que o decréscimo dos teores de água nas sementes feijão pertencentes às cultivares Valente e Pontal influencia as suas propriedades físicas, com diminuição dos eixos ortogonais, área projetada e diâmetro geométrico.

I.2.3.2 Massa e volume

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

As mudanças volumétricas dos produtos, devido a sua desidratação, são relatadas como sendo as principais causas das alterações das propriedades físicas de grãos agrícolas (RATTI, 1994; SOKHANSANJ & LANG, 1996).

Neste contexto, existem vários estudos na literatura referentes à variação de propriedades físicas de produtos agrícolas: RESENDE et al., 2005, ; RAZAVI et al., 2007; RESENDE et al., 2008.

I.2.3.3 Massa específica real e aparente

A massa específica real é a relação existente entre a massa de produto e seu volume real. Pode ser determinada pelo método do deslocamento de líquidos. Para DUARTE et al. (2006) os fluidos utilizados nos testes de deslocamento de massa devem ser aqueles com características mínimas de absorção, a utilização de água é desaconselhável a menos que a semente sofra um tratamento de impermeabilização em sua superfície.

A massa específica aparente é definida como a relação entre a massa de determinada amostra e o volume por ela ocupado. Nesse caso, a massa total é representada pela soma das massas de matéria seca, ar intra e inter-granular e da água contida tanto no ar quanto nos grãos. O conhecimento da massa específica aparente de sementes é essencial no dimensionamento de componentes e planejamento de unidades de beneficiamento; em aplicações como a calibração de medidores indiretos do teor de água; na separação de material indesejável; na determinação da pureza de um lote de sementes; na separação e classificação das sementes e na determinação de suas propriedades dielétricas (SILVA & CORRÊA, 2000; CARLESSO et al., 2005).

A massa específica aparente é um indicativo de como estas sementes estão organizadas. Assim, uma massa de sementes mais compacta possui maior massa específica aparente (GAMA, 2011).

Entre os trabalhos publicados com sementes sobre o estudo da massa específica real e aparente, encontram-se: ervilha (BARYEH & MANGOPE, 2002), semente de algodão (OZARSLAN, 2002), semente de abóbora (PAKSOY & AYDIN, 2004), feijão (RESENDE et al., 2008; JESUS et al., 2013), sementes de cajá, graviola, tamarindo e umbu (GAMA, 2011), sementes de romã e juá (SILVA, 2013).

I.2.3.4 Porosidade

A porosidade é uma característica física importante em várias operações unitárias na linha de processos de uma agroindústria. De acordo com SIQUEIRA et al., (2012) porosidade é a relação entre o volume ocupado pelo ar intergranular de determinado produto e o volume total ocupado por esta massa granular. O teor de água dos produtos

agrícolas é um importante fator que determina a variação da porosidade dos grãos, pois grãos com maiores teores de água apresentam uma tensão superficial maior que grãos mais secos.

O estudo da porosidade é muito importante, pois está inserida no dimensionamento de várias estruturas como silos, containeres, caixas, embalagens, unidades transportadoras, além de estar contida dentro dos estudos da transferência de calor e de transferência de massa, nos processos hidrodinâmicos, aerodinâmicos e termoelétricos. Sendo essa característica física o principal fator que define a resistência à passagem do ar no processo de secagem e aeração de produtos agrícolas (CAVALCANTI MATA & DUARTE, 2002).

Vários pesquisadores têm trabalhado na determinação da porosidade de uma massa de sementes. CORRÊA et al. (2005) estudando grãos de feijão comum observaram diminuição da porosidade com o aumento do teor de água. RESENDE et al. (2008) estudando as propriedades físicas de grãos de feijão do grupo vermelho, obtiveram valores de porosidade entre 38,3 e 44,1% para a faixa de teor de água entre 10 a 30% (b.u.). GAMA (2011) também constatou o mesmo comportamento para a porosidade das sementes de frutas tropicais, as quais apresentaram redução dos seus valores com a diminuição do teor de água.

I.3 MATERIAL E MÉTODOS

O estudo das características físicas das sementes foram conduzidos nos Laboratórios de Propriedades Físicas e de Sementes do Laboratório de Armazenamento e Processamento de Produtos Agrícolas (LAPPA) da Unidade Acadêmica de Engenharia Agrícola, da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG – PB). Utilizaram-se sementes de Feijão-caupi variedades Cauamê e Potengi, obtidas junto à Embrapa – Semiárido localizada na cidade de Petrolina-PE.

O teor de água inicial das sementes foi determinado a partir do método padrão da estufa a 105 ± 3 °C, utilizando quatro sub-amostras de 10g de sementes acondicionadas em recipientes metálicos, onde permaneceram durante 24 h. Após esse período, foram retirados da estufa, tampados rapidamente, resfriados em dessecador durante 15 minutos e pesados em balança analítica com precisão de 0,0001g, como prescrito nas Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009).

Após a determinação do teor de água inicial, as sementes de feijão foram secas ou umedecidas até que atingissem os teores de água estabelecidos para os diferentes ensaios das características físicas (4, 8, 12, 16, 20% b.u.). Como as sementes de feijão variedade Cauamê tinham um teor de água inicial de aproximadamente 11,2% b.u., foi feita uma secagem para a obtenção dos teores de 4 e 8% b.u. e umedecimento para a obtenção dos teores de 12, 16 e 20% b.u. As sementes de feijão Potengi com teor de água inicial de aproximadamente 11,9% b.u., foram secas para a obtenção dos teores de 4 e 8% b.u. e umedecidas para a obtenção dos teores de 16 e 20% b.u.

I.3.1 Características físicas das sementes

I.3.1.1 Massa de mil sementes

Essa determinação foi realizada através da pesagem de lotes de mil unidades de sementes de feijão variedades Cauamê e Potengi, as quais tiveram a massa determinada através da pesagem em balança semi-analítica.

I.3.1.2 Dimensões mutuamente perpendiculares

Para cada nível de teor de água avaliado realizaram-se determinações das dimensões referentes ao comprimento (a), largura (b) e espessura (c) de 20 sementes de feijão Cauamê e 20 sementes de feijão Potengi escolhidas aleatoriamente, as quais foram determinadas com o auxílio de um paquímetro digital.

I.3.1.3 Volume (V) e massa específica real (ρ_r)

Para a determinação do volume e da massa específica real das sementes de feijão, foram realizadas três pesagens seguindo o método da medida de massa de água deslocada. A primeira consistiu em uma pesagem da semente em balança analítica. Para a segunda pesagem, foi realizada a pesagem de um Becker contendo água em quantidade suficiente para cobrir totalmente a semente. Por fim realizou-se a pesagem do Becker + água + semente submersa. Para isto a semente foi fixada a uma haste móvel, acoplada a um suporte (Figura I.1), que permita o movimento até a completa imersão da semente (que foi pincelada com óleo para evitar absorção de água pela semente), causando um deslocamento de massa de água igual ao seu volume.

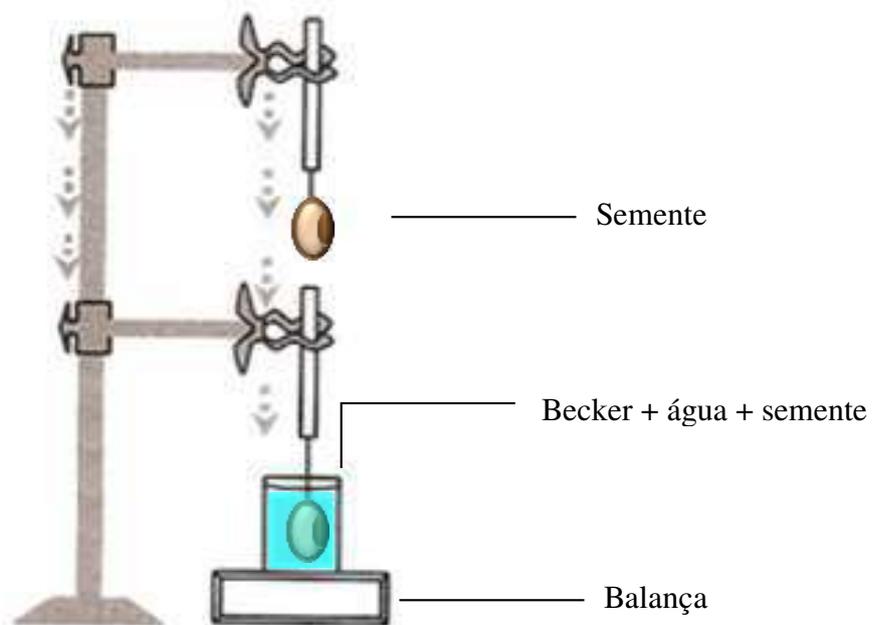


Figura I.1 - Suporte para pesagem de uma semente submersa

Depois de realizada as três pesagens, o volume e a massa específica real foram determinados pelas equações I.1 e I.2, respectivamente:

$$V = \frac{\text{volume de água deslocada}}{\text{massa específica da água}} \quad (\text{I-1})$$

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

em que,

ρ_r = massa específica real (g.cm^{-3})

m = massa (g)

V_r = volume real (cm^3)

I.3.1.4 Massa específica aparente

Para a determinação da massa específica aparente utilizou-se uma balança analítica. A massa é calculada pela relação entre a massa das sementes e o volume ocupado por estas sementes (volume do recipiente). Para o cálculo da massa específica aparente foi utilizada a Equação I-3:

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

em que,

ρ_a = massa específica aparente (g.cm^{-3})

m = massa das sementes que ocupam o recipiente (g)

V_a = volume do recipiente (cm^3)

I.3.1.5 Esfericidade

A esfericidade das sementes foi determinada com base na média geométrica dos três eixos perpendiculares (comprimento, largura e espessura) ao corpo em relação ao maior eixo (comprimento), de acordo com a Equação I-4:

$$\varphi = \frac{[(a \cdot b \cdot c)^{1/3}]}{a} \times 100 \quad (\text{I-4})$$

em que,

φ - esfericidade, %

a - maior eixo da semente, cm

b - eixo intermediário da semente, cm

c - menor eixo da semente, cm.

I.3.1.6 Porosidade

Conhecendo-se a massa específica real e a massa específica aparente, calculou-se a porosidade através da Equação I-5.

$$\varepsilon = \left[1 - \left(\frac{\rho_a}{\rho_r} \right) \right] \times 100 \quad (\text{I-5})$$

em que,

ε = porosidade da massa granular (%)

ρ_a = massa específica aparente ($\text{kg} \cdot \text{cm}^{-3}$)

ρ_r = massa específica real ($\text{kg} \cdot \text{cm}^{-3}$)

I.3.1.7 Análise estatística

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

I.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela I.1 encontram-se os cinco níveis de teor de água utilizados no trabalho expressos em base úmida e o peso de mil sementes correspondente a cada nível, expresso em gramas. Observa-se que houve um aumento do peso de mil sementes (208,7 a 234,7g) para as sementes de feijão variedade Cauamê e de (208,9 a 237,6) para as sementes de feijão variedade Potengi à medida que foi aumentando o teor de água das mesmas.

Tabela I.1 Médias do peso de mil sementes para as sementes de feijão caupi variedades Cauamê e Potengi em função do teor de água

Cauamê		Potengi	
Teor de água $X_{bu}(\%)$	Peso de mil sementes (g)	Teor de água $X_{bu}(\%)$	Peso de mil sementes (g)
4	208,7±0,4	4	208,9 ±0,3
8	212,7±0,4	8	213,5±0,3
12	216,8±0,3	12	217,4±0,4
16	225,1±0,4	16	226,0±0,4
20	234,7±0,4	20	237,6±0,3

A relação exponencial do peso de mil sementes com os teores de água analisados apresentou coeficiente de determinação (R^2) variando de 99,80% para a variedade Cauamê e 99,62% para a variedade Potengi, Figura I.2. Verifica-se ainda, que o peso de mil sementes da variedade Potengi é, discretamente, maior que o peso de mil sementes da variedade Cauamê. OLIVEIRA NETO et al. (2010) estudando o efeito da variação do teor de água na massa de mil sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) variedade “Emgopa 201 – ouro”, verificaram que houve uma diminuição da massa de mil sementes (199,87 a 176,89 g) à medida que foi diminuído o teor de água do feijão. Da mesma forma RESENDE et al. (2008) estudando o efeito da variação do teor de água no peso de mil sementes de feijão da cultivar Vermelho Coimbra, verificaram que com a redução do teor de água de 0,45 a 0,11 (b.s.), a peso de mil grãos variou de 0,31 a 0,23 kg.

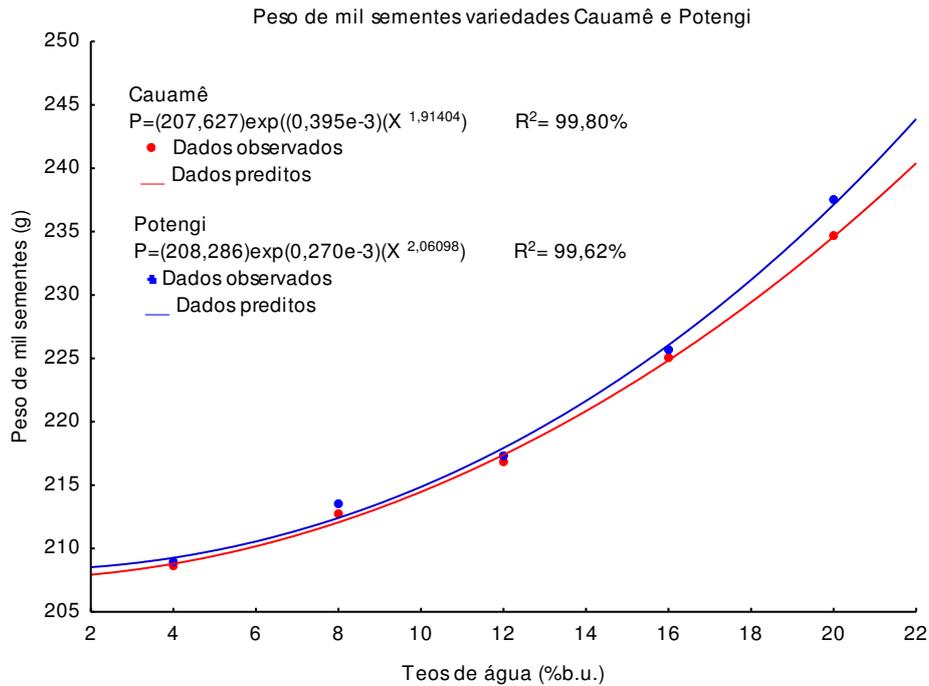


Figura I.2 Peso de mil sementes para as sementes de feijão-caupi variedades Cauamê e Potengi em função do teor de água

Os valores médios das três dimensões altura (a), largura (b) e espessura (c) das sementes de feijão caupi variedades Cauamê e Potengi para cada teor de água estudado estão expostos na Tabela I.2. Verifica-se que apesar das variações houve uma redução do tamanho das sementes à medida que o do teor de água diminui. Esta redução do tamanho deve-se ao processo de secagem, no qual ocorre a retração das sementes.

Tabela I.2 Médias das três dimensões, a, b e c altura, largura e espessura, respectivamente, das sementes de feijão caupi variedades Cauamê e Potengi em milímetros (mm)

Teor de água $X_{bu}(\%)$	Cauamê			Potengi		
	a	b	c	a	b	c
4	8,80±0,5	6,46±0,1	5,54±0,2	8,87±0,3	6,71±0,3	5,60±0,3
8	8,95±0,3	6,65±0,2	5,57±0,2	9,01±0,2	6,81±0,3	5,76±0,2
12	9,01±0,2	6,89±0,3	5,64±0,3	9,08±0,3	6,92±0,3	5,81±0,2
16	9,20±0,4	6,93±0,2	5,99±0,2	9,17±0,3	6,98±0,3	6,02±0,3
20	9,45±0,2	7,03±0,3	6,27±0,3	9,58±0,3	7,08±0,2	6,87±0,3

Na Figura I.3 e I.4 observa-se ainda à relação exponencial entre o comprimento, a largura e a espessura das sementes com os teores de água que apresentam coeficientes de determinação (R^2) de 98,62%, 98,73% e 97,52% para as sementes da variedade Cauamê e 94,56%, 96,08% e 93,16% respectivamente, para as sementes da variedade Potengi. Comparando-se as dimensões das duas variedades utilizadas, percebe-se que a variedade Potengi possui médias de comprimento, largura e espessura superiores à variedade Cauamê.

Resultado semelhante foi encontrado por SILVA (2013) pesquisando o comprimento, a largura e a espessura das sementes de romã e sementes de juá verificou a diminuição das três dimensões com a redução do teor de água. OLIVEIRA NETO et al. (2010) estudando as propriedades físicas de sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) variedade “emgopa 201 - Ouro” verificaram que as três dimensões axiais (a, b e c) reduziram proporcionalmente com a diminuição do teor de água, ratificando os valores encontrados nesse trabalho.

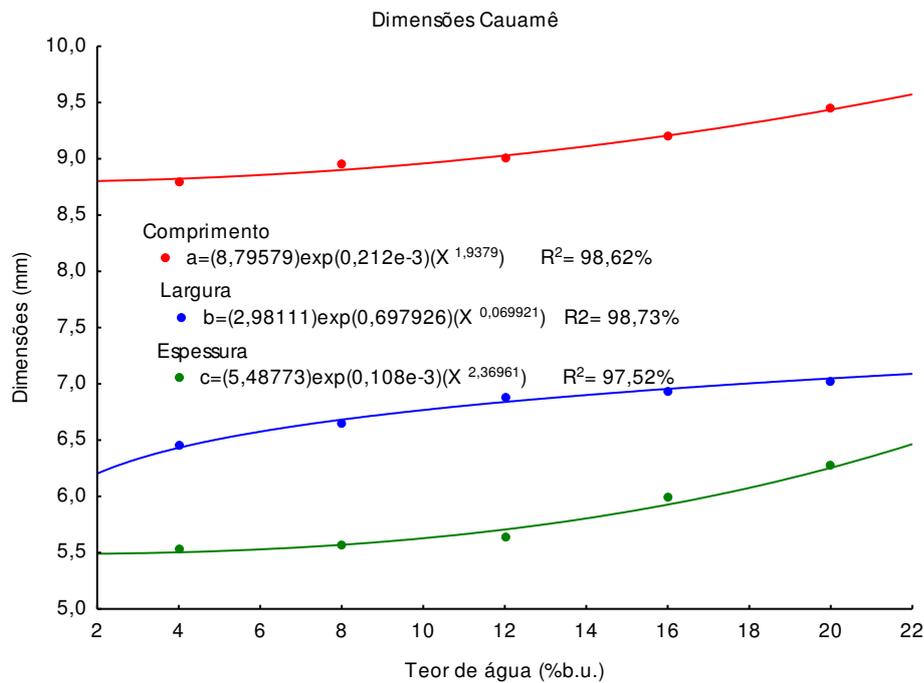


Figura I.3 - Características referentes ao comprimento, largura e espessura das sementes feijão-caupi variedade Cauamê em função do teor de água

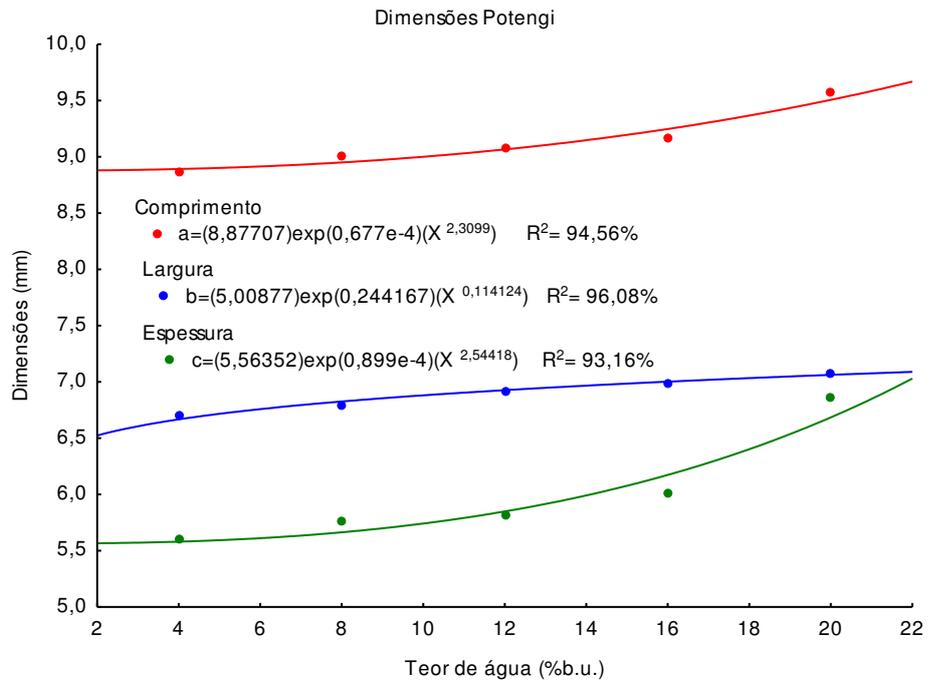


Figura I.4- Características referentes ao comprimento, largura e espessura das sementes feijão-caupi variedade Potengi em função do teor de água

Encontram-se, na Figura I.5, os valores referentes ao volume das sementes em função do teor de água. O modelo exponencial representa satisfatoriamente os valores experimentais do volume, apresentando elevados valores de coeficiente de determinação (R^2), 98,43% para a variedade Cauamê e 99,80% para a variedade Potengi.

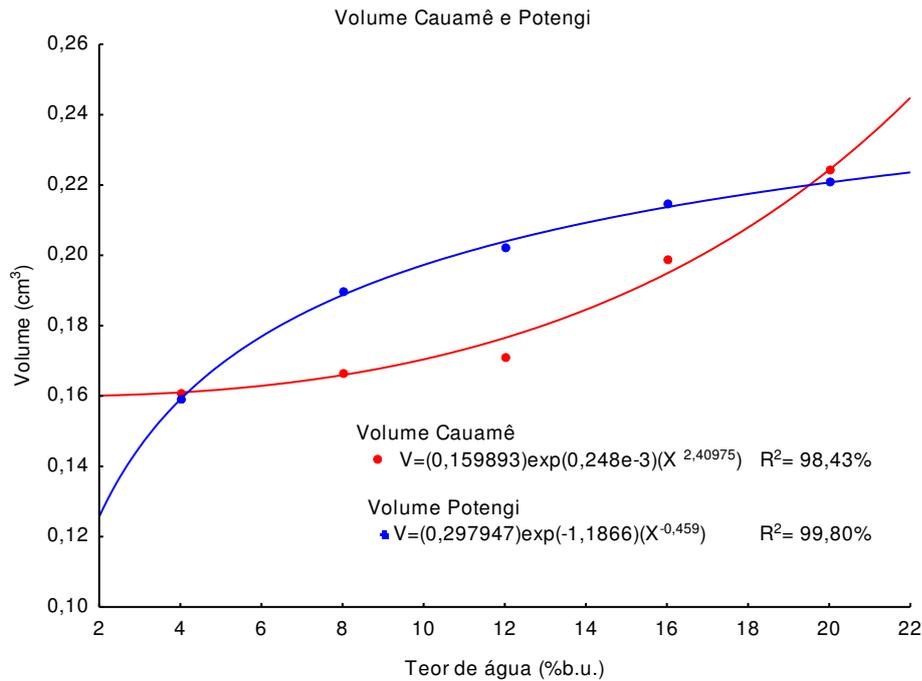


Figura I.5 - Volume das sementes de feijão-caupi variedades Cauamê e Potengi em função do teor de água

O volume de sementes de feijão-caupi variedade Cauamê apresentou valores que variaram de 0,160 a 0,224 cm³ para os teores de água de 4 a 20% b.u.; nas sementes de feijão-caupi variedade Potengi ficaram entre 0,158 a 0,220 cm³ para os mesmos teores de água. Pode-se observar que o volume da semente aumenta com aumento do teor de água, comportamento semelhante a grande maioria dos produtos agrícolas, conforme trabalhos realizados por vários pesquisadores, dentre eles: RIBEIRO et al. (2004), estudando grãos de trigo; RESENDE et al. (2005), estudando grãos de feijão e GONELI et al. (2011), estudando frutos de mamona.

Observa-se, ainda, em relação à Figura I.5, que a medida que o teor de água das duas variedades aumentou, as sementes da variedade Potengi apresentaram valores mais elevados para o volume quando comparados à variedade Cauamê, exceção feita apenas para os teores de água de 4 e 20% b.u., que a variedade Cauamê apresentou valores de volume mais elevados.

Os valores experimentais da esfericidade das sementes de feijão caupi variedades Cauamê e Potengi em função do teor de água (b.u.) são apresentados na Figura I.6.

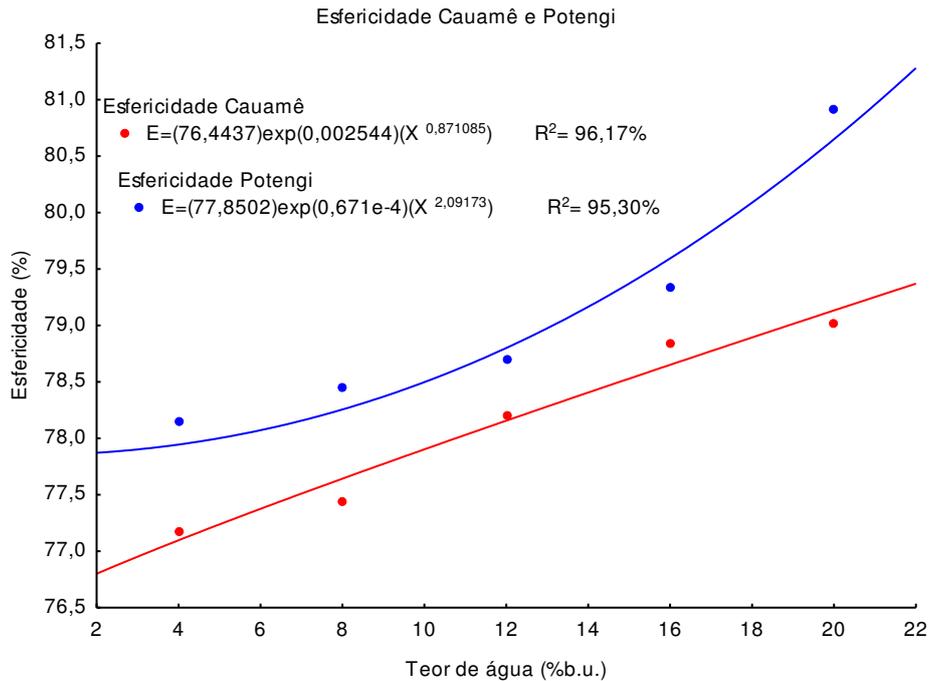


Figura I.6 - Esfericidade das sementes de feijão-caupi variedades Cauamê e Potengi em função do teor de água

Os dados experimentais da esfericidade das sementes de feijão-caupi variedades Cauamê e Potengi foram ajustados através de um modelo exponencial. Os valores da esfericidade para a variedade Cauamê ficaram entre 77,1 a 79,0% para teor de água de 4 a 20% b.u.; apresentando comportamento similar, as sementes de feijão-caupi variedade Potengi apresentaram valores entre 78,1 a 80,9% para teor de água de 4 a 20% b.u. Nota-se, portanto, que a esfericidade é diretamente proporcional ao teor de água. Segundo CORRÊA et al. (2004) para os grãos de trigo da cultivar Aliança as três dimensões axiais (a, b e c) e a esfericidade aumentaram proporcionalmente com o aumento do teor de água 12 a 45% b.s., confirmando os valores obtidos neste trabalho. OLIVEIRA NETO et al. (2010) estudando o efeito da variação do teor de água nas dimensões de sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) variedade “Emgopa 201 – ouro”, verificaram que houve uma diminuição das dimensões dos eixos ortogonais característicos (a, b e c), com a redução do teor de água e que a esfericidade é diretamente proporcional ao teor de água.

Pelos dados da Tabela I.3, observa-se a influência do teor de água nas características físicas das sementes de feijão-caupi variedades Cauamê e Potengi. A

massa específica real e a massa específica aparente diminuíram com o aumento do teor de água das sementes.

Tabela I.3- Características físicas médias das sementes de feijã-caupi variedades Cauamê e Potengi para diferentes teores de água

Teor de água $X_{bu}(\%)$	Cauamê		Potengi	
	Massa específica real (g.cm^{-3})	Massa específica aparente (g.cm^{-3})	Massa específica real (g.cm^{-3})	Massa específica aparente (g.cm^{-3})
4	1,3102	0,4896	1,3500	0,5199
8	1,2937	0,4735	1,2928	0,4922
12	1,2603	0,4613	1,2396	0,4711
16	1,2415	0,4502	1,2350	0,4697
20	1,2091	0,4339	1,1967	0,4486

Os valores experimentais e estimados da massa específica real das sementes de feijão-caupi variedades Cauamê e Potengi com a faixa de teor de água de 4 a 20% (b.u.) são apresentados na Figura I.7

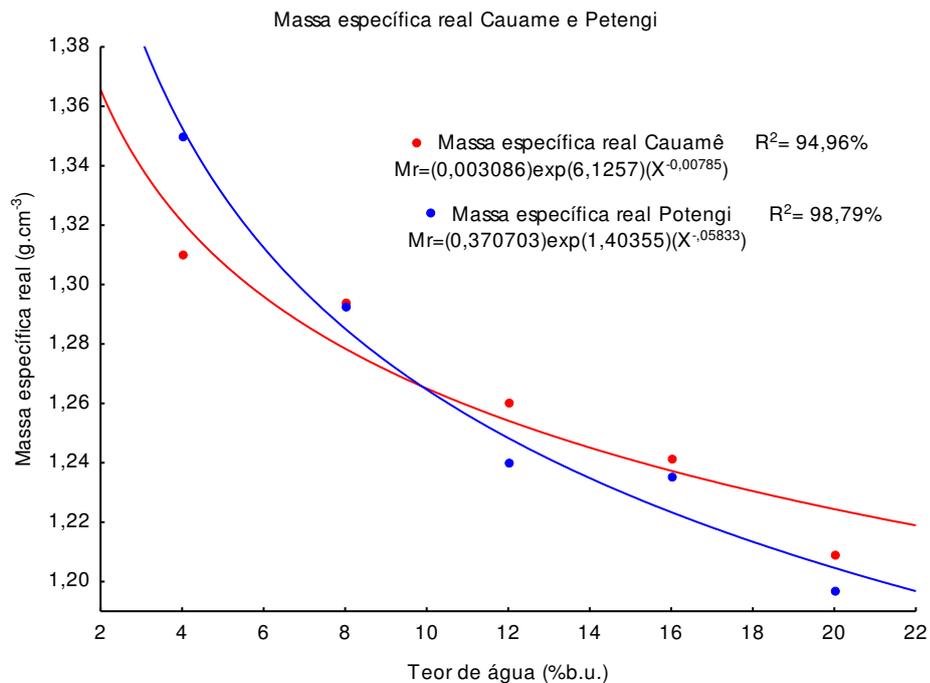


Figura I.7 - Valores experimentais e estimados da massa específica real de sementes de feijão Cauamê e Potengi em função do teor de água (b.u.)

Os valores experimentais da massa específica real das sementes de feijão-caupi Cauamê variaram entre 1,310 a 1,209g.cm⁻³ para teores de água de 4 a 20% b.u.; para as sementes de feijão-caupi Potengi os valores da massa específica real variaram entre 1,350 a 1,196g.cm⁻³ para os mesmos teores de água. A massa específica real das variedades de sementes de feijão-caupi estudadas diminui exponencialmente com o aumento do teor de água. Comportamento similar foi observado para a característica massa específica aparente em que houve variação de 0,489 a 0,433g.cm⁻³ para teores de água de 4 a 20% b.u. nas sementes de feijão-caupi variedade Cauamê e para as sementes de feijão-caupi variedade Potengi houve variação entre 0,519 a 0,448g.cm⁻³ para os mesmos teores de água como pode ser observado na figura I.8.

Ainda de acordo com a figura I.8 observa-se uma diminuição exponencial da massa específica aparente para as duas variedades de feijão com o aumento do teor de água, cujos coeficientes de determinação (R²) de 97,14% e 99,52%, demonstram que o modelo exponencial ajusta de forma satisfatório os dados experimentais.

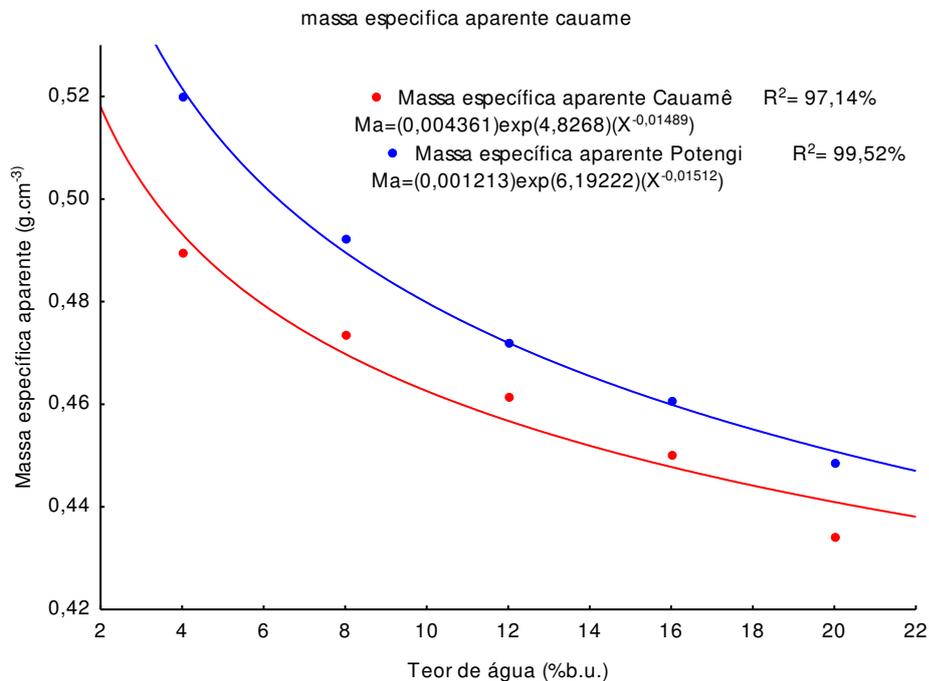


Figura I.8 - Valores experimentais e estimados da massa específica aparente de sementes de feijão variedades Cauamê e Potengi em função do teor de água (b.u.)

Em estudos realizados com as características físicas de sementes de juá SILVA (2013) verificou a diminuição da massa específica aparente com o acréscimo do teor de água os quais encontram concordância com os resultados obtidos nesse trabalho.

Os resultados obtidos neste trabalho são coerentes também com os obtidos por diferentes pesquisadores estudando diferentes produtos agrícolas: CORRÊA et al. (2006) estudando grãos de trigo com teor de água (b.u.) entre 10.0% e 40.0% observaram que a massa específica aparente variaram entre 750.00 a 550.00 kg.m⁻³; OLIVEIRA NETO et al. (2010) estudando o efeito da variação do teor de água na massa específica real e aparente de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) variedade “Emgopa 201 – ouro”, verificaram o aumento dessas características com a diminuição do teor de água, observando a variação de 779.16 a 831.26 kg.m³ para a massa específica aparente e 1254 a 1295 kg.m³ para massa específica real para uma faixa de teor de água entre 22.8 a 11 %.

Os valores médios da porosidade em função do teor de água estão expressos na Figura I.9. O modelo exponencial representa satisfatoriamente os valores experimentais, apresentando elevados valores do coeficiente de determinação (R²). A porosidade apresentou, para as sementes de feijão-caupi variedade Cauamê, valores de 62.9% a 63.9% com a variação do teor de água estudado. De forma semelhante ao encontrado neste trabalho, RESENDE et al. (2008) estudando as propriedades físicas de grãos de feijão do grupo vermelho, obtiveram valores de porosidade entre 38,3 e 44,1% para a faixa de teor de água entre 10 a 30% (b.u.).

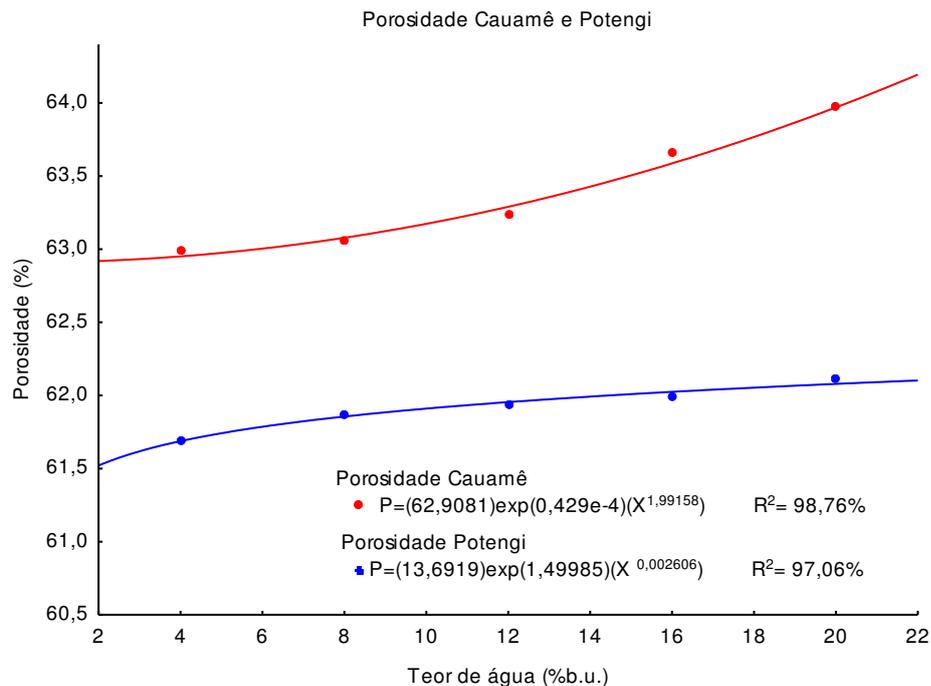


Figura I.9 - Porosidade das sementes de feijão-caupi variedades Cauamê e Potengi em função do teor de água

Ainda de acordo com a Figura I.9 a porosidade da massa de sementes feijão-caupi variedade Potengi variou de 61,6% a 62,1% na faixa de teor de água estudada. Observa-se, ainda, que entre os teores de água de 4% b.u. e 20% b.u. para a variedade Cauamê a oscilação da porosidade é discretamente maior que a oscilação da porosidade em relação a variedade Potengi. Estes resultados estão de acordo com os valores obtidos por SOUSA (2001) que verificando a porcentagem de espaços vazios entre as sementes de girassol da variedade Cargill C-11 encontrou uma variação de 48,84 a 49,70% para os teores de água de 5,05 a 22,25% b.u. Resultados semelhantes foram encontrados por JESUS et al. (2013) verificando-se acréscimo da porosidade com o aumento do teor de água nas sementes, com o maior valor, 42,29%, obtido com o teor de água de 18% (b.u.), e RESENDE et al. (2008) em que observa-se o aumento da porosidade da massa de grãos de feijão variando de 38,3 a 44,1% com o aumento do teor de água. Observa-se que a porosidade descreve comportamento semelhante à maioria dos produtos agrícolas, apresentando elevação dos seus valores com o aumento do teor de água. RIBEIRO et al. (2005) utilizaram grãos de soja, variedade UFV 20, colhidos com teor de água de aproximadamente 45 % b.s e verificaram que a porosidade diminuiu de 44,7 para 41,1% com a redução do teor de água na faixa entre 0,31 a 0,15 (b.s.). Portanto os dados destes autores confirmam os dados coletados neste trabalho seguindo as mesmas características da maioria dos produtos agrícolas.

De acordo com MELO et al. (2007) a variação da porosidade com o teor de água é uma característica intrínseca de cada produto, aumentando ou diminuindo como o aumento do teor de água, devido a textura e a composição do material que constitui a casca deste produto, fato este que pode ser constatado nesse estudo.

I.5 CONCLUSÕES

As dimensões, o volume, a esfericidade e porosidade das sementes de feijão-caupi variedades Cauamê e Potengi aumentam com o acréscimo do teor de água.

Com a elevação do teor de água, a massa específica real e a massa específica aparente sofreram redução de seus valores.

O modelo exponencial representa satisfatoriamente as propriedades físicas das sementes feijão-caupi variedades Cauamê e Potengi.

I.6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARBOSA, C.Z. R.; SMIDERLE, O. J.; ALVES, J. M. A.; VILARINHO, A. A.; SEDIYAMA, T. Qualidade de sementes de soja BRS Tracajá, colhidas em Roraima em função do tamanho no armazenamento. **Revista Ciência Agronômica**, v.41, n.1, p. 73-80, 2010.

BARYE. H, E.A.;MANGOPE,B.K. Some physical properties of QP-38 variety pigeon pea. **Journal of Food Engineering**, v. 51, p. 39-46, 2002.

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

CARLESSO, V.O.; BEBERT, P.A.; SILVA, R.F.; MOLINA, M.B.; OLIVEIRA, M.T.R. Massa específica aparente de sementes de mamão Carica Papaya L. do cultivar Golden em função do teor de água. Papaya Brasil – II Simpósio do Papaya Brasileiro, **Anais...**Vitória, p.256-259, 2005.

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

CORRÊA, P. C.; RIBEIRO, D. M.; RESENDE, O.; HENRIQUES, D. R.; ANDRÉ LUIZ DUARTE. Forma, tamanho e contração volumétrica do feijão. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v.7, n.1, p.15-24, 2005.

CORRÊA, P.C.; RIBEIRO, D.M.; RESENDE, O.; HENRIQUES, D.R.; SOUZA M.A. Análise da porosidade, massa específica aparente e real do trigo durante o processo de secagem. **Anais...** XXXIII CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA AGRÍCOLA. São Pedro SP, 2004.

CORRÊA, P. C.; RIBEIRO, D. M.; RESENDE, O.; BOTELHO F. M. Determinação e modelagem das propriedades físicas e da contração volumétrica do trigo, durante a secagem. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v.10, n.3, p.665-670, 2006.

COŞKUNER. Y. AND KARABABA. E. Some physical properties of flaxseed (*Linum usitatissimum* L.). **Journal of Food Engineering** 78: 1067–1073. 2007.

DIAS, C. de C. **Paiuhy: das origens a nova capital**. Teresina: Nova Expressão, 2008. p. 324-333.

DOBZJAŃSKI, B.,STĘPNIEWSKI, A. Physical Properties of Seeds in Technological Processes. **Institute of Agrophysics Polish Academy of Sciences**, Lublin, Poland, 2013.

DURSUN E. DURSUN I. Some physical properties of caper seeds. **Biosystems Engineering** 92(2): 237–245. 2005.

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

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

FENNER, M. **Seed ecology**. London: Chapman & Hall, 1993.

FREIRE FILHO, F. R. **Origem , evolução e domesticação do caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.)** In: ARAÚJO, J. P. P. de; WATT, E.E. Org. O Caupi no Brasil. Goiânia: EMBRAPA CNPAF/ Ibadan: IITA, 1988. p.25-46.

FREIRE FILHO, F.R. **Feijão-caupi no Brasil : produção, melhoramento genético, avanços e desafios** . Teresina: Embrapa Meio-Norte, 2011.84 p. 2011.

FROTA, K. M. G.; MENDONÇA, S.; SALDIVA, P. H. N.; CRUZ, R. J.; ARÊAS, J. A. G. Cholesterol-lowering properties of whole cowpea seed and its protein isolate in hamsters. **Journal of Food Science**. Chicago. v. 73. n. 9. p. H235-H240. Nov./Dec. 2008

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

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

GONELI A. L. D.; CORRÊA, P. C; MAGALHÃES F. E. A.; BAPTESTINI F. M. Contração volumétrica e forma dos frutos de mamona durante a secagem. In: **Acta Scientiarum Agronomy**, v.33, n.1, p.1-8, 2011.

JOUKI, M., KHAZAEI, N. **Some physical properties of rice seed (*Oriza sativa*)** IIOABJ; v. 3; Issue 4; 2012: p.15–18.

JESUS, F. F. DE; SOUZA, R. T. G.; TEIXEIRA, G. C. DA S.; TEIXEIRA, I. R.; DEVILLA, I. A. Propriedades físicas de sementes de feijão Em função de teores de água. **Engenharia na agricultura**, v.21, n.1, p.09-18, 2013.

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

KUROZAWA, C. **ABC do Globo Rural**. Publicado em abril de 2007. Disponível em: <http://globoruraltv.globo.com/GRural/0,27062,LTP0-4373-0-L-F,00.html>. Acesso em: 04 de dezembro de 2013.

LORENZI, H. **Plantas daninhas do Brasil, terrestres, aquáticas e tóxicas**. 3. ed. São Paulo: Plantarum. 640 p. 2000.

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

MOHSENIN, N.N. Physical properties of plant and animal material. Gordon and Breach **Science Publishess**. New York, 2 ed, 742p, 1978.

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

ÖZTURK T.; EVEN B. Physical and mechanical properties of barley. **Agricultura tropica et subtropical**. v.41, n.3, p.117-121, 2008.

OZARSLAN, C. Physical properties of cotton seed. **Biosystems Engineering**, [S.l.], v.83, n.2, p.169-174, 2002.

PADULOSI, S.; NG N. Q. **Orig in taxonomy, and morphology of *Vigna unguiculata* (L.) Walp**. In: SINGH, B .B .; MOHAN, R.; DASHIELL, K. E; JACKAI, L. E. N., eds. **Advances in Cowpea Research**. Tsukuba; IITA JIRCAS, 1997. p.1-12.

PAKSOY, M.; AYDIN, C. Some physical properties of edible squash (*Cucurbita pepo* L.) seeds. **Journal of Food Engineering**, v.65, p.225-231, 2004.

POLLOCK, B. M.; ROOS, E. E. Seed and seedling vigor. In: KOZLOWSKI, T. T. (Ed.). **Seed biology**. New York: Academic Press, 1972. p. 313-377.

RATTI, C. Shrinkage during drying of foodstuffs. **Journal of Food Engineering**, London, v.23, n.1, p.91-105, 1994.

RAZAVI, S.M.A.; EMADZADEH, B.; RAFE, A.; AMINI, A.M. The physical properties of pistachio nut and kernel as a function of moisture content and variety: Part I. Geometrical properties. **Journal of Food Engineering**, v.81, n.1, p.209-217, 2007.

RESENDE, O.; CORRÊA, P. C.; GONELI A. L. D.; CECON P. R. Forma, tamanho e contração volumétrica do feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) durante a secagem. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v.7, n.1, p.15-24, 2005.

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

RIBEIRO, D. M.; CORRÊA, P. C.; RESENDE, O.; GUIMARÃES, F. F.; COSTA, D. R. Forma, tamanho e contração volumétrica do trigo durante o processo de secagem. In: **Congresso Brasileiro de Engenharia Agrícola**, 33, 2004, São Pedro, SP. Anais, São Pedro:SBEA, 2004.

RIBEIRO, D. M.; CORRÊA, P. C.; RODRIGUES, H. D.; GONELI, A. L. D. Análise da variação das propriedades físicas dos grãos de soja durante o processo de secagem. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.3, n.25, p.611-617, 2005.

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

SINGH, B. B.; EHLERS, J. D.; SHARMA, B.; FREIRE FILHO, F. R. **Recent progress in cowpea breeding**. In: FATOKUN, C. A.; TARAWALI, S. A.; SINGH, B. B.; KORMAW A, P. M.; TAMBO, M. (Eds.). Challenges and opportunities for enhancing sustainable cowpea production. Ibadan: IITA, p. 22-40, 2002.

SINGH. B. B. Recent progress in cowpea genetics and breeding. *Acta Horticulturae*. **The Hague**. n. 752. p. 69-76. 2007.

SILVA, J.S.; CORRÊA, P.C. Estrutura, composição e propriedades dos grãos. In: SILVA, J.S. **Secagem e Armazenamento de produtos agrícolas**. Juiz de Fora: Instituto Maria, 2000. p.21-37.

SILVA. L.M. de M.; **Protocolos de criopreservação de sementes de romã e juá**. Dissertação (Mestrado em engenharia Agrícola). Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Ciências e Tecnologia, Campina Grande, 2013. 160p.

SIRISOMBOON, P.; KITCHAIYA, P.; PHOLPHO. T.; MAHUTTANYAVANITCH. W. Physical and mechanical properties of *Jatropha curcas* L. fruits, nuts and kernels. **Biosystems Engineering** 97: 201–207. 2007.

SMARTT, J. **Grain legumes: evolution and genetic resources**. Cambridge: Cambridge University Press, p. 333, 1990.

SOKHANSANJ, S.; LANG, W. Prediction of kernel and bulk volume of wheat and canola during adsorption and desorption. **Journal of Agricultural Engineering Research**, v.63, n.2, p.129-136, 1996.

SOUSA, L. V. S. **Propriedades físicas de grãos de girassol relacionadas à armazenagem**. 2001. 168f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola). Universidade Estadual de Campinas, 2001.

VERDCOURT, B. **Studies in the leguminosae: papilionoideae for the Flora of tropical East Africa**. Kew Bulletin, London, v. 24, p. 507-569, 1970.

ARMAZENAMENTO CRIOGÊNICO DE SEMENTES DE FEIJÃO-CAUPI

CAPÍTULO II

**ISOTERMAS DE EQUILÍBRIO HIGROSCÓPICO DE SEMENTES DE
FEIJÃO-CAUPI EM FUNÇÃO DO TEOR DE ÁGUA**

ARMAZENAMENTO CRIOGÊNICO DE SEMENTES DE FEIJÃO-CAUPI

CAPÍTULO II: ISOTERMAS DE EQUILÍBRIO HIGROSCÓPICO DE SEMENTES DE FEIJÃO-CAUPI EM FUNÇÃO DO TEOR DE ÁGUA

RESUMO

O crescimento e o metabolismo dos microrganismos demandam presença de água em forma disponível e a medida mais comumente empregada para expressar a estabilidade de um produto é a atividade de água (a_w). Nesse sentido, objetivou-se estudar a atividade de água em sementes feijão-caupi variedades Cuamê e Potengi, relacionando-as com a temperatura, mensuradas em um higrômetro Aqualab 3TE da Decagon. Foram utilizados os modelos matemáticos de Henderson modificado por Cavalcanti Mata, Oswin, Sigma-Copace e Sabbah. Triturou-se manualmente aproximadamente 1,5g de sementes para cada teor de água desejado. As amostras foram colocadas uma a uma em célula específica do aparelho até que cobrissem totalmente o fundo da célula até a marca indicada, em seguida foi colocada no aparelho para ser realizada a leitura. Ajustou-se a temperatura para 40 °C e foram feitas todas as leituras para as sementes com teor de água 4, 6, 8, 10, 12 e 14% b.u, repetindo-se este procedimento, ajustando o aparelho nas outras temperaturas estudadas de 30, 20 e 15 °C. A equação proposta por Sabbah foi a apresentou o maior coeficiente de determinação em relação aos demais modelos utilizados para as sementes de feijão-caupi variedades Cauamê e Potengi.

Plavras-chave: sementes, umidade relativa, higroscopicidade

ABSTRACT

The growth and metabolism of microorganisms require the presence of water in the form available and the measure most commonly used to express estabilidade of a product is the water activity (a_w). In this sense, the objective was to study the activity of water in sementes feijão cowpea varieties Cuamê and Potengi, relating them to the temperature, measured on a hygrometer Aqualab 3TE the Decagon. Mathematical models modified by Henderson modified for Cavalcanti Mata, Oswin, Sigma-Copace and Sabbah. At first, manually triturated approximately 1,5g of seeds for each desired water content. The samples were placed one by one on specific cell unit until completely would cover the bottom of the cell to the mark indicated, then was placed in the reading apparatus to be performed. The temperature was adjusted to 40°C and all readings for the seeds with 4, 8, 10, 12 and 14 % w.b. were made by repeating this procedure, setting the apparatus in other storage temperatures of 30, 20 and 15°C. The equation proposed by Sabbah was presented the highest coefficient of determination in relation to the other models used for the seeds of cowpea varieties Cauamê and Potengi.

Keywords: seeds, relative humidity, higroscopicity

II.1 INTRODUÇÃO

O Brasil é o maior produtor mundial de feijão, e a comercialização de sementes tem exigido das empresas produtoras a adoção de moderna tecnologia para a manutenção de altos graus de pureza física, germinação e sanidade. O empenho da pesquisa em conseguir melhores desempenhos de produtividade e garantir o abastecimento interno do produto é justificado pela importância social do feijão, como alimento substituto de proteínas e rico em ferro e pelo consumo generalizado da população brasileira (FRANCISCO et al., 2007).

A necessidade do conhecimento das relações entre o produto, umidade relativa do ar e a temperatura, pode influenciar diretamente a sua qualidade. Durante o armazenamento dos produtos agrícolas podem ocorrer mudanças microbiológicas, físicas e químicas que, dependendo da interação entre estes fatores e o ambiente, podem ocasionar perdas na sua qualidade (RESENDE et al., 2006).

Para se reduzir ao mínimo o processo de deterioração, as sementes devem ser armazenadas adequadamente, garantindo assim a manutenção de estoque regulador para os anos subsequentes de baixa produção. Deve-se considerar que o potencial fisiológico das sementes é influenciado por vários fatores dentre eles está à relação entre o teor de água, a umidade relativa do ar e o armazenamento.

Devido às características higroscópicas dos grãos e sementes, seu teor de água é influenciada pela umidade externa. O equilíbrio higroscópico acontece quando o teor de água dos grãos e sementes permanece em equilíbrio com a umidade relativa do ar em uma determinada temperatura (BORDIGNON, 2009). Conforme o mesmo autor, as condições de umidade relativa e de temperatura durante o armazenamento, onde as sementes alcançarão o equilíbrio higroscópico específico, determinarão a manutenção de sua qualidade fisiológica e amenizando as possíveis alterações nos materiais. Portanto, o conhecimento da sorção e dessorção constitui uma importante estratégia para a conservação genética “*ex situ*” de espécies vegetais.

Diante da importância do conhecimento da higroscopicidade dos produtos agrícolas, objetivou-se determinar o equilíbrio higroscópico das sementes de feijão-caupi variedades Cuamê e Potengi para diversas condições de temperatura e atividades de água

Capítulo II: Isotermas de equilíbrio higroscópico de sementes de feijão-caupi em função do teor de água

e ajustar diferentes modelos matemáticos aos dados experimentais selecionando-se aquele que melhor o represente.

II.2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

II.2.1 Relação da água nas sementes

Para a avaliação da relação da água com as sementes deve-se levar em consideração tanto os processos que conduzem ao desenvolvimento quanto os que ocorrem em tecidos desidratados, pois a água possui heterogeneidade de atuação para garantir à normalidade de atividades tão opostas, além de intervir em outros processos fisiológicos, como a respiração, a dormência, a deterioração, e de se associar a ocorrência de injúrias física ou mecânica, quando presente em quantidade excessiva ou insuficiente (MARCOS FILHO, 2005).

De acordo com ALMEIDA et al. (2006) pode-se separar a água contida na sementes em quatro classes: água de constituição, água líquida, água adsorvida e água absorvida. O fator identificador do potencial de água nas sementes usa como base o potencial hídrico e o modo de ligação com as macromoléculas (VERTUCCI & FARRANT, 1995). Esses pesquisadores consideram o grau de umidade e a temperatura os fatores determinantes do comportamento fisiológico das sementes, ressaltando a importância do conhecimento das propriedades da água e como estas se relacionam ao teor de água dos grãos ou sementes. Modificações na atividade metabólica da semente, em resposta a variações do teor de água, parecem estar associadas a alterações discretas nas propriedades físicas da água (MARCOS FILHO, 2005).

Portanto torna-se importantíssimo a manutenção de níveis adequados de teor de água, para controle da velocidade e intensidade das reações, garantindo a qualidade dos grãos armazenados e assegurando o potencial fisiológicos das sementes.

II.2.2 Equilíbrio higroscópico

De acordo com FANTINATTI et al, (2005), os grãos e sementes, como qualquer material higroscópico, mantêm o equilíbrio do seu teor de água com a umidade relativa do ar, a uma dada temperatura. Isto é, eles têm a capacidade de ceder ou absorver água de acordo com a umidade relativa do ar contido no espaço intersticial da massa de sementes. Portanto, grãos e sementes em contato com um ambiente onde a umidade

relativa oscila ganharão ou perderão umidade. No ponto de equilíbrio, a pressão de vapor de água dentro do grão e sementes é igual à pressão de vapor da água no ar intersticial. Quando as sementes e o ar que a envolve apresentam diferentes pressões de vapor, a umidade se movimenta da substância de maior pressão de vapor para a de menor pressão até atingir um ponto de equilíbrio. Nesse ponto, cessa o transporte da umidade.

No pré-processamento, composto por beneficiamento, secagem e armazenagem, surge à importância do conhecimento do comportamento higroscópico das sementes. A modelagem e a simulação de secagem ou armazenamento dependem muito do conhecimento prévio das curvas de equilíbrio do produto com o ambiente, a certa temperatura e umidade relativa do ar. As curvas de equilíbrio higroscópicas são propriedades termodinâmicas úteis para se determinar as interações que ocorrem entre a água e os elementos componentes do produto (OLIVEIRA et al., 2004).

Portanto, a determinação da curva do equilíbrio higroscópico são de extrema importância para controle da matéria prima durante o período em que as sementes estão armazenadas. Diversos pesquisadores têm estudado a respeito do equilíbrio higroscópico em diversos produtos agrícolas. OLIVEIRA et al. (2013), estudando sementes de algodão com linter e sem linter; ALMEIDA et al. (2012), pesquisando sementes de feijão; FRANCISCO et al. (2007), estudando sementes de cultivares de feijão; FIRMINO et al. (2006), pesquisando sobre a atividade de água em sementes de mamona cultivar Mirante 10.

II.2.3 Tempo para atingir o equilíbrio higroscópico

Vários fatores influenciam no tempo em que uma massa de grãos ou sementes leva para atingir o equilíbrio higroscópico, dentre os quais estão: influência do teor de água, umidade relativa do ar, permeabilidade do tegumento.

De maneira geral, o equilíbrio higroscópico é atingido mais rapidamente em lotes menores, sob temperaturas mais elevadas, com a ocorrência de grande diferença de potencial hídrico entre os grãos, do vapor d'água atmosférico e em grãos e/ou sementes danificadas. Quando uma grande massa de grãos é exposta a condições atmosféricas, demandará um longo período até que o equilíbrio higroscópico seja obtido e a umidade desta massa de grãos seja uniforme. Considerando a necessidade da perda (desorção) de

água de uma massa de grãos para que estes se tornem secos, o tempo de secagem seria muito longo e, conseqüentemente, ocorreriam danos aos grãos armazenados (BORDIGNON, 2009).

II.2.4 Modelos matemáticos

O estudo da atividade de água pode ser feito através das isotermas de sorção. Uma isoterma é uma curva que descreve em uma umidade específica, a relação de equilíbrio de uma quantidade de água sorvida por componentes do material biológico e a pressão de vapor ou umidade relativa, a uma dada temperatura (PARK et al., 2001).

O comportamento higroscópico de diversos produtos agrícolas tem sido estudado por vários pesquisadores, que descrevem modelos diferenciados para expressar o teor de água de equilíbrio em função da temperatura e umidade relativa do ar. Para o estabelecimento de isotermas que representam esta relação de equilíbrio, entretanto, são utilizados modelos matemáticos empíricos, uma vez que nenhum modelo teórico disponível tem sido capaz de prever, com precisão, o teor de água e umidade relativa do ar (RESENDE et al., 2006).

Na literatura são encontradas inúmeras equações propostas para representar o fenômeno de equilíbrio higroscópico dos produtos agrícolas. Estes modelos diferem tanto em sua base teórica ou empírica quanto na quantidade de parâmetros envolvidos (MULET et al. 2002)

Entre os diversos modelos, as principais equações utilizadas na literatura para estimativa da umidade de equilíbrio são: a equação de Chung-Pfost utilizada com os valores-padrão da ASAE D245.4 (ASAE, 1995) para arroz com casca, no trabalho de BASUNIA e ABE (2001); a equação de Oswin que foi utilizada para arroz em casca no trabalho desenvolvido por CHEN e WU (2001); CAVALCANTI MATA (1997), mostrou os estudos de Smith em 1947 que desenvolveu a equação que se ajusta bem aos dados experimentais de umidade de equilíbrio de cereais para condições de umidade relativa de 50 a 95%; as equações de Henderson e Sigma-Copace foram empregadas nos estudos de MATOS et al. (1998) com folhas e películas externas de bulbos da cebola; a equação de Lewis foi proposta, com base analógica à lei de Newton do Resfriamento; as equações de

Capítulo II: Isotermas de equilíbrio higroscópico de sementes de feijão-caupi em função do teor de água

Page e Overhults que foram obtidas a partir de modificações empíricas da equação de Lewis (BARROZO et al., 1998).

II.3 MATERIAL E MÉTODOS

O estudo da atividade de água das sementes foram conduzidos nos Laboratório de Armazenamento e Processamento de Produtos Agrícolas.

Foram utilizadas sementes de feijão-caupi variedades Cauamê e Potengi, com teores de água de 4, 8, 12, 14 e 16% b.u. nas temperaturas de 15, 20, 30 e 40 °C.

O aparelho utilizado para determinar os valores do equilíbrio higroscópico das sementes de feijão-caupi foi o Aqualab, que é um equipamento exclusivo para se determinar a atividade de água (a_w). Neste aparelho a temperatura é controlada e alcança a escala que varia de 15 °C a 40 °C, com variações $\pm 0,5$ °C.

De início, triturou-se manualmente aproximadamente 1,5g de sementes de feijão para cada teor de água desejado. As amostras foram colocadas uma a uma em células específicas do aparelho Aqualab até que cobrissem totalmente o fundo da célula até a marca indicada, em seguida foi colocada no aparelho para ser realizada a leitura.

Ajustou-se a temperatura para 40°C e foram feitas todas as leituras para as sementes com teor de água de 4, 8, 10, 12 e 14% b.u, repetindo-se este procedimento, ajustando o aparelho nas outras temperaturas estudadas de 30, 20 e 15°C.

II.3.1 Equações para o equilíbrio higroscópico

Aos dados experimentais dos teores de água de equilíbrio das sementes de feijão-caupi variedades Cauamê e Potengi determinados para a temperatura de 15, 20, 30 e 40°C, foram ajustados os modelos matemáticos de Henderson modificado por Cavalcanti Mata, Oswin, Sigma-Copace e Sabbah frequentemente utilizados para representação da higroscopicidade de produtos agrícolas, cujas equações estão apresentadas na Tabela II.1.

Tabela II.1- Modelos matemáticos utilizados para o ajuste dos dados experimentais

Nome	Equação
HENDERSON modif. CAVALCANTI MATA	$X_e = \{\ln(1-a_w)/[-a(T^b)]\}^{1/c}$
OSWIN	$X_e = [a+(bT)]/[(1-a_w)/a_w]^{1/c}$
SIGMA-COPACE	$X_e = \exp\{(a-(bT)+[c \exp(a_w)]\}$
SABBAH	$X_e = a(a_w^b/(T^c))$

em que,

X_e – teor de água de equilíbrio, %b.u

a_w – atividade de água, adimensional;

T – temperatura, °C;

a, b, c – constantes das equações.

Os dados amostrais de umidade de equilíbrio higroscópico, determinados para as temperaturas de 15, 20, 30 e 40°C, foram ajustados através dos modelos matemáticos conforme a Tabela II.1. Obteve-se a superfície de resposta para a espécie com o emprego da regressão não linear pelo método Quasi-Newton, utilizando o programa computacional STATISTICA 7.0.

Para selecionar o modelo que melhor se ajustou aos dados experimentais foram considerados os seguintes parâmetros estatísticos: coeficiente de determinação ajustado (R^2); a magnitude do erro médio relativo (P) e do erro médio estimado (SE), utilizando-se respectivamente as Equação II.1 e II.2.

$$P = \frac{1}{n} \sum \frac{|Y - \hat{Y}|}{Y} \quad (\text{II-1})$$

$$SE = \sqrt{\frac{\sum(Y - \hat{Y})^2}{GRL}} \quad (\text{II-2})$$

em que,

n – número de observações

Y – valor experimental

\hat{Y} – valor calculado

GRL – grau de liberdade

O grau de ajuste dos modelos matemático aos dados experimentais baseou-se na magnitude do coeficiente de determinação ajustado (variância explicada), na magnitude dos erros médios relativos e estimados e na análise do comportamento da distribuição dos resíduos.

II.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela II.2 apresenta os parâmetros dos modelos ajustados aos valores de teor de água de equilíbrio higroscópico para as sementes feijão-caupi variedades Cauamê e Potengi para diferentes condições de temperatura e atividade de água.

Tabela II.2-Coeficientes dos modelos ajustados aos teores de água de equilíbrio higroscópico para as sementes de feijão-caupi, com seus respectivos coeficientes de determinação (R²), erros médios relativos (P), erros médios estimados (SE)

Cauamê						
Modelos	Coeficientes					
	a	b	c	R²(%)	P(%)	SE
HENDERSON modificado	14,007	0,1362	1,2115	93,23	17,32	0,01557
CAVALCANTI MATA OSWIN	0,0713	0,2900	2,4570	90,95	20,35	0,01752
SIGMA-COPACE	4,7319	0,0039	1,2157	93,31	17,22	0,01549
SABBAH	0,2649	1,9583	0,9799	95,94	13,65	0,01215
Potengi						
Modelos	Coeficientes					
	a	b	c	R²(%)	P(%)	SE
HENDERSON modificado	20,318	0,0070	1,2576	93,01	18,95	0,01581
CAVALCANTI MATA OSWIN	0,0072	0,2300	2,1127	92,03	19,02	0,01685
SIGMA-COPACE	4,7319	0,0039	1,2653	93,31	17,22	0,01549
SABBAH	0,2848	1,8514	0,0979	96,02	13,52	0,01202

Verifica-se que, dentre os quatro modelos utilizados, que o modelo de Sabbah foi o que melhor se ajustou aos dados experimentais de equilíbrio higroscópico para as duas variedades de sementes de feijão-caupi, apresentando coeficiente de determinação (R²) equivalente a 95,94% para a variedade Cauamê e 96,02% para a variedade Potengi. O

modelo de Sabbah, apresentou, também, o menor erro médio relativo (P) de 13,65% e menor erro médio estimado (SE) de 0,01215, para a variedade Cauamê, assim como para a variedade Potengi com erro médio relativo (P) de 13,52% e erro médio estimado (SE) de 0,01202, conforme a Tabela II.2.

Analisando o ajuste das superfícies de resposta (Figuras II.1 a II.8) que expressa os valores do intervalo de temperatura de 15 a 40°C, pode-se perceber que os modelos de Henderson modificado por Cavalcanti-Mata, Oswin e Sigma-Copace, apresentaram, para as duas variedades estudadas, baixos índices de coeficiente de determinação e que, o modelo de Sabbah apresentou o maior coeficiente de determinação em relação aos demais modelos utilizados. Embora o coeficiente de determinação apresente um valor razoável, expressa qualquer valor de teor de água de equilíbrio e umidade relativa para as temperaturas que estejam entre 15°C e 40°C.

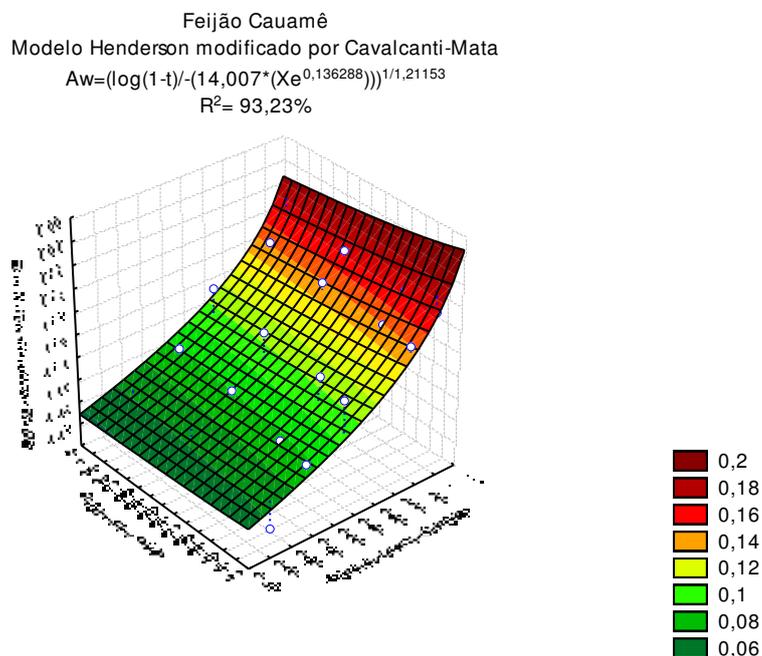


Figura II.1- Valores experimentais e estimados do teor de água de equilíbrio para as sementes de feijão-caupi variedade Cauamê, utilizando-se o modelo de Henderson modificado por Cavalcanti-Mata

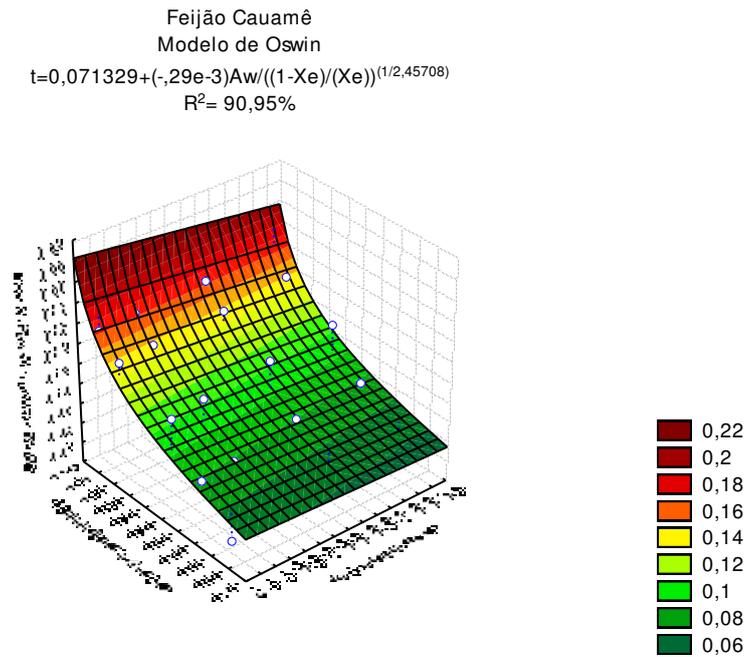


Figura II.2- Valores experimentais e estimados do teor de água de equilíbrio para as sementes de feijão-caupi variedade Cauamê, utilizando-se o modelo de Oswin

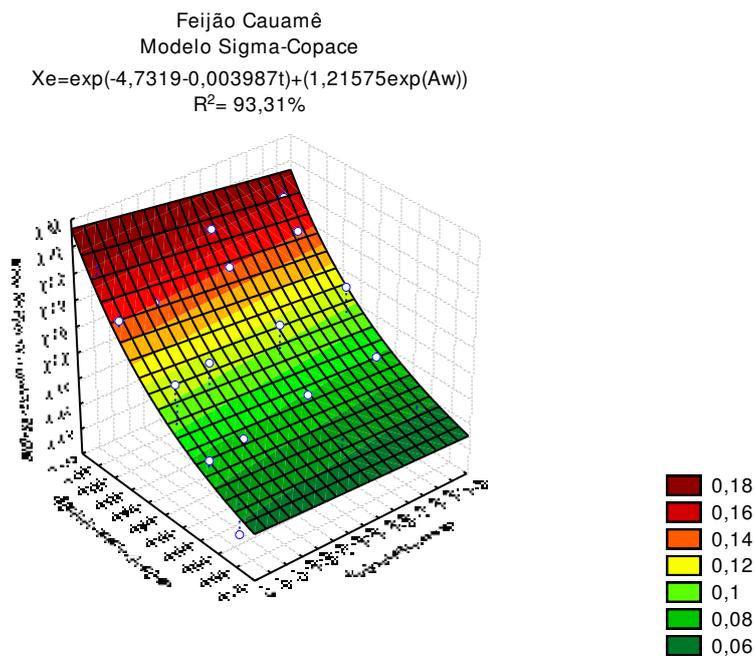


Figura II.3- Valores experimentais e estimados do teor de água de equilíbrio para as sementes de feijão-caupi variedade Cauamê, utilizando-se o modelo de Sigma-Copace

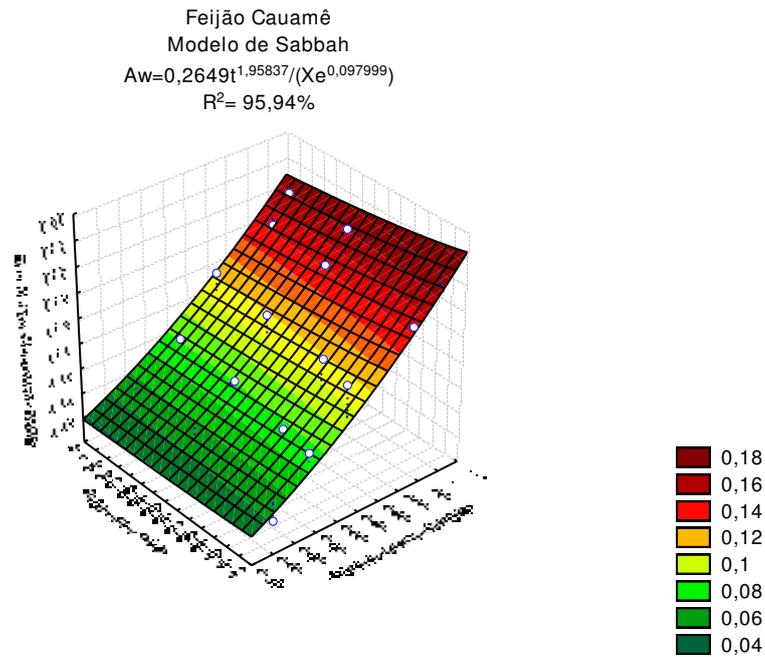


Figura II.4- Valores experimentais e estimados do teor de água de equilíbrio para as sementes de feijão-caupi variedade Cauamê, utilizando-se o modelo de Sabbah

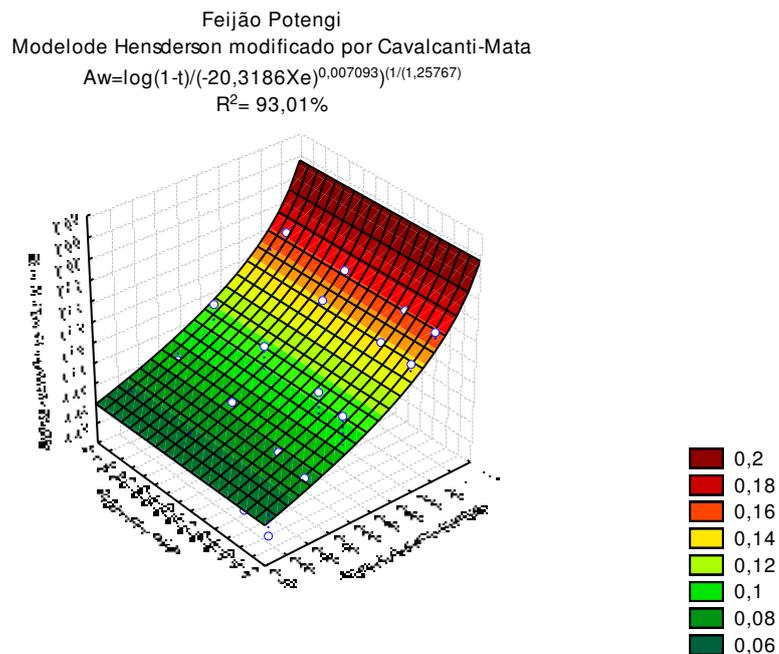


Figura II.5- Valores experimentais e estimados do teor de água de equilíbrio para as sementes de feijão-caupi variedade Potengi, utilizando-se o modelo de Henderson modificado por Cavalcanti-Mata

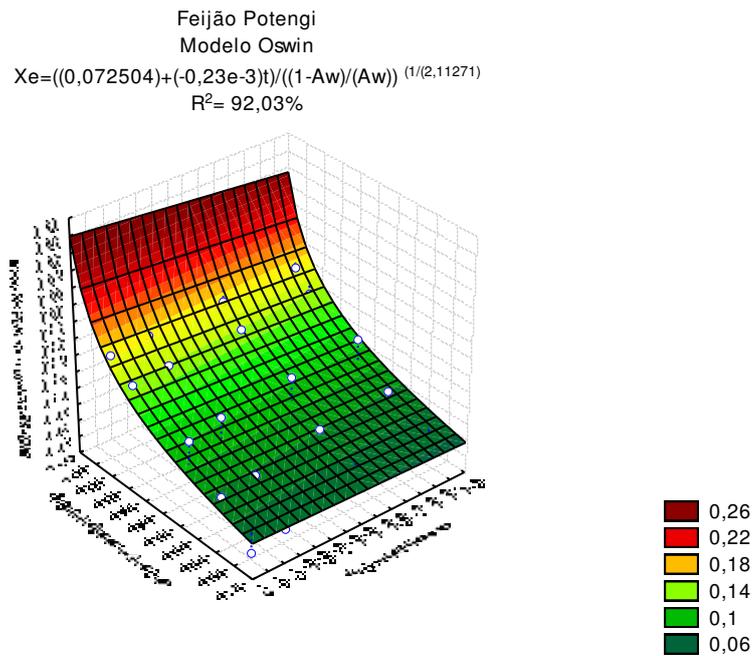


Figura II.6- Valores experimentais e estimados do teor de água de equilíbrio para as sementes de feijão-caupi variedade Potengi, utilizando-se o modelo de Oswin

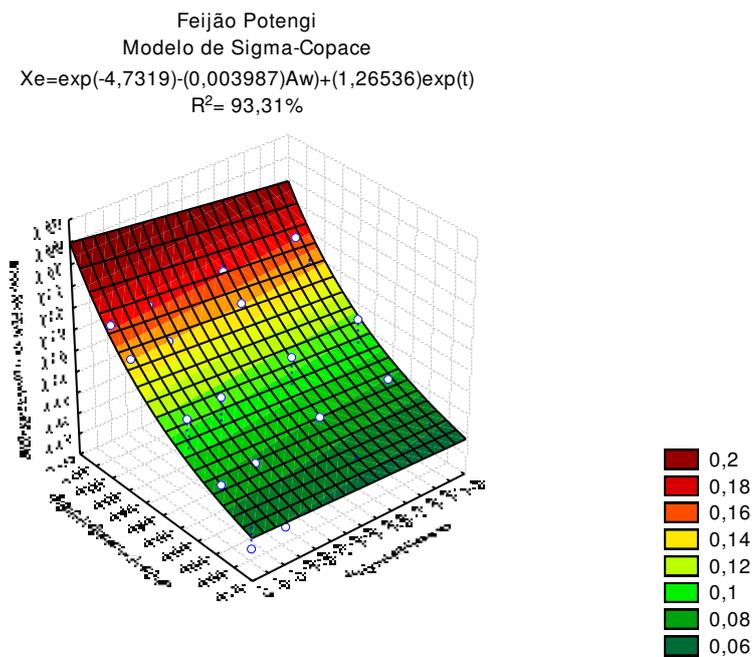


Figura II.7- Valores experimentais e estimados do teor de água de equilíbrio para as sementes de feijão-caupi variedade Potengi, utilizando-se o modelo de Sigma-Copace

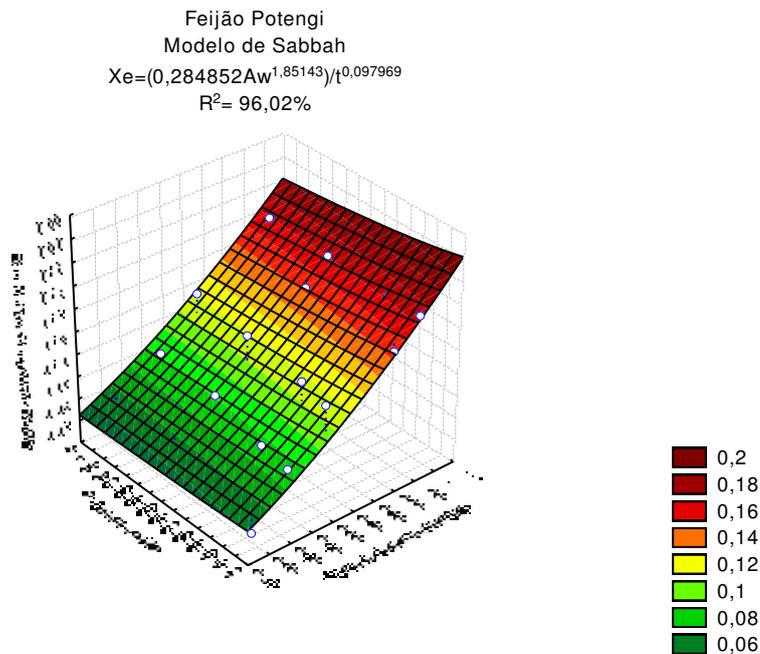


Figura II.8 - Valores experimentais e estimados do teor de água de equilíbrio para as sementes de feijão-caupi variedade Potengi, utilizando-se o modelo de Sabbah

ARAÚJO et al. (2001) determinando as isotermas de dessecção das sementes de milho doce (*Zea mays* L.), utilizaram as cultivares Superdoce e Doce Cristal, e ajustaram diferentes modelos matemáticos aos dados obtidos, concluíram, de forma semelhante a este trabalho, que os modelos de Chung-Pfost e Sabbah foram os que melhor se ajustaram aos dados experimentais. De forma semelhante, CAETANO et al. (2012) observaram que os modelos de Sabbah e Chung-Pfost foram os que melhor se ajustaram aos dados experimentais, sendo, assim, sugeridos para descrever o fenômeno de higroscopicidade de sementes de caju-de-árvore.

Nota-se, ainda, de acordo com as Figuras II.1 a II.8 que para uma umidade relativa constante, o aumento da temperatura ocasiona a redução do teor de umidade de equilíbrio acompanhando a tendência da maioria dos produtos agrícolas (CORRÊA et al., 2002; CORDEIRO et al., 2006; FRANCISCO et al., 2007).

Nas figuras II.9 a II.12, encontram-se a distribuição dos resíduos dos 4 (quatro) modelos propostos para representar o teor de água de equilíbrio higroscópico das sementes de feijão-caupi variedades Cauamê e Potengi, obtidos com base na diferença entre os valores experimentais e os valores calculados.

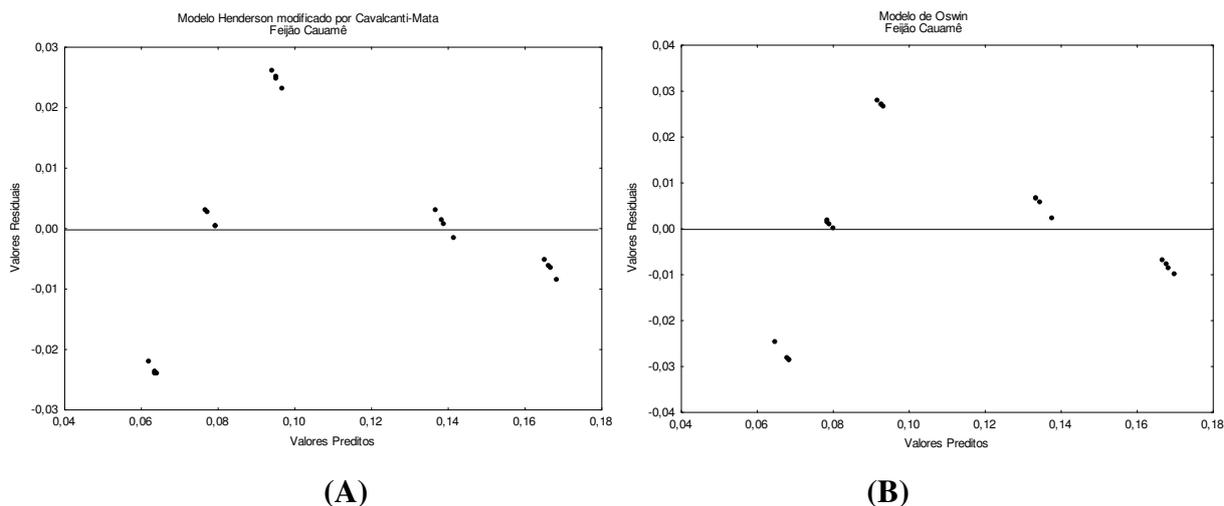


Figura II.9- Distribuição dos resíduos para o modelo de Henderson modificado por Cavalcanti-Mata (A) e modelo de Oswin (B) utilizado nos dados das sementes de feijão-caupi variedade Cauamê

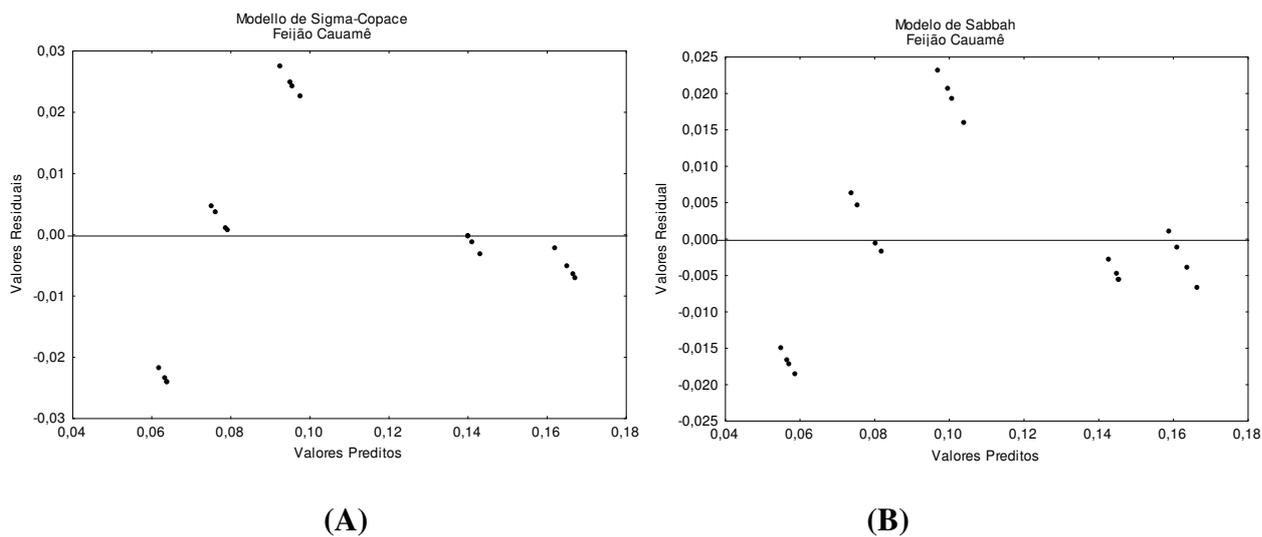


Figura II.10- Distribuição dos resíduos para o modelo de Sigma-Copace (A) e modelo de Sabbah (B) utilizado nos dados das sementes de feijão-caupi variedade Cauamê

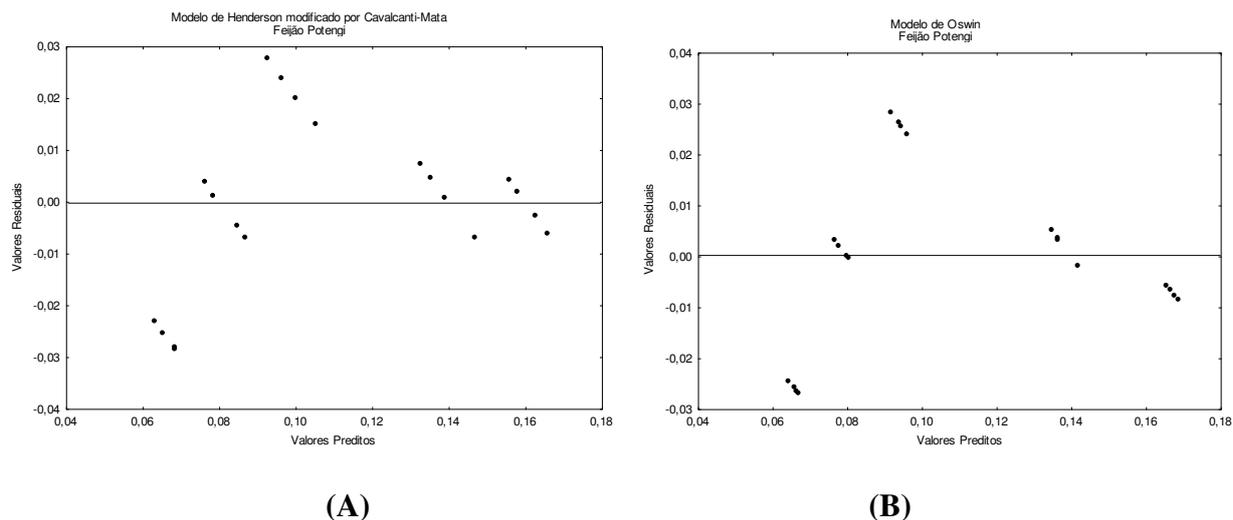


Figura II.11- Distribuição dos resíduos para o modelo de Henderson modificado por Cavalcanti-Mata (A) e modelo de Oswin (B) utilizado nos dados das sementes de feijão-caupi variedade Potengi

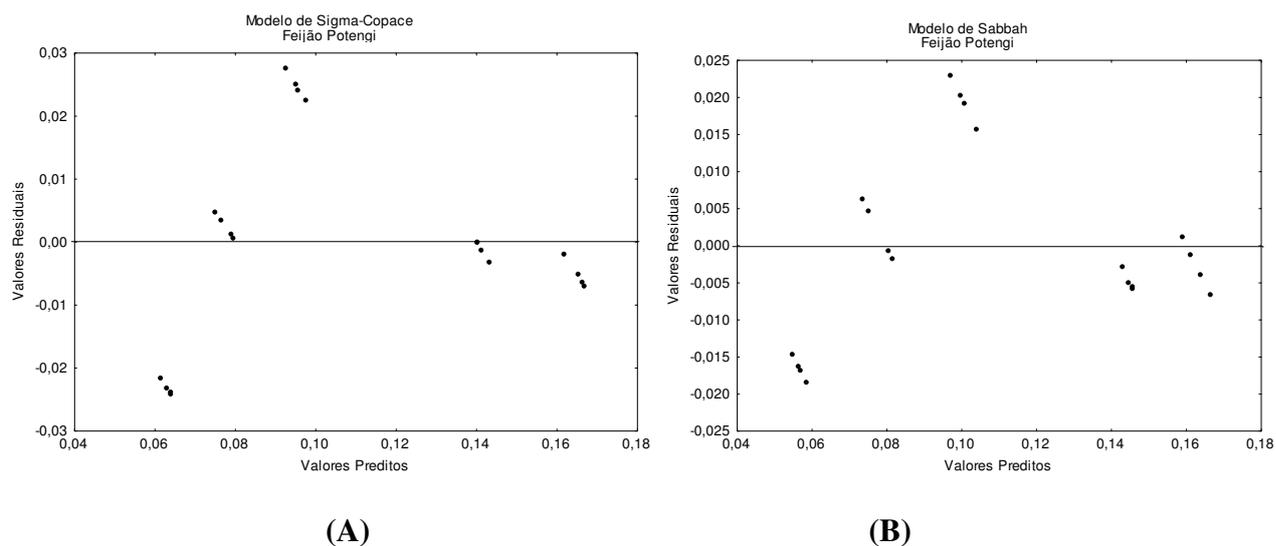


Figura II.12- Distribuição dos resíduos para o modelo de Sigma-Copace (A) e modelo de Sabbah (B) utilizado nos dados das sementes de feijão-caupi variedade Potengi

Nas Figuras II.9 a II.12, observa-se que os resíduos dos modelos propostos de Cavalcanti-Mata, Oswin e Sigma-Copace apresentam um comportamento tendencioso para as duas variedades de feijão-caupi, o que nos leva a enunciar que esses modelos são menos indicados para descrever a relação de higroscopicidade do feijão-caupi com o meio que o circunda. O modelo de Sabbah, apesar de apresentar o coeficiente de determinação (R^2) razoável, também apresenta um perfil de distribuição tendenciosa quando analisada a relação dos valores preditos pelos valores calculados. Segundo GONELI, (2008) um modelo é considerado aleatório se os valores residuais se encontrarem próximos da faixa horizontal, em torno de zero, e também quando não formarem figuras definidas, não indicando tendenciosidade dos resultados. Se apresentar distribuição tendenciosa, o modelo é menos adequado para representar o fenômeno em questão. Portanto, para descrever a relação de higroscopicidade do feijão-caupi, os modelos podem ser melhorados para que se tenha uma distribuição mais dispersa, indicando ajuste mais adequado aos dados experimentais.

Diversos trabalhos já foram realizados com o objetivo de se determinar o equilíbrio higroscópico de diversos produtos agrícolas. As curvas de dessecção das sementes de Jacarandá-da-bahia (*Dalbergia nigra* Fr. All.), Angico-vermelho (*Anadenanthera macrocarpa* Benth.) e Óleo-copaíba (*Copaifera langsdorffii* Benth.) foram determinadas experimentalmente por MESQUITA et al. (2001), que ajustaram diferentes modelos matemáticos aos dados experimentais, utilizando as temperaturas de 5 e 25 °C. Os modelos matemáticos utilizados para ajuste aos dados experimentais foram: Henderson, Henderson modificada, Chung-pfost, Sabbah, Copace, Sigma-copace. Dentre os modelos ajustados, Sigma-Copace, com as constantes determinadas para as espécies de Jacarandá-da-bahia ($R^2=0,9707$, $SE=3,37$) e Angico-vermelho ($R^2=0,9742$, $SE=5,49$), foi o modelo que melhor se ajustou aos dados experimentais, já para a Óleo-copaíba, a equação de Henderson-Modificada ($R^2=0,9779$, $SE=1,85$) foi a que melhor representou os dados experimentais.

SOUSA et al (2013) determinaram as isotermas de dessecção das sementes de nabo forrageiro pelos métodos estático e dinâmico. Os teores de água de equilíbrio foram determinados pelo método dinâmico para as temperaturas de 25, 30, 35 e 40 °C e atividades de água para cada temperatura, entre 0,27 a 0,82. Segundo os parâmetros estatísticos de análise, o modelo de Copace foi o que descreveu melhor a higroscopicidade

das sementes de nabo forrageiro obtida pelo método dinâmico e, para o método estático, os modelos de Sigma Copace, Oswin, Halsey Modificado e Copace foram os que melhor representaram a higroscopicidade das sementes de nabo forrageiro.

Visando estudar a influência da temperatura nas isotermas de *Calendula officinalis* L. para obter o modelo matemático que melhor satisfaça as condições avaliadas, SILVA et al. (2007) determinaram em três temperaturas (30, 45 e 60°C), por meio do método gravimétrico, e verificaram a influência da temperatura na atividade de água. As curvas experimentais foram ajustadas usando os seguintes modelos matemáticos: BET, GAB, Halsey, Oswin, Peleg, Henderson e Chung Pfof. O erro relativo entre os valores experimentais e os valores estimados foi calculado em cada curva, a fim de se avaliar qual equação melhor se ajustaria aos dados experimentais. O modelo que apresentou o menor erro médio relativo foi o de Peleg, com 9,40% na temperatura de 30°C, 5,71% para a temperatura de 45°C e 3,36% para a temperatura de 60°C.

II.5 CONCLUSÕES

O teor de água de equilíbrio higroscópico do feijão-caupi variedades Cauamê e Potengi é diretamente proporcional à atividade de água e decresce com o aumento de temperatura, para um mesmo valor de umidade relativa de equilíbrio.

A equação proposta por Sabbah foi a apresentou o maior coeficiente de determinação em relação aos demais modelos utilizados para as sementes de feijão-caupi variedades Cauamê e Potengi.

II.6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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

ALMEIDA, D. P.; RESENDE, O.; COSTA, L.; MENDES, U. C. **Isotermas e equilíbrio higroscópico do feijão adzuki.** I Congresso de Pesquisa e Pós-Graduação do Câmpus Rio Verde do IFGoiano, 2012.

ARAUJO, E. F.; CORRÊA, P. C.; SILVA, R. F. Comparação de modelos matemáticos para descrição das curvas de desorção de sementes de milho-doce. **Revista Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília DF, v. 36, n. 7, p. 991-995, 2001.

ASAE D245.4, Moisture relationship of grains, **ASAE Standarts** (42nd ed.) MI, USA: St. Joseph, 1995.

BARROZO, M. A. S. **Transferência de Calor e Massa entre o Ar e Sementes de Soja em Leito Deslizante e Escoamentos Cruzados.** 1998. p.163. (Dissertação de Doutorado), PPG-EQ/UFSCar, São Carlos, SP. 1998.

BASUNIA, M. A.; ABE, T. Moisture desorption isotherms of medium-grain rough rice. **Journal of Stored Products Reseach**, v.37, p. 205-219, 2001.

BORDIGNON, B. C. S. **Relação das condições de armazenamento com a qualidade fisiológica de sementes e composição do óleo extraído de cultivares de soja.** 2009. 90p. Dissertação (Mestrado em Agronomia). Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, 2009.

CAETANO, G. de S.; SOUSA, A. de; RESENDE, O.; SALES, J. de F.; COSTA, M. L. Higroscopicidade de sementes de caju-de-árvore-do-cerrado. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 42, n. 4, p. 437-445, 2012.

CAVALCANTI MATA, M. E. R. M. **Efeito da secagem em altas temperaturas por curtos períodos de tempo em camada estacionária, sobre a armazenabilidade de sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) variedade “Carioca” avaliação experimental, modelagem e simulação.** 1997. p.229 (Doutorado em Engenharia de Alimentos). Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Campinas SP, 1997.

CHEN, C.; WU, P., Thin layer drying model for rough rice with high moisture content. **Journal of Agricultural Engineering Research**, v.80, n.1, p.45-52, 2001.

CORDEIRO, D. S.; RAGHAVAN, G. S. V.; OLIVEIRA, W. P. Equilibrium moisture content models for *Maytenus ilicifolia* Leaves. **Biosystems Engineering**, Towcester, v. 94, n. 2, p. 221-228. 2006.

CORRÊA, P. C.; JÚNIOR, P. C. A.; STRINGHETA, P. C.; CARDOSO, J. B. Equilíbrio higroscópico e atividade de água para ovo integral processado em “Spray Dryer”. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v. 4, n. 1, p. 15-22. 2002.

FANTINATTI, J. B., USBERTI, R., BROD, F. P. R. Isotermas de sorção de sementes de *Eucaliptus grandis* e *Pinus taeda*. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 27, n.2, p.06-11, 2005.

FIRMINO, P. DE T.; SILVA, V. S.; GALDINO, G. DOS A.; SILVA, A.C.; OLIVEIRA, D. M. de. **Atividade de água para conservação das sementes de mamona.** II Congresso Brasileiro de Mamona, Aracaju, SE, 2006.

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

MATOS, A. T.; CORRÊA, P. C.; FINGER, F. L. Higroscopia das folhas e películas externas de bulbos da cebola (*Allium cepa* L.). **Engenharia Agrícola**, Jaboticabal SP, n. 2, p. 81-91, 1998.

MESQUITA, J. B.; ANDRADE, E. T.; CORRÊA, P. C. Modelos matemáticos e curvas de umidade de equilíbrio de sementes de jacarandá-da-bahia, angico-vermelho e óleo de copaíba. **UFC. CERNE**. São Cristóvão - SE. v. 7, n. 2, p. 12-21, 2001.

MULET, A.; GARCIA-PASCUAL, P.; SANJUAN, N.; GARCIA-REVERTER, J. Equilibrium Isotermes and isotheric heats of morel (*Morchella esculenta*). **Journal of Food Engineering**, London, v.53, p. 75-81, 2002.

OLIVEIRA, D. E. C. de; RESENDE, O.; SMANIOTTO, T. A. de S.; CAMPOS, R.C. Isotermas e calor isostérico das sementes de algodão com línter e sem línter, **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v.15, n.3, p.283-292, 2013.

OLIVEIRA, J. R.; CAVALCANTI MATA, M. E. R. .; DUARTE, M. E. M. Isotermas de dessecção de grãos de feijão macassar verde (*Vigna unguiculata* L. Walpers), variedade sempre verde. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v.6, n.1, p.61-70, 2004.

PARK, K. J.; BIN, A.; BROD, F.P.R.; Obtenção das isotermas de sorção e modelagem matemática para a pêra bartlett (*pyrus* sp.) com e sem desidratação osmótica. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.21, n.1, p.73-77, 2001.

RESENDE, O.; CORRÊA, P. C; GONELI, A. L. D.; RIBEIRO, D. M. Isotermas e calor isostérico de sorção do feijão. **Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.26, p.626-631, 2006.

SOUSA, K. A. de; RESENDE, O.; COSTA, L. M. Isotermas de dessecção das sementes de nabo forrageiro obtidas pelos métodos dinâmico e estático. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.17, n.2, 2013.

VERTUCCI, C. W.; FARRANT, J. M. **Acquisition and loss of desiccation tolerance**. In: Kiegel, J.; Galili, G. (ed). Seed development and germination. New York: Marcel Dekker Inc., 1995. p. 237-271.

ARMAZENAMENTO CRIOGÊNICO DE SEMENTES DE FEIJÃO-CAUPI

CAPÍTULO III

CINÉTICA DE CONGELAMENTO DE SEMENTES DE FEIJÃO-CAUPI

ARMAZENAMENTO CRIOGÊNICO DE SEMENTES DE FEIJÃO-CAUPI

CAPÍTULO III: CINÉTICA DE CONGELAMENTO DE SEMENTES DE FEIJÃO-CAUPI

RESUMO

As manifestações ocorridas durante o congelamento dependem das condições do processo de congelamento, mas principalmente da velocidade de resfriamento. O objetivo deste trabalho foi determinar o comportamento das curvas de congelamento de sementes de feijão-caupi variedades Cauamê e Potengi com diferentes teores de água (6, 8, 10, 12, e 14% b.u.) e em diferentes temperaturas (-20, -60, -150 e -196°C), bem como, determinar a difusividade térmica efetiva. Com vista à obtenção das curvas de congelamento das sementes nas temperaturas de -20 e -50 °C utilizou-se um freezer criogênico horizontal; para a temperatura de -170 °C, o vapor de nitrogênio e, para a temperatura de -196 °C as sementes foram submersas no nitrogênio líquido. A fim de expressar o comportamento cinético do congelamento das sementes de feijão, será utilizado o modelo de Fourier. Os resultados obtidos indicam que as curvas de congelamento criogênico são exponenciais e não se distinguem com clareza as três fases típicas; o modelo de Fourier descreve de forma satisfatória, o processo de cinética de congelamento para o feijão-caupi variedade Cauamê nas temperaturas de -20 °C e -60°C e na temperatura de -20°C para a variedade Potengi em todos os teores de água estudados, a difusividade térmica aumenta com a diminuição do teor de água em todas as temperaturas e teores de água.

Palavras-chave: congelamento, resfriamento, difusividade térmica.

ABSTRACT

The demonstrations occurred during freezing depends on the conditions of the freezing process, but mainly the cooling rate. The objective of this study was to determine the freezing rates of seeds of cowpea varieties Cauamê and Potengi with different water contents (6, 8, 10, 12, and 14% w.b.) and at different temperatures (-20, -60, -150 and -196°C) and determine the effective thermal diffusivity. In order to obtain the freezing curves seeds at temperatures of -20 to -50°C was used a horizontal cryogenic freezer; to a temperature of -170°C, steam and nitrogen to a temperature of -196°C seeds were submerged in liquid nitrogen. In order to express the kinetic behavior of the freezing of the bean seeds, the Fourier model is used. The results indicate that cryogenic freezing curves are exponential and do not distinguish clearly the three typical phases; model Fourier satisfactorily describes the process for the kinetic freezing cowpea variety Cauamê at temperatures of -20°C and -60°C and -20°C for Potengi range at all levels of water studied, the thermal diffusivity increases with decreasing water content at all temperatures and moisture contents.

Keywords: freezing, cooling, thermal diffusivity.

III.1 INTRODUÇÃO

O feijão-caupi (*Vigna unguiculata* L. Walp.) é uma planta leguminosa de ampla distribuição mundial, sendo considerada a cultura granífera mais importante da região semiárida do Brasil, a qual é bastante adaptada nesta região, seja pelas elevadas características nutricionais ou através da sua rusticidade à baixa fertilidade do solo e tolerância à seca, temperaturas elevadas e salinidade, além de uma excelente fonte de proteínas, é fonte de vitaminas e minerais (KUROZAWA, 2007).

Devido às condições de adaptabilidade e do hábito alimentar da população, as regiões Norte e Nordeste alcançam as maiores porcentagens de áreas plantadas, em contrapartida, a produtividade das sementes de feijão nessas regiões é considerada baixa, devido, principalmente ao emprego de sementes de inferior qualidade agrônômica e deficientes mecanismos de conservação e armazenamento das sementes.

Uma alternativa para manter a aceitabilidade e a qualidade de alguns produtos agrícolas armazenados por um período extenso consiste na redução das taxas de transpiração e respiração, conseguida pela redução da temperatura através dos processos de congelamento.

O congelamento do material genético pode variar da temperatura de -20 °C até temperaturas criogênicas, -196°C. De acordo com CAVALCANTI MATA & DUARTE (2011) o congelamento a baixas temperaturas pode ser classificado em três nomenclaturas: congelamento convencional (lento), em que o processo ocorre em temperaturas variando de 0 a -60°C; congelamento semicriogênico (rápido), cujo processo ocorre nas temperaturas entre -60 a -130°C e congelamento criogênico (ultra-rápido) com temperaturas variando entre -130 a -196°C.

De acordo com NEVES FILHO (1991) e CAVALCANTI MATA (2008) durante o processo de congelamento, regiões diferentes do produto passarão por várias fases em diferentes tempos. A fase inicial corresponde ao resfriamento e se estende até o início a cristalização da água. Na etapa seguinte tem-se o congelamento, onde ocorre a mudança de fase da água para gelo. Por fim, o período de redução da temperatura na qual a maior parte da água já foi transformada em gelo até alcançar uma temperatura final.

À medida que as fases do processo de congelamento avançam, ocorre o aumento da permeabilidade das membranas e, conseqüente formação de cristais de gelo. Segundo CAVALCANTI MATA, (2008) para que se possa ter controle da formação dos cristais

de gelo, é necessário o conhecimento dos mecanismos dos processos de congelamento que dependem da velocidade do congelamento. A velocidade de congelamento de um produto depende de distintos fatores, entre estes, o método de congelamento, tamanho do produto, composição química, propriedades físicas (densidade, calor específico e difusividade térmica) e do tipo de embalagem ou envoltório (GRUDA & POSTOLSKI 1996).

Portanto, o estado de conservação da matéria-prima, o manejo e o procedimento de resfriamento ou congelamento adotado irão influenciar na qualidade do produto final.

Assim, o objetivo deste trabalho foi determinar as curvas de congelamento das sementes de feijão-caupi variedades Cauamê e Potengi com teores de água de 6, 8, 10, 12 e 14% base úmida nas temperaturas de -20, -60, -150, -196°C bem como determinar a difusividade térmica efetiva.

III.2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

III.2.1 O processo de congelamento

O congelamento é o processo de transformação da água líquida em água sólida, mais conhecida como gelo. De acordo com CAVALCANTI MATA (2008), as manifestações ocorridas durante o congelamento dependem das condições do processo de congelamento, mas principalmente da velocidade de resfriamento.

As manifestações ocorridas durante o congelamento (cristalização, nucleação e recristalização) dependem das condições do processo de congelamento, mas principalmente da velocidade de resfriamento.

Segundo NEVES FILHO (1991) e PEREDA et al. (2005), durante o processo de congelamento, diferentes regiões do produto passarão por vários estágios em diferentes tempos. Considerando-se uma região ou um ponto do produto, os três estágios de alterações ou de temperaturas, podem ser definidos. Inicialmente, há um estágio de resfriamento, compreendendo o momento transcorrido entre o início do processo com o produto a uma alta temperatura até que se atinja com a diminuição gradual da temperatura a região onde tem início a cristalização da água. Em seguida, tem-se o estágio de congelamento, período no qual a temperatura sofre pequena variação, onde maior parte da água muda de fase, transformando-se em gelo. Durante a mudança de fase a concentração da solução parcialmente congelada vai aumentando, evidenciando o efeito crioscópico. Ao final do processo, a temperatura do produto é reduzida gradativamente até atingir o equilíbrio com o meio refrigerante (CAVALCANTI MATA, 2008).

De acordo com a velocidade de congelamento, o seguinte critério é adotado: congelamento lento (observado em câmaras frias); congelamento rápido (observado em congeladores de placa) e congelamento ultra rápido (observado em sistemas de imersão em gases liquefeitos) (CAVALCANTI MATA & DUARTE, 2011).

Durante o congelamento lento o sub-resfriamento do produto é menos acentuado e poucos núcleos são formados, tornando possível o aparecimento de grandes cristais de gelo (PEREDA et al., 2005). Um processo de congelamento rápido resulta em melhor qualidade do produto final. De acordo com COLLA e PRENTICE-HERNÁNDEZ (2003) o processo de congelamento é considerado rápido quando a etapa de transição líquido sólido leva poucos minutos, dependendo do produto. Quanto menor for o tempo de

duração dessa etapa, menores são os cristais formados dentro do produto que está sendo congelado. Portanto, no congelamento lento formam-se cristais maiores do que no congelamento rápido, ocasionando a ruptura das membranas celulares devido aos cristais formados no espaço intercelular.

Diversos pesquisadores têm estudado a cinética de congelamento em diversos produtos agrícolas. ALMEIDA et al. (2013), determinando as curvas de congelamento criogênico das sementes de Feijão-caupi da variedade Itaim à temperatura de 150°C. GOLDFARB et al. (2010) verificando a determinação da curva de congelamento das sementes de pinhão-mansão nas temperaturas de -170 °C (vapor de nitrogênio) e a -196°C (nitrogênio líquido). COELHO (2006) estudando as curvas de congelamento de sementes de algodão em diferentes teores de água. FARIAS (2003) pesquisando a crioconservação e a cinética de congelamento de sementes de jatobá.

III.2.2 Cristais de gelo e injúrias à estrutura celular

Conforme as etapas do processo de congelamento progredem, ocorre o aumento da permeabilidade das membranas e, conseqüente formação de cristais de gelo. Esses cristais separam-se da solução e provocam a concentração cada vez maior do soluto na solução remanescente, fazendo com que haja uma depressão ainda maior no ponto de congelamento (VAJTA & KUWAYAMA, 2006).

Há dois mecanismos que podem promover o dano à estrutura celular e conduzir diretamente à diminuição da firmeza do tecido vegetal. O primeiro está relacionado com a possibilidade de perfuração da membrana celular pelo cristal de gelo quando situado no interior da célula, contribuindo para a diminuição da pressão de turgor. O segundo diz respeito à quebra da estrutura da parede celular pelo cristal formado no meio extracelular, iniciando o colapso celular (RESENDE, 1995; CARNEIRO & CAL-VIDAL, 2000; RESENDE & CAL-VIDAL, 2002).

MEDEIROS e CAVALLARI (1992) expõem que as injúrias causadas às células por ocasião do congelamento rápido possam ser devidas à formação de cristais de gelo no espaço confinado intracelular, que conduz à ruptura mecânica tanto da estrutura citoplasmática quanto da membrana plasmática, resultando na degradação celular.

O processo de injúria devido ao congelamento é complexo e envolve uma diversidade de aspectos. Se, por exemplo, o congelamento é lento a injúria deve-se

principalmente à desidratação excessiva ou à formação de gelo dentro da célula. Nestes casos ocorrerá rompimento das membranas, concentração de solutos no citoplasma a níveis tóxicos e desnaturação dos ácidos nucléicos e membranas. A formação de gelo e as injúrias a ele associadas ocorrem de modo diferente dependendo do material vegetal, estado de tolerância ao congelamento e as condições do congelamento (SAKAI & LARCHER, 1987). Entretanto, parece consenso geral que o dano decorrente do congelamento é primeiramente uma consequência de alterações na semi-permeabilidade ou lises da membrana plasmática, resultado do déficit hídrico causado pelo congelamento (SANTOS, 2000).

MEDEIROS et al. (2000) demonstrou que a água congela nos espaços intercelulares e, portanto as células são apenas empurradas durante o crescimento dos cristais de gelo, o que seria insuficiente para causar a sua destruição. Uma possível explicação para os danos que ocorrem à célula é a de que na temperatura de congelamento uma parte considerável das substâncias presentes no protoplasma das células precipitam irreversivelmente, liberando a água ligada. Esta água não é reabsorvida pelos colóides durante o congelamento, causando a morte celular.

III.2.3 Difusividade térmica

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

Portanto, difusividade térmica é importante na determinação da evolução de sistemas que sofrem processos de aquecimento ou de resfriamento. Essa propriedade permite prever a velocidade da penetração de calor no interior do alimento, sendo assim de fundamental importância para o projeto de equipamentos e para o cálculo do processamento térmico.

Alguns autores têm determinado a difusividade térmica de diversos produtos agrícolas, como por exemplo: CAVALCANTI MATA et al. (2012) estudando grãos do feijão (*Phaseolus vulgaris* L.); AMARAL et al. (2010), estudando a difusividade e a

energia de ativação de grãos de bico; GOLDFARB et al. (2010), estudando sementes de pinhão-manso; RIBEIRO et al., (2007) avaliando as propriedades térmicas dos grãos de trigo; SUBRAMANIAN e VISWANATHAN (2003) trabalhando com grãos de milho;

III.3 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos no Setor de Criogenia do Laboratório de Armazenamento e Processamento de Produtos Agrícolas (LAPPA).

As sementes de feijão-caupi das duas variedades foram utilizadas com teor de água de 6, 8, 10, 12 e 14% b.u. Essas sementes foram selecionadas manualmente, escolhendo aquelas que apresentavam tamanhos e formas semelhantes e aspecto saudável.

Foram realizadas três repetições para cada temperatura de congelamento: -20, -60, -150 (balcão criogênico) e -196 (nitrogênio líquido). Dessa maneira foram obtidas as curvas de congelamento em 4 temperaturas em função do tempo.

Determinou-se o volume das sementes de feijão considerando-se o feijão um elipsoide Equação II.1, posteriormente, utilizou-se o procedimento descrito por CAVALCANTI-MATA & DUARTE (2011) sugerido por MOHSENIN (1992) para equacionamento de modelos matemáticos conhecendo-se, então, o volume do material determinando-se, então, o raio da esfera e se considerando este formato para o feijão. O referido dado foi utilizado no modelo matemático de Fourier.

$$V = \frac{4}{3} \pi (r_1 r_2 r_3) \quad \text{(III-1)}$$

Para proceder à tomada dos dados da evolução do processo de congelamento em função da temperatura e do tempo, foi necessário efetuar um pequeno orifício no centro geométrico de cada semente. Este centro geométrico foi determinado através dos valores de comprimento (a), largura (b) e espessura (c).

Para monitorar a temperatura no interior das sementes foi colocado um termopar conectado a um registrador, da mesma maneira, outro termopar foi introduzido no interior da unidade de congelamento cuja finalidade foi monitorar o meio congelante, de modo a se determinar o instante de equilíbrio térmico para cada temperatura de congelamento, ponto final do processo. As leituras foram feitas em intervalos regulares de 5 segundos.

Na realização do tratamento matemático, foram tomados os dados experimentais das curvas de congelamento das sementes de feijão-caupi das variedades Cauamê e Potengi, utilizando-se a equação de Fourier de acordo com PLUG e BLAISDELL (1963), Equação III.2, e foram obtidos os parâmetros fator de atraso (J) e difusividade térmica (α) a partir das Equação III.3 e III.4, respectivamente.

$$RT = \left(\frac{T - T_{\infty}}{T_0 - T_{\infty}} \right) = J \exp(-Kt) \quad (\text{III-2})$$

em que:

$$J = \frac{2 \cdot \text{sen}\mu_n - \mu_n \cdot \text{cos}\mu_n}{\mu_n - \text{sen}\mu_n \cdot \text{cos}\mu_n} \quad (\text{fator de atraso}) \quad (\text{III-3})$$

$$K = \frac{\mu_n^2 \cdot \alpha}{L^2} \quad (\text{III-4})$$

em que:

RT - Razão de temperatura, adimensional

T - Temperatura em cada momento, °C

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

T_0 - Temperatura inicial do produto, °C

t - tempo

μ_n - raiz transcendental;

α - difusividade térmica, $\text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$;

L - espessura da amostra, mm

Obteve-se a energia de ativação (E_a) a partir da dependência da difusividade térmica efetiva (α) com a temperatura analisada pela equação de Arrhenius (HORN et al., 2010). Equação III-5.

$$\alpha = D_o \exp\left(\frac{E_a}{R(T)}\right) \quad (\text{III-5})$$

em que:

D_o - constante, $m^2 s^{-1}$

E_a - energia de ativação, $J mol^{-1}$

R - constante universal dos gases, $8,314 J mol^{-1} K^{-1}$

T - temperatura absoluta, K

Com os dados de razão de temperatura em função do tempo, foi realizada uma análise de regressão não linear, pelo método Quasi-Newton através do programa computacional STATISTICA, versão 7.0. Para cada modelo foram considerados o coeficiente de determinação (R^2), o erro médio estimado (SE), Equação III.6, e o erro médio relativo (P), Equação III.7, sendo calculados de acordo com as seguintes expressões:

$$SE = \sqrt{\frac{\sum(RT_{expi} - RT_{pre})}{GLR}} \quad (\text{III-6})$$

$$(\text{III-7})$$

$$P = \frac{100}{n} \sum_{i=1}^n \frac{|(RT_{expi} - RT_{prei})|}{RT_{expi}}$$

em que:

RT_{prei} - razão de temperatura predita pelo modelo

RT_{expi} - razão de temperatura experimental

n - número de observações do experimento

GLR - grau de liberdade do modelo.

Para obtenção dos parâmetros das equações que regeram as curvas de congelamento foi empregado o método de regressão não linear *Quase-Newton* utilizando-se o programa computacional STATISTICA 7.0.

III.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O comportamento cinético do congelamento das sementes de feijão-caupi variedades Cauamê e Potengi nas temperaturas de -20, -60, -150 e -196°C encontram-se nas Figuras III.1 a III.10

Nas figuras verifica-se, claramente, as diferenças entre as curvas para cada temperatura, percebendo-se que o equilíbrio da amostra com a temperatura do meio ocorre tanto mais rápido, quanto menor a temperatura do meio ao qual as sementes foram submetidas.

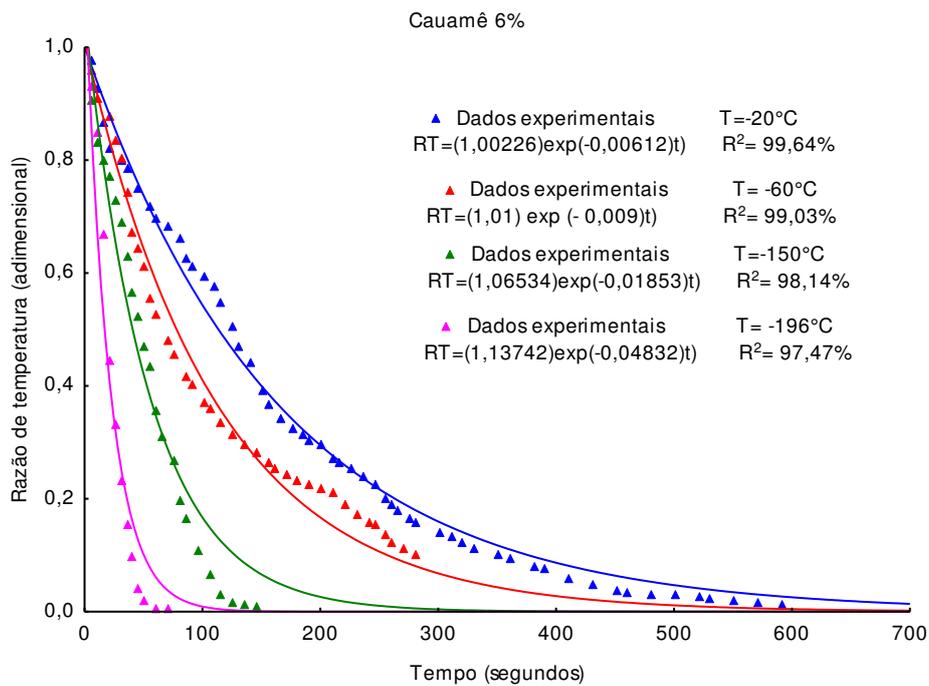


Figura III.1- Curvas de congelamento de sementes de feijão-caupi variedade Cauamê para as temperaturas de -20, -60, -150 e -196°C com teor de água de 6% b.u.

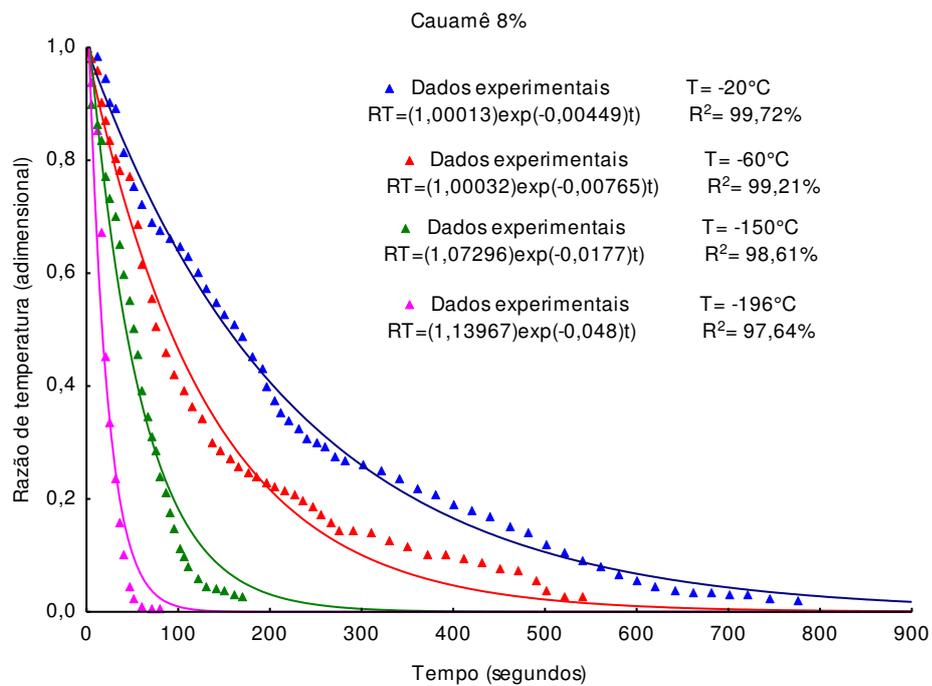


Figura III.2- Curvas de congelamento de sementes de feijão-caupi variedade Cauamê para as temperaturas de -20, -60, -150 e -196°C com teor de água de 8% b.u.

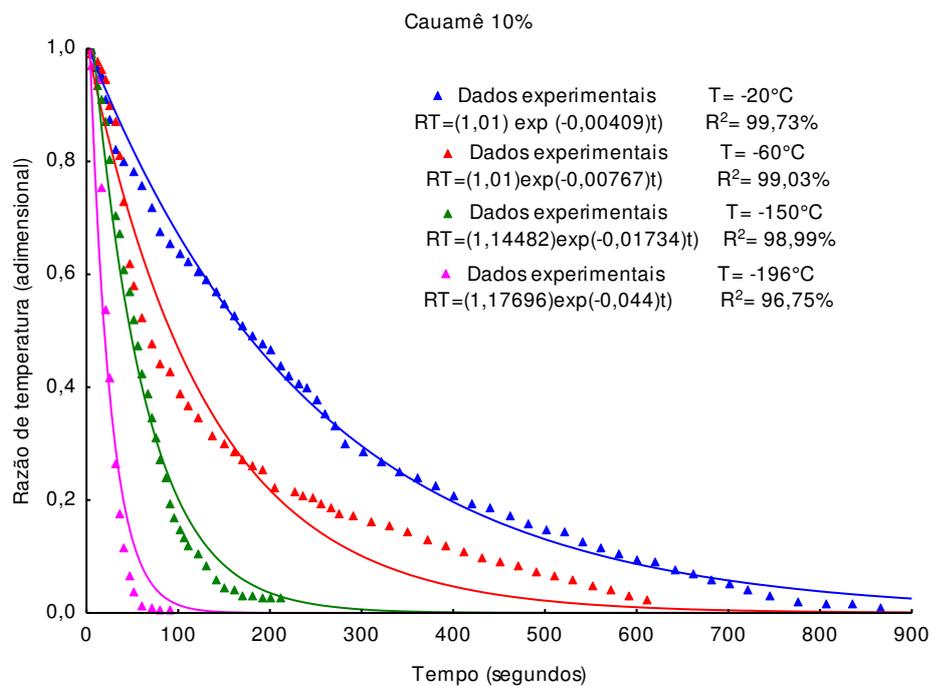


Figura III.3- Curvas de congelamento de sementes de feijão-caupi variedade Cauamê para as temperaturas de -20, -60, -150 e -196°C com teor de água de 10% b.u.

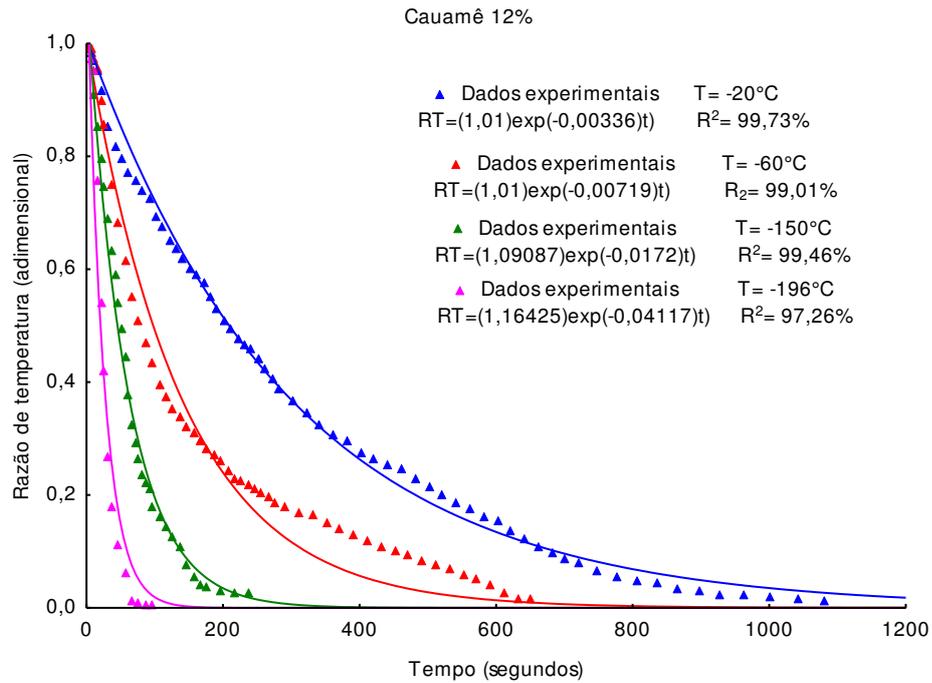


Figura III.4 -Curvas de congelamento de sementes de feijão-caupi variedade Cauamê para as temperaturas de -20, -60, -150 e -196°C com teor de água de 12% b.u.

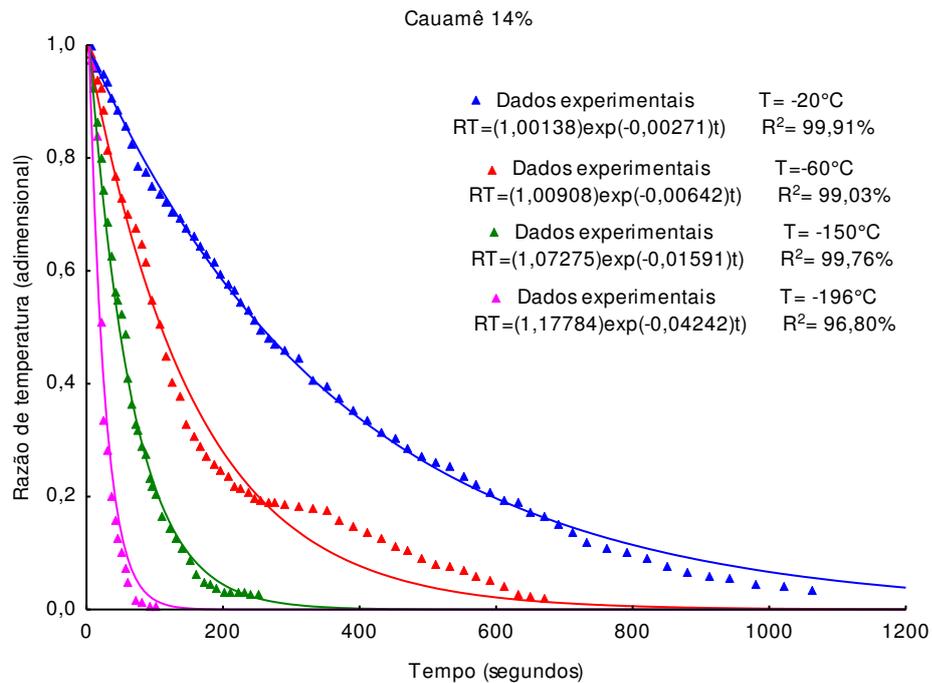


Figura III.5- Curvas de congelamento de sementes de feijão-caupi variedade Cauamê para as temperaturas de -20, -60, -150 e -196°C com teor de água de 14% b.u.

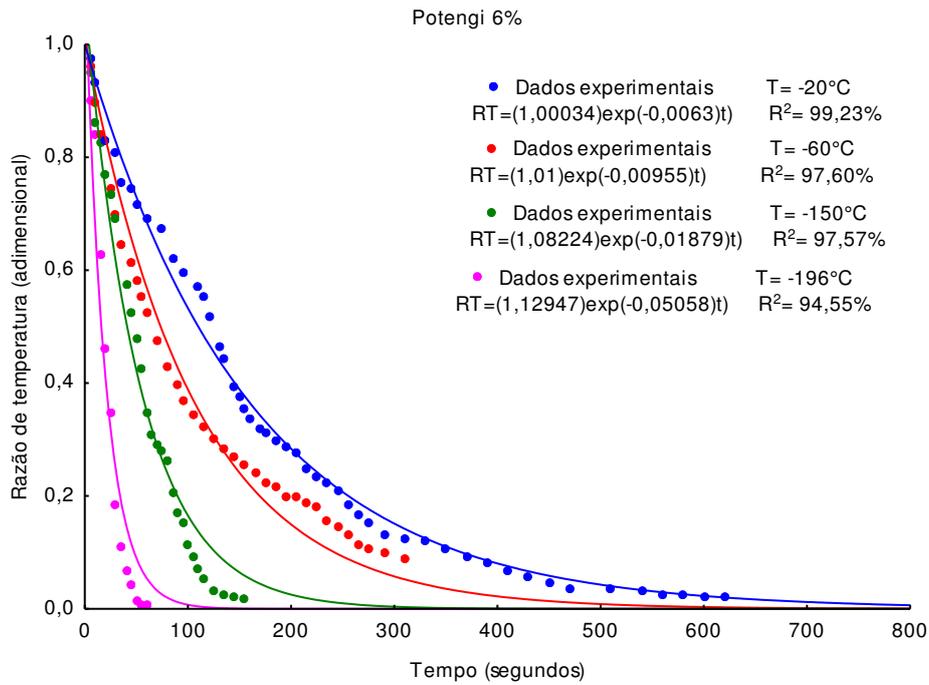


Figura III.6- Curvas de congelamento de sementes de feijão-caupi variedade Potengi para as temperaturas de -20, -60, -150 e -196°C com teor de água de 6% b.u.

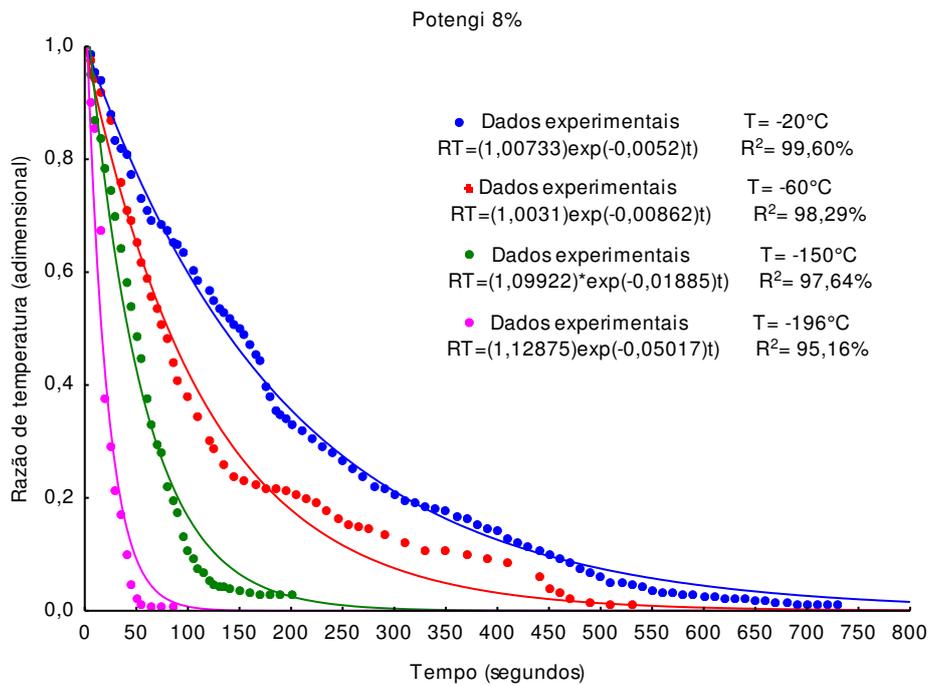


Figura III.7- Curvas de congelamento de sementes de feijão-caupi variedade Potengi para as temperaturas de -20, -60, -150 e -196°C com teor de água de 8% b.u.

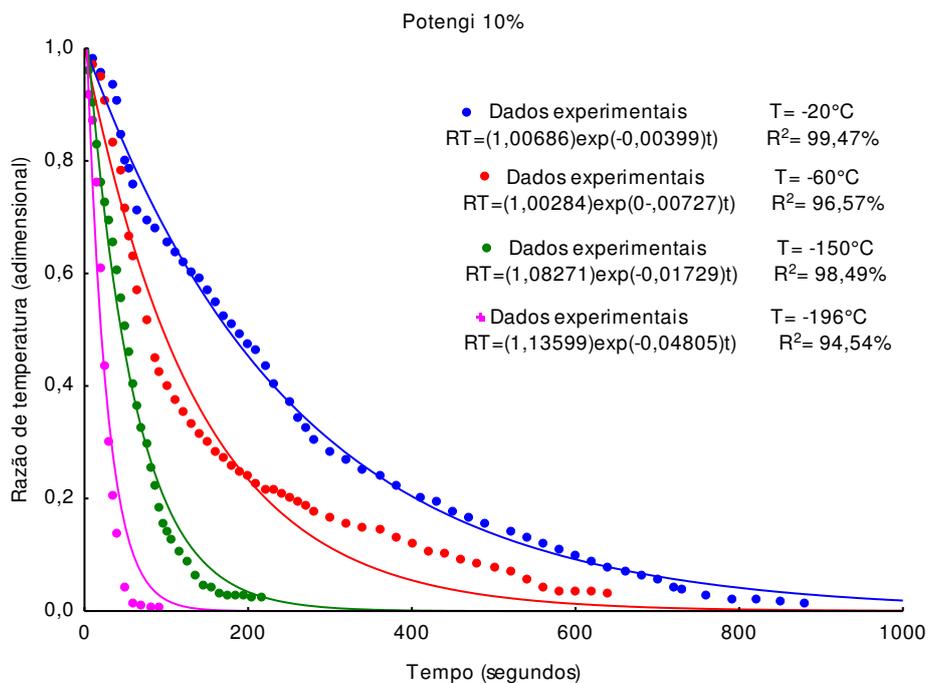


Figura III.8 -Curvas de congelamento de sementes de feijão-caupi variedade Potengi para as temperaturas de -20, -60, -150 e -196°C com teor de água de 10% b.u.

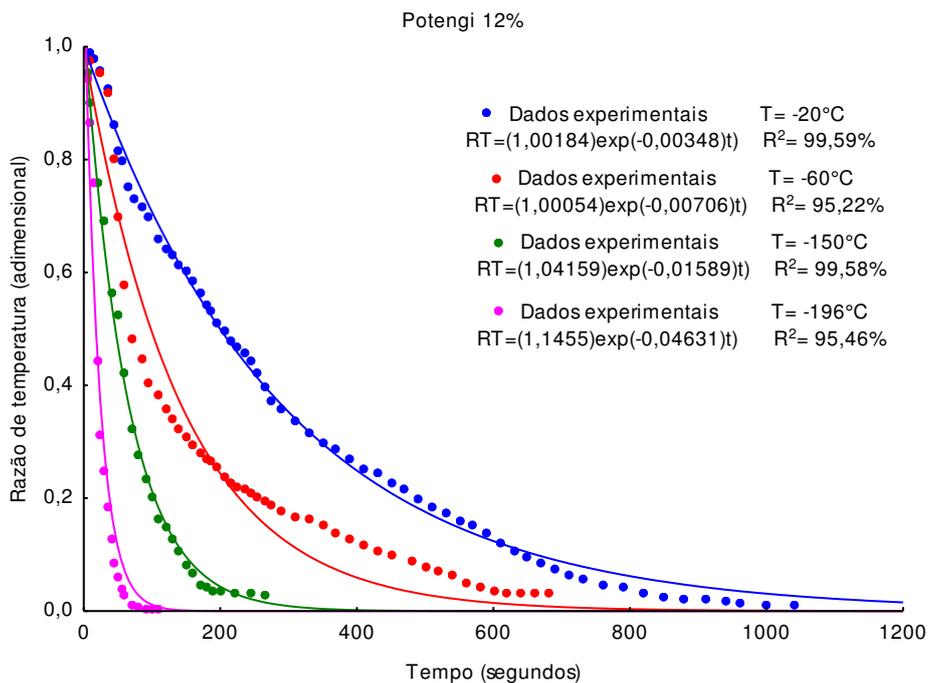


Figura III.9- Curvas de congelamento de sementes de feijão-caupi variedade Potengi para as temperaturas de -20, -60, -150 e -196°C com teor de água de 12% b.u.

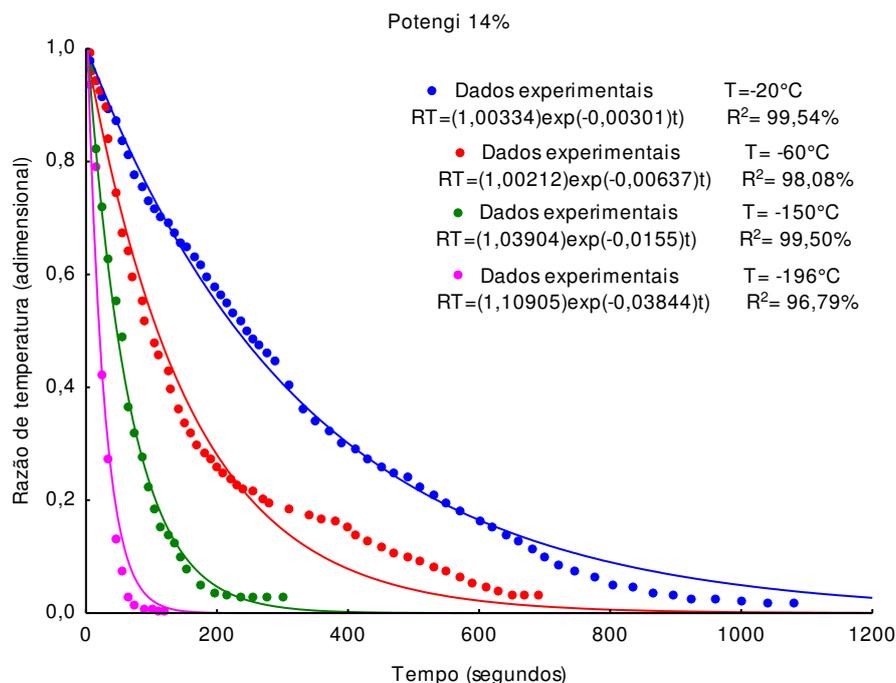


Figura III.10- Curvas de congelamento de sementes de feijão-caupi variedade Potengi para as temperaturas de -20, -60, -150 e -196°C com teor de água de 14% b.u.

Analisando ainda o comportamento das curvas contidas nestas Figuras, percebe-se um comportamento exponencial e não se distingue com clareza as três fases típicas do congelamento devido à velocidade de processo e um maior gradiente térmico a que estão expostas as sementes. De acordo SILVA (2013) como as curvas de congelamento das sementes não apresentam as três fases distintas, pode-se dizer que o teor de água, embora passe pelas três fases, não é suficientemente marcante de modo a conferir a essas curvas de congelamento um aspecto de uma curva sigmoide, tendo predominância à curva característica de matéria seca que é uma curva exponencial. Esta afirmação encontra consonância com KASAHARA et al. (1986) ao salientar que só os produtos agrícolas, com teor de água elevado, em torno de 50 a 90% (b.u.), apresentam de maneira evidente as três fases do congelamento.

Verifica-se ainda da análise das curvas apresentadas nas Figuras III.1 a III.10, que se demanda mais tempo para se alcançar o estado final de congelamento, àquelas sementes com um teor de água mais elevado, comportamento este esperado.

COELHO (2006) estudando as curvas de congelamento de sementes de algodão em diferentes teores de água salienta que, as curvas nas temperaturas criogênicas para este produto não apresentavam as três fases típicas de congelamento. FARIAS (2003) pesquisando a crioconservação e a cinética de congelamento de sementes de jatobá, também obteve curvas de congelamento a diferentes temperaturas (-30, -150, -170 e -196°C) com formas semelhantes às curvas exponenciais observadas no presente trabalho.

Ao se comparar o comportamento cinético do congelamento das sementes de feijão-caupi Cauamê com as sementes de feijão-caupi Potengi, observa-se que para todos os teores de água estudados, as sementes da variedade Potengi levaram um tempo discretamente maior para atingir o ponto de equilíbrio com as temperaturas de -20, -60, -150 e -196°C.

Nas Tabelas III.1 e III.2 se encontram os parâmetros das equações de congelamento propostas para as sementes de feijão-caupi (λ , r_m), coeficiente do modelo (J, k), bem como os coeficientes de determinação das curvas de congelamento das sementes, seu erro médio estimado e o erro médio relativo, além de sua difusividade térmica efetiva. Observa-se que a difusividade térmica efetiva do feijão aumenta com a diminuição da temperatura, de -20 para -196°C, esse comportamento é claramente observado nas Figuras III.11 e III.12. De acordo com GOLDFARB et al. (2010), a difusividade efetiva é mais elevada quando o produto é submetido a um gradiente térmico maior, ou seja, a difusividade térmica aumenta com a diminuição de temperatura. Esses mesmos autores verificaram o mesmo comportamento para as sementes de pinhão manso e concluíram que quanto maior o gradiente térmico maior a difusividade térmica. Resultados semelhantes foram obtidos por CAVALCANTI MATA et al. (2012) trabalhando com as curvas de congelamento do feijão, cultivar 'gordo', nas temperaturas de -25, -50, -170 e -196 °C, obtiveram valores crescentes da difusividade térmica com o decréscimo das temperaturas.

Analisando os parâmetros do modelo de Fourier constata-se, para as duas cultivares de feijão-caupi, que o parâmetro k, que representa a constante da taxa de resfriamento, diminui à medida que se aumenta o gradiente de temperatura entre a temperatura inicial do produto e do meio de congelamento. Com relação ao fator de atraso (J), observa-se que, as curvas de congelamento criogênico apresentam valores que expressam o conceito de fator de atraso que deve estar acima de 1, pois segundo

SPAGNOL et al. (1989) o termo fator de atraso indica o tempo necessário para que o congelamento ultrapasse o ciclo logarítmico. Estes resultados encontram concordância com os trabalhos de AMARAL et al. (2010), estudando a cinética de congelamento do grão de bico nas temperaturas de -23, -45, -170, -196°C e teores de água de 10 e 20% b.u.; COELHO (2006), estudando o comportamento das curvas de congelamento de sementes de algodão de duas cultivares (BRS 200 Marron e BRS Verde) com diferentes teores de água (5, 7, 9, 12, e 13,5% b.u.) e em diferentes temperaturas (-25, -45, -170 e -196°C);

Tabela III.1 - Parâmetros das sementes de feijão-caupi variedade Cauamê e coeficientes dos modelos da cinética de congelamento a temperaturas criogênicas

Temperatura (°C)	λ	r_m (mm)	J	k	α (mm ² s ⁻¹)	R ² (%)	SE	P (%)
Teor de água 6% b.u.								
-20	1,133	3,406	1,00	-0,0061	0,00092	99,64	0,0246	15,83
-60	1,121	3,383	1,01	-0,0090	0,00136	99,03	0,0367	11,89
-150	1,046	3,399	1,06	-0,0185	0,00326	98,14	0,0603	27,60
-196	0,962	3,388	1,13	-0,0480	0,00999	97,47	0,0801	29,62
Temperatura (°C)	λ	r_m (mm)	J	k	α (mm ² s ⁻¹)	R ² (%)	SE	P (%)
Teor de água 8% b.u.								
-20	1,136	3,44	1,00	-0,0044	0,00069	99,72	0,0213	11,02
-60	1,136	3,45	1,00	-0,0076	0,00118	99,21	0,0367	20,16
-150	1,037	3,46	1,07	-0,0177	0,00329	98,61	0,0510	20,78
-196	0,962	3,43	1,13	-0,0480	0,01021	97,64	0,0774	25,69
Temperatura (°C)	λ	r_m (mm)	J	k	α (mm ² s ⁻¹)	R ² (%)	SE	P (%)
Teor de água 10% b.u.								
-20	1,121	3,51	1,01	-0,0040	0,00067	99,73	0,0216	13,11
-60	1,121	3,5	1,01	-0,0076	0,00125	99,03	0,0602	30,02
-150	0,957	3,52	1,14	-0,0173	0,00392	98,99	0,0440	24,66
-196	0,926	3,53	1,17	-0,0440	0,01066	96,75	0,0945	23,59
Temperatura (°C)	λ	r_m (mm)	J	k	α (mm ² s ⁻¹)	R ² (%)	SE	P (%)
Teor de água 12% b.u.								
-20	1,121	3,58	1,01	-0,0033	0,00057	99,73	0,0215	12,76
-60	1,121	3,60	1,01	-0,0071	0,00122	99,01	0,0488	27,52
-150	1,016	3,59	1,09	-0,0172	0,00359	99,96	0,0303	12,08
-196	0,937	3,58	1,16	-0,0411	0,01007	97,26	0,0879	20,76
Temperatura (°C)	λ	r_m (mm)	J	k	α (mm ² s ⁻¹)	R ² (%)	SE	P (%)
Teor de água 14% b.u.								
-20	1,134	3,63	1,00	-0,0027	0,00047	99,91	0,0122	7,11
-60	1,123	3,62	1,00	-0,0064	0,00111	99,03	0,0402	22,6
-150	1,038	3,64	1,07	-0,0159	0,00327	99,76	0,0211	10,84
-196	0,925	0,06	1,17	-0,0424	0,01090	96,80	0,0911	35,70

Tabela III.2 - Parâmetros das sementes de feijão-caupi variedade Potengi e coeficientes dos modelos da cinética de congelamento a temperaturas criogênicas

Temperatura (°C)	λ	r_m (mm)	J	k	α (mm ² s ⁻¹)	R ² (%)	SE	P (%)
Teor de água 6% b.u.								
-20	1,136	3,46	1,00	-0,00630	0,00098	99,23	0,0251	7,40
-60	1,121	3,42	1,01	-0,00955	0,00149	97,60	0,0327	11,87
-150	1,026	3,45	1,08	-0,01879	0,00355	97,57	0,0484	25,67
-196	0,973	3,47	1,12	-0,05058	0,01068	94,55	0,0834	22,61
Temperatura (°C)	λ	r_m (mm)	J	k	α (mm ² s ⁻¹)	R ² (%)	SE	P (%)
Teor de água 8% b.u.								
-20	1,126	3,53	1,00	-0,00520	0,00084	99,60	0,0370	19,38
-60	1,132	3,55	1,00	-0,00862	0,00142	98,29	0,0181	24,94
-150	1,010	3,49	1,09	-0,01885	0,00377	97,64	0,0480	24,17
-196	0,974	3,54	1,12	-0,05017	0,01105	95,16	0,0772	20,65
Temperatura (°C)	λ	r_m (mm)	J	k	α (mm ² s ⁻¹)	R ² (%)	SE	P (%)
Teor de água 10% b.u.								
-20	1,127	3,58	1,00	-0,00399	0,00068	99,47	0,0215	13,35
-60	1,133	3,57	1,00	-0,00727	0,00129	96,57	0,0505	26,65
-150	1,026	3,59	1,08	-0,01729	0,00356	98,49	0,0382	24,75
-196	0,969	3,57	1,13	-0,04805	0,01109	94,54	0,0855	31,36
Temperatura (°C)	λ	r_m (mm)	J	k	α (mm ² s ⁻¹)	R ² (%)	SE	P (%)
Teor de água 12% b.u.								
-20	1,134	3,63	1,00	-0,00348	0,00060	99,59	0,0189	18,64
-60	1,136	3,66	1,00	-0,00706	0,00124	95,22	0,0573	26,15
-150	1,077	3,64	1,04	-0,01589	0,00363	99,58	0,0203	13,57
-196	0,956	3,68	1,14	-0,04631	0,01144	95,96	0,0740	27,84
Temperatura (°C)	λ	r_m (mm)	J	k	α (mm ² s ⁻¹)	R ² (%)	SE	P (%)
Teor de água 14% b.u.								
-20	1,131	3,86	1,00	-0,00301	0,00059	99,54	0,0199	21,57
-60	1,133	3,88	1,00	-0,00637	0,00125	98,08	0,0407	24,28
-150	1,080	3,84	1,03	-0,01550	0,00327	99,50	0,0193	25,86
-196	1,011	3,90	1,11	-0,03844	0,01002	96,79	0,0650	28,43

Comparando-se a difusividade térmica das variedades de feijão-caupi Cauamê e Potengi observa-se que, com exceção do teor de água de 10% b.u., todos os demais teores de água apresentam valores de difusividade discretamente inferiores para a variedade Cauamê. Estes valores de difusividade térmica aparente se mantêm na mesma ordem de grandeza das sementes de feijão congelado na temperatura de -196 °C e obtido por CAVALCANTI MATA et al. (2012), de 0,0674 mm² seg⁻¹, assim como das sementes de

pinhão-manso congelado na temperatura de -170°C e obtido por GOLDFARB et al. (2010), de $2,10443 \times 10^{-3} \text{ mm}^2\text{s}^{-1}$.

Ao se comparar o comportamento cinético do congelamento do feijão observa-se haver coerência na representação do modelo uma vez que no congelamento das sementes, feito nas temperaturas de -20°C e -60° para a variedade Cauamê e -20°C para a variedade Potengi em todos os teores de água estudados (6, 8, 10 12 e 14% b.u.), as curvas dos dados calculados pelo Modelo de Fourier tem coeficientes de determinação superiores a 99% o que faz com que os dados experimentais e os dados estimados representem bem o fenômeno de congelamento do feijão nessa temperatura, contudo, quando se analisa o comportamento da cinética de congelamento do feijão-caupi nas temperaturas de -60 (para a variedade Potengi), -150 e -196°C , para as duas variedades, o Modelo de Fourier tem coeficiente de determinação, de modo geral, inferiores a 99% e erros médio relativos (P) superior a 10%, indicando que o modelo de Fourier utilizando o 1º termo da série não representa tão bem a cinética.

Depreende-se ainda que o erro médio relativo apresentou valor de 7,11% para a variedade Cauamê no teor de água de 14% b.u. e temperatura de -20°C , e 7,40% para a variedade Potengi no teor de água de 6% b.u. e temperatura de -20°C , de acordo com MOHAPATRA & RAO (2005) apenas valores inferiores a 10% são recomendados para a seleção de modelos.

A relação entre temperatura e difusividade térmica a diferentes teores de água para as sementes feijão-caupi variedades Cauamê e Potengi, é mostrada nas Figuras III.11 e III.12, respectivamente.

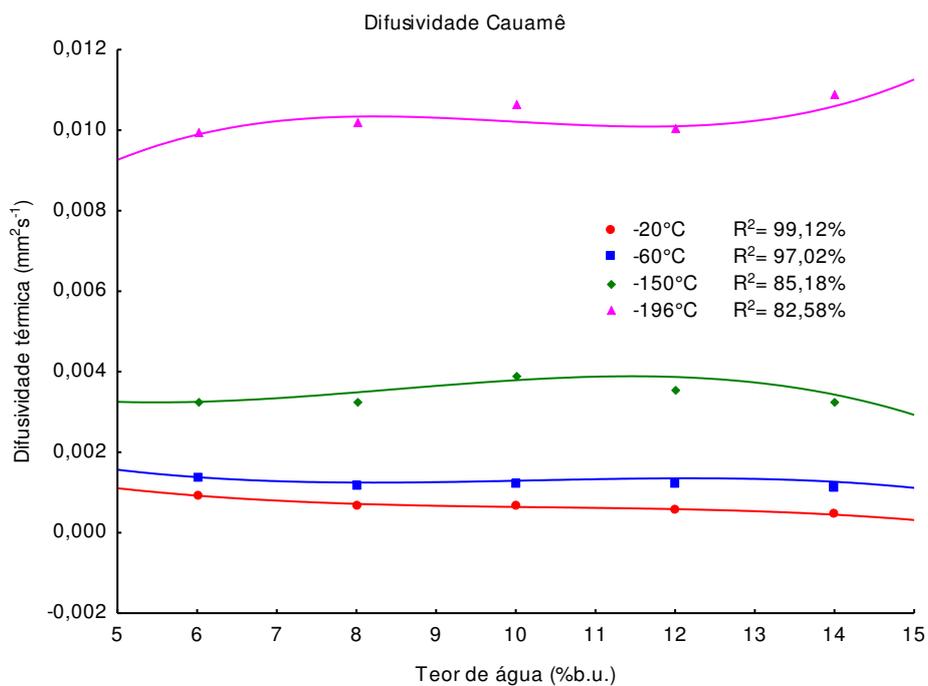


Figura III.11 - Variação da difusividade térmica de sementes de feijão-caupi variedade Cauamê com a temperatura e o teor de água.

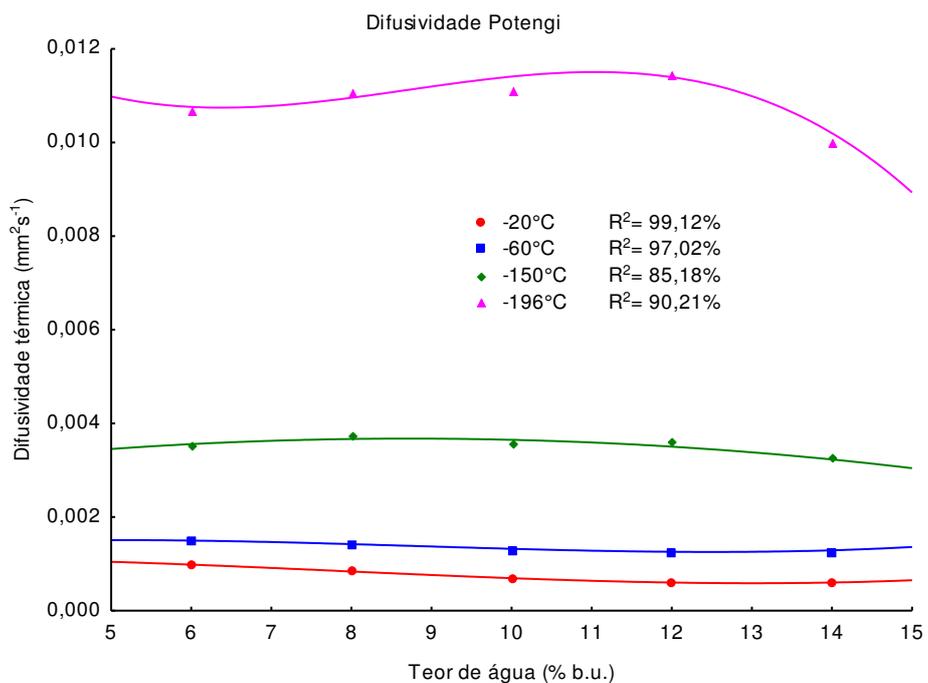


Figura III.12 - Variação da difusividade térmica de sementes de feijão-caupi variedade Potengi com a temperatura e o teor de água

Pode-se observar que para as duas variedades de feijão-caupi estudadas, a difusividade térmica aumenta com a diminuição da temperatura em todos os teores de água. Para os valores dentro de uma mesma temperatura, observa-se uma discreta oscilação dos valores da difusividade, sem constituir um padrão definido de aumento ou diminuição, com a conseqüente variação do teor de água, portanto, dentro da faixa de teor de água estudado neste trabalho, praticamente não se observa influência sobre a difusividade térmica.

Embora o modelo de Fourier expresse a cinética de congelamento do feijão-caupi, de forma satisfatória, para algumas temperaturas e teores de água, constata-se que os gráficos dos valores dos resíduos das equações versus valores estimados, são todos considerados tendenciosos em todos os teores de água analisados, como se observa no Apêndice A.II, demonstrando que modelos mais expressivos poderiam ser utilizados; no entanto, há que se desenvolver um modelo que considere o fenômeno físico que ocorre durante o congelamento das sementes

Nas Figura III. 13 a III.17 se encontram a relação da difusividade térmica efetiva obtida do Modelo de Fourier em função da temperatura em K. A equação utilizada foi a de Arrhenius (Equação III.4) que é tradicionalmente empregada para descrever a dependência da temperatura na constante de velocidade e para estimar a energia de ativação da reação, que seria a energia mínima necessária para que ocorram os rearranjos moleculares com vista à formação das estruturas congeladas da semente de feijão.

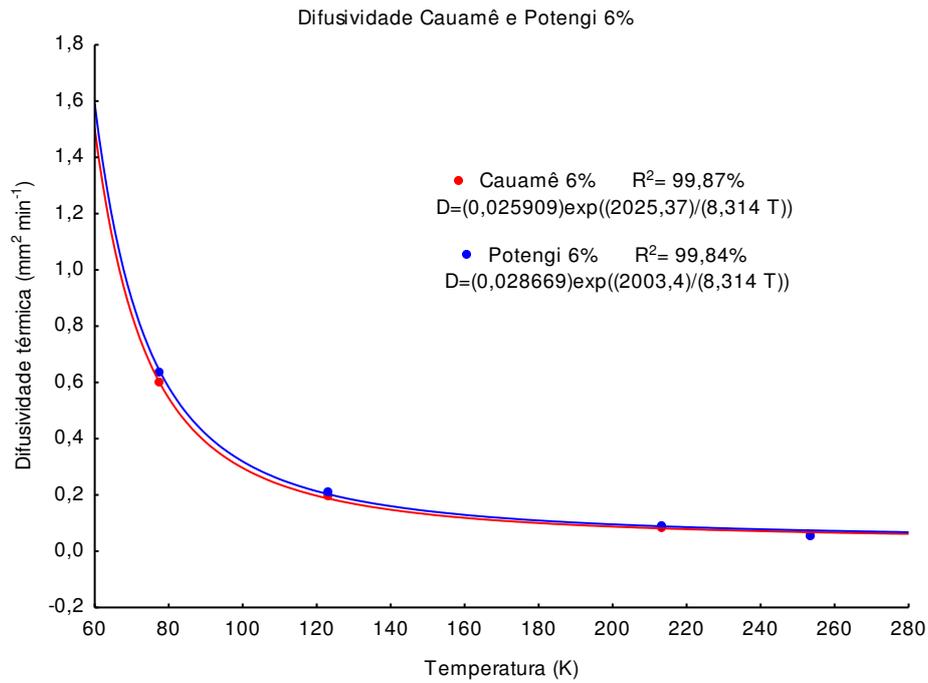


Figura III.13 - Difusividade térmica efetiva da semente de feijão-caupi Cauamê e Potengi 6% b.u. em função da temperatura obtida do Modelo de Fourier

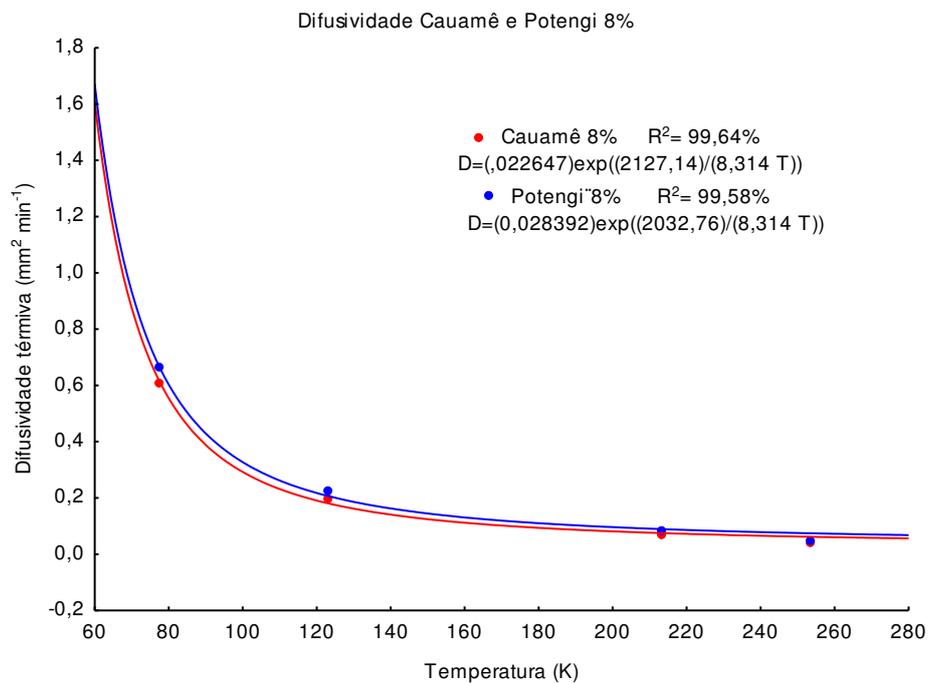


Figura III.14 - Difusividade térmica efetiva da semente de feijão-caupi Cauamê e Potengi 8% b.u. em função da temperatura obtida do Modelo de Fourier

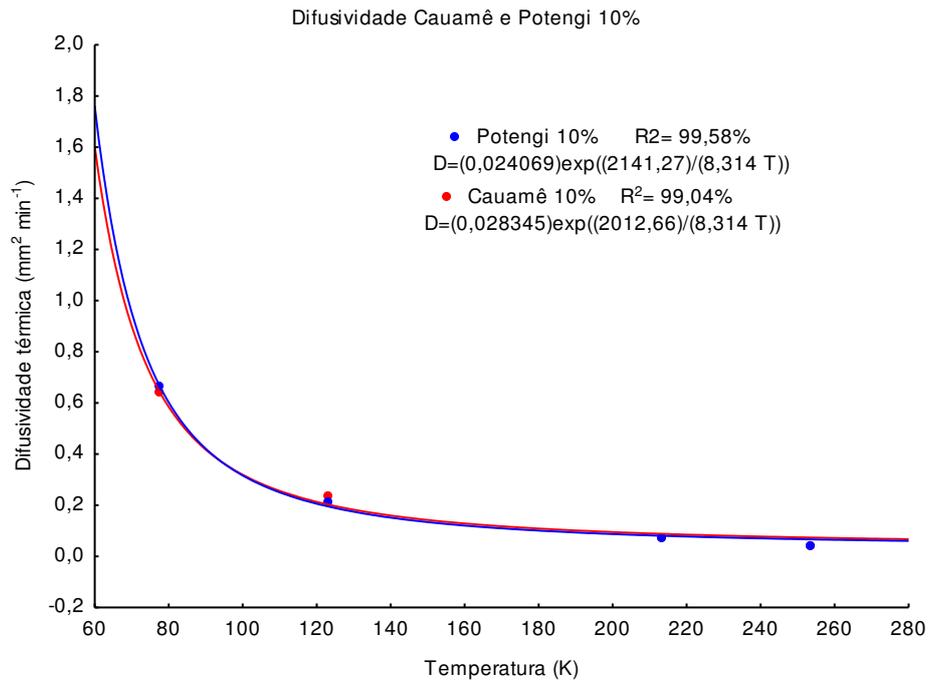


Figura III.15 - Difusividade térmica efetiva da semente de feijão-caupi Cauamê e Potengi 10% b.u. em função da temperatura obtida do Modelo de Fourier

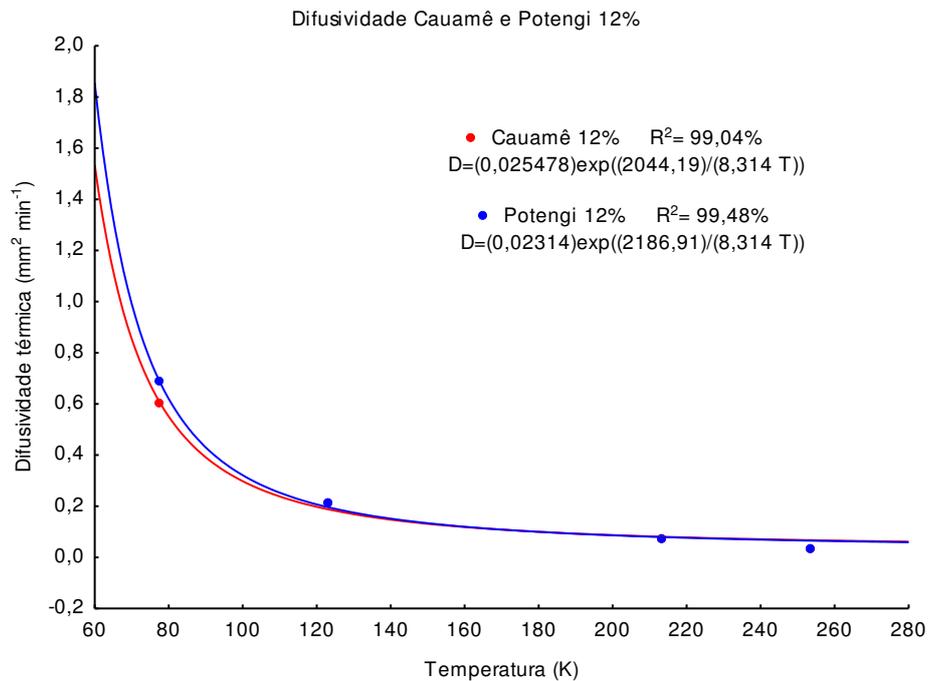


Figura III.16 - Difusividade térmica efetiva da semente de feijão-caupi Cauamê e Potengi 12% b.u. em função da temperatura obtida do Modelo de Fourier

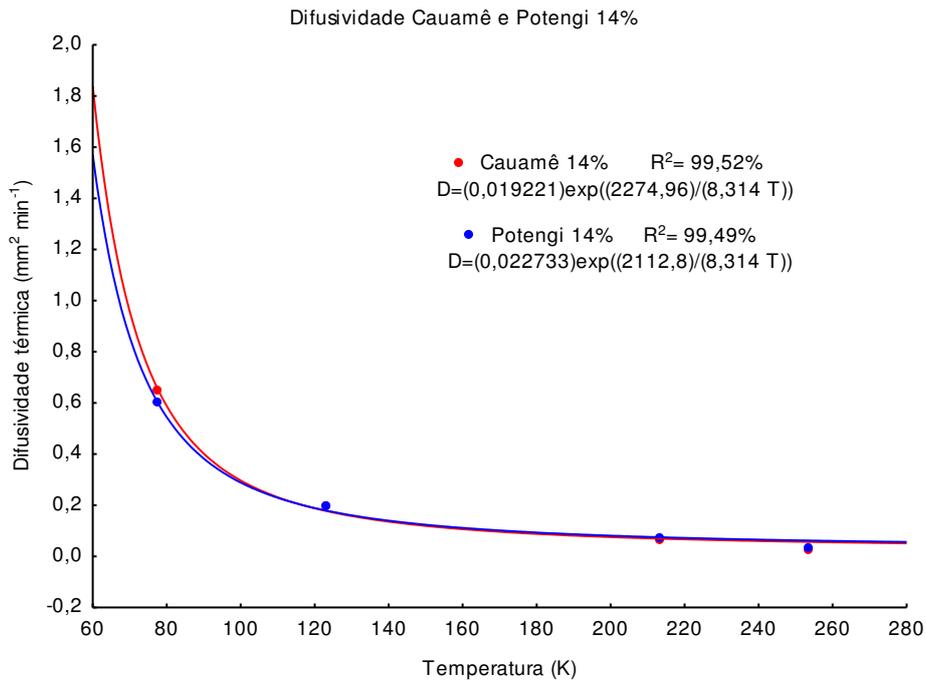


Figura III.17 - Difusividade térmica efetiva da semente de feijão-caupi Cauamê e Potengi 14% b.u. em função da temperatura obtida do Modelo de Fourier

A energia de ativação da cinética de congelamento do feijão-caupi da variedade Cauamê nos teores de água de 6, 8, 10, 12 e 15% são, respectivamente, de 2,02; 2,12; 2,14; 2,04 e 2,27 kJ mol^{-1} para a variedade Potengi a energia de ativação da cinética de congelamento nos mesmos teores de água são, respectivamente, 2,00; 2,03; 2,01; 2,18 e 2,11 kJ mol^{-1} correspondente ao Modelo de Fourier utilizando o primeiro termo da série. Os coeficientes de determinação (R^2) para as duas variedades apresentaram valores acima de 99% para todos os teores de água. CAVALCANTI MATA et al. (2012) estudando a cinética de congelamento de sementes de feijão cultivar ‘gordo’ nas temperaturas de -25 a -196°C e teor de água de 10,8% b.u., obtiveram a energia de ativação de $3,95 \text{kJ mol}^{-1}$ valor, este, superior aos encontrados neste trabalho.

A energia de ativação é a menor quantidade de energia necessária que deve ser fornecida aos reagentes para a formação do complexo ativado e, conseqüentemente, para a ocorrência da reação, então, quanto menor a energia de ativação, maior a facilidade que as moléculas reagentes têm de atingir o estado de transição (LAVARDA, 2011). Portanto, as reações que exigem menor energia de ativação ocorrem mais facilmente, ou seja, com maior velocidade.

III.5 CONCLUSÕES

As curvas de congelamento criogênico das sementes de feijão-caupi com teor de água variando entre 6 e 14% b.u., são exponenciais e não se distinguem com clareza as três fases típicas, devido à velocidade de congelamento e um maior gradiente térmico a que estão expostas as sementes.

O Modelo de Fourier utilizando o 1º termo da série, descreve, de forma satisfatória, o processo de cinética de congelamento para o feijão-caupi variedade Cauamê nas temperaturas de -20 °C e -60° e na temperatura de -20°C para a variedade Potengi em todos os teores de água estudados.

Para as duas variedades de feijão-caupi, quanto maior o gradiente térmico a que as sementes são expostas, maior a velocidade de congelamento e a difusividade térmica, ou seja, a difusividade térmica efetiva do produto aumenta com o incremento do diferencial de temperatura entre a amostra e o meio a que é submetido.

A energia de ativação da cinética de congelamento do feijão-caupi variedade Cauamê nos teores de água de 6, 8, 10, 12 e 14% são, respectivamente, de 2,02; 2,12; 2,14; 2,04 e 2,27 kJ mol⁻¹ para a variedade Potengi são, respectivamente, 2,00; 2,03; 2,01; 2,18 e 2,11 kJ mol⁻¹.

III.6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, R. D.; NÓBREGA, A. M. M. C.; SANTOS, J. E. A. dos; BRITO, K. Q. D. estudo das curvas de congelamento criogênico das sementes de feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) variedade itaim. **III Congresso Nacional do feijão-caupi**. 22 a 24 de abril, 2013.

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

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

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

CARNEIRO, C. S.; CAL-VIDAL, J. Estruturação de cristais de gelo em soluções aquosas contendo solutos diversos. **Pesquisa Agropecuária brasileira**, Campina Grande, v. 35, n. 2, 2000.

CAVALCANTI MATA, M. E. R. M. Tecnologia de crioconservação de sementes de urucum. **Tecnologia & Ciência Agropecuária**, v.2, n.1, p.1-9, 2008.

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

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

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

COLLA, L. M.; PRENTICE-HERNÁNDEZ, C. Congelamento e descongelamento: a sua influência sobre alimentos. **Vetor**, v. 13, p. 53-66, 2003.

FARIAS, D.C. de. **Desenvolvimento de um protocolo para criopreservação de sementes de jatobá: fitossanidade e cinética de congelamento**. 2003. 93f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) - Departamento de Engenharia Agrícola, Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande. 2003.

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

HORN, M. M.; MARTINS, V. C. A.; PLEPIS, A. M. DE G. Determinação da energia de ativação em hidrogéis poliméricos a partir de dados termogravimétricos. **Polímeros**, v.20, p.201-204, 2010.

GRUDA, Z.; POSTOLSKI, J. **Tecnología de la congelacion de los alimentos**. Zaragoza, España: Acribia, 1996, 631 p.

KASAHARA, G. I.; GARRIDO, B. F.; SIMPSON, R. R.; ALDUNARTE, M. M. I.; CORNEJO, F. F. Cinética de congelacion y propiedades termofísicas em dos espécies de frutales menores. In: KASAHARA, G. J. **Tópicos de calor y propiedades**

termofísicas en:refrigeración y congelación de alimentos. Santiago de Chile: Maval, cap.4, p.81-109, 1986.

KUROZAWA, C. **ABC do Globo Rural.** Publicado em abril de 2007. Disponível em: <http://globo.ruraltv.globo.com/GRural/0,27062,LTP0-4373-0-L-F,00.html>. Acesso em: 04 de dezembro de 2013

LAVARDA, L. **Determinação da cinética de degradação térmica da vitamina C em polpa de acerola via aquecimento ôhmico.** 2011, 37f. (Graduação em Engenharia Química) Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2011.

MEDEIROS, A.C.S.; CAVALLARI, D.A.N. Conservação de germoplasma de aroeira (*Astronium urundeuva* (Fr. All.) Engl.). I. Germinação de sementes após imersão em nitrogênio líquido (-196°C). **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.14, n.1, p.73-75, 1992.

MEDEIROS, A.C. de S; SMITH, R.; PROBERT, R.; SADER, R. Comportamento fisiológico de sementes de aroeira (*Myracrodruon urundeuva* Fr. All.) em condições de armazenamento. **Boletim de Pesquisa Florestal**, Colombo – PR, n. 40, p. 85-98, 2000.

MOHAPATRA, D.; RAO, P. S. A thin layer drying model of parboiled wheat. **Journal of Food Engineering**, v.66, p.513-18, 2005.

NEVES FILHO, L. de C. **Resfriamento, congelamento e estocagem de alimentos.** São Paulo: Instituto Brasileiro do Frio, 1991. 165 p.

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

PLUG I.J.; BLAISDELL, J.L. Methods of analysis of precooling data. **ASAE Journal**, v.5, n.11, p.11- 50, 1963.

REID, D.S. **Freezing**. In: ARTHEY, D. e DENNIS, C., ed. Vegetable Processing. VCH Publishers, New York, 1990. p. 102-122.

RESENDE, J. V. **Redução de danos de congelamento em frutos de melão utilizando substâncias crioprotetoras de concentração e origens diversas**. 1995. 68f. Dissertação (Mestrado em Ciências do alimento). Lavras: Universidade Federal de Lavras, Minas Gerais. 1995.

RESENDE, J. V.; CAL-VIDAL, J. Frutos de melão submetidos a pré-tratamentos com hidrocolóides: efeitos do processo de congelamento sobre a microestrutura celular. **Ciência e Tecnologia dos Alimentos**, Campinas, v.22, n.3, p. 295-304, set-dez. 2002.

RIBEIRO, D. M.; CORRÊA, P. C.; RESENDE, O.; BOTELHO, F. M. Propriedades térmicas de grãos de trigo: determinação e modelagem. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 2, p. 462-467, 2007.

SAKAI, A.; LARCHER, W. Frost Survival of Plants. Response and adaptation to freezing stress. **Springer-Verlag**, Berlim, Heidelberg, 1987.

SANTOS, I. R. I. Criopreservação: potencial e perspectivas para a conservação de germoplasma vegetal. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v.12, p.70-84, 2000.

SILVA, L. M. de M. **Protocolos de criopreservação de sementes de romã e juá**. 2013. 144f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) - Departamento de Eng. Agrícola, Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, 2013.

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

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

VAJTA G, KUWAYAMA M. Improving cryopreservation systems. **Theriogenology**, v.65, p.236-244, 2006.

ARMAZENAMENTO CRIOGÊNICO DE SEMENTES DE FEIJÃO-CAUPI

CAPÍTULO IV

**TEOR DE ÁGUA LIMITE PARA CRIOPRESERVAÇÃO DE
SEMENTES DE FEIJÃO-CAUPI**

ARMAZENAMENTO CRIOGÊNICO DE SEMENTES DE FEIJÃO-CAUPI

CAPÍTULO IV: TEOR DE ÁGUA LIMITE PARA CRIOPRESERVAÇÃO DE SEMENTES DE FEIJÃO-CAUPI

RESUMO

Objetivou-se neste trabalho, determinar o Teor de Água Limite para criopreservar as sementes de feijão-caupi variedades Cauamê e Potengi, em vapor de nitrogênio a -170°C e nitrogênio líquido a -196°C . As sementes passaram por um processo de secagem ou umedecimento para alcançar os teores de água de 4, 6, 8, 10, 12, e 14% b.u.; logo após, foram criopreservadas a -170 e -196°C durante cinco dias e, em seguida, após o descongelamento lento, foi realizado os testes de germinação e vigor; para efeito de uma análise comparativa utilizou-se armazenagem das sementes a 25°C por igual período de tempo. O delineamento estatístico empregado foi o inteiramente casualizado, com arranjo fatorial de três temperaturas e seis teores de água, empregando-se quatro repetições por tratamento. A análise de variância e comparação das médias dos tratamentos foi realizada pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. Com os resultados obtidos conclui-se que as sementes de feijão-caupi variedades Cauamê e Potengi possuem um teor de água limite de 4 a 8% b.u para -170°C e -196°C ; e que os melhores percentuais de germinação das sementes de feijão-caupi foram obtidos quando essas sementes foram criopreservadas em vapor de nitrogênio e nitrogênio líquido, com um teor de água de 8% b.u.

Palavras-chave: *Vigna unguiculata* (L.) Walp., nitrogênio líquido, germinação

ABSTRACT

The objective of this work was to determine the water content limit for cryopreservation seeds of cowpea varieties Cauamê and Potengi in nitrogen vapor at -170°C and liquid nitrogen at -196°C . The seeds have undergone a process of moistening or drying to achieve the water content of 4, 6, 8, 10, 12, and 14% w.b.; soon after, were cryopreserved at -170 and -196°C for five days and then after slow thawing, standard germination and vigor was conducted; for the purpose of a comparative analysis was made of the seed storage at 25°C for the same period of time. The statistical design was a completely randomized factorial design with three temperatures and six water contents, using four replicates per treatment. Analysis of variance and comparison of treatment means was performed by Tukey test at 5% probability. With these results it is concluded that the seeds of cowpea varieties Cauamê and Potengi have a water content limit of 4 to 8% w.b. -170°C and -196°C ; and the top percentage of germination of seeds of cowpea were obtained when these seeds were cryopreserved in liquid nitrogen vapor and nitrogen, with a water content of 8% w.b.

Keywords: *Vigna unguiculata* (L.) Walp., liquid nitrogen, germination.

IV.1 INTRODUÇÃO

O armazenamento possibilita a conservação de produtos agrícolas, sejam eles sementes ou grãos, por períodos mais longos, preservando sua viabilidade. Para que isso aconteça, é necessário o estudo a respeito do comportamento de tais produtos a fim de que o período de armazenamento possa ser maximizado.

O avanço significativo nas pesquisas utilizando as técnicas de criopreservação de sementes resultou em protocolos de conservação para inúmeras espécies agrícolas e florestais, uma vez que a semente é a forma pela qual a planta sobrevive o máximo de tempo com o mínimo de atividade fisiológica (MARTINS et al., 2009). Este processo de congelamento, conhecido como criopreservação que utiliza o nitrogênio líquido (-196°C) para o armazenamento, tem demonstrado ser um método eficiente para interromper a deterioração causada por microorganismos.

A criobiologia tem gerado o desenvolvimento de protocolos de criopreservação para sementes de muitas espécies economicamente importantes; considera-se a massa de água da semente o fator mais crítico para o sucesso de um protocolo de criopreservação (GOLDFARB et al., 2008). Convencionou-se, portanto, adotar um limite de água para o congelamento (High Moisture Freezing Limit-HMFL ou Teor de Água Limite para a Criopreservação-TALC), acima do qual a viabilidade de uma amostra de sementes é abreviada durante o congelamento (STANWOOD, 1985). Este limite crítico é, de acordo com o autor, comumente, uma faixa relativamente reduzida de teor de água dentro da espécie, podendo mudar entre espécies (CAVALCANTI MATA, 2008).

Para que um material vegetal resista ao armazenamento em nitrogênio líquido, o TALC deve ser obtido. Surgindo a necessidade do estabelecimento de protocolos de criopreservação de sementes que dependem do conhecimento de suas propriedades físicas e químicas, da determinação do teor de água ideal, assim como das taxas adequadas de congelamento e descongelamento (STANWOOD & ROSS, 1979).

Objetivou-se, portanto, neste trabalho, determinar o Teor de Água Limite para Criopreservação (TALC), das sementes de feijão-caupi variedades Cauamê e Potengi para as temperaturas de -170°C e -196°C.

IV.2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

IV.2.1 Teor de água nas sementes

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

As diferentes formas com que a água se apresenta podem causar dúvidas quanto à correta determinação do teor de água, ou seja, quanto à eficiência dos métodos empregados para avaliar a presença das diferentes formas de água nas sementes.

Para ALMEIDA et al. (2006) pode-se separar a água contida nas sementes em quatro classes. Água de constituição, que se encontra no interior das células que compõe a semente e constitui-se de uma camada monomolecular presa ao grupo hidroxila (OH^-). Água adsorvida, que é representada por uma camada polimolecular que se fixa abaixo da camada molecular precedente. Essas camadas estão presas à matéria que constitui a semente por meio de ligações eletromagnéticas, e constitui a água *pseudo* ligada, sem papel biológico e fortemente adsorvida. Água líquida sobre tensão osmótica, trata-se da água solvente que detém distintas substâncias nas células do material biológico, apresenta-se pouco adsorvida e, exerce papel biológico e pode permitir reações químicas, bem como o desenvolvimento de fungos. Por fim, a água absorvida, que se encontra mais associada à matéria absorvente, existindo uma inter-relação entre as moléculas da semente e as substâncias que constitui a semente.

A atividade fisiológica da semente depende fundamentalmente da presença dessa água livre. O conhecimento deste parâmetro permite a escolha do procedimento mais adequado para a colheita, a secagem, o beneficiamento e o armazenamento da semente e a preservação de sua qualidade física, fisiológica e sanitária.

As determinações periódicas do teor de água entre a colheita, armazenamento e comercialização permitem a identificação de problemas que porventura ocorram ao longo das diferentes fases do processamento e possibilitem a adoção de medidas adequadas para a sua solução (WALTERS, 2005).

De acordo com MARCOS FILHO (2005) com essa informação é possível manejar corretamente as sementes utilizando-se, se necessário, práticas adequadas que propiciem sua conservação por maiores períodos, como é o caso de sementes do grupo das ortodoxas que requerem baixo teor de água para a manutenção da viabilidade e que apresentam alto teor de água na colheita, necessitando de secagem, previamente ao armazenamento. Isso porque, o teor de água propicia uma intensificação da atividade respiratória da semente, consumindo suas reservas nutritivas. Como consequência, libera calor tornando o ambiente de armazenamento propício ao aparecimento de agentes patogênicos.

O teor de água e a temperatura são fatores preponderantes no armazenamento das sementes. A longevidade da semente é prolongada quando a semente é armazenada com baixo teor de água e baixas temperaturas. Entretanto, essa regra não se aplica às espécies recalcitrantes cujas sementes requerem alto teor de água para seu acondicionamento (HOEKSTRA et al., 2001; GUIMARÃES et al., 2008; SILVA et al., 2011).

Outro fator relevante é o tempo de armazenamento de grãos e sementes que pode diminuir à medida que o teor de água dos grãos e sementes aumenta, tendo efeito dominante no predomínio e na atividade de insetos e fungos, durante o armazenamento. A ação danosa destas pragas destrutivas aumenta à medida que o teor de água também aumenta (LUZ, 2002).

IV.2.2 Comportamento das sementes durante o armazenamento

A conservação de sementes é uma prática habitual entre os agricultores que, no passado, já possuíam seus próprios métodos de conservar sementes e utilizá-las nos anos seguintes. Na atualidade, os propósitos da conservação estão ampliados, as sementes de espécies em extinção são coletadas para que seja evitado seu desaparecimento. Igualmente as sementes endêmicas são conservadas para restaurações futuras, já que o impacto da atividade humana no meio ambiente tem reduzido a distribuição de muitas espécies (SANTOS, 2000).

O comportamento fisiológico da semente no armazenamento foi inicialmente estudado por ROBERTS (1973) ao classificar as sementes em ortodoxas ou recalcitrantes. Posteriormente, ELLIS et al., (1990a) e ELLIS et al. (1990b) introduziram o conceito de intermediárias. Como este aspecto fisiológico está relacionado com o grau de tolerância das sementes à perda de água, deve-se classificá-las como tolerantes à dessecação ou

ortodoxas; não tolerantes à dessecação ou recalcitrantes e ainda as intermediárias, cujo comportamento durante a secagem e armazenamento apresenta ora características semelhantes às ortodoxas, ora às recalcitrantes.

Sendo assim, as sementes ortodoxas toleram dessecação ao final da maturação, e redução expressiva no seu teor de água até atingir valores inferiores a 10% de seu peso, o que torna muitas de suas organelas celulares desorganizadas e inativas conferindo maior longevidade e permitindo armazenamento por períodos prolongados (CASTRO et al. 2004; GUIMARÃES et al., 2008) As sementes ortodoxas são exclusivas quanto à tolerância à dessecação, 90 a 95% da água é removida durante o desenvolvimento e a dessecação (BLACK & PRITCHARD, 2002).

As sementes recalcitrantes exibem um comportamento inverso, apresentam sensibilidade à secagem e ao armazenamento em baixas temperaturas e possuem teores de água elevados quando maduras. Sua longevidade é muito curta sob condições naturais e os tradicionais métodos de armazenamento são extremamente danosos para as sementes deste grupo (ESPINDOLA, 2007).

As sementes intermediárias são aquelas que não se comportam nem como ortodoxas nem como recalcitrantes, situando-se entre os limites destas duas categorias. Segundo CASTRO et al. (2001) as sementes com essa classificação apresentam um tipo de comportamento em que podem ser desidratadas a teores baixos de água mas ainda assim apresentam longevidade, no entanto são altamente sensíveis a danos de embebição ou baixas temperaturas, neste caso, as sementes toleram a desidratação somente até o teor de água entre 7 e 10%.

A aquisição da tolerância à dessecação é um fenômeno complexo, envolvendo a interação de ajustes metabólicos e estruturais, permitindo que as células resistam a perdas consideráveis de água sem a ocorrência de prejuízos. A menor eficiência de um dos fatores envolvidos pode acarretar a formação de sementes com diferentes níveis de tolerância; é, porém, impossível a completa proteção contra esses danos. A essência da tolerância à dessecação se manifesta através da habilidade de promover a reversão de efeitos a partir da reidratação da semente (MARCOS FILHO, 2005).

Portanto, as sementes podem ser classificadas, em relação à tolerância à dessecação e a redução de temperatura, como ortodoxas, intermediárias ou recalcitrantes, podendo ser armazenadas, respectivamente, por longo prazo, médio e curto prazo.

IV.2.3 Teor de água limite para criopreservação

As sementes são armazenadas com diferentes finalidades e a exigência em mantê-las viáveis por curta duração ou por períodos mais longos é o que vai definir a aplicação de tecnologias menos ou mais elaboradas (SILVA et al., 2011). Em função desses fatores, a conservação das sementes é feita em bancos de germoplasma sob condições controladas. Em grande parte dos bancos, as sementes são conservadas a uma temperatura de 10°C e umidade relativa do ar de 40%. No entanto, segundo GONZAGA et al. (2003) este tipo de banco de germoplasma não impede a erosão genética das espécies e aconselham a utilização de bancos criogênicos para a conservação das espécies vegetais.

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

De acordo com CUNHA (1996), o teor de água da semente é, provavelmente, o fator mais crítico para o sucesso da criopreservação, pois se este teor for elevado, ocorre morte instantânea da semente durante o processo de congelamento e/ou descongelamento. Em virtude disto, instituiu-se ao longo das pesquisas criogênicas com sementes um teor de água limite para criopreservação (TALC), que é fator determinante para a manutenção da viabilidade das sementes armazenadas variando de espécie para espécie.

Diferentes pesquisadores mostraram a importância do teor de água das sementes na criopreservação. ALMEIDA et al. (2002) e MORAES (2001) determinando o TALC para sementes de mamona de duas variedades, chegaram à faixa de 4 a 10% de teor de água, como os valores mais apropriados para as duas variedades consideradas no estudo.

Segundo GOLDFARB et al. (2008), as sementes de pinhão manso podem ser criopreservadas à temperatura de -196°C, com teor de água entre 4 a 8% base úmida, pois sua germinação e o seu vigor não são alterados significativamente. No entanto, o teor de água limite para criopreservação dessas sementes foi estabelecido como sendo 8 %, b.u., uma vez que, se outros teores de água fossem considerados, os custos de secagem seriam

envolvidos, propiciando maiores gastos. Segundo COELHO (2006), para as cultivares de algodão herbáceo, colorido BRS 200 Marrom e BRS Verde, o teor de água limite encontra-se entre 6 e 8% para ambas cultivares.

TRESENA et al. (2010) pesquisando sobre o teor de água mais adequado à crioconservação das sementes de ipê amarelo (*Tabebuia chrysotrica* (Mart. Ex. DC.) Standl.) concluiu que sementes com teores de água acima de 4% b.u. têm sua germinação e vigor diminuídos significativamente, portanto o teor de água limite para crioconservação de sementes de ipê amarelo é de 4%b.u.

Com o intuito de determinar o teor de água limite para crioconservação de sementes de romã e juá, SILVA (2013) concluiu que semente de romã com teores de água abaixo de 6% e acima de 12% b.u., quando crioconservadas, tem sua germinação e vigor diminuídos significativamente, sendo o melhor porcentual de germinação e vigor das semente de romã foi obtido quando essas sementes foram crioconservadas em vapor de nitrogênio (-170 °C), com um teor de água de 10% b.u.. Já o teor de água limite para a crioconservação das sementes de juá revestidas de endocarpo, encontra-se entre 10 e 12% (b.u.).

IV.3 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos para determinação do Teor de Água Limite para Criopreservação (TALC) das sementes de feijão Cauamê e Potengi foram conduzidos no Laboratório de Sementes e no Setor de Criogenia do Laboratório de Armazenamento e Processamento de Produtos Agrícolas (LAPPA) da Unidade Acadêmica de Engenharia Agrícola, da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG – PB).

O teor de água inicial das sementes foi determinado a partir do método padrão da estufa a 105 ± 3 °C, utilizando quatro sub-amostras de 10g de sementes acondicionadas em recipientes metálicos, onde permaneceram durante 24 h. Após esse período, foram retirados da estufa, tampados rapidamente, resfriados em dessecador durante 15 minutos e pesados em balança analítica com precisão de 0,0001g, como prescrito nas Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009). Para o cálculo do teor de água inicial utilizou-se a Equação VI.1.

$$X = \frac{P_i - P_f}{P_i} \times 100 \quad (\text{VI-1})$$

em que:

X - teor de água em percentagem de base úmida (b.u), %

P_i - peso inicial da amostra, g

P_f - peso final da amostra, g

Para a caracterização do material quanto ao teor da água, os lotes das sementes foram submetidos aos processos de hidratação ou secagem, até alcançarem os teores de água preestabelecidos para a instalação dos diferentes ensaios de determinação do TALC (4, 6, 8, 10, 12 e 14% b.u.). A perda ou ganho de água pelas sementes foi determinado por meio da Equação IV-2.

$$P_f = P_i \times \frac{100 - X_i}{100 - X_f} \quad (\text{VI-2})$$

em que:

P_f - peso final da amostra, g

P_i - peso inicial da amostra, g

X_i - umidade inicial das sementes (b.u), %

X_f - umidade desejada das sementes (b.u), %

Para a secagem, as amostras foram colocadas em um dessecador de vidro, que continha como agente dessecante, sílica gel amorfa, sendo pesadas a cada 24h, até que atingissem os pesos referentes ao teor de água desejado; para este fim foi utilizada uma balança eletrônica semi-analítica, com precisão de 0,01g.

Para o umedecimento, as sementes foram colocadas em cestas de arame, suspensas com o mesmo material da cesta, no interior de bandejas de polietileno contendo água, e fechadas com saco plástico. Em seguida as bandejas foram colocadas em geladeira regulada para 10°C, sendo pesadas, até que atingissem os pesos referentes aos teores de água desejados; para este fim foi utilizada uma balança eletrônica semi-analítica, com precisão de 0,01g.

IV.3.1 Determinação do teor de água limite para criopreservação

Após serem obtidos os teores de água desejados, as sementes foram armazenadas por 5 dias em temperatura ambiente $\pm 25^\circ\text{C}$; no vapor de nitrogênio à -170°C e em nitrogênio líquido à -196°C , Figura IV.1. Passado esse período, as sementes, com teores de água de 4, 6, 8, 10, 12, 14 e 16% b.u., foram submetidas ao descongelamento lento e gradativo em ambiente de freezer a -18°C , em ambiente de geladeira a 7°C e em temperatura ambiente a 25°C , por período de 9 horas (3 horas para cada ambiente) de acordo com PIMENTEL (2009).

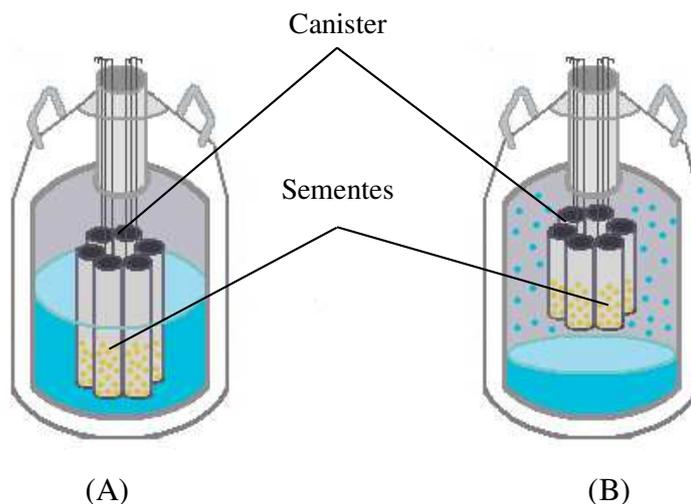


Figura IV.1- Botijão criogênico (A) Canister submerso em Nitrogênio Líquido (-196°C) e (B) Canister em Vapor de Nitrogênio (-170°C)

Em seguida foram feitos os testes de germinação de acordo com as Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009), e vigor, segundo VIEIRA e CARVALHO (1994) considerando-se germinadas as sementes que emitiram ao menos 20 mm de radícula no 4^o e 10^o dias depois da semeadura (Figura IV.2).



Figura IV.2 – Plantas de feijão-caupi variedades Cauamê e Potengi no 10^o dia após a semeadura.

Após a realização dos testes, avaliou-se qual o teor de água que obteve os melhores valores de germinação e vigor, determinando-se assim o teor de água que as sementes deveriam ser crioconservadas, ou seja, o Teor de Água Limite para a Crioconservação (TALC).

O delineamento estatístico utilizado foi o inteiramente casualizado em um arranjo fatorial 3 x 6 (3 temperaturas x 6 teores de água), com quatro repetições de 50 sementes cada uma. Os dados obtidos destas variáveis foram submetidos à análise de variância com o software ASSISTAT, versão 7.6 beta (SILVA & AZEVEDO, 2009) e as médias dos fatores qualitativos comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

IV.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O teor de água inicial das sementes de feijão-caupi variedade Cauamê foi de 11,2% b.u e variedade Potengi foi de 11,98 % b.u. As sementes de feijão-caupi variedade Cauamê apresentaram uma germinação média inicial de 91% e as sementes da variedade Potengi apresentaram uma germinação média inicial de 94%. O teor de água é o fator mais importante que influencia a capacidade de armazenamento das sementes.

Nas Tabelas IV.1 e IV.2, encontram-se os resumos da análise de variância procedente de sementes de feijão-caupi variedade Cauamê e sementes de feijão-caupi variedade Potengi, respectivamente, crioconservadas por 5 dias e em seis distintos teores de água (4, 6, 8, 10, 12, 14% b.u.), que revelou efeitos significativos para as variáveis teor de água e temperatura, assim como para a interação.

Tabela IV.1- Resumo da análise de variância da germinação de sementes feijão-caupi variedade Cauamê para a determinação do teor de água limite para crioconservação (TALC)

Fonte de Variação	G.L.	Q.M.	Variável do Teste F
Teor de Água (TA)	5	44.855	10.6705 **
Temperatura (T)	2	43.722	10.4009 **
TA x T	10	13.588	3.2326 **
Resíduos	54	4.2037	
CV=2,17			

** significativo ao nível de 1% de probabilidade

Tabela IV.2- Resumo da análise de variância da germinação de sementes feijão-caupi variedade Potengi para a determinação do teor de água limite para crioconservação (TALC)

Fonte de Variação	G.L.	Q.M.	Variável do Teste F
Teor de Água (TA)	5	150.080	25.2295 **
Temperatura (T)	2	39.763	6.977 **
TA x T	10	17.530	3.076**
Resíduos	54	5.699	
CV=2,53			

** significativo ao nível de 1% de probabilidade

A germinação das sementes de feijão-caupi variedade Cauamê com diferentes teores de água e 5 dias de armazenamento está representada na Tabela IV.3. Observa-se que as sementes de feijão Cauamê, quando submetidas à temperatura de 25°C com os

teores de 4, 6, 10, 12, 14% b.u., tem uma germinação significativamente inferior das sementes quando armazenadas por 5 dias com um teor de água de 8% b.u.. Para a temperatura de -170°C as sementes com 8%, foram as que tiveram o maior percentual de germinação (99%), contudo, esse percentual não diferiu, estatisticamente, das sementes armazenadas por cinco dias com 6% b.u., no entanto, diferiu estatisticamente das sementes quando foram armazenadas com os teores de água de 4, 10, 12 e 14% b.u. que tiveram as menores médias de germinação durante o mesmo período de armazenamento.

A germinação das sementes de feijão-caupi variedade Cauamê submetidas à armazenagem por cinco dias em nitrogênio líquido não diferiram estatisticamente entre si pelo teste de tukey à 5% de probabilidade, para os seis teores de água estudados, indicando que para a temperatura de -196°C as sementes da variedade Cauamê poderão ser crioconservadas para todos os teores estudados (4, 6, 8, 10, 12, 14% b.u.).

Tabela IV.3- Valores médios de germinação das sementes de feijão-caupi variedade Cauamê, para a interação teor de água versus temperatura após 5 dias de crioconservação

Teor de água (%b.u.)	Germinação(%)		
	25°C	-170°C	-196°C
4	93.00 abA	94.00 bcA	95.50 aA
6	93.50 abB	93.00 abA	97.00 aA
8	96.00 aA	99.00 aA	97.50 aA
10	91.50 bB	89.50 dB	97.00 aA
12	93.50 abA	91.00 cdA	94.00 aA
14	93.50 abA	91.50 cdA	94.50 aA

DMS linhas = 3.49; DMS colunas = 4.28; Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas nas linhas e minúsculas nas colunas, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

De forma semelhante aos resultados encontrados neste trabalho GOLDFARB et al. (2008), pesquisando sobre sementes de pinhão manso, verificou que essas sementes podem ser crioconservadas à temperatura de -196 °C, com teor de água entre 4 a 8% (b.u.), e que sua germinação e o seu vigor não são alterados significativamente. No entanto, o teor de água limite para crioconservação das sementes de pinhão manso foi estabelecido como sendo 8 % (b.u.), que foi o teor de água da colheita.

A germinação das sementes de feijão-caupi variedade Potengi com diferentes teores de água e cinco dias de armazenamento está representada na Tabela IV.4. Observa-se que as sementes de feijão, quando submetidas à temperatura ambiente (25°C) e à

temperatura de -170°C com o teor de 8% b.u., tem uma germinação significativamente superior (97% e 99,5%, respectivamente) às demais, contudo, esse percentual não diferiu, estatisticamente, das sementes armazenadas por cinco dias com os teores de 4 e 6% b.u., no entanto, diferiu estatisticamente das sementes quando foram armazenadas com os teores de água de 10, 12, e 14% b.u. que tiveram as menores médias de germinação durante o mesmo período de armazenamento. Para as sementes da variedade Potengi que foram armazenadas por cinco dias em nitrogênio líquido verifica-se que não diferiram estatisticamente entre si pelo teste de tukey à 5% de probabilidade, para os teores de 4, 6 e 8% que obtiveram as melhores médias de germinação quando comparada aos demais teores de água (12 e 14% b.u.).

Esse desempenho sugere que os teores de água de 4, 6 e 8% são recomendados para a crioconservação das sementes de feijão-caupi variedades Cauamê e Potengi, visto que nesse intervalo as médias dos fatores empregados para se determinar o TALC, não diferiram do ponto de vista estatístico.

Tabela IV.4- Valores médios de germinação das sementes de feijão-caupi variedade Potengi, para a interação teor de água versus temperatura após 5 dias de crioconservação

Teor de água (%b.u.)	Germinação(%)		
	25°C	-170°C	-196°C
4	94.50 abA	95.75 abA	96.50 aA
6	94.50 abA	97.50 abA	98.00 aA
8	97.50 aA	99.50 aA	99.00 aA
10	92.00 bcA	93.50 bA	95.00 abA
12	89.00 cA	93.00 bA	84.00 cB
14	91.00 bcA	94.50 bA	91.50 bA

DMS linhas = 4,06; DMS colunas = 4,98; Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas nas linhas e minúsculas nas colunas, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Na literatura, existem vários trabalhos com diferentes produtos onde se observa a necessidade de se identificar o teor de água ideal das sementes para crioconservação. Este fato foi observado por HELLMANN et al. (2006) que chegaram à conclusão de que a semente de pau-brasil sofria dano em sua qualidade fisiológica, quando eram armazenadas por 5 dias nas temperaturas de -170 e -196°C com teores de água acima de 12,7% b.u.. CASTRO et al. (2001) obtiveram resultados semelhantes ao deste trabalho, quando estudaram o teor de água limite para crioconservação de sementes de urucum (*Bixa orella* L.) e observaram que entre os valores estudados de 6 a 12% b.u., não existia

alteração significativa nos percentuais de germinação, que foram de 87%, sendo recomendados para uso na crioconservação, teores de água dentro desta faixa. SILVA (2013) pesquisando o teor de água limite para crioconservação de sementes de juá verificou que o TALC encontra-se entre 10 e 12% (b.u.). O teor de água das sementes, sua composição química e as velocidades de resfriamento e aquecimento, são os fatores que, habitualmente, se consideram como determinantes do efeito da crioconservação sobre as sementes (STANWOOD, 1985).

O vigor das sementes de feijão-caupi variedades Cauamê e Potengi com os teores de água descritos anteriormente e submetidas à armazenagem por cinco dias, à temperatura ambiente ($25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$), em vapor de nitrogênio ($-170\text{ }^{\circ}\text{C}$) e imersão em nitrogênio líquido ($-196\text{ }^{\circ}\text{C}$), encontram-se, respectivamente, nas Tabelas IV.5 e IV.6.

O vigor das sementes de feijão-caupi variedade Cauamê expresso na primeira contagem de germinação para as temperatura de 25°C e -196°C não diferiram estatisticamente entre si para os seis teores de água estudados (4, 6, 8, 10, 12 e 14% b.u.). De acordo com os dados, observa-se ainda, que para o vigor expresso pela primeira contagem de germinação na temperatura de -170°C , os teores de água de 6 e 8% b.u. obtiveram as maiores médias de germinação, contudo, esses teores não diferiram estatisticamente dos 4, 12 e 14% b.u., de acordo com o teste de Tukey a 5% de probabilidade. Pode-se observar que existiram poucas oscilações na 1ª contagem de germinação referente aos teores de água de 4 a 14% b.u., quando armazenadas por cinco dias, obtendo uma germinação de plântulas sadias acima de 87% no 4º dia de análise.

Na mesma Tabela, verifica-se que o vigor das sementes de feijão-caupi variedade Cauamê durante os cinco dias de armazenagem expresso em comprimento de plântula para a temperatura de 25°C não diferiram estatisticamente entre si para todos os teores de água estudados (4, 6, 8, 10, 12, 14% b.u.), já para as temperaturas de -170°C e -196°C o comprimento de plântula para o teor de água de 8% b.u. foi o que apresentou as maiores médias diferindo, estatisticamente, dos demais teores de água (4, 6, 10, 12 e 14% b.u.) pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Tabela IV.5 - Valores médios do vigor (1ª contagem de germinação, comprimento de plântula e matéria seca) para sementes de feijão-caupi variedade Cauamê para os 6 teores de água depois de armazenadas a 25, -170 e -196 °C por 5 dias

T.A. (%b.u)	Temperatura (°C)								
	1ª Contagem de germinação			Comprimento de plântula(cm)			Matéria seca(g)		
	25°C	-170°C	-196°C	25°C	-170°C	-196°C	25°C	-170°C	-196°C
4	89.5aA	91.5abA	90.5aA	24.1aC	27.0bA	25.6bB	3.3abA	3.4 bcA	3.5abA
6	90.0aA	94.5aA	90.5aA	23.9aB	27.1bA	23.3dB	3.5abAB	3.9abA	3.1bB
8	93.0aAB	95.5aA	89.5aB	24.1aB	30.1aA	29.8aA	3.9aA	4.2aA	4.0aA
10	89.0aAB	87.0bB	93.0aA	23.6aB	24.4cAB	25.1bcA	3.0bB	3.1cAB	3.5abA
12	91.00aA	89.0abA	91.5aA	23.8aB	25.4cA	24.0cdB	3.4 abA	3.1cA	3.4 bA
14	90.5aA	90.0abA	92.5aA	23.2aC	25.6cA	24.6bcB	3.5abA	3.1cA	3.4 bA
	dms _{linha} =5.39 dms _{coluna} =6.61 CV=3,48			dms _{linha} =0.95 dms _{coluna} =1.16 CV=2.21			dms _{linha} =0.47 dms _{coluna} =0.57 CV=7.95		

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

Verifica-se, ainda, na Tabela IV.5 que embora existam variações para o peso da matéria seca na temperatura de 25°C referentes aos teores de 4 a 14% b.u. pode-se constatar que não houve, praticamente diferença significativa dentro desta faixa. Para a temperatura de -170°C as sementes com 8%, foram as que tiveram a maior média de matéria seca (4,2g), contudo, esse percentual não diferiu, estatisticamente, das sementes armazenadas por cinco dias com 6% b.u., no entanto, diferiu estatisticamente das sementes quando foram armazenadas com os teores de água de 4, 10, 12 e 14% b.u. que obtiveram as menores médias de matéria seca durante o mesmo período de armazenamento. Constata-se que as comparações entre médias para a temperatura de -170°C obedecem ao mesmo comportamento da germinação (Tabela IV.3).

Diversas pesquisas têm demonstrado que o porcentual do teor de água das sementes interfere no processo de crioconservação. SILVA (2013), verificou que o melhor porcentual de germinação e vigor (comprimento de plântula e matéria seca) das sementes de romã foi obtido quando essas sementes foram crioconservadas em vapor de nitrogênio (-170 °C), com um teor de água de 10% b.u. De acordo com TRESENA et al. (2010), sementes de ipê amarelo com teores de água acima de 4% (b.u.) apresentaram um decréscimo significativo nos testes de germinação e vigor. ROCHA et al. (2010) verificaram que as maiores médias de germinação dos eixos embrionários de pinhão-

manso quando armazenados por 5 dias no nitrogênio líquido estão no intervalo de 9 a 16% (b.u.).

Constata-se na Tabela IV.6 que o vigor das sementes de feijão-caupi variedade Potengi expresso na primeira contagem de germinação para as temperaturas de 25°C, -170° e -196° não diferiram estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade, exceto para o teor de água de 12%b.u. quando armazenado em nitrogênio líquido que obteve o menor percentual de germinação (74,5%) de plântulas sadias no 4° dia de análise.

Tabela IV.6 - Valores médios do vigor (1ª contagem de germinação, comprimento de plântula e matéria seca) para sementes de feijão-caupi variedade Potengi para os 6 teores de água depois de armazenadas a 25,-170 e -196 °C por 5 dias

T.A. (%b.u)	Temperatura (°C)								
	1ª Contagem de germinação			Comprimento de plântula(cm)			Matéria seca(g)		
	25°C	-170°C	-196°C	25°C	-170°C	-196°C	25°C	-170°C	-196°C
4	90.5aA	95.5aA	95.0aA	24.0aB	27.3bA	27.4aA	3.3abcB	3.5 bAB	3.9bA
6	91.5aAB	93.0aA	83.5abB	24.0aB	27.7bA	27.4aA	3.4abB	3.4 bB	4.7aA
8	95.0aA	96.0aA	87.0aA	24.1aC	30.4aA	25.7bB	3.8 aB	4.2 aB	4.8aA
10	89.5aA	90.0aA	89.5aA	23.5aB	25.2cdA	23.2cB	3.1 bcB	3.2 bB	4.5 abA
12	86.0aA	89.5aA	74.5bB	23.4aB	26.0cA	22.4cC	2.7 cA	3.2 bA	2.7cA
14	88.5aA	94.5aA	94.5aA	23.5aC	24.9dB	25.9bA	3.0 bcB	3.8 abA	4.0 bA
	dm _{Slinha} =9.44 dm _{Scoluna} =11.56 CV=6,14			dm _{Slinha} =0.79 dm _{Scoluna} =0.97 CV=1,84			dm _{Slinha} =0.52 dm _{Scoluna} =0,64 CV=8,4		

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

Verifica-se, ainda, na Tabela IV.6 que para o vigor expresso em comprimento de plântula na temperatura de 25°C não houve diferença estatística pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Observa-se que as sementes de feijão-caupi variedade Potengi com teor de água de 8%b.u. quando imersas em vapor de nitrogênio durante cinco dias, obtiveram as maiores médias de comprimento de plântulas (30.4 cm) em relação aos demais teores (4, 6, 10, 12 e 14% b.u.). Este mesmo comportamento foi observado em relação às sementes de feijão-caupi variedade Cauamê para a característica comprimento de plântulas nas temperaturas de -170°C e -196°C (Tabela IV.5). Verifica-se ainda que as sementes com teor de água acima de 6% quando imersas em nitrogênio líquido diminuiram suas médias de comprimento de plântulas.

Em relação ao vigor expresso pela matéria seca para as sementes armazenadas por cinco dias em temperatura ambiente, observa-se que as sementes com teor de água de 8% b.u. obtiveram as maiores médias alcançando 3,8g de matéria seca. Em relação à temperatura de -170°C as sementes com o teor de 8% b.u. possuem médias significativamente superior (4,2g) às demais, contudo, esse percentual não diferiu, estatisticamente, das sementes armazenadas por cinco dias com o teor de 14% b.u., no entanto, diferiu estatisticamente das sementes quando foram armazenadas com os teores de água de 4, 6, 10 e 12% b.u. que tiveram as menores médias de matéria seca durante o mesmo período de armazenamento. Para as sementes armazenadas a temperatura de -196°C não houve diferença significativa pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade para os teores de 6 e 8% b. u. que obtiveram as maiores médias de matéria seca (4,7g e 4,8g, respectivamente)

Diversos autores conduziram estudos sobre o teor de água limite para crioconervação. CHMIELARZ (2010) estudando a crioconervação de sementes de (*Alnus glutinosa* (L.) Gaertn), verificou que a germinação e o vigor dessas sementes foram mantidos entre o intervalo de teor de água de 9 a 18% (b.u.). COELHO (2006) obteve resultados semelhantes ao deste trabalho, quando estudou o teor de água limite para crioconervação de duas variedades de algodão, verificou que o TALC da cultivar BRS Verde situa-se entre 6 e 8%b.u. e para a cultivar BRS 200 Marrom o TALC é de 8% b.u.. CAVALCANTI MATA et al. (2004), realizando pesquisas para determinar o teor de água limite para crioconervação de sementes de algodão variedade 6M, concluíram que as sementes com teor de água de 12 ou 14% b.u., quando armazenadas a temperatura de 23°C, iniciam o processo de aumento da taxa de respiração que provoca diminuição de sua germinação. Os autores constataram que os melhores índices de germinação e vigor se encontravam entre 4 e 8% b.u..

De acordo com ROCHA et al. (2009), o conhecimento do menor teor de água tolerável pelas sementes, sem que haja o comprometimento da qualidade fisiológica, é indispensável para definir a melhor tecnologia de armazenamento das mesmas. Por meio dessa informação, a conservação das sementes pode ser viabilizada, mediante a secagem parcial, sem que haja o comprometimento na porcentagem de germinação.

Portanto, como no armazenamento das sementes feijão-caupi variedades Cauamê e Potengi por um período de 5 dias ocorreu uma certa semelhança dos testes de germinação e vigor para a temperaturas de -170°C e -196°C e teores de água de 4 a 8%

b.u., constata-se que esses teores de água permitem que as sementes mantenham uma maior qualidade fisiológica, e, deste modo, devem ser considerados como ideais para a criopreservação das sementes de feijão-caupi em bancos de germoplasma criogênicos. Optou-se, no presente trabalho, por adotar o teor de água de 8% b.u. para a realização do armazenamento criogênico pois o mesmo apresentou médias elevadas de germinação quando armazenadas por 5 dias de acordo com a análise estatística.

IV.5 CONCLUSÕES

As sementes de feijão-caupi variedades Cauamê e Potengi possuem um teor de água limite de 4 a 8% b.u para as temperaturas de -170°C e -196°C.

Os melhores porcentuais de germinação das sementes de feijão-caupi foram obtidos quando essas sementes foram criopreservadas em vapor de nitrogênio (-170 °C) e nitrogênio líquido (-196°C), com um teor de água de 8% b.u.

IV.6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, F. A. C.; ORAIS, M.; CARVALHO, J. M. F. C.; GOUVEIA, J. P. G. de Crioconservação de sementes de mamona das variedades nordestina e pernambucana. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, PB, v. 6, n. 2, p.295-302, 2002.

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

BLACK, M. & PRICHARD, H.W. 2002. **Disiccation and survival in plants: drying without dying**. CABI Publishing, Wallingford, 412p.

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

CASTRO, A. A.; CAVALCANTI MATA, M. E. R. M.; BRAGA, M. E. D. Teor de umidade limite para crioconservação de sementes de urucum (*Bixa orella* L.). **Revista Brasileira de Corantes Naturais**, v.5, n.1, p.17-22, 2001.

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

CAVALCANTI MATA, M. E. R. M.; ROCHA, M. S.; DUARTE, M. E. M. Teor de água limite para crioconservação de sementes de algodão arbóreo variedade 6M. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v.6, n.2, p.179-189, 2004.

CAVALCANTI MATA, M. E. R. M. Tecnologia de crioconservação de sementes de urucum. **Tecnologia & Ciência Agropecuária**, João Pessoa, v.2, n.1, p.1-9, mar. 2008.

CHMIELARZ, P. Cryopreservation of Orthodox Seeds of *Alnus Glutinosa*. **Cryoletters**, v.31, n.2, p.139-146, 2010.

COELHO, R. R. P. **Aspectos da crio-preservação de sementes de duas cultivares de algodão colorido (*Gossypium hirsutum* L. raça *latifolium* Hutch.)**. 2006. 89 f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Federal da Paraíba, Areia, 2006.

CUNHA, R. da. Métodos alternativos para conservação de germoplasma-semente. *In*: Puignau, J. P. (Ed.) **Conservación de germoplasma vegetal**. Montevideo: IICA, 1996. p. 123-128. (Dialogo, 45).

ELLIS, R. H.; HONG, T. D.; ROBERTS, E. H. An intermediate category of seed storage behaviour I. Coffee. **Journal Experimental Botany**, Oxford, v. 41, n. 230, p. 1167-1174, 1990a.

ELLIS, R. H.; HONG, T. D.; ROBERTS, E. H. An intermediate category of seed storage behaviour II. Effects of provenance, immaturity, and imbibition on desiccation tolerance in coffee. **Journal Experimental Botany**, Oxford, v. 42, n. 238, p. 653-657, 1990b.

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

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

GOLDFARB, M.; CAVALCANTI-MATA, M. E. R. M. ; BRAGA, M. E. D. Teor de água limite para criopreservação de sementes de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.).

Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais. Campina Grande, v. 10, n. 1, p. 121-129, 2010

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

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

HELLMANN, M.E.;MELLO, J. I.O.; FIGUEIREDO-RIBEIRO, R.C.L. BARBEDO, C.J. Tolerancia ao congelamento de sementes de pau-brasil(*Caesalpinia echinata* Lam.) influenciada pelo teor de água inicial. **Revista brasileira Botânica**, São Paulo, v.29, n. 1, p. 93-101, jan.-mar.2006.

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

LUZ, C. da. Medidores de umidade. **Revista Seeds News**, Pelotas, RS. v.6, n.1, 2002.

MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. 1ed, Piracicaba:FEALQ, 2005. 495 p.

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

MORAES, A. M. de. **Cultivo *in vitro* e crioarmazenagem de sementes de mamona (*Ricinus communis* L.)**. 2001. 95f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) – Centro de Ciências e Tecnologia, Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, 2001.

PIMENTEL, L. **Criopreservação de sementes de girassol *Helianthus annuus* L.** 2009. 72f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) - Departamento de Eng. Agrícola, Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, 2009.

ROBERTS, E. H. Predicting the storage life of seeds. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 12, p. 499-514, 1973.

ROCHA, M. de S.; BELTRAO, N. E. de M.; ALMEIDA, F. de A.C.; MORAIS, A. M. de M.; LIMA, M. S. R. **Criopreservação de eixo embrionário de zigóticos de pinhão manso.** In: Congresso brasileiro de mamona, & simpósio internacional de oleaginosas energéticas, 2010, João Pessoa. Inclusão Social e Energia: Anais... Campina grande: Embrapa Algodão, 2010. p. 242-249.

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

SANTOS, I. R. I. Criopreservação: potencial e perspectivas para a conservação de germoplasma vegetal. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v.12, p.70-84, 2000.

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

SILVA, R. de C.; CAMILLO, J.; GOMES, Z. L.; SCHERWINSKI-PEREIRA, J. E.; Potencial germinativo e morfoanatomia foliar de plântulas de pinhão -manso originadas de germoplasma criopreservado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. Brasília, v.46, n.8, p.836-844, 2011.

SILVA, L. M. de M. **Protocolos de criopreservação de sementes de romã e juá.** 2013. 144f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) - Departamento de Eng. Agrícola, Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, 2013.

STANWOOD, P. C.; ROOS, E. E. Seed storage of several horticultural species in liquid nitrogen (-196 °C). **HortScience**, v.14 n.5, p.628-630, 1979.

STANWOOD, P. C. Cryopreservation of seed germplasm for genetic conservation I n :
KARTHA, K . K . (e.d.) . **Cryopreservation of plant cells and organs**. Boca Rotan:
CRC Press, 1985. p.199-225.

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

VIEIRA, R.D.; CARVALHO, N.M. **Testes de Vigor em Sementes**. FUNEP, UNESP.
1994.164 p.

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

ARMAZENAMENTO CRIOGÊNICO DE SEMENTES DE FEIJÃO-CAUPI

CAPÍTULO V

ARMAZENAMENTO CRIOGÊNICO DE SEMENTES DE FEIJÃO-CAUPI

ARMAZENAMENTO CRIOGÊNICO DE SEMENTES DE FEIJÃO-CAUPI

CAPÍTULO V: ARMAZENAMENTO CRIOGÊNICO DE SEMENTES DE FEIJÃO-CAUPI

RESUMO

A conservação e manipulação dos recursos genéticos vegetais de espécies de valor econômico em bancos de germoplasma são de fundamental importância para a preservação de espécies em nível mundial. Dentre as técnicas alternativas para a conservação do germoplasma de espécies agrícolas, hortícolas e florestais destaca-se a crioconservação. O presente trabalho teve como objetivo estudar o comportamento da germinação e do vigor de sementes de feijão-caupi variedade Cauamê e Potengi quando submetidas ao armazenamento a 25°C e a temperaturas baixas (-20°C, -60°C, -150°C e -196°C). Na crioconservação utilizou-se sementes de feijão-caupi com teor de água limite previamente determinado, a partir do qual procedeu-se o seu armazenamento durante 30, 60, 90, 120, 150 e 180 dias. O delineamento experimental adotado foi inteiramente casualizado com quatro repetições de 50 sementes. Em cada período de armazenamento as sementes foram submetidas a testes de germinação e vigor. Verificou-se que para a germinação e o vigor das sementes, houve influência do fator temperatura, e que as quatro temperaturas utilizadas (-20°C, -60°C, -150°C e -196°C) são indicadas para a crioconservação das sementes de feijão-caupi.

Palavras-chave: crioconservação, germinação, vigor

ABSTRACT

The storage and handling of plant genetic resources of species of economic value in genebanks are of fundamental importance for the preservation of species worldwide. Among the alternative techniques for conservation of germplasm of agricultural, horticultural and forest species stands out as the cryopreservation. The present work aimed to study the behavior of germination and vigor of seeds cowpea variety Cauamê and Potengi when subjected to storage at 25°C and at low temperatures (-20°C, -60°C, -150°C and -196°C). Was used in the cryopreservation of cowpea seeds to a water content predetermined limit, from which it proceeded to its storage for 30, 60, 90, 120, 150 and 180. The experimental design was completely randomized with four replications of 50 seeds. In each storage period the seeds were subjected to germination and vigor tests. It was found that for germination and seed vigor, no influence of the temperature factor, and that the four temperatures used (-20°C, -60°C, -150°C and -196°C) are indicated for the cryopreservation of seeds of cowpea.

Keywords: cryopreservation, germination, vigor

V.1 INTRODUÇÃO

As exigências em manter as sementes armazenadas e viáveis por curta duração ou por períodos mais longos é o que vai definir a aplicação de tecnologias menos ou mais elaboradas. Quando as sementes são empregadas com o intuito de plantação, a sua sobrevivência é necessária por apenas alguns meses ou anos. Quando as sementes são armazenadas como recursos genéticos, a sua viabilidade deve ser mantida durante várias décadas ou até mesmo séculos, visando preservar sua integridade genética.

Desta forma, a prática do armazenamento exige um planejamento prévio criterioso, que abrange várias especificações técnicas e envolvem as características da própria espécie, o tipo e disponibilidade de instalações, as condições ecológicas do local de armazenamento, o período de tempo que os materiais biológicos permanecerão nos depósitos, etc. (PEIXOTO, 2006).

Os bancos de germoplasma distribuídos por todo o mundo possuem coleções de uma grande variedade de recursos genéticos vegetais com o objetivo de conservação e acessibilidade de germoplasma vegetal em longo prazo. De acordo com CAVALCANTI MATA (2008) os bancos de germoplasma são essenciais para a conservação da diversidade biológica das espécies de um País, e a sua preservação, deve obedecer as mais rigorosas e avançadas tecnologias,

Existem inúmeras técnicas disponíveis para a conservação dos recursos genéticos vegetais de espécies agrícolas e florestais. Estas incluem práticas *in-situ* e *ex-situ* como por exemplo, práticas de conservação, micropropagação, germinação das sementes, regeneração a partir de explantes, e crioconservação (CHANG et al, 2000). A crioconservação destaca-se como sendo a tecnologia mais adequada na atualidade para a conservação das espécies vegetais por sementes.

Em comparação com os métodos tradicionais de armazenamento, a crioconservação é mais rentável, requer pouco espaço, e é eficaz para o armazenamento em longo prazo dos recursos genéticos vegetais (ENGELMANN, 2011). Portanto, é uma ferramenta eficaz e poderosa para a conservação *ex-situ* (THAMMASIRI & SOAMKUL, 2007; HIRANO et al, 2009). Trata-se da conservação do material genético em temperaturas ultra-baixas utilizando-se o nitrogênio líquido (-196°C) a fim de se conseguir níveis mínimos de deterioração nas sementes, pois em temperaturas muito

baixas o metabolismo celular fica tão reduzido que a deterioração biológica torna-se ínfima, resultando, na manutenção da qualidade fisiológica das sementes.

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

Deste modo, objetivou-se com o presente trabalho, determinar a germinação e o vigor de sementes de feijão-caupi variedades Cauamê e Potengi quando submetidas à conservação a baixas temperaturas (-20°C, -60°C, -150°C e -196°C), por um período de tempo de 180 dias.

V.2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

V.2.1 Conservação e armazenamento de sementes

À medida que a população mundial aumentava, as fronteiras agrícolas e urbanas se expandiam, ocupando o habitat natural de numerosas espécies de plantas e animais (STUSHNOFF & SEUFFERHELD, 1995). Este fenômeno foi causando rápida e profunda erosão da diversidade genética de espécies de plantas nativas ou mesmo provocando a sua total extinção. A conservação de germoplasma como uma atividade científica foi proposta nos anos 70 para prevenção desta erosão genética e para o melhoramento da produtividade agrícola (IBPGR, 1993). Desde o início da década de 1970, há uma crescente conscientização mundial sobre a necessidade de conservação dos recursos genéticos, que são essenciais para o atendimento das demandas de variabilidade genética dos programas de melhoramento.

A conservação de sementes é uma prática habitual entre os agricultores que, no passado, já possuíam seus próprios métodos de conservar sementes e utilizá-las nos anos seguintes. Na atualidade, os propósitos da conservação estão ampliados, as sementes de espécies em extinção são coletadas para que seja evitado seu desaparecimento. Igualmente as sementes endêmicas são conservadas para restaurações futuras, já que o impacto da atividade humana no meio ambiente tem reduzido a distribuição de muitas espécies (SANTOS, 2000; MEDEIROS & EIRA, 2006).

Conservar sementes significa manter a sua máxima qualidade fisiológica, física, e sanitária, diminuindo ao máximo sua deterioração com a finalidade de uso no futuro. O envelhecimento ou deterioração das sementes, durante o armazenamento, é um processo irreversível que envolve alterações fisiológicas, bioquímicas e físicas, entretanto a velocidade do processo pode ser diminuída por meio de metodologias adequadas de produção, colheita, beneficiamento, transporte e armazenamento (VILLELA & PERES, 2004; MARCOS FILHO, 2005; SENA, 2008).

A conservação é agrupada em duas categorias: na conservação *in situ* e *ex-situ*; neste sentido, quando a conservação de recursos genéticos implica na manutenção de coleção *in situ*, refere-se à manutenção das espécies selecionadas no seu habitat natural em parques, reservas biológicas ou reservas ecológicas. Todavia, observa-se que o método de conservação *in situ* não é capaz de evitar o crescente perigo de extinção de

espécies e, sobretudo, a perda da variabilidade genética. Assim sendo, faz-se necessário que novas formas de conservação desses recursos sejam incorporadas àquelas já em uso, com a finalidade de diminuir, ao máximo, essas perdas irreversíveis. É preciso, conservar tais recursos fora do local de ocorrência, ou seja, *ex situ* (BERJAK et al., 2000; BARBOSA, 2001; WETZEL et al., 2007). A união da conservação *in situ* e *ex situ* do germoplasma de raças locais, cultivares domésticos e parentes silvestres de espécies agronômicas tem sido proposta como medida de prevenção à erosão genética (REED & UCHENDU, 2008). Entre os métodos de conservação *ex situ*, o armazenamento de sementes a baixas temperaturas tem-se mostrado o mais eficiente.

V.2.2 Crioconservação

Como processo natural todo material biológico está sujeito ao envelhecimento, a estrutura e a função dos organismos mudam e se perdem com o tempo, até alcançar a morte. As técnicas de refrigeração admitem retardar o processo de deterioração, mas a utilização de temperaturas ultra baixas permite o armazenamento de organismos vivos em um estado de suspensão animada por períodos extensos. Este processo de congelamento, conhecido como crioconservação, tem demonstrado ser um método eficiente para interromper a deterioração dos organismos utilizando nitrogênio líquido (-196°C) para o armazenamento (ENGELMANN, 2011).

A crioconservação fornece a opção de uma cópia de segurança em longo prazo do germoplasma vegetal que de outra forma poderiam estar em risco (REED & UCHENDU, 2008). Essa técnica de conservação baseia-se na remoção de toda a água congelável dos tecidos vegetais por desidratação osmótica ou física, seguidos por congelamento ultrarrápido em vapor de nitrogênio (-170°C) ou imersão em nitrogênio líquido (-196°C). Nessas temperaturas, os processos metabólicos que necessitam de energia térmica praticamente são paralisados, fazendo com que os processos de deterioração do material ocorram de forma muito lenta podendo ser armazenados por um longo período (COELHO, 2006).

A crioconservação de células, tecidos e órgãos tem suas raízes históricas em estudos realizados na sobrevivência de espécies vegetais em temperaturas subzero. No final dos anos cinquenta, se propôs que alguns materiais poderiam ser recuperados depois da exposição a essas temperaturas, quando se demonstrou pela primeira vez a

possibilidade de crioconservação de esperma animais de forma eficaz, esta técnica foi difundida para armazenar células vivas por largos períodos (UREÑA, 2002). A técnica se aplica para o armazenamento de esperma e embriões humanos, que se utilizam para inseminações artificiais e fertilizações *in vitro*. Também se utiliza para o armazenamento de eritrócitos e tem sido otimamente empregado para a conservação da diversidade microbiana. Em plantas, a possibilidade de crioconservar desde células até órgãos tem sido comprovada vastamente, do mesmo modo que sua utilidade para a conservação de germoplasma e de material gerado em condições de laboratório (ENGELMANN e ENGELS, 2002; SANTOS, 2000).

Diversos pesquisadores têm estudado o efeito da crioconservação na regeneração de diversos produtos agrícolas. DULLOO et al. (2009) estudando métodos de conservação de sementes de café concluiu que a crioconservação pode ser o método de escolha para a conservação a longo prazo da diversidade genética dessas sementes. HAMILTON et al. (2009) estudando crioconservação de sementes de *Citrus*, *Citrus inodora* e *C. garrawayi* verificaram efeitos positivos na germinação dessas sementes após a crioconservação. A eficiência do armazenamento em nitrogênio líquido de cinco espécies raras de orquídea foi observado por NIKISHINA et al. (2007). DUSSERT e ENGELMANN (2006) estudando a crioconservação em sementes de café verificaram elevados percentuais de sobrevivência de plântulas crioconservadas (89%).

V.2.3 Fatores que afetam a sobrevivência à crioconservação

O procedimento ou conjunto de técnicas utilizados na crioconservação depende do tecido ou órgão que se deseje cultivar (ABDELNOUR, 2001). Conforme SANTOS, 2000 a sobrevivência e a regeneração de material crioconservado dependem de inúmeros fatores tais como: tamanho e estágio de desenvolvimento do material, desidratação, congelamento, descongelamento e regeneração.

V.2.3.1 Desidratação

As sementes podem ser classificadas em duas categorias de comportamento de armazenamento, em função da sensibilidade a desidratação das sementes e a tolerância a baixas temperaturas: ortodoxas e recalcitrantes (THEILADE & PETRI 2003).

Sementes ortodoxas toleram dessecação ao final da maturação, o que lhes confere maior longevidade, permitindo armazenamento por períodos prolongados (HOEKSTRA et al., 2001; CASTRO et al. 2004; GUIMARÃES et al., 2008). Contudo, há necessidade de controle da redução do teor de água das sementes, pois para cada espécie há um valor específico ideal.

As sementes recalcitrantes exibem um comportamento inverso, apresentam sensibilidade à secagem e ao armazenamento em baixas temperaturas e possuem teores de água elevados quando maduras. Sua longevidade é muito curta sob condições naturais e os tradicionais métodos de armazenamento são extremamente danosos para as sementes deste grupo (ESPINDOLA, 2007).

Um comportamento intermediário entre o ortodoxo e recalcitrante foi sugerido por ELLIS et al. (1990); neste caso, as sementes toleram a desidratação somente até o grau de umidade entre 7 e 10% e não aceitam temperaturas baixas por tempo prolongado. Esses três padrões de comportamento no armazenamento são encontrados em sementes de diferentes espécies tropicais (CASTRO et al. 2001).

A água desempenha muitas funções biológicas nas células de organismos vivos como meio de transporte, solvente, resfriador (através da evaporação) e constituinte essencial e estabilizador da estrutura das macromoléculas e organelas (KRAMER e BOYER, 1995; VERTUCCI e FARRANT, 1995). Quando um sistema biológico é utilizado para a crioconservação, essa quantidade de água presente no sistema precisa ser removida para evitar injúria causada pela formação de gelo durante o congelamento. No processo de remoção de água, os solutos se tornam mais concentrados, possivelmente aumentando a taxa de reações químicas destrutivas; alguns solutos podem cristalizar-se, mudando o potencial iônico e o pH da solução intracelular, alterando assim o status metabólico da célula (KRAMER e BOYER, 1995). Deste modo, o sucesso de um protocolo de crioconservação está sujeito à desidratação para um teor de água baixo, o suficiente, para impedir a formação de gelo intracelular, mas não tão reduzido que cause injúria por desidratação.

V.2.3.2 Congelamento e descongelamento

Uma vez realizada a desidratação, a fase seguinte do processo geral de crioconservação é o congelamento. Existem dois procedimentos gerais de congelamento,

o primeiro conhecido como congelamento rápido, é o método mais simples e mais utilizado, consiste em submergir o material a ser conservado diretamente no nitrogênio líquido; o segundo método é conhecido por congelamento lento, se utilizam congeladores programados de maneira que a amostra seja submetida a uma velocidade de resfriamento constante e controlada. Uma vez alcançada uma temperatura determinada (geralmente -41°C), o material é armazenado em nitrogênio líquido (ABDELNOUR, 2001).

A dificuldade de um processo de crioconservação é realizar um congelamento sem a formação de cristais de gelo no interior das células. A formação de gelo no meio intracelular provoca ruptura do sistema de membranas celulares, resultando em perda da semipermeabilidade e da estrutura celular; em consequência disso, as células entram em falência e morrem. A injúria mecânica sofrida pelas células devido o congelamento advém de dois fenômenos: o comportamento peculiar da água, que se expande ao congelar-se, e a conformação dos cristais de gelo (SANTOS, 2001; GONZÁLEZ-ARNAO, 2008).

O descongelamento é uma operação fundamental para evitar a perda de qualidade dos produtos congelados antes de seu emprego ou consumo. O tempo requerido para isso geralmente é superior ao necessário para o congelamento, devido às diferenças de condutividade e de difusividade térmica da água e do gelo e à impossibilidade de aplicar elevado gradiente de temperatura (PEREDA et al., 2005).

Há discordâncias quanto à velocidade de congelamento e descongelamento adequada para garantir a integridade do material quando exposto ao nitrogênio líquido. STANWOOD e BASS (1981) sugerem que o congelamento rápido tende a promover um resfriamento mais uniforme de água subcelular e o descongelamento lento evita danos aos tecidos e células das sementes. Em contraste, DUMET e BENSON (2000) propõem que o congelamento rápido resulta em formação de cristais de gelo intracelulares, o que é letal para as células e os tecidos das sementes. Por outro lado, o congelamento lento acarreta em danos ou morte celular, pois ocorre desidratação osmótica extrema, quando a água intracelular movimentada-se para fora da célula compensando a água congelada dos componentes extracelulares.

Em estudos referentes à manutenção de banco de germoplasma, ALMEIDA et al. (2006) afirmam que, o teor de água, sua composição química e as velocidades de congelamento e descongelamento são os fatores que habitualmente, consideram-se como determinante do efeito da crioconservação sobre as sementes, assim como as sementes de

menor tamanho, uma composição química rica em lipídeos ou velocidade de congelamento/descongelamento inadequadas, pode afetar a viabilidade das mesmas

V.2.3.3 Regeneração

Restabelecer o crescimento após a crioconservação é uma das fases críticas deste método. Deve-se permitir a retomada dos processos metabólicos interrompidos pelo congelamento com o mínimo distúrbio osmótico e físico (CARVALHO e VIDAL, 2003). Desta forma, o processo de regeneração ideal é aquele que propicia a recuperação da maior quantidade de células vivas e que induz a formação de uma nova planta (SANTOS, 2000).

Procedimentos de avaliação por coloração tais como testes de tetrazólio e de diacetato de fluoresceína têm sido usados para avaliar a viabilidade de sementes, tecidos e células congeladas. É adequado referir que estes procedimentos podem dar informação errada sobre a viabilidade. Células podem dar reação de coloração positiva imediatamente depois do descongelamento, mas eventualmente morrem em cultura. Em outros casos, células que foram parcialmente afetadas pelo congelamento e estão em estado de choque dão reação de coloração negativa, mas se restauram e retomam desenvolvimento após uma fase de repouso (BAJAJ, 1995). As células podem também apresentar coloração inadequada quando comparadas com controles, não sendo possível definir sua viabilidade. Portanto, a única evidência inquestionável da viabilidade do material submetido ao congelamento em nitrogênio líquido é a retomada do crescimento e a regeneração de um novo indivíduo (SANTOS, 2000).

V.2.4 Fatores que afetam a germinação e o vigor

A germinação tem início com a assimilação de água por embebição, porém, há necessidade de que a semente alcance um nível de hidratação que permita a reativação dos seus processos metabólicos para o estabelecimento das plântulas (GUEDES et al., 2011).

Segundo BRAGA et al. (2009), o período germinativo é importante para a sobrevivência das espécies, principalmente nos locais onde a disponibilidade de água é limitada durante um período do ano. O processo germinativo é avaliado pelo teste de

germinação, no qual são oferecidas à semente condições ambientais favoráveis, de modo a obter-se a máxima germinação possível.

As sementes diminuem o teor de água antes de se libertarem da planta-mãe e com isso as atividades metabólicas continuam quase que totalmente paralisadas. Para TOLEDO e MARCOS FILHO (1977) e CARVALHO e NAKAGAWA (2000), a água é o fator que exerce a mais determinante influência sobre o processo de germinação. Da absorção de água deriva a reidratação dos tecidos com a consequente ativação da respiração e de todas as atividades metabólicas, que culminam com o fornecimento de energia e nutrientes necessários para a retomada de crescimento por parte do eixo embrionário. De acordo com os autores, a velocidade de absorção de água pela semente está na dependência dos seguintes fatores: espécie, disponibilidade de água, área de contato e temperatura.

A temperatura influencia a germinação tanto por atuar sobre a velocidade de absorção de água, como também sobre as reações bioquímicas que originam todo o processo. O processo de germinação é uma sequência extremamente complexa de reações bioquímicas, pelas quais substâncias de reserva armazenadas no tecido de sustentação são desdobradas, transportadas e sintetizadas novamente no eixo embrionário (SILVEIRA et al., 2004). Os autores citam, ainda, que o fator temperatura compromete o processo germinativo de três maneiras diferentes: sobre o total de germinação, sobre a velocidade de germinação e sobre a uniformidade de germinação.

Por fim, o processo germinativo necessita de um suprimento de energia que é fornecido por reações oxidativas, na presença ou na ausência de oxigênio. A maioria das espécies necessita de aeração, ou seja, presença de oxigênio para germinar. O teor de 20% de oxigênio na atmosfera é o suficiente, podendo haver decréscimo na germinação de algumas espécies se a sua tensão baixar significativamente daquela normal na atmosfera (POPINIGIS, 1985).

O vigor das sementes compreende um conjunto de características que determinam o potencial para a emergência e o rápido desenvolvimento de plântulas normais, sob ampla diversidade de ambiente. Segundo POPINIGIS (1985), o vigor das sementes pode ser afetado por três fatores: genético, fisiológico e morfológico.

Nas variações de origem genética, algumas cultivares são mais suscetíveis que outras a condições ambientais desfavoráveis e com menor capacidade de crescer rapidamente. A maior resistência dos híbridos a condições adversas é provavelmente

devida à sua capacidade de crescimento rápido que pode ser, em parte, resultante da elevada eficiência dos seus mecanismos metabólicos, especialmente da atividade das mitocôndrias (SANTOS & CESAR DE PAULA, 2007).

A condição fisiológica da semente pode ser reduzida por duas razões: imaturidade na colheita, e deterioração no armazenamento. Nas variações de origem morfológica, dentro da mesma cultivar, as sementes menores frequentemente originam plântulas menos vigorosas que as maiores (SANTOS & CESAR DE PAULA, 2007).

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

V.3 MATERIAL E MÉTODOS

Após a determinação do teor de água limite para crioconservação foi realizado a secagem das sementes de feijão-caupi variedade Cauamê que estavam com de 11,2% b.u e a variedade Potengi que estava com 11,98 % b.u. para 8% b.u. conforme metodologia descrita no Capítulo IV.

As sementes com teor de água com 8% b.u. foram colocadas dentro de tubos cilíndricos de alumínio (canister) e mantidas em botijões criogênicos (Figura 4.1) com temperaturas de -196°C (nitrogênio líquido) e -150°C (balcão criogênico). As sementes foram também acondicionadas em papel alumínio e armazenadas a -20°C e -60°C.

Ao término de cada período de tempo pré-estabelecido para avaliação das amostras crioconservadas (30, 60, 90, 120, 150 e 180 dias) as sementes foram submetidas ao descongelamento lento, que consistiu no descongelamento à temperatura ambiente de 27±3°C durante tempo suficiente para que as sementes fossem totalmente descongeladas.

Após cada período de crioconservação foram feitas análises da qualidade fisiológica que consistiu no teste de germinação seguindo as “Regras de Análise de Sementes” (BRASIL, 2009) e o teste de vigor das sementes (1ª contagem de germinação, comprimento de plântula e matéria seca) (VIEIRA & CARVALHO, 1994).

Para tanto, foram utilizadas bandejas de plástico contendo substrato de areia, previamente passada em uma peneira e esterilizada em estufa a 200°C por 2 horas. A areia foi umedecida com água destilada sendo repostada à medida que a água era evapotranspirada do substrato pelo ar ambiente. Para cada determinação foram utilizadas quatro bandejas com quatro repetições contendo cada uma 50 sementes. A percentagem de germinação foi obtida pela contagem das plântulas saudáveis, emergidas no quarto dia (1ª contagem) e no décimo dia (2ª contagem) da realização do teste (Figura V.1).



Figura V.1 - Plantas de feijão-caupi variedades Cauamê e Potengi no 10º dia após a semeadura.

O vigor foi determinado após a finalização do teste de germinação. Para a determinação do vigor referente à 1ª contagem de germinação, foi realizada a simples contagem de plântulas normais no quarto dia de realização do teste. Para a determinação do vigor referente ao comprimento de plântulas normais, as mesmas foram submetidas a medições (do ápice da raiz primária ao ápice da parte aérea), com auxílio de uma régua graduada em centímetro. Em seguida, as plântulas foram postas em sacos de papel e levados à estufa regulada a $65 \pm 5^\circ\text{C}$ até atingir peso constante (72 horas) e, decorrido esse período, pesadas em balança analítica com precisão de 0,001g, afim de se determinar o peso da matéria seca.

O delineamento experimental utilizado neste trabalho foi inteiramente casualizado com arranjo fatorial 5 x 6 (5 temperaturas x 6 períodos de armazenagem) com quatro repetições. As análises de variância foram procedidas pelo programa computacional ASSISTAT (SILVA & AZEVEDO, 2009). As médias dos fatores foram comparadas pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

V.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A síntese da análise de variância da germinação das sementes de feijão-caupi variedades Cauamê e Potengi com teor de água de 8% b.u. em função do tempo de armazenamento (30, 60, 90, 120, 150, 180 dias) e temperaturas (-20, -60, -150 e -196°C) pode ser verificada nas Tabelas V.1 e V.2, respectivamente. Observa-se pelo Teste F da análise de variância da germinação, valores significativos para as variáveis e suas interações, os resultados indicam que as variáveis analisadas não são independentes, isto é, uma intervém no comportamento da outra.

Tabela V.1 -Análise de variância da germinação das sementes de feijão-caupi variedade Cauamê para diferente temperaturas de congelamento e tempos de armazenagem

Fonte de Variação	G.L.	Q.M.	Variável do Teste F
Tempo (t)	5	131.9000	27.164 **
Temperatura (T)	4	135.3667	27.878 **
Int t x T	20	15.1666	3.1236 **
Resíduos	90	4.8555	
CV% = 2.04			

**significativo ao nível de 1% de probabilidade.

Tabela V.2 -Análise de variância da germinação das sementes de feijão-caupi variedade Potengi para diferente temperaturas de congelamento e tempos de armazenagem

Fonte de Variação	G.L.	Q.M.	Variável do Teste F
Tempo (t)	5	89.2333	25.658 **
Temperatura (T)	4	117.4666	33.776 **
Int t x T	20	8.4666	2.4345 **
Resíduos	90	3.4777	
CV% = 2.04			

**significativo ao nível de 1% de probabilidade.

Os valores médios da viabilidade das sementes de feijão-caupi variedade Cauamê com teor de água de 8% b.u. e armazenadas nas temperaturas de 25°C, -20°C, -60°C, -150°C e -196°C por 30, 60, 90, 120, 150, e 180 dias, são apresentados na Tabela V.3.

Verifica-se pelos dados desta Tabela V.3, que as médias da germinação das sementes de feijão-caupi variedade Cauamê armazenadas por 180 dias não diferiram

estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade para as temperaturas de -20, -60 e -196°C, mantendo porcentagens de germinação elevadas quando comparado à germinação das sementes armazenadas em temperatura ambiente (25°C), observa-se, portanto, um efeito benéfico do congelamento sobre a germinação das sementes. VIEIRA et al. (2008) estudando a germinação e o armazenamento de sementes de camboatã (*Cupania vernalis cambess.*) verificaram uma diminuição na qualidade fisiológica das sementes quando foram armazenadas em temperatura ambiente.

Em relação às sementes de feijão-caupi armazenadas em balcão criogênico (-150°C) a maior média de germinação (95.5%) foi registrada aos 60 dias de armazenamento, contudo, observa-se que não houve diferença significativa pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade em relação aos períodos de 30, 90 e 180 dias de armazenamento. Constata-se, assim, que as sementes de feijão-caupi variedade Cauamê podem ser conservadas nas temperaturas de -20, -60, -150 e -196°C sem apresentarem perdas consideráveis em seu potencial germinativo.

Tabela V.3 - Valores médias de germinação das sementes de feijão-caupi variedade Cauamê em diferentes temperaturas e períodos de armazenamento

Tempo (dias)	Germinação (%)				
	25°C	-20°C	-60°C	-150°C	-196°C
30	91.5aB	91.0aAB	92.5aAB	95.0abA	93.0aAB
60	89.0abB	89.5aB	90.0aB	95.5aA	92.0aAB
90	89.5abB	88.0aB	90.5aAB	93.5abA	94.5aA
120	88.5abA	90.0aA	93.0aA	90.5bA	91.5aA
150	87.5bcB	89.0aAB	91.5aA	90.5bA	92.5aA
180	87.0cB	90.5aAB	93.5aA	91.0abA	93.5aA

DMS linhas = 4.326; DMS colunas = 4.523. Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Alguns autores têm estudado a viabilidade de diversas sementes submetidas à crioconservação. TRESENA et al. (2009) armazenaram sementes de ipê rosa em vapor de nitrogênio e nitrogênio líquido e concluíram que as sementes são crioconserváveis, pois os valores médios de germinação e o vigor mantiveram-se inalterados durante o período de 90 dias. ROCHA et al. (2009) crioconservando sementes de algodão constataram que os melhores resultados de qualidade fisiológica das duas cultivares estudadas foram obtidos aos 90 dias de crioconservação, tanto no vapor de nitrogênio (-

170 °C) como na imersão em nitrogênio líquido (-196 °C). WETZEL et al. (2003) afirmam que a crioconservação vem comprovando sua eficiência na conservação a longo prazo para a maioria das espécies tolerantes à dessecação, sugerindo ser uma forma de conservação da diversidade biológica.

Na Tabela V.4 encontram-se os valores do resumo da análise de variância do vigor das sementes de feijão-caupi variedade Cauamê obtidos para a 1ª contagem de germinação, comprimento de plântulas e peso da matéria seca nos diferentes períodos de armazenamentos (30, 60, 90, 120, 150 e 180 dias).

Tabela V.4 - Síntese da análise de variância referente a 1ª contagem de germinação, comprimento da plântula e matéria seca das sementes de feijão-caupi variedade Cauamê crioarmazenadas durante 6 períodos

Fonte de Variação	Grau de Liberdade	1ª Contagem de germinação	Comprimento de plântula	Matéria seca
Tempo (t)	5	5.7750**	40.4403**	23.4428**
Temperatura (T)	4	53.8233**	291.3204**	11.7761**
Int t x T	20	2.2377**	13.6158**	13.3777**
Resíduos	90			
CV%		2.47	2.23	8.26

**significativo ao nível de 1% de probabilidade.

Constata-se na Tabela V.4 que existem diferenças significativas nas taxas do vigor das sementes feijão-caupi variedade Cauamê com teor de água de 8% b.u., e que as interações tempo de armazenamento versus temperatura foram significativos ao nível de 1% de probabilidade para os parâmetros 1ª contagem de germinação, comprimento de plântulas e matéria seca.

Na Tabela V.5 encontram-se os valores médios do vigor das sementes de feijão-caupi variedade Cauamê crioconservadas por 30, 60, 90, 120, 150 e 180 dias pela 1ª contagem de germinação, comprimento de plântula e matéria seca.

Pelos dados da 1ª contagem de germinação, Tabela V.5, pode ser observado para a temperatura de 25°C um comportamento similar ao da germinação das sementes de feijão-caupi variedade Cauamê (Tabela V.3), ou seja, à medida que o período de armazenamento aumentou, verifica-se uma tendência de diminuição das médias do vigor das sementes de feijão-caupi Cauamê. PEREIRA et al. (2012), objetivando avaliar os efeitos do período e métodos de armazenamento de sementes de maracujazeiro,

observaram que não houve índice de emergência de plântulas quando estas foram armazenadas em temperatura ambiente.

Em relação à 1ª contagem de germinação das sementes de feijão às temperaturas de -20°C e -196°C, observa-se, novamente, comportamento similar ao verificado na germinação das sementes feijão (Tabela V.3), ou seja, durante o armazenamento por 180 dias não foi verificada diferenças estatísticas entre as médias de emergência de plântulas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Comparando-se as temperaturas utilizadas neste trabalho, observa-se uma tendência de aumento da 1ª contagem de germinação ao longo dos 180 dias de armazenamento quando as sementes foram armazenadas em nitrogênio líquido, observa-se, portanto, um efeito benéfico do congelamento sobre a germinação das sementes. Resultados semelhantes foram encontrados por LOPES et. al. (2013) objetivando avaliar um protocolo para crioconservação de eixos embrionários de algodoeiro, concluíram que os eixos com teor de água de 9,7% b.u. podem regenerar mais de 80% de plântulas in vitro, após 60 dias de armazenamento em nitrogênio líquido (-196 °C).

Para o vigor expresso pela 1ª contagem de germinação das sementes de feijão em relação à temperatura de -60°C com teor de água de 8% b.u., observa-se uma germinação significativamente superior (86.5%) quando armazenadas por 30 dias, contudo, esse percentual não diferiu, estatisticamente, das sementes armazenadas por 60 e 120 dias, no entanto, diferiu estatisticamente das sementes quando foram armazenadas por 90, 150 e 180 dias tiveram as menores médias de germinação (80,5%, 81,5% e 81,5%, respectivamente).

Observa-se, ainda para o vigor referente à 1ª contagem de germinação de plântulas normais (Tabela V.5) que embora existam oscilações entre as médias na temperatura de -150°C, percebe-se que ao longo do período de crioconservação não houve diferença significativa entre os valores, uma vez que para estas temperaturas a média do vigor no início do armazenamento (30 dias) não diferiu da média do vigor para o final do armazenamento (180 dias).

Diversos autores têm reportado o benefício do armazenamento a temperaturas baixas na germinação e vigor de diversas espécies. GOLDFARB et al. (2008), verificaram que as sementes de pinhão manso podem ser crioconservadas à temperatura de -196 °C, com teor de água entre 4 a 8% (b.u.), pois sua germinação e o seu vigor não são alterados significativamente. ALVES et al. (2006) observaram que, para sementes de *Passiflora*

alata, o armazenamento com refrigeração foi favorável à manutenção da viabilidade das sementes. LACERDA et al. (2002) crioarmazenando sementes de pau-ferro (*Caesalpinia ferrea* Mart.) por imersão em nitrogênio líquido à temperatura de $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ e comparando as alterações fisiológicas (germinação e vigor) dessa semente com técnicas de armazenagem convencionais por um período de tempo de 105 dias, concluíram que a germinação e o vigor das sementes de pau-ferro é preservada sob condições ambientais (médias de $23\text{ }^{\circ}\text{C}$ e 73% de umidade relativa) e quando submetidas a crioconservação por 105 dias.

Em relação ao vigor expresso pelo comprimento de plântula das sementes de feijão-caupi variedade Cauamê (Tabela V.5), verifica-se que quando as sementes foram armazenadas em temperatura ambiente ($25\text{ }^{\circ}\text{C}$) observa-se uma tendência de uniformidade das médias do comprimento de plântulas ao longo dos 150 dias, de acordo com o teste de Tukey a 5% de probabilidade. Para a temperatura de $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, observa-se que não houve diferença significativa para o período de armazenamento estudado nesta pesquisa, exceto para a média de comprimento de plântulas quando as sementes foram armazenadas aos 60 dias, que obtiveram as menores médias de comprimento quando comparado aos demais períodos.

Ainda de acordo com a Tabela V.5, o comprimento das plântulas de feijão-caupi Cauamê quando armazenadas por 180 dias a temperatura de $-60\text{ }^{\circ}\text{C}$ obteve as maiores médias para as sementes armazenadas durante 30 e 60 dias. Para as sementes armazenadas em balcão criogênico, verifica-se a maior média de comprimento de plântula aos 30 dias de armazenamento, contudo, observa-se que não houve diferença significativa pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade em relação aos períodos de 60 e 120 dias de armazenamento.

Em relação ao vigor (comprimento de plântulas) das sementes de feijão-caupi variedade Cauamê quando armazenadas por 180 dias em nitrogênio líquido ($-196\text{ }^{\circ}\text{C}$) verifica-se que as maiores médias foram obtidas aos 30 dias de armazenamento (31,5 cm).

Embora exista uma diminuição do comprimento de plântulas das sementes de feijão ao longo do armazenamento em nitrogênio líquido, observa-se, que as maiores médias de comprimento de plântulas, quando comparada às demais temperaturas pelo teste de Tukey 5% de probabilidade, foram obtidas pra a temperatura de $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Os resultados aqui conseguidos vêm reafirmar, a exemplo de outros experimentos, que a temperatura de armazenamento garante a conservação da qualidade das sementes.

Sementes de *S. obtusifolium*, armazenadas em embalagens permeáveis, semipermeáveis e câmara fria mantiveram sua viabilidade ao longo de um ano de armazenamento (SILVA, 2010). KISSMANN (2009) avaliando diferentes ambientes de armazenamento de sementes de *Albizia hasslerii*, observou que as plântulas provenientes de sementes armazenadas em câmara fria foram mais vigorosas que as armazenadas em temperatura ambiente.

Pode-se observar o efeito benéfico da crioconservação para as sementes de feijão-caupi, esse comportamento é semelhante a diversos outros produtos agrícolas, conforme trabalhos realizados por vários pesquisadores, dentre eles: HAMILTON et al. (2009) estudando crioconservação de sementes de *Citrus*, *Citrus inodora* e *C. garrawayi*; KIM et al. (2009) analisando o efeito da crioconservação em sementes de alho; DULLOO et al. (2009) estudando a viabilidade das sementes de café após a crioconservação.

Tabela V.5 - Valores médios do vigor (1ª contagem de germinação, comprimento de plântula e matéria seca) das sementes de feijão-caupi variedade Cauamê para os 6 períodos de armazenamento às temperaturas de 25, -20, -60, -150 e -196 °C

Tempo (dias)	Temperatura (°C)														
	1ª contagem de germinação (%)					Comprimento de plântula (cm)					Matéria seca (g)				
	25	-20	-60	-150	-196	25	-20	-60	-150	-196	25	-20	-60	-150	-196
30	87.5aB	87.0aB	86.5aB	92.0abA	90.5aAB	23.7abD	25.0aCD	25.5abC	29.1aB	31.5aA	3.96aBC	3.55bC	3.96abBC	4.85aA	4.53aAB
60	87.0abBC	86.5aBC	84.0abC	92.5aA	89.5aAB	24.9aC	23.5bD	25.9aC	28.6abB	30.3abA	3.58abC	3.80bBC	4.23aAB	4.73aA	4.19abABC
90	85.0abcB	85.0aB	80.5bC	91.5abA	92.0aA	23.6abD	25.6aC	26.0aC	27.4bcB	29.6bA	3.44abB	4.53aA	3.01cB	3.22bB	4.36abA
120	87.5aAB	84.5aBC	83.0abC	88.0bAB	89.0aA	23.9abD	25.6aC	24.1cD	27.8abB	29.7bA	3.23bC	3.82bAB	4.06abA	3.29bBC	3.02cC
150	83.0bcC	85.5aBC	81.5bC	88.0bAB	90.0aA	24.1abC	25.3aB	23.6cC	27.6bA	29.1bA	3.49abA	3.42bA	3.46bcA	3.42bA	3.55cA
180	82.5cB	87.5aA	81.5bB	88.5abA	91.0aA	22.9bC	25.3aBC	24.4bcC	26.1cAB	27.5cA	3.60abBC	4.85aA	3.11cC	3.24bBC	3.80bcB
	DMS para colunas = 4.428 DMS para linhas = 4.235 CV%=2.47					DMS para colunas = 1.363 DMS para linhas = 1.303 CV%= 2.53					DMS para colunas = 0.6369 DMS para linhas = 0.6090 CV%= 8.26				

Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a 1% de probabilidade.

No tocante ao vigor medido pelo peso da matéria seca das sementes de feijão-caupi variedade Cauamê para a temperatura de 25°C (Tabela V.5), verifica-se que apesar de não apresentarem um comportamento uniforme, devido as oscilações ao longo do armazenamento, pode-se constatar que não há diferenças significativas entre as médias obtidas aos 30 dias de armazenamento e as últimas médias, aos 180 dias de armazenamento. Em relação à temperatura de -20°C, observa-se que as maiores médias de peso da matéria seca (4.85g) foram verificadas aos 180 dias de armazenamento, indicando um efeito benéfico das temperaturas baixas no armazenamento das sementes de feijão-caupi.

Para as sementes de feijão-caupi armazenadas por 180 dias a uma temperatura de -60°C, verifica-se que a média do peso da matéria seca foi significativamente superior aos 30, 60 e 120 dias de armazenamento pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Já quando as sementes foram armazenadas em balcão criogênico (-150°C), as maiores médias de peso de matéria seca das sementes de feijão-caupi variedade Cauamê foram alcançadas nos dois primeiros meses de armazenamento.

Analisando os dados do vigor para a matéria seca (Tabela V.5) é possível constatar que o comportamento do peso médio das sementes para a temperatura de -196°C foi semelhante ao encontrado para o comprimento de plântulas. De um modo geral, verifica-se que à medida que aumentou o período de armazenamento, o vigor das sementes diminuiu devido ao avanço da deterioração, que influencia diretamente no desempenho das sementes refletindo em seu potencial de armazenagem. Apesar de verificada essa diminuição no peso da matéria seca, pode-se verificar na Tabela V.5 que as temperaturas de congelamento utilizadas neste trabalho (-20, -60, -150 e -196°C) promovem uma ação positiva no vigor das sementes de feijão-caupi variedade Cauamê quando comparadas ao armazenamento em temperatura ambiente (25°C). Comprovando, mais uma vez, o efeito benéfico da crioconservação nas sementes de feijão-caupi.

Resultados semelhantes foram encontrados por BARBEDO et al., (2002) quando armazenando sementes de *Caesalpinia echinata* sob condições de temperatura ambiente, verificaram a perda da viabilidade em menos de três meses, enquanto que em temperatura baixa (câmara fria a 7 ± 1 °C) mantiveram a viabilidade das sementes por até 18 meses, com emergência superior a 80%.

Diversos autores vêm estudando o efeito da crioconservação na germinação e vigor de diversos produtos agrícolas. PORTO (2013), objetivando propor metodologias de crioconservação de calos, ápices caulinares e sementes de barbatimão, concluiu que é possível utilizar essa técnica na preservação do barbatimão. GONZAGA et al. (2003) concluíram em sua pesquisa, que semente de baráúna, quando crioconservada nas temperaturas de -170 °C e -196 °C durante 25 dias apresentam percentuais de germinação mais elevados que os iniciais, indicando haver durante este processo quebra de dormência dessas sementes pelo frio. MORAES (2001,) não constatou diferença significativa na viabilidade das sementes de duas variedades de mamona crioconservadas no vapor do nitrogênio, em três períodos de crioconservação, contudo, a -196 °C verificou aumento da germinação e da matéria seca aos 30 dias e tendência à estabilização aos 60 dias de armazenamento. BATISTA (2000), obteve para duas variedades de gergelim maior porcentagem de vigor e germinação depois de 60 dias das sementes imersas em nitrogênio líquido, frente às médias obtidas aos 5 e 30 dias de crioconservação.

Os valores médios da viabilidade das sementes de feijão-caupi variedade Potengi com teor de água de 8% b.u. e armazenadas nas temperaturas de 25°C, -20°C, -60°C - 150°C e -196°C por 30, 60, 90, 120, 150, e 180 dias, são apresentados na Tabela V.6.

Verifica-se pelos dados desta tabela que as sementes de feijão-caupi variedade Potengi armazenadas à temperatura ambiente de 25°C não diferiram estatisticamente entre si até os 90 dias de armazenamento, após este período, verifica-se uma diminuição na germinação das sementes, chegando ao final do período de armazenamento (180 dias) com uma média germinativa de 87,0%. Resultados semelhantes foram encontrados por ANDRADE et al. (1994) que armazenando sementes de sorgo em temperatura ambiente, detectaram uma queda na germinação dessas sementes após o armazenamento, reforçando a importância do controle da temperatura para uma maior conservação do potencial de armazenamento das sementes. Possivelmente, a redução da germinação ocorreu devido ao fato de que a taxa de metabolismo das sementes armazenadas em temperatura ambiente é maior em relação a temperaturas criogênicas, proporcionando um envelhecimento mais acelerado das sementes no decorrer do período armazenado (PIMENTEL, 2009).

Observa-se ainda na Tabela V.6 que para o armazenamento a temperatura de -20°C, não houve diferença significativa na germinação das sementes de feijão-caupi durante o período armazenado (180 dias), exceto aos 120 dias de armazenamento, que se

percebe uma discreta redução da germinação das sementes. Verifica-se também, que as maiores médias de germinação (92.0% e 92.5%) a essa temperatura, foi obtida aos 30 e 60 dias de armazenamento, respectivamente.

Tabela V.6 - Valores médias de germinação das sementes de feijão-caupi variedade Potengi em diferentes temperaturas e períodos de armazenamento

Tempo (dias)	Germinação (%)				
	25°C	-20°C	-60°C	-150°C	-196°C
30	93.0aB	92.0aB	91.5aB	95.0aAB	97.5aA
60	92.5aBC	92.5aBC	91.0abC	95.0aAB	97.0abA
90	92.5aA	91.5abA	87.5bcB	93.0aA	95.0abcA
120	90.5abAB	88.0bBC	85.5cC	91.5abAB	93.0cA
150	87.5bB	89.5abB	89.0abcB	89.0bcB	93.5bcA
180	87.0bB	89.5abAB	89.0abcB	86.5cB	93.0cA

DMS linhas = 3.673; DMS colunas = 3.841. Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Ainda de acordo com a Tabela V.6, observa-se que para a temperatura de -60°C houve uma tendência de uniformidade nas médias de germinação das sementes, uma vez que não verifica-se diferenças estatísticas entre o início do armazenamento (30 dias) e o final do armazenamento (180 dias). Em relação às sementes de feijão quando armazenadas por 180 dias em balcão criogênico (-150°C) observa-se as maiores médias de germinação aos 30, 60 e 90 dias com médias acima de 93% de plantas germinadas.

Para as sementes de feijão-caupi variedade Potengi que foram crioconservadas em nitrogênio líquido, verifica-se uma discreta diminuição no percentual de germinação das sementes a partir dos 120 dias de armazenamento. Apesar desta discreta redução nos três meses finais do armazenamento, observa-se que as médias foram superiores a 93%, indicando que as sementes de feijão-caupi variedade Potengi podem ser crioconservadas em nitrogênio líquido. Esses resultados concordam com TRESENA et al. (2009) que trabalhando com sementes de *Tabebuia heptahylla* (Vellozo) Toledo relataram que tanto a germinação como o vigor se mantiveram inalterados durante o período de crioconservação de 90 dias, indicando que as sementes são crioconserváveis. THAMMASIRI e SOAMKUL (2007) estudando o armazenamento criogênico em

sementes de *Vanda coerulea* Griff. ex Lindl. verificaram que após a imersão em nitrogênio líquido as sementes foram capazes de desenvolver plântulas normais e saudáveis.

Um parâmetro importante deve ser definido para cada procedimento que é o tempo que um material pode ser conservado de tal forma que, quando avaliado, mostre pelo menos 60 % de sobrevivência (VAN DEN HOUVE et al., 1995 citado por VIEIRA, 2000). Os protocolos de crioconservação devem ser recomendados quando a sobrevivência tiver sido avaliada e registrada baseados nesse percentual. No que diz respeito às temperaturas de armazenamento utilizadas neste trabalho todas apresentaram índices de germinação de plântulas saudáveis acima de 85%, demonstrando efeito positivo do armazenamento a frio nas sementes de feijão-caupi. No entanto, as sementes armazenadas na temperatura de -196°C mantiveram porcentagens de germinação elevadas (97%) quando comparadas à germinação inicial (94%).

Na Tabela V.7 encontram-se os valores do resumo da análise de variância do vigor das sementes de feijão-caupi variedade Potengi obtidos para a 1ª contagem de germinação, comprimento de plântulas e peso da matéria seca nos diferentes períodos de armazenamentos (30, 60, 90, 120, 150 e 180 dias).

Tabela V.7 - Síntese da análise de variância referente a 1ª contagem de germinação, comprimento da plântula e matéria seca das sementes de feijão-caupi variedade Potengi crioarmazenadas durante 6 períodos

Fonte de Variação	Grau de Liberdade	1ª Contagem de germinação	Comprimento de plântula	Matéria seca
Tempo (t)	5	17.2938**	40.4403**	16.2067**
Temperatura (T)	4	32.3146**	291.3204**	29.7322**
Int t x T	20	2.1969**	13.6158**	1.8812*
Resíduos	90			
CV%		2.45	2.23	9.78

** significativo ao nível de 1% de probabilidade.

* significativo ao nível de 5% de probabilidade.

Constata-se na Tabela V.7 que existem diferenças significativas nas taxas do vigor das sementes feijão-caupi variedade Potengi com teor de água de 8% b.u., e que as interações tempo de armazenamento versus temperatura foram significativas ao nível de 1% de probabilidade para o parâmetros 1ª contagem de germinação e comprimento de plântulas; e para os parâmetros analisados em relação a matéria seca a interação tempo de armazenamento versus temperatura foi significativo ao nível de 5% de probabilidade.

Na Tabela V.8 encontram-se os valores médios do vigor das sementes de feijão-caupi variedade Potengi crioconservadas por 30, 60, 90, 120, 150 e 180 dias pela 1ª contagem de germinação, comprimento de plântula e matéria seca.

Pelos dados da 1ª contagem de germinação, pode ser observado para a temperatura de 25°C um comportamento similar ao da germinação (Tabela V.6), ou seja, à medida que o período de armazenamento aumentou, a partir dos 90 dias de armazenamento, as médias do vigor das sementes de feijão-caupi diminuíram. Resultado semelhante foi encontrado por GIORDANI e SILVEIRA (2007) que constataram que o vigor das sementes de *Vernonia polyanthes* armazenadas em temperatura ambiente decresceu em função do tempo de armazenamento.

Observa-se, para o vigor referente à 1ª contagem de germinação de plântulas normais que as sementes de feijão Potengi, quando submetidas ao armazenamento à temperatura de -20°C com teor de água de 8% b.u., demonstraram uma tendência de uniformidade nas médias de germinação até os 150 dias de crioconservação. Em relação a 1ª contagem de germinação das sementes de feijão-caupi Potengi quando armazenadas no balcão criogênico (-150°C) por 180 dias, observa-se comportamento semelhante ao das sementes armazenadas na temperatura de -20°C, em que verifica-se uma tendência de manutenção da germinação até 90 dias de armazenamento de acordo com o teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Ainda de acordo com a Tabela V.8, verifica-se que embora existam discretas oscilações em relação à 1ª contagem de germinação entre as temperaturas de -60, -196°C, percebe-se que ao longo do período de crioconservação não houve diferença significativa entre os valores, uma vez que para estas temperaturas a média do vigor no início do armazenamento (30 dias) não diferiu da média do vigor para o final do armazenamento (180 dias). Observa-se que as sementes chegaram ao final do período de armazenamento, quando imersas em nitrogênio líquido, com 91% de plântulas sadias germinadas, constatando-se a eficiência da crioconservação no armazenamento de sementes de feijão-caupi. Resultados semelhantes foram encontrados por ALMEIDA et al. (2000) que também observaram respostas heterogêneas para a viabilidade de algumas sementes de leguminosas, depois de sua imersão em nitrogênio líquido.

Buscando avaliar o sucesso da crioconservação, vários pesquisadores têm trabalhado nesse tema, como por exemplo, HU HISH et al. (2013) estudando a

crioconservação de *Bletilla formosana* (Hayata) Schltr. verificaram a manutenção da viabilidade das sementes e maiores taxas de germinação quando estas sementes foram imersas em nitrogênio líquido (-196°C); HIRANO et al. (2009) concluíram que as sementes de orquídea podem ser crioconservadas por longos períodos sem que haja dano na germinação e vigor ao longo do armazenamento; MOLINA et al. (2006) verificaram que as sementes de cebola mantiveram sua qualidade fisiológica quando submetidas a diferentes técnicas de crioconservação.

Em relação ao vigor expresso pelo comprimento de plântula das sementes de feijão-caupi variedade Potengi (Tabela V.8), verifica-se uma tendência de manutenção no comprimento das plântulas ao longo dos 120 dias de armazenamento, de acordo com o teste de Tukey a 5% de probabilidade. Para a temperatura de -20°C, observa-se que não houve diferença significativa para o período de armazenamento estudado nesta pesquisa, exceto para a média de comprimento de plântulas quando as sementes foram armazenadas aos 60 dias, que obtiveram as menores médias de comprimento quando comparado aos demais períodos.

Para as temperaturas de -60°C e -150°C observa-se a manutenção do comprimento de plântulas até os 90 dias de armazenamento para -60°C e até os 60 dias quando as sementes foram armazenadas no balcão criogênico (-150°C), após estes períodos observa-se uma tendência de decréscimo na altura média das plântulas. Comportamento semelhante foi observado quando as sementes foram armazenadas em nitrogênio líquido, a partir dos 30 dias de armazenamento observa-se uma tendência de diminuição na altura média das plântulas. Apesar desse decréscimo, verifica-se que as maiores médias de comprimento de plântulas para as sementes de feijão-caupi variedade Potengi foram observadas quando as sementes foram armazenadas na temperatura de -196°C.

Resultados semelhantes aos encontrados nesta pesquisa foram observados por JITSOPAKULA et al. (2012) estudando o efeito da crioconservação na germinação de sementes de *Vanda tricolor*, verificaram efeitos positivos do nitrogênio líquido na germinação dessa espécie. ALMEIDA et al. (2002) que procuraram desenvolver técnicas de crioconservação para duas variedades de *Ricinus communis*, com vistas a uma armazenagem segura e por tempo indefinido, concluíram que os melhores resultados de qualidade fisiológica foram obtidos aos 30 dias da crioconservação.

Tabela V.8 - Valores médios do vigor (1ª contagem de germinação, comprimento de plântula e matéria seca) das sementes de feijão-caupi variedade Potengi para os 6 períodos de armazenamento às temperaturas de 25, -20, -60, -150 e -196 °C

Tempo (dias)	Temperatura (°C)														
	1ª contagem de germinação (%)					Comprimento de plântula (cm)					Matéria seca (g)				
	25	-20	-60	-150	-196	25	-20	-60	-150	-196	25	-20	-60	-150	-196
30	87.5abC	89.0abBC	86.0aC	93.0aAB	95.0aA	24.0abD	25.3aC	25.9aC	29.1aB	31.5aA	4.06aBC	3.84aC	3.80aC	4.69abAB	5.00aA
60	88.0aBC	90.0aABC	87.0aC	92.0aAB	94.0aA	25.2aD	23.7bE	26.4aC	28.6abB	30.3bA	4.10aBC	4.12aBC	3.69aC	4.75aAB	4.89abA
90	89.0aAB	88.0abcB	83.5aC	91.0abAB	92.5aA	24.0abD	25.7aC	26.4aBC	27.4bB	29.6bA	4.17aAB	3.82aBC	3.18aC	4.18abcAB	4.74abA
120	87.0abA	84.5cA	83.5aA	86.3cA	87.0bA	24.2abD	26.0aC	24.2bD	27.6bB	29.7bA	3.81abABC	3.38aBC	3.11aC	3.96bcAB	4.18bA
150	86.0abB	87.0abcAB	85.5aB	87.0bcAB	91.0abA	23.2bC	25.5aB	23.8bC	27.4bA	27.1cA	3.26bB	3.48aB	3.45aB	3.44cdB	4.27abA
180	83.0bB	85.0bcB	85.5aB	84.5cB	91.0abA	23.5bC	25.4aAB	24.5bBC	26.0cA	27.0cA	3.23bB	3.66aAB	3.39aB	3.15dB	4.31abA
DMS para colunas = 4.439 DMS para linhas = 4.245 CV=2.45%					DMS para colunas = 1.209 DMS para linhas = 1.156 CV%= 2.23					DMS para colunas = 0.7878 DMS para linhas = 0.7534 CV%= 9.78					

Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a 1% de probabilidade.

Ainda de acordo com a Tabela V.8 em relação ao vigor expresso pelo peso da matéria seca para as sementes de feijão-caupi variedade Potengi, observa-se um decréscimo gradativo ao longo do armazenamento do peso da matéria seca quando as sementes foram armazenadas em temperatura ambiente (25°C). Em contrapartida, verifica-se que as médias do peso da matéria seca se mantiveram constantes, quando comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade, durante todo o período de armazenamento (180 dias) para as temperaturas de -20°C e -60°C, indicando a eficiência do congelamento para as sementes de feijão-caupi variedade Potengi, assim como observado para as sementes de feijão-caupi variedade Cauamê (Tabela V.5).

Em relação ao peso da matéria seca para as sementes de feijão-caupi armazenadas por 180 dias na temperatura de -150°C, observa-se uma tendência de manutenção das médias até os 90 dias de armazenamento, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

Constata-se para o vigor referente à matéria seca (Tabela V.8) que embora existam oscilações nas médias entre a temperatura de -196°C, percebe-se que ao longo do período de crioconservação não houve diferença significativa entre os valores, uma vez que para estas temperaturas a média do vigor no início do armazenamento (30 dias) não diferiu da média do vigor para o final do armazenamento (180 dias).

De modo geral percebe-se que o vigor referente à 1ª contagem de germinação, comprimento de plântula e matéria seca apresentam uma tendência de manutenção ao longo do período armazenado para as temperaturas de -150°C e -196°C. O alto desempenho das médias das sementes durante o armazenamento deve-se a fatores como quebra de dormência e teor de água reduzidos em todas as condições avaliadas, possibilitando dessa forma taxas metabólicas reduzidas, e prolongando assim, a longevidade das sementes.

V.5 CONCLUSÕES

Durante o período de 180 dias de armazenamento das sementes de feijão-caupi da variedade Cauamê e variedade Potengi na temperatura de 25°C houve redução na germinação e no vigor.

As sementes feijão-caupi da variedade Cauamê e variedade Potengi mantiveram a viabilidade durante o período de armazenamento, podendo ser armazenadas nas quatro temperaturas utilizadas na pesquisa (-20°C, -60°C, -150°C e 196°C).

A qualidade fisiológica (germinação e vigor) das sementes feijão-caupi das variedades Cauamê e Potengi mostrou-se eficaz com a utilização dos métodos de criopreservação, apresentando um aumento no percentual em relação a temperatura ambiente.

V.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDELNOUR, A. **Consercación *in vitro* de los recursos fitogenéticos**. Cartago. CR. Instituto Tecnológico de Costa Rica. 2001. 24p.

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

ALMEIDA, F. de A.C.; PITA VILLAMIL, J.M.; GOUVEIA, J.P.G. de. Efeito de La crioconservacion sobre la germinacion de semillas de leguminosas. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, PB, v. 2, n. 1, p. 67-71, 2000.

ALMEIDA, F. A. C.; MORAIS, A. M. DE; CARVALHO, J.M.F.C.; GOUVEIA, J.P.G. Crioconservação de sementes de mamona das variedades nordestina e pernambucana. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 6, n. 2, p. 295-302, 2002.

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

ANDRADE, R. V.; AZEVEDO, J. T.; BORBA, C. S.; OLIVEIRA, A. C. Testes de vigor em sementes de sorgo para predizer o armazenamento. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 16, n. 1, p. 102-106, 1994.

BAJAJ, Y. P. S. Cryopreservation of plant cell, tissue, and organ culture for the conservation of germoplasm and biodiversity. In: Bajaj, Y.P.S. (Ed) **Biotechnology in agriculture and forest**. Cryopreservation of plant germoplasm I. Berlim, Heidelberg, Springer-Verlag, v. 32, p3-28,1995.

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

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

BARBOSA, F. B. da C. A biotecnologia e a conservação da biodiversidade Amazônica, sua inserção na política ambiental. **Cadernos de Ciência & Tecnologia**, Brasília, v.18, n.2, p.69-94, 2001.

BATISTA, R.C. **Cultivo *in vitro* e criopreservação de sementes de gergelim (*Sesamum indicum* L.)**. 2000. 83f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola), Centro de Ciências e Tecnologia, Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, PB, 2000.

BERJAK, P.; WALKER, M.; MYCOCK, D.J.; WESLEY-SMITH, J.; WATT, P.; PAMMENTER, N.W. Cryopreservation of recalcitrant zygotic embryos. In: ENGELMANN, F.; TAKAGI, H. (Ed.). **Cryopreservation of tropical plant germplasm: current research progress and application**. Tsukuba: Japan International Research Center for Agricultural Sciences, Japan/International; Rome: International Plant Genetic Resources Institute, 2000. p.140-155.

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

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

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

CARVALHO, J. M. F. C.; VIDAL, M. S. **Crioconservação no melhoramento vegetal**. Campina Grande: EMBRAPA CNPA, 2003. 26p. (EMBRAPA CNPA Algodão, Documento, 115).

CASTRO, A.A.; CAVALCANTI MATA, M.E.R.M.; BRAGA, M.E.D. Teor de umidade limite para crioconservação de sementes de urucum (*Bixa orella* L.). **Revista Brasileira de Corantes Naturais**. Viçosa, v.5, n.1, p.17- 22, 2001.

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

CAVALCANTI MATA, M. E. R. M. **Tecnologia de crioconservação de sementes de urucum**. Tecnologia & Ciência Agropecuária, João Pessoa, v.2, n.1, p.1-9, 2008.

CHANG, C.; CHEN, C. T.; TSAI, T.C.; CHANG, W.C. (2000) A tissue culture protocol for propagation a rare plant species *Lilium speciosum* Thunb var. *gloriosoides* Baker. **Botanical Bulletin of Academia Sinica**.v. 41, p.139-142, 2000

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

DUARTE, D.M. **Armazenabilidade de sementes de sempre-viva pé-de-ouro (*Syngonanthus elegans*) e mini-saia (*Syngonanthus arthrotrichus*)**. 2009. 52p. Trabalho de Conclusão de Curso (Pós-Graduação Strictu Sensu em Produção Vegetal). Instituto de Ciências Agrárias, Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina, 2009.

DULLOO M. E.; EBERT A. W.; DUSSERT S.; GOTOR E.; ASTORGA C.; VASQUEZN.; RAKOTOMALALA J. J.; RABEMIAFARA A.; EIRA M.; BELLACHEW B.;OMONDI C.; ENGELMANN F.; ANTHONY F.; WATTS J.; QAMAR Z.;SNOOK L. Cost efficiency of cryopreservation as a long termconservation method for coffee genetic resources. **Crop Science**, v. 49, p.2123–2138; 2009.

DUMET, D.; BENSON, E. E. The use of physical and biochemical studies to elucidate and reduce cryopreservation- induce damage in hydrated/desiccated plant germoplasm. In: ENGELMANN, F.; TAKAGI, H. **Cryopreservation of tropical plant germplasm current research progress and application**. Japan International Research Center for Agriculture Science, Tsukuba, Japan; International Plant Genetic Resources Institute, Rome,Italy (JIRCAS/IPGRI) 2000. p. 43-56.

DUSSERT S.; ENGELMANN F. New determinants of coffee (*Coffea Arabica* L.) seed tolerance to liquid nitrogen exposure. **Cryo Letters**, v.27, p.169–178; 2006.

ELLIS, R. H.; HOMG, T. D.; ROBERTS, E. H. An intermediate category of seed storage behavior. I. Coffe. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 41, p. 1167-1174. 1990.

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

ENGELMANN, F.**Use of biotechnologies for the conservation of plant biodiversity**. In Vitro Cell Developmental Biology Plant, v.47, p.5-16, 2011.

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

GIORDANI, S. C. O. ; SILVEIRA, F. A. O. Efeito da temperatura de armazenamento na longevidade de sementes de Vernoniae (Asteraceae). In: VIII Congresso de Ecologia do Brasil, 2007, Caxambu, MG. **Anais...** Caxambu: Sociedade de ecologia do Brasil. 2007.

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

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

GONZALÉZ-ARNAO, M. E. G. Development and large scale application of cryopreservation techniques for shoot and somatic embryo cultures of tropical crops. **Plant Cell Tissue and Organ Culture**, Dordrecht, v.92, n.1, p.1-13, 2008.

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

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

HAMILTON K. N.; ASHMORE S. E.; PRITCHARD H. W. Thermal analysis and cryopreservation of seeds of Australian wild Citrus species (Rutaceae): *Citrus australasica*, *C. inodora* and *C. garrawayi*. **Cryo Letters**, v.30, p. 268–279, 2009.

HIRANO, T.; GODO, T.; MIYOSHI, K.; ISHIKAWA, K.; ISHIKAWA, M. M. Cryopreservation and low-temperature storage of seeds of *Phaius tankervilleae*. **Plant Biotechnology Report**, v. 3, p. 103-109, 2009.

HU HSIN, W.; YANG, Y. H.; LIAW, S. I.; CHANG, C. Cryopreservation the seeds of a Taiwanese terrestrial orchid *Bletilla formosana* (Hayata) Schltr. by vitrification. **Botanical Studies**, v.54, n.33, 2013

IBPGR (International Board for Plant Genetic Resources) **Geneflow: a publication about the earth's plant genetic resources**. Rome. Italy, 1993. p.19.

JITSOPAKULA, N.; THAMMASIRIB, K.; YUKAWAC, T.; ISHIKAWAD, K. Effect of cryopreservation on seed germination and protocorm development of *Vanda tricolor*. **Science Asia**, v.38, p.244–249, 2012.

KIM H. H.; SHIN D. J.; NO N. Y.; YOON M. K.; CHOI H. S.; LEE J. S.; ENGELMANN F. **Cryopreservation of garlic germplasm collections using the droplet–vitrification technique**. In: Abst. 1st international symposium on cryopreservation in horticultural species. Leuven, Belgium, v.39, p.5–8, 2009.

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

KRAMER, P.J.; BOYER, J.S. **Water relations of plants and soils**. San Diego, CA, Academic Press, 1995.

LACERDA, S.N.B.; CAVALCANTI MATA, M.E.R.M.; BRAGA, M.E.D.; SILVA, F. de A.S. e. Estudo comparativo da criarmazenagem de semente de pau-ferro (*Caesalpinia ferrea* mart.) com as técnicas convencionais de armazenagem. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v.4, n.1, p.7-14, 2002.

LOPES, K. P.; ALMEIDA, F. DE A. C.; CARVALHO, J. M. F. C.; BRUNO, R. DE L. A. Criopreservação de eixos embrionários zigóticos de algodoeiro. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**. v.17, n.3, 2013.

MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. 1ed, Piracicaba:FEALQ, 2005. 495 p.

MEDEIROS, A.C.S.; EIRA, M.T.S. **Comportamento Fisiológico, Secagem e Armazenamento de Sementes Florestais Nativas**. Colombo-PR: Embrapa Florestas, 2006. Circular técnica, Nº 127.

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

MORAES, A. M. de. **Cultivo *in vitro* e crioarmazenagem de sementes de mamona (*Ricinus communis* L.)**. 2001. 95f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) – Centro de Ciências e Tecnologia, Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, 2001.

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

NIKISHINA T. V.; POPOVA E. V.; VAKHRAMEEVA M. G.; VARLYGINA T. I.; KOLOMEITSEVA G. L.; BUROV A. V.; POPOVICH E. A.; SHIROKOV A.I.; SHUMILOV V.; YU V.; POPOV A. S. Cryopreservation of seeds and protocorms of rare temperate orchids. **Russ Journal Plant Physiology**, v.54, p.121–127; 2007.

PEIXOTO, M. **Enciclopedia Agrícola Brasileira**, S-Z, São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo: Fapesp. v.6, 2006. 632p.

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

SANTOS, S. R. G. dos; CESAR DE PAULA, R. Qualidade fisiológica de sementes de *Sebastiania commersoniana* (Baill.) Smith & Downs (branquilha – Euphorbiaceae) durante o armazenamento. **Scientia Forestalis**, n. 74, p. 87-94, junho 2007.

SANTOS, I. R. I. Criopreservação: potencial e perspectivas para a conservação de germoplasma vegetal. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v.12, p.70-84, 2000.

SANTOS, I.R.I. Criopreservação de germoplasma vegetal. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, n. 20, - maio/junho. 2001.

SENA, C.M. **Sementes Florestais: colheita, beneficiamento e armazenamento**. Unidade de Apoio do PNF no Nordeste. Natal: MMA, 2008. 28p. (Guias Técnicos, 2).

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

THAMMASIRI, K, SOAMKUL, L. Cryopreservation of *Vanda coerulea* Griff. ex Lindl. seeds by vitrification. **Science Asia**, n.33, p.223-227, 2007.

THEILADE, I.; PETRI, L. Conservation of tropical trees *ex situ* through storage and use. **Guidelines and Technical Notes**, Danida Forest Seed Centre, Humlebaek, Denmark, n.65, 2003.15p.

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

TOLEDO, F.F. de; MARCOS FILHO, J. Secagem de sementes. In: TOLEDO, F.F. de; MARCOS FILHO, J. **Manual das sementes: Tecnologia da produção**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1977, p.123-144.

PEREIRA, W. V. S.; VIEIRA, L. M.; RIBEIRO, L. M.; SIMÕES, M. O. M.; OLIVEIRA, T. G. S. Armazenamento de sementes de maracujazeiros. Pesquisa Agropecuária Tropical. v. 41, n. 2, p. 273-278, 2011.

PIMENTEL, L. **Crioconservação de sementes de girassol *Helianthus annus* L.** 2009. 72f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) - Departamento de Eng. Agrícola, Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, 2009.

POPINIGIS, F. **Fisiologia da semente.** Brasília: AGIPLAN, 1985. p.145-156.

PORTO, J. M. P. **Criopreservação de calos, ápices caulinares e sementes de barbatimão.** Tese (Doutorado em Agronomia/Fisiologia). Universidade Federal de Lavras, Departamento de Biologia, Lavras, 2013.

REED B. M.; UCHENDU E. **Controlled rate cooling.** In: Reed B. M. (ed) Plant cryopreservation: a practical guide. Springer, Berlin, p. 77– 92; 2008.

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

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

SILVEIRA, F.A.O.; NEGREIROS, D.; FERNANDES, G.W. **Influência da luz e da temperatura na germinação de sementes de *Marcetia taxifolia* (A. St.-Hil.) DC. (Melastomataceae).** Acta bot. bras. v.18, n.4, p.847-851, 2004.

STANWOOD, P.C.; BASS, L. N. Seed germoplasm preservation using liquid nitrogen. **Seed Science and Technology**, Zurich, v.9, p.423-437, 1981.

STUSHNOFF, C.; SEUFFERHELD, M. Cryopreservation of Apple (*Malus species*) Genetic Resources. In.: BAJAJ, Y.P.S. ed, **Biotechnology in Agriculture and Forestry**, , Cryopreservation of Plant Germplasm I. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, v. 32, p.87-101, 1995.

UREÑA, J. A.N. **Encapsulamiento de meristemas de papa (*solanum tuberosum*) para la crioconservación y la propagación en invernadero**. 2002. Especialización. Informe de práctica de especialidad en ingeniería biotecnología Centro de investigación en biotecnología. Costa Rica.2002.

VERTUCCI, C.W.;FARRANT, J.M. Acquisition and loss of desiccation tolerance. In: KIGEL, J.; GALILI, G. (Eds.) **Seed development and germination**. New York, Marcel Dekker, 1995. p. 237-271.

VIEIRA, R.D.; CARVALHO, N. M. de. **Testes de vigor em sementes**. Jaboticabal: FUNEP, 164p. 1994.

VIEIRA, C, V.; ALVARENGA, A.A. de ; CASTRO, E. M. de; NERY, F.C.; SANTOS, M. de O. Germinação e armazenamento de sementes de camboatã (*Cupania vernalis Cambess.*) sapindaceae. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 32, n. 2, p. 444-449, mar./abr., 2008.

VILLELA, F.A.; PERES, W.B. **Coleta, beneficiamento e armazenamento**. In: FERREIRA, A.G.; BORGHETTI, F. (Ed.). Germinação: do básico ao aplicado. Porto Alegre: Artmed, 2004. p.149-162.

WETZEL, M.M.V.S; REIS, R.B.; RAMOS, K.M. **Metodologia para crioconservação de sementes de espécies florestais nativas**. Circular Técnica, Brasília, n.26, p. 1-5, set. 2003.

WETZEL, M. M. V. S.; SILVA, D. B.; GOEDERT, C. O.; PEREIRA NETO, L. G. P. Conservação de germoplasma-semente a longo prazo no Brasil. **Magistra**, v.19, p.393-398, 2007.

VI CONSIDERAÇÕES FINAIS

As condições do ambiente de armazenamento das sementes contribuem para a manutenção da qualidade fisiológica deste material. Na presente pesquisa constatamos que a crioconservação minimiza os problemas de deterioração biológica, pois permite a preservação do material biológico por longos períodos, objetivo principal dos bancos de germoplasma.

Na literatura especializada existe um expressivo número de trabalhos com sementes crioconservadas demonstrando um crescente interesse no estudo desse tipo de conservação. Ainda assim, as pesquisas com sementes devem ser aprimoradas, sobretudo quanto aos aspectos fisiológicos envolvidos na germinação e dormência e a conservação da viabilidade mediante diferentes condições de armazenamento.

Nesse sentido, pesquisas devem ser incentivadas na área, afim de contribuir para a preservação da diversidade biológica existente.

SUGESTÃO PARA TRABALHOS FUTUROS

1. Estudar as propriedades termofísicas em temperaturas ultra-baixas;
2. Utilizar a microscopia eletrônica para avaliação de possíveis danos causados às sementes durante o processo de congelamento;
3. Avaliar outras possibilidades de descongelamento das sementes armazenadas

ARMAZENAMENTO CRIOGÊNICO DE SEMENTES DE FEIJÃO-CAUPI

APÊNDICE

(Dados referentes à cinética de congelamento: tempo, razão de temperatura e valores do resíduo versus valores preditos das curvas de congelamento de sementes feijão-caupi variedades Cauamê e Potengi a -20, -60, -150 e -196 °C em diferentes teores de água)

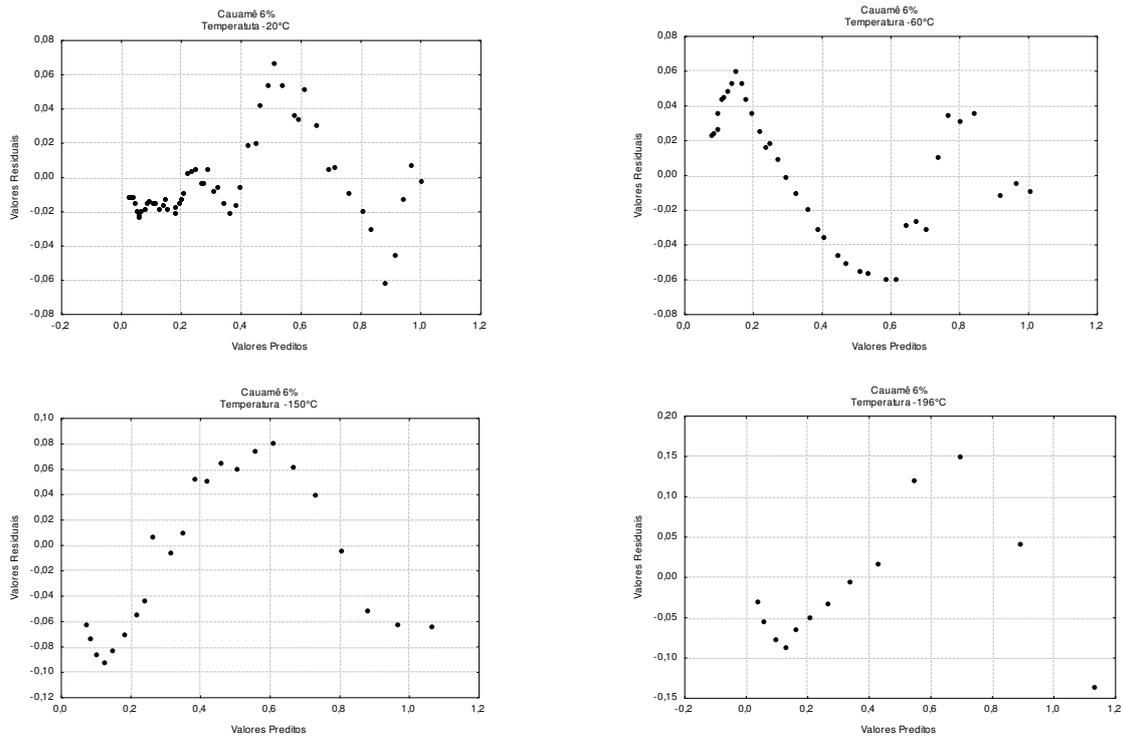


Figura A.III.1 - Valores do resíduo versus valores preditos das curvas de congelamento de sementes de feijão-caupi Cauamê no teor de água de 6% (b.u.), nas temperaturas de -20, -60, -150 e -196°C

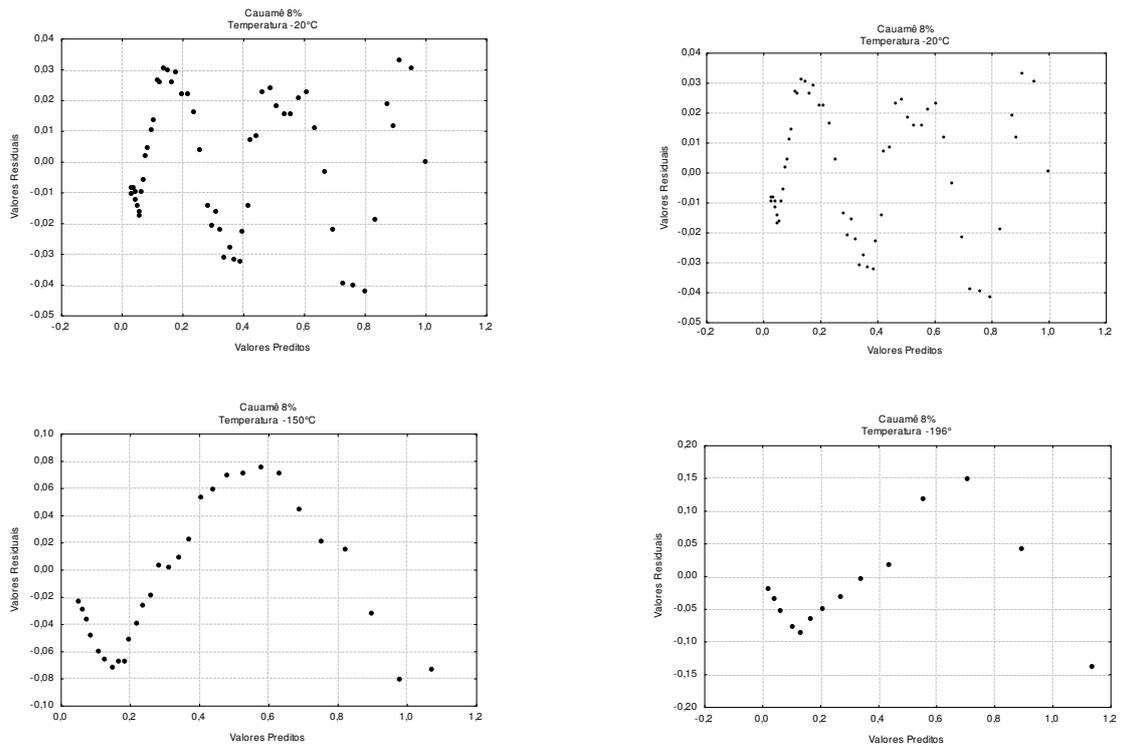


Figura A.III.2 - Valores do resíduo versus valores preditos das curvas de congelamento de sementes de feijão-caupi Cauamê no teor de água de 8% (b.u.), nas temperaturas de -20, -60, -150 e -196°C

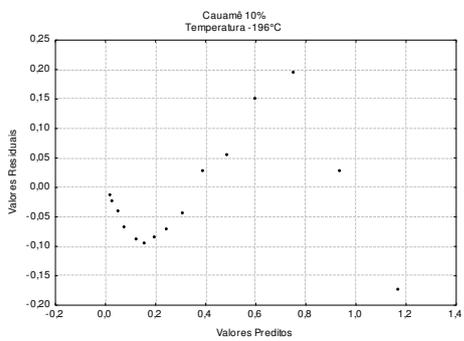
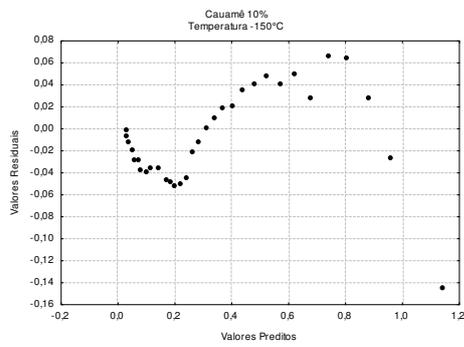
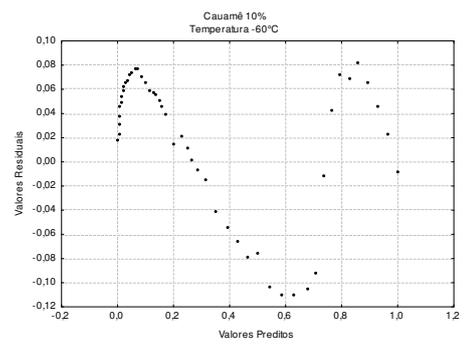
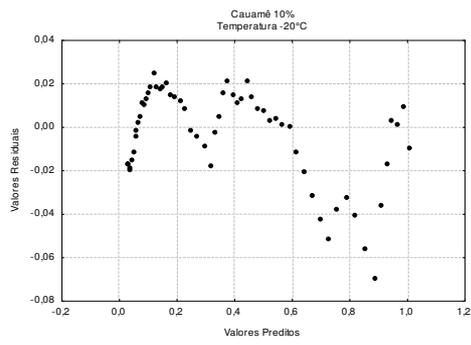


Figura A.III.3 - Valores do resíduo versus valores preditos das curvas de congelamento de sementes de feijão-caupi Cauamê no teor de água de 10% (b.u.), nas temperaturas de -20, -60, -150 e -196°C

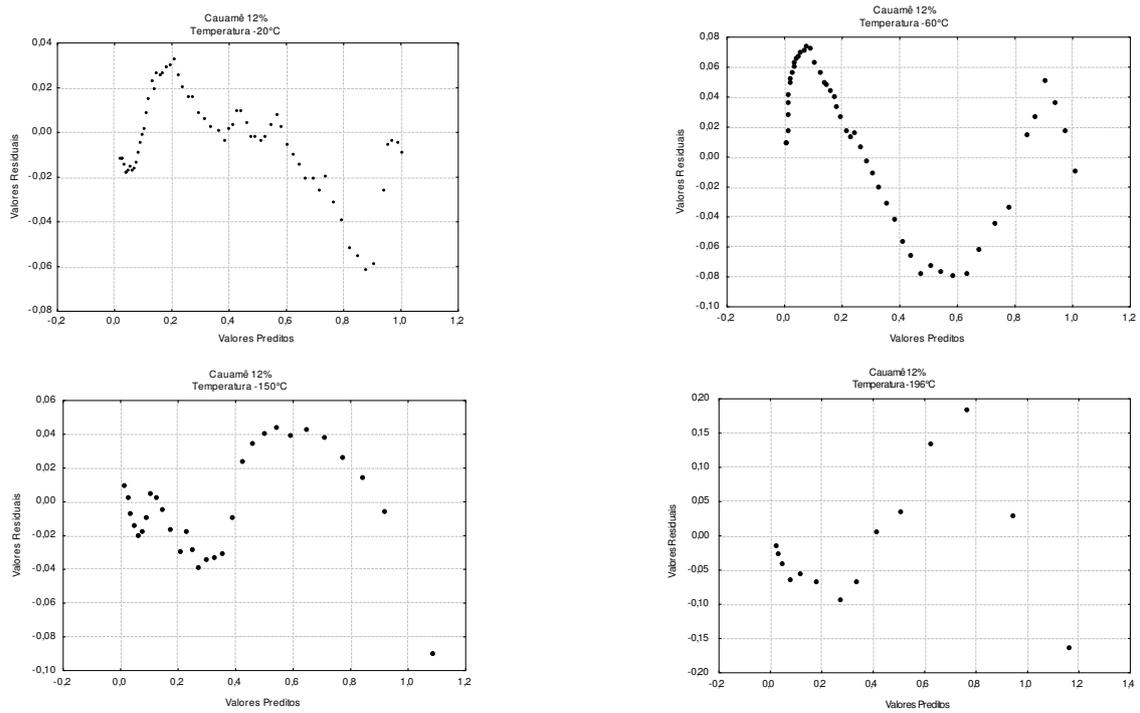
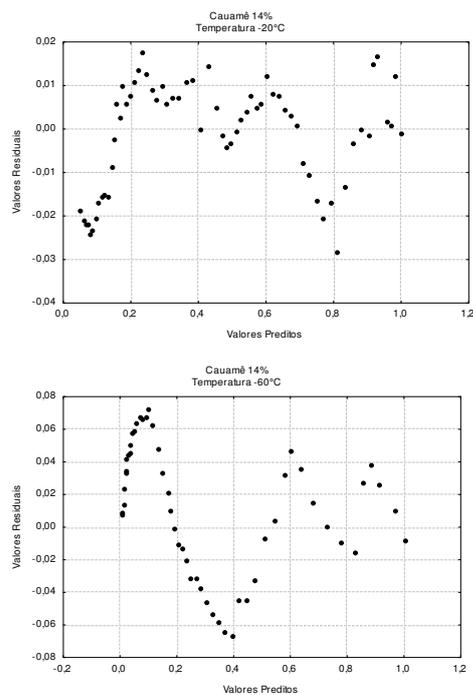


Figura A.III.4 - Valores do resíduo versus valores preditos das curvas de congelamento de sementes de feijão-caupi Cauamê no teor de água de 12% (b.u.), nas temperaturas de -20, -60, -150 e -196°C



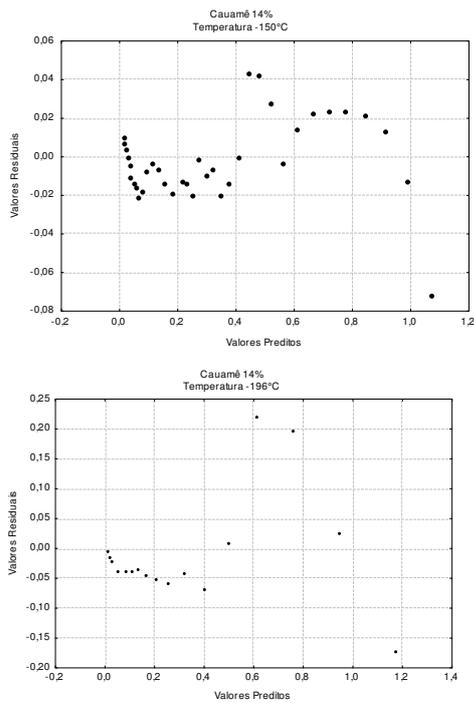


Figura A.III.5 - Valores do resíduo versus valores preditos das curvas de congelamento de sementes de feijão-caupi Cauamê no teor de água de 14% (b.u.), nas temperaturas de -20, -60, -150 e -196°C

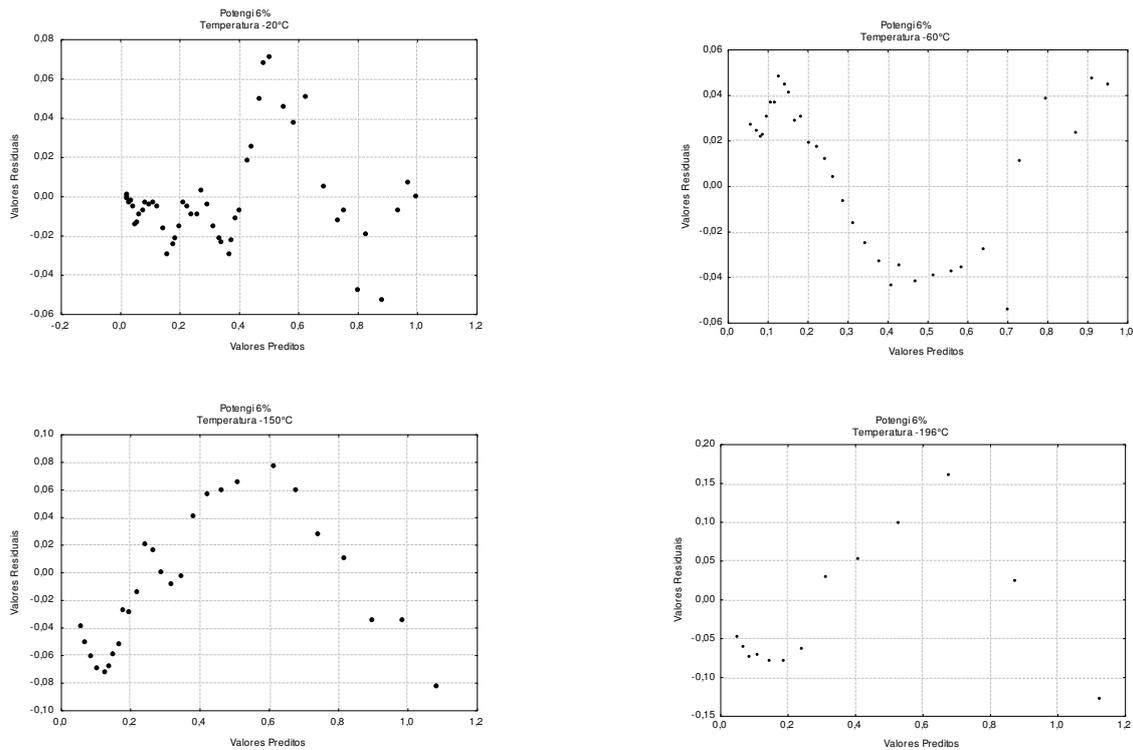


Figura A.III.6 - Valores do resíduo versus valores preditos das curvas de congelamento de sementes de feijão-caupi Potengi no teor de água de 6% (b.u.), nas temperaturas de -20, -60, -150 e -196°C

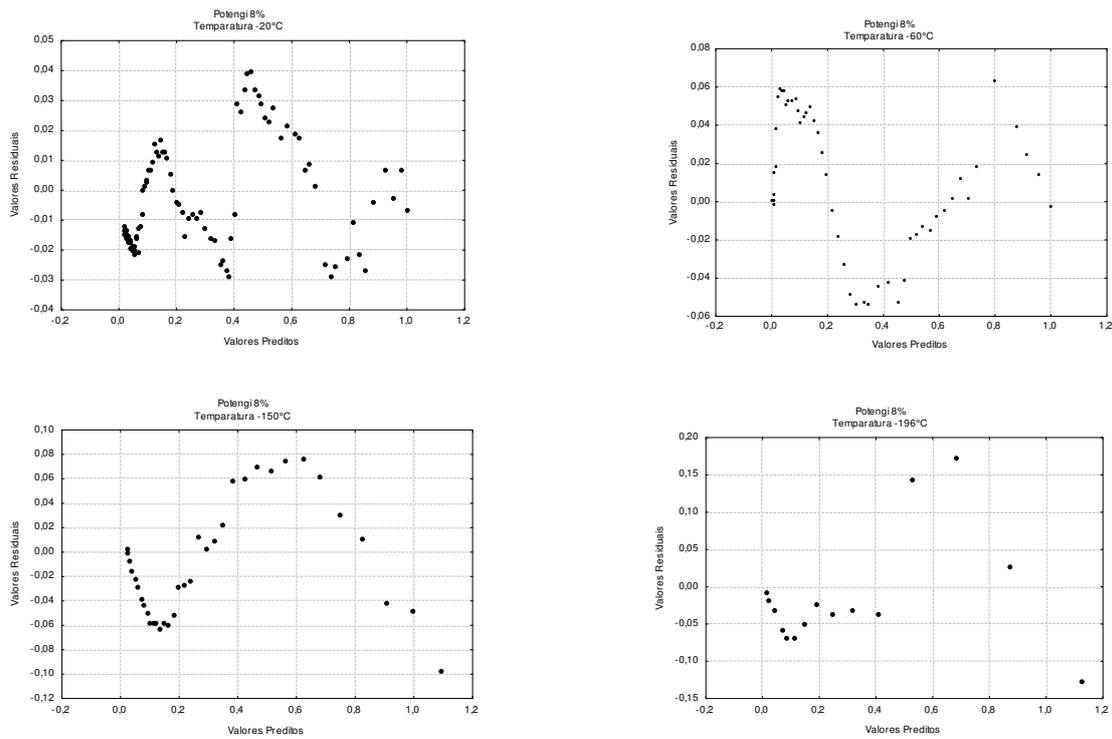


Figura A.III.7 - Valores do resíduo versus valores preditos das curvas de congelamento de sementes de feijão-caupi Potengi no teor de água de 8% (b.u.), nas temperaturas de -20, -60, -150 e -196°C

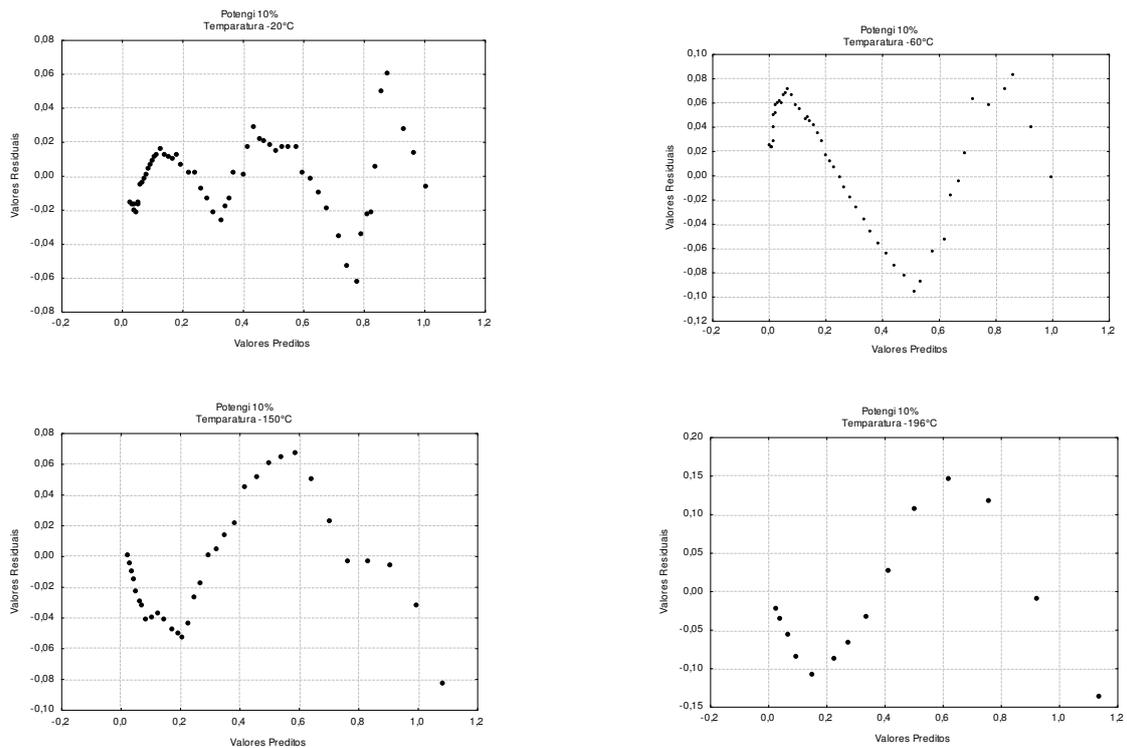


Figura A.III.8 - Valores do resíduo versus valores preditos das curvas de congelamento de sementes de feijão-caupi Potengi no teor de água de 10% (b.u.), nas temperaturas de -20, -60, -150 e -196°C

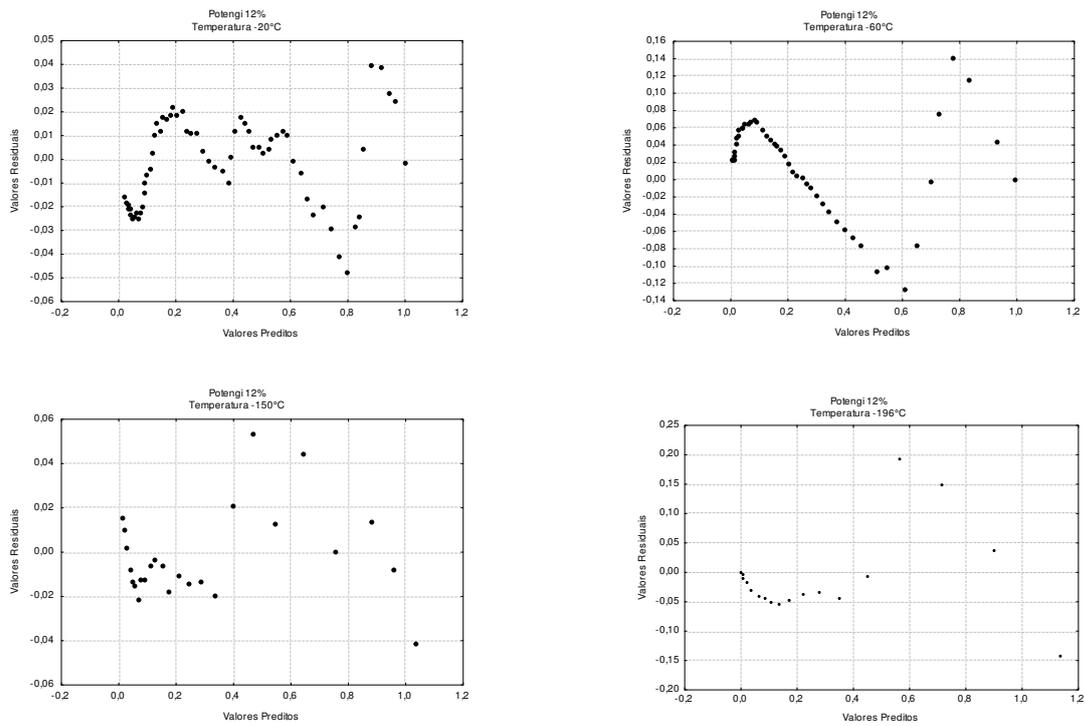


Figura A.III.9 - Valores do resíduo versus valores preditos das curvas de congelamento de sementes de feijão-caupi Potengi no teor de água de 12% (b.u.), nas temperaturas de -20, -60, -150 e -196°C

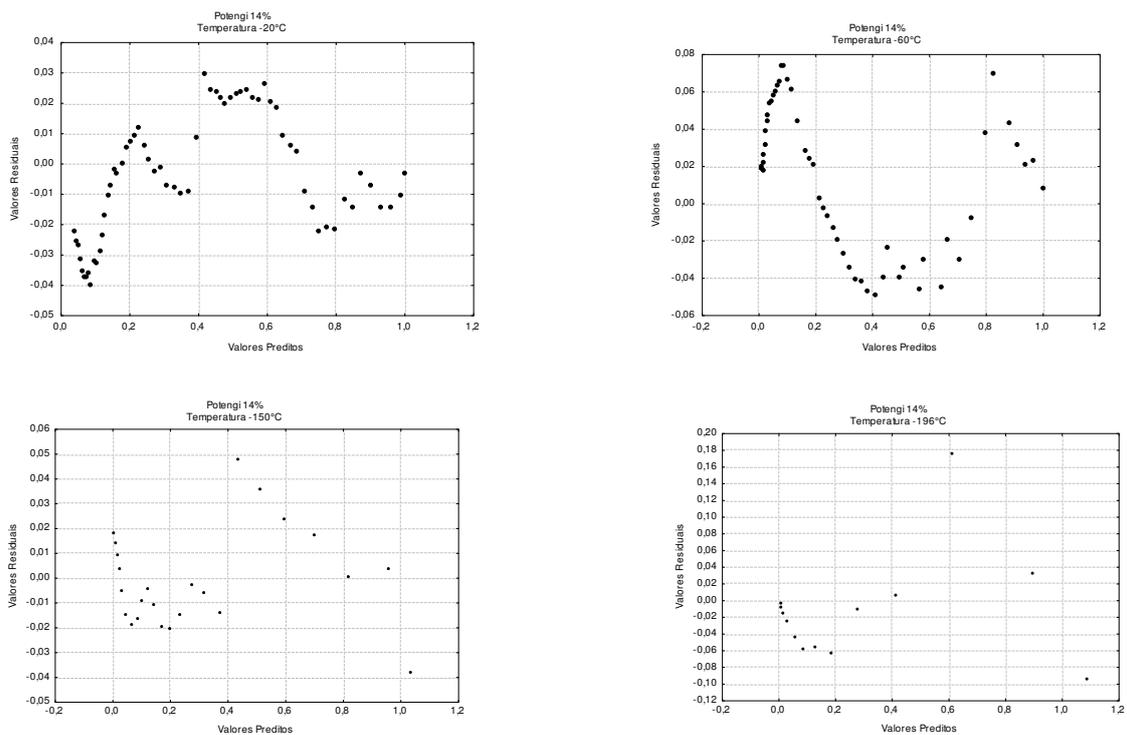


Figura A.III.10 - Valores do resíduo versus valores preditos das curvas de congelamento de sementes de feijão-caupi Potengi no teor de água de 14% (b.u.), nas temperaturas de -20, -60, -150 e -196°C